



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية طب الأسنان

قسم مداواة الأسنان

تقييم فعالية حمض الفيتيك المضادة لجرثومة المكورة المعوية
البرازية: دراسة مخبرية.

رسالة قُدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في
اختصاص مداواة الأسنان

إعداد الباحث:

محمد خير معتز ممش

الأستاذ المشرف:

م.د. عماد الأيوبي

مدرس في قسم مداواة الأسنان - كلية طب الأسنان - جامعة دمشق

م 2025 / هـ 1445

تصريح

"لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم أخذه بالكامل من عمل آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو في أية جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي"

الشكر

أتوجه بالشكر الجزيل لكل من ساندني ودعمني كي أتم هذا العمل، فالشكر أولاً وأخيراً لله عز وجل أن أمدني بالقوة والصبر وأعانني على إتمام هذا البحث والشكر موصول مع فائق الإحترام والتقدير لإدارة كلية طب الأسنان في جامعة دمشق والمتمثلة بالأستاذ الدكتور عمر حشمة عميد الكلية والأستاذ الدكتور مهند لفوف نائب العميد للشؤون العلمية والأستاذ الدكتور حسان عاشور نائب العميد للشؤون الإدارية .

ولأساتذتي الأفاضل وأخص بالذكر :

المدرس الدكتور عماد الأيوبي مدرس في قسم مداواة الأسنان، كلية طب الأسنان في جامعة دمشق الذي تفضل بالإشراف على هذا البحث، ومنحني من وقته وعلمه بكل رحابة صدر ولم يدّخر جهداً في مساعدتي حتى إتمام هذا العمل فجزاه الله عني كل خير وأدام عليه الصحة والعافية.

المدرسة الدكتورة دارين جلول مدرسة في قسم مداواة الأسنان، كلية طب الأسنان في جامعة دمشق **والمدرس الدكتور شادي العزاوي** مدرس في قسم طب الأطفال في كلية طب الأسنان في جامعة دمشق لتفضلهما بقبول تحكيم هذا البحث، فلهما مني فائق الاحترام والتقدير .

كما أتوجه بالشكر الجزيل لجميع أساتذتي في قسم مداواة الأسنان، كلية طب الأسنان في جامعة دمشق لما قدموه لنا من نصح وتوجيه خلال سنوات الدراسات العليا فكان لتوجيهاتهم الأثر الكبير في الاهتمام بالبحث العلمي والارتقاء به.

الإهداء

إلى أساتذتي الأوائل وإلى من علمني معنى الحياة وإلى النور الذي يضيء حياتي
سندي وقوتي...

أبي وأمي

إلى من شاركني ذكريات الطفولة والأحلام ودعمني في أصعب الأيام...

إخوتي طارق وبدر وأخواتي علا ودعاء

إلى فرحة العمر ومهجة الفؤاد...

جود طارق ممش

إلى من شاركت صدق حبه ودعمه على مدى الأيام وكانوا لي خير سند...

د. معاذ حماتي وصديق العمر د. بشر ممش

إلى من أمضيت معهم أجمل أيام العمر وما عرفت منهم إلا الطيب والوفاء وسأحمل
ذكراهم ما حييت...

محمد نصر علاء الدين، سامح السيوفي، علي مصطفى، معن تنوخي، مؤيد ركابي،
محمد ماهر زيتوني، محمد الأسدي، جوان عمر، محمود علايا، محمد كريم الكسم، محمد
علي جيرودي، عمر شلاح، واصف الزحيلي، عبد القادر محمد علي، مجد الرفاعي،
محمد خالد شهاب الدين، رامي محمد وفرح شحادة.

إلى زملائي وإخوتي...

تاله البدوي، محمد كمال يبرودي، أحمد كيوان، أحمد بلوق، براء السيد، سعد
حمامي، ابراهيم عز الدين، إياد العبد، أميرة عرار، وصال الرئيس، أحمد شحادة،
مرهف حبش، رشاد الغوراني، زيد السروجي، طارق أبو الشعر، محمد العودة، بهاء

زغلول، أمجد الحسين، أنس مندو، ماريا صارجي، مصعب أقدار، محمد دقماق، هيا علوني.

إلى من ساعدني في إتمام هذا البحث...

د. وريد أقميناس، د. نوار الصالح، د. مازن النابلسي، د. محمد فادي المهدي ود. ميشيل حداد.

وإلى جميع أفراد عائلتي وأتوجه بالشكر الجزيل والامتنان الكبير لأسرة مركز السرج وعيادة إيليت.

قائمة المحتويات List of contents

1.....	الملخص
2.....	الجزء التمهيدي Introductory Part
3.....	المقدمة Introduction
3.....	مشكلة البحث
4.....	تساؤلات البحث
4.....	الهدف من البحث
4.....	أهمية البحث
4.....	فرضيات البحث
5.....	الباب الأول: المراجعة النظرية
6.....	الفصل الأول: الجراثيم في طب الأسنان
6.....	1-1-1 الانتانات السنية داخل الجذرية
7.....	2-1-1 الجراثيم المقاومة لإجراءات التطهير ضمن الأقنية الجذرية:
7.....	3-1-1 المكورات المعوية Enterococci:
8.....	1-3-1-1 عوامل الفوعة للمكورة المعوية البرازية
12.....	4-1-1 الغلاف الحيوي الجرثومي Biofilm
11.....	1-4-1-1 تركيب الغلاف الحيوي الجرثومي
14.....	2-4-1-1 الغلاف الحيوي الجرثومي في الأخماج اللبية:
15.....	3-4-1-1 الغلاف الحيوي الجرثومي للمكورة المعوية البرازية:
17.....	4-4-1-1 آليات مقاومة الغلاف الحيوي الجرثومي للعوامل المضادة للجراثيم:
19.....	الفصل الثاني: الإرواء في المعالجات اللبية القنيوية
17.....	1-2-1 سوائل الإرواء Irrigants:

22	2-2-1 هيبوكلوريت الصوديوم: NaOCl
23	1-2-2-1 خصائص هيبوكلوريت الصوديوم:
25	2-2-2-1 محدوديات هيبوكلوريت الصوديوم:
27	3-2-1 الكلورهيكسيدين: CHX
25	1-3-2-1 محاسن الكلورهيكسيدين: CHX
26	2-3-2-1 مساوي الكلورهيكسيدين: CHX
29	4-2-1 Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA):
30	1-4-2-1 محاسن EDTA:
28	2-4-2-1 مساوي EDTA:
29	1-2-5 الخلائط: Mixtures
32	1-2-6 حمض الفيتيك Phytic Acid:
31	1-2-6-1 حمض الفيتيك في طب الأسنان:
43	الباب الثاني: المواد والطرائق
44	1-2 تصميم العينة:
44	2-2 مجموعات الدراسة:
45	3-2 مواد وأدوات الدراسة:
45	1-3-2 أدوات تهيئة العينة:
49	2-3-2 أدوات التحضير القنيوي:
55	3-3-2 المواد المستخدمة في الدراسة الجرثومية:
60	4-2 طريقة العمل:
60	1-4-2 تحضير العينة:
63	2-4-2 تحضير المعلق الجرثومي:

68	3-4-2 التعداد الأولي للوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية.....
69	4-4-2 تطبيق سوائل الإرواء :
70	5-4-2 التعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد تطبيق سوائل الإرواء
70	الباب الثالث: النتائج
73	1-3 وصف العينة
74	2-3 الدراسة الإحصائية التحليلية
	1-2-3 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية وفقاً للمرحلة المدروسة.....
75	2-2-3 دراسة تأثير المرحلة المدروسة في قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية وفقاً لسائل الإرواء المستخدم:
79	3-2-3 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية:
81	4-2-3 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية
82	الباب الرابع: المناقشة
85	الباب الخامس: الاستنتاجات.....
90	الباب السادس: المقترحات والتوصيات
92	المقترحات
93	التوصيات
93	الباب السابع: المراجع
94	الملخص باللغة الانجليزية.....
115	

قائمة الجداول List of Tables

الصفحة	الجدول
73	جدول رقم (3-1) توزيع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
75	جدول رقم (3-2) المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم والمرحلة المدروسة.
77	جدول رقم (3-3) يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة.
78	جدول رقم (3-4) يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة.
79	جدول رقم (3-5) يبين نتائج اختبار Wilcoxon للرتب ذات الإشارة الجبرية لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين المرحلتين المدروستين (قبل الإرواء ، بعد الإرواء) في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
81	جدول رقم (3-6) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
82	جدول رقم (3-7) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
84	جدول رقم (3-8) الدورات اللوغاريتمية لانخفاض أعداد الجراثيم بين مرحلتي الدراسة حسب سائل الإرواء المستخدم:

قائمة المخططات List of Charts

الصفحة	المخطط
73	مخطط (1-3) يمثل النسبة المئوية لتوزيع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
76	مخطط رقم (2-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم والمرحلة المدروسة.
80	مخطط رقم (3-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة وسائل الإرواء المستخدم.
82	مخطط رقم (4-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم مقدار التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.
83	مخطط رقم (5-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

قائمة الأشكال

الصفحة	الشكل
45	الشكل (1-2) أداة تقليح يدوية U15
45	الشكل (2-2) أقراص ماسية لقص تيجان الأسنان
46	الشكل (3-2) موتور ميكروترو مع قبضة مستقيمة
46	الشكل (4-2) المقياس الرقمي (البياكوليس)
47	الشكل (5-2) كومبوزيت B&E
47	الشكل (6-2) حمض الفوسفور 37%
48	الشكل (7-2) مادة رابطة (بوند) Tetric
48	الشكل (8-2) جهاز التصليب الضوئي
49	الشكل (9-2) جهاز تعقيم بالحرارة الرطبة
49	الشكل (10-2) مبرد K-File قياس #15
50	الشكل (11-2) مبرد H-File
50	الشكل (12-2) مبرد تحضير آلي
51	الشكل (13-2) جهاز تحضير آلي E-CONNECT

51	الشكل (2-14) محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5,25%
52	الشكل (2-15) محلول EDTA 17%
52	الشكل (2-16) محلول السيروم الملحي المعقم
53	الشكل (2-17) أقماع ورقية
53	الشكل (2-18) محاقن بلاستيكية معقمة نبوذة
54	الشكل (2-19) رؤوس إرواء قياس 27 gauge
54	الشكل (2-20) حمض الفيتيك IP6
55	الشكل (2-21) ماء مقطر
55	الشكل (2-22) أطباق بيتري
56	الشكل (2-23) آغار بايل اسكولين
56	الشكل (2-24) أنبوب إيبندورف
57	الشكل (2-25) ماصة Micropipette وحيدة القناة
57	الشكل (2-26) الحاضنة
58	الشكل (2-27) جهاز الدوامة
58	الشكل (2-28) الغانة
59	الشكل (2-29) جهاز عد المستعمرات الجرثومية
60	الشكل (2-30) عينة البحث
61	الشكل (2-31) التحضير الآلي للأسنان
61	الشكل (2-32) صورة شعاعية من عينة البحث

61	الشكل (2-33) ختم الذروة بالكومبوزيت
62	الشكل (2-34) طلي الجذور بطبقتين من طلاء الأظافر
62	الشكل (2-35) العينة بعد وضعها ضمن قوالب الإكريل البارد
63	الشكل (2-36) تعقيم العينات بالحرارة الرطبة
64	الشكل (2-37) اختبار الكاتالاز
65	الشكل (2-38) صبغة غرام
66	الشكل (2-39) المستعمرات سوداء اللون على أطباق البيتري
66	الشكل (2-40) آغار بايل اسكولين قبل الزرع
66	الشكل (2-41) آغار Chapman/Mannitol Salt Agar يظهر نمو المكورات المعوية البرازية
67	الشكل (2-42) العينة ضمن أنبوب حاوي على مرق مغذي
68	الشكل (2-43) البرد المحيطي
68	الشكل (2-44) المسحة الجرثومية
68	الشكل (2-45) آغار Chapman/Mannitol Salt Agar يظهر نمو المكورات المعوية البرازية
69	الشكل (2-45) أطباق البتري ضمن الحاضنة
69	الشكل (2-46) إرواء الأقمية
70	الشكل (2-47) التعداد الجرثومي قبل وبعد تطبيق سائل الإرواء في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم
71	الشكل (2-48) التعداد الجرثومي قبل وبعد تطبيق سائل الإرواء في مجموعة IP6

قائمة الاختصارات List of Abbreviations

E. faecalis	Enterococcus faecalis	المعوية البرازية
E. faecium	Enterococcus faecium	المعوية الإليوية
LTA	Lipoteichoic Acid	حمض الليبوتيكوييد
ESP	Enterococcus surface protein	البروتين السطحي للمكورات المعوية
ACE	Collagen Adhesion Protein	بروتين التصاق الكولاجين
TEM	Transmission Electron Microscope	المجهر الإلكتروني النافذ
SEM	Scanning Electron Microscope	المجهر الإلكتروني الماسح
NaOCl	Sodium Hypochlorite	هيبوكلوريت الصوديوم
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid	حمض الايتيلين دي أمين تيترا أسيتات
CHX	Chlorhexidine	الكلورهيكسيدين
MMPs	Matrix Metaloproteases	ميتالوبروتيازات القالب العاجي
IP6	Inositol Hexaphosphate	الإينوزيتول سداسي الفوسفات

الملخص باللغة العربية

الهدف من البحث: يختبر هذا البحث فعالية حمض الفيتيك المضادة لجرثومة المكورة المعوية البرازية (*E. faecalis*) ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بها كونها أكثر أنواع الجراثيم المقاومة لإجراءات المعالجة اللبية.

مواد وطرائق البحث: أجريت هذه الدراسة على 45 ضاحكة أولى سفلية بشرية مكتملة الذروة ووحيدة القناة مقلوعة لأسباب تقويمية. تم قص تيجانها بهدف توحيد أطوال الجذور إلى 10 مم، وحُضرت باستخدام مبرد آلية مع الإرواء بشكل متناوب بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم، EDTA والماء المقطر ثم جُففت وتم تعقيمها بالحرارة الرطبة بدرجة حرارة 120°C لمدة 15 دقيقة.

تم تلويث العينة بحقن 50 ميكرون من المعلق الجرثومي المحضر ضمن الأقنية الجذرية للعينات بكثافة 10^8 (CFU/ml) وحُضنت في الحاضنة بشروط حضن هوائية بدرجة حرارة 37°C لمدة 7 أيام ثم تم توزيعها بشكل عشوائي إلى ثلاث مجموعات ليتم إجراء إرواء ضمن الأقنية الجذرية للعينات حسب سائل الإرواء المستخدم، المجموعة الأولى ($n=15$) حمض الفيتيك 17%، المجموعة الثانية ($n=15$) هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% والمجموعة الثالثة ($n=15$) السيروم الملحي العقيم 0.9%. ومن ثم تم عد الوحدات الجرثومية ومقارنة تعداد الجراثيم بين سائل الإرواء المطبقة وجمع البيانات وتحليلها إحصائياً.

النتائج: أظهرت نتائج هذه الدراسة أن قيمة اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم بعد تطبيق سائل الإرواء كانت أصغر منها قبل تطبيقه بشكل دال إحصائياً، وذلك مهما كان سائل الإرواء المستخدم.

كما أظهرت النتائج أن نسبة النقص في اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم كان أكبر منها في كل من مجموعتي حمض الفيتيك والسالين على حدة بفروق دالة إحصائية عند مستوى الدلالة (0.05) حيث بلغت نسبة النقص لمجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 83.73% وكانت 68.62% في مجموعة حمض الفيتيك و 27.36% في مجموعة السيروم الملحي. **الاستنتاجات:** كان لحمض الفيتيك فعالية واضحة في إنقاص التعداد الجرثومي للمكورة المعوية البرازية ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بها.

الكلمات المفتاحية: هيبوكلوريت الصوديوم، حمض الفيتيك، إينوزيتول هيكسافوسفات IP6، السالين، المكورات المعوية البرازية *E. faecali*

الجزء التمهيدي

Introductory Part

المقدمة Introduction

إن الهدف الرئيسي للمعالجة اللبية هو القضاء على الكائنات الدقيقة في النسيج اللبي والأقنية الجذرية لعلاج ومنع الآفات اللبية وحول الذروية. (Ricucci, Candeirol et al. 2016) حيث تُعزى الحاجة إلى إعادة المعالجة اللبية إما إلى إنتان الأقنية الجذرية مرة أخرى عن طريق الجراثيم الفموية أو إلى استمرار تواجد ونمو الكائنات الحية الدقيقة التي لم يتم القضاء عليها أثناء المعالجة السابقة في كثير من الأحيان. (Boschi, Piccinelli et al. 2022) (Krause, Liewehr et al. 2007) ويلعب الغلاف الحيوي للجراثيم في الأقنية الجذرية دوراً أساسياً في فشل المعالجة اللبية (Ricucci, Candeirol et al. 2016). وتخلق القدرة الإراضية للجراثيم المسببة لالتهاب النسيج حول الذروية الحاجة لإيجاد علاجات فعالة مضادة للجراثيم. (Nair, Henry et al. 2005)

لقد ثبت سابقاً أن بروتوكول الإرواء القياسي الذهبي (هيبوكلوريت الصوديوم متبوعاً بـ EDTA) لا يمكنه القضاء على المكورات المعوية البرازية وفطور المبيضات البيض وذلك لا يُعزى إلى التأثير المعدل للعاج أو تشريح الأقنية الجذرية المعقد، بل إلى المقاومة العالية للغلاف الحيوي للمواد المضادة للجراثيم (Alshanta, Alqahtani et al. 2020) ولذلك فمن المرغوب فيه بوضوح تحديد عامل مخلص بخصائص محسنة مضادة للكائنات الحية الدقيقة.

في عام 2015 ، سلط نصار وآخرون الضوء على إمكانيات حمض الفيتيك كعامل مخلص بديل للأقنية الجذرية (Nassar, Hiraishi et al. 2015) إضافة إلى خواصه المضادة للجراثيم. (Nassar, Nassar et al. 2021)

مشكلة البحث:

- تظهر سوائل الإرواء المستخدمة بشكل شائع ضمن سياق المعالجة اللبية أثراً سلبية محتملة كالسمية الخلوية، اهتراء العاج إضافة إلى كونها غير قابلة للتحلل الحيوي بسهولة. لذلك توجهت الأنظار إلى إيجاد بدائل عضوية تتلافى هذه السلبيات، ومن الضروري إجراء دراسات تختبر فعالية هذه البدائل.
- قلة الدراسات المنجزة عالمياً لتقييم فعالية حمض الفيتيك المضادة للجراثيم كسائل إرواء للأقنية الجذرية.

تساؤلات البحث:

- هل يمتلك حمض الفيتيك القدرة على التأثير على الجرثومة المكورة المعوية البرازية ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بها؟
- هل يمكن لحمض الفيتيك أن يكون بديلاً عن هيبوكلوريت الصوديوم بما يحمله من إيجابيات وسلبيات كسائل إرواء ذو قدرة تطهيرية عالية تجاه جراثيم المكورة المعوية البرازية في المعالجات اللبية؟
- هل يمكن استخدام حمض الفيتيك كسائل إرواء نهائي؟

الهدف من البحث:

يهدف هذا البحث إلى دراسة قدرة حمض الفيتيك بتركيز 17% في القضاء على جراثيم المكورة المعوية البرازية داخل الأقنية الجذرية المخمجة بها.

أهمية البحث:

يختبر هذا البحث قدرة حمض الفيتيك المضادة للمكورات المعوية البرازية ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بها كبديل عضوي لسوائل الإرواء الشائعة ضمن بيئة تماثل الواقع السريري مما يجعله مقدمة علمية وعملية لأبحاث سريرية أخرى.

فرضيات البحث:

لا يملك حمض الفيتيك قدرة مضادة للمكورات المعوية البرازية في الأقنية الجذرية المخمجة بها.

الباب الأول

المراجعة النظرية

Literature review

الفصل الأول الجراثيم في طب الأسنان

1-1-1 الانتانات السنية داخل الجذرية

يرتبط وجود الكائنات الحية الدقيقة ومنتجاتها (السموم الداخلية) ارتباطاً وثيقاً بتطور الآفات اللبية وما حول الذروية. (Blome, Braun et al. 2008)

تصنف الانتانات السنية داخل الجذرية إلى أولية وثانوية، وتحصل الانتانات حول الذروية الأولية في الأقنية الجذرية غير المعالجة، حيث تستعمر الكائنات الحية الدقيقة الأنسجة اللبية مؤدية بذلك لحدوث اختلال وظيفي (Gajan, Aghazadeh et al. 2009)، فبمجرد إلتان الجزء التاجي من الأقنية الجذرية، تتقدم الإصابة باتجاه ذروي حتى تصبح المنتجات الجرثومية أو الجراثيم نفسها في وضع يُمكنها من تحفيز استجابة التهابية في الأنسجة حول الذروية، مما يؤدي إلى التهاب نسيج حول ذروي (Blome, Braun et al. 2008) (Ricucci, Loghin et al. 2014) وإذا سُمح للإنتان بالتفاقم دون علاج أو تم تنفيذ العلاج بشكل غير كافٍ، فمن المحتمل أن تكون هناك عواقب وخيمة كإنتان حول ذروي مستمر، مضاعفات جهازية وفقدان الأسنان. (Gajan, Aghazadeh et al. 2009) (Sebring, Buhlin et al. 2022)

عادة ما تشفى الانتانات حول الذروية الأولية بعد التنضير الكيميائي الميكانيكي للأنسجة المصابة وحشو الأقنية الجذرية. (Duncan, Kirkevang et al. 2023) أما الانتانات الثانوية فتحدث نتيجة لوجود إنتان جرثومي داخل منظومة الأقنية الجذرية في الأسنان التي عولجت سابقاً والتي يمكن أن تُحدث رد فعل التهابي في النسيج حول الذروية بسبب استمرار وجودها في المنظومة القنوية الجذرية بعد المعالجة اللبية. (Ricucci, Loghin et al. 2014) (Gajan, Aghazadeh et al. 2009)

يُهيمن على الانتانات الأولية 40-50 نوعاً من الجراثيم سلبية الغرام اللاهوائية المجبرة في البداية. (Rôças and Siqueira Jr 2008) ومع تقدم المرض، تتغير البيئة داخل المنظومة القنوية الجذرية. (Antunes, Rôças et al. 2015) ويتحول لتباين واضح في النمط الظاهري الجرثومي بين حالات الانتانات الأولية مقارنة بالانتانات الثانوية، والتي تبدي تنوع جرثومي أقل وتهيمن عليها الجراثيم إيجابية الغرام كالمكورات المعوية (Lins, de Oliveira Andrade et al. 2013) (Sakamoto,) (Siqueira Jr et al. 2008) حيث هيمنت المكورة المعوية البرازية بنسبة تصل إلى 70% في الانتانات الثانوية. (Zargar, Marashi et al. 2019)

1-1-2 الجراثيم المقاومة لإجراءات التطهير ضمن الأقنية الجذرية:

يمكن لبعض الأحياء الدقيقة أن تقاوم المعالجة المضادة للجراثيم وأن تبقى حية ضمن منظومة الأقنية الجذرية بعد إجراء التنضير الميكانيكي الكيميائي، ومن أهمها:

- العصيات اللاهوائية سلبية الغرام الأكثر شيوعاً: المغزلية المنواة *Fusobacterium nucleatum*، العطفية *Compylobacter* وأنواع البريفوتيل *Prevotella spp.*

- الجراثيم إيجابية الغرام الأكثر شيوعاً: المكورات العقدية *streptococci* (المكورات العقدية الهنية *Streptococcus mitis*، العقدية الذباجية *Streptococcus anginosus* و العقدية الفموية *Streptococcus oralis*)، المكورات العنقودية *staphylococci*، العصيات اللبنية *Lactobacilli*، المكورات المعوية البرازية *Enterococcus faecalis*، أنواع الشعيات *Actinomyces spp.*، أنواع الشقائية *Bifidobacterium spp.* وفطور خمائية وبشكل خاص المبيضات البيض *Candida albicans* في بعض الحالات. (Narayanan and Vaishnavi 2010)

1-1-3 المكورات المعوية *Enterococci*:

زاد الاهتمام تجاه المكورات المعوية في سبعينيات القرن الماضي حيث تم التعرف عليها كمسببات لبعض أمراض المستشفيات فكانت المكورات المعوية البرازية *E. faecalis* مسؤولة عن 80% من الأمراض المحدثة بسبب المكورات المعوية في حين كانت المكورات المعوية الإلوية *E. faecium* مسؤولة عن 20% من الأمراض المتبقية. (Jett, Huycke et al. 1994) (Franz, Stiles et al. 2003)

تستوطن أمعاء الإنسان وتوجد ضمن الحفرة الفموية بأعداد أقل. (Koch, Hufnagel et al. 2004) (Salem, Tompkins et al. 2022) وبالرغم من أنها غير مؤذية للمضيف غالباً إلا أنها قد تسبب أمراضاً خطيرة عند المرضى المدنفين مناعياً. كالتهاب شغاف القلب (Koehler, Jung et al. 2019)، التهاب المسالك البولية، التهاب السحايا الجرثومي و التهابات أخرى. (Li, Yang et al. 2020)

المكورات المعوية البرازية *E. faecalis* هي جراثيم متعايشة إيجابية الغرام لاهوائية مخيرة توجد بشكل فردي أو بشكل أزواج أو على شكل سلاسل قصيرة (Gilmore and Clewell 2002) وتعتبر السبب الرئيس لفشل المعالجات اللبية وذلك بسبب قدرتها الكبيرة على البقاء حية ضمن ظروف بيئية قاسية جداً. (Siqueira Jr and Rôças 2022)

تمتلك قدرة على النمو بوجود أو غياب الأكسجين حيث تستطيع التبديل بين عملية التنفس بوجود الأكسجين وعملية التخمر في حال غيابه. (Stuart, Schwartz et al. 2006) (Rôças,) (Siqueira Jr et al. 2004) ولها القدرة على تحمل مستويات عالية من درجات الحموضة وشح التغذية ضمن الألفية المعالجة مسبقاً (Stuart, Schwartz et al. 2006)

تستطيع المكورات المعوية البرازية تشكيل أغلفة حيوية سميكة على جدران الألفية الجذرية مما يسمح لها بالاندخال ضمن القنيات العاجية والتعقيدات التشريحية للألفية الجذرية (Momenijavid, Salimizand et al. 2022) (Hahn and Hanford 2021) وتشكيل بيئة مقاومة لكل من دفاعات المضيف المناعية، المضادات الحيوية والضمادات المستخدمة في سياق المعالجة القنيوية. (Ali, Cheung et al. 2020) لها القدرة على مقاومة أملاح الصفراء، المواد المنظفة، الإيثانول، الأزيدات والتجفيف (Gilmore and Clewell 2002) وتنمو ضمن درجات حرارة 10-45 °C وتستطيع البقاء حية في الدرجة 60 °C لمدة 30 دقيقة. (Tendolkar, Baghdayan et al. 2003)

1-3-1-1 عوامل الفوعة للمكورة المعوية البرازية: Virulence Factors:

هي مجموعة الخصائص أو المنتجات خارج الخلية للعضويات الممرضة والتي قد تلعب دوراً في استعمار المضيف، التنافس مع الجراثيم الأخرى ومقاومة آليات الدفاع المناعية للمضيف. (Kayaoglu and Ørstavik 2004) (Asmah 2020)

تم تحديد عدة مورثات مسؤولة عن الفوعة في سلاسل المكورات المعوية البرازية ويؤدي التعبير عن هذه المورثات إلى سلسلة من الأحداث المعززة لتطور الإنتان اللبي وتقدم الإصابة النسيجية. (Usha 2010)

وتستطيع هذه العوامل إحداث تغييرات مرضية مباشرة من خلال إفراز إنزيمات تدمر خلايا المضيف ونسجه أو بشكل غير مباشر من خلال تحفيز خلايا الجهاز المناعي لإحداث استجابة التهابية وإبقاء هذه الاستجابة في طور الالتهاب. وتقوم الخلايا المناعية بدورها بتحرير وسائط التهابية تحدث ضرراً لنسج المضيف. ويمكن تقسيم عوامل الفوعة المساهمة في تشكيل الغلاف الحيوي إلى عوامل مفرزة (كالجيلاتيناز والإنزيم الحال للخلايا) وعوامل على سطح الخلية الجرثومية (كمادة التكس والبروتين السطحي). (Nasaj, Mousavi et al. 2016)

1- حمض ليبوتيكونيك (LTA) Lipoteichoic Acid:

- (1) يحرض استجابة التهابية ويسبب تلف الأنسجة (Ginsburg 2002)
- (2) يزيد من مقاومة الجراثيم للبيبتيدات المضادة للجراثيم، المضادات الحيوية أو المطهرات. (Fabretti, Theilacker et al. 2006)
- (3) يعمل كمستقبل يحفز على تجمع الجراثيم وهو عامل أساسي في تكوين الأغلفة الحيوية. (Asmah 2020)

2- تحرير فوق الأكاسيد للوسط خارج الخلوي Extracellular Superoxide:

تنتج سلالات المعوية البرازية فوق أكسيد سالب الشحنة، وهي جذور أوكسجين عالية التفاعل تساهم في إحداث الأذى للخلايا والنسج. (Huycke, Abrams et al. 2002)

في حين أن إنتاج فوق الأكاسيد بواسطة العدلات والخلايا البالعة ضروري لقتل الكائنات الحية الدقيقة، إلا أنه يسبب تلف الأنسجة في موقع الالتهاب. وقد اقترح أن اختلال التوازن بين إنتاج الجذور الأكسجين من قبل الخلايا البالعة والمكورات المعوية البرازية في الآفات حول الذروية وإزالتها يساهم في تخرب المنطقة حول الذروية وفقدان العظم في التهاب النسج حول الذروية المزمن. (Marton, Balla et al. 1993)

3- الجلاتيناز :Gelatinase:

هو عبارة عن ميتالوبروتياز خارج خلوي تنتجه المكورات المعوية البرازية وله القدرة حلمهة الجيلاتين، الكولاجين، الفيرينوجين، الكازئين، الهيموغلوبين، الانسولين وبيتيدات حيوية أخرى. (Mäkinen, Clewell et al. 1989) (Kayaoglu and Ørstavik 2004)

يزداد في حالات التهاب اللب والنسج حول الذروية والذي يؤدي بدوره إلى حل الخلايا وتخرب القلب العضوي للعاج. (Tjäderhane, Palosaari et al. 2001) (Shin, Lee et al. 2002) (Qin, Singh et al. 2000)

يسهم الجلاتيناز في تشكيل الغلاف الحيوي للمكورات المعوية البرازية عن طريق تفكيك بروتين التصاق الكولاجين (Ace) collagen adhesion protein مما يساعد الجراثيم على الالتصاق ببعضها وإلى السطوح الحيوية وغير الحيوية وبالتالي زيادة الاستعمار الجرثومي وانتشار الغلاف الحيوي. (Lebreton, Riboulet-Bisson et al. 2009)

4- الهيالورونيداز :Hyaluronidase:

يقوم الهيالورونيداز بتفكيك حمض الهيالورونيك والذي يتوسط عدة وظائف خلوية ويوجه الاستجابة الالتهابية إلى طور الشفاء وبالتالي تحلل النسج ويسمى الهيالورونيداز (عامل الانتشار) فهو يفكك عديدات السكاكر المخاطية للنسيج الضام ويسهل انتشار الجراثيم وسمومها ضمن نسج المضيف وهجرتها من الأوعية الجذرية إلى النسج حول الذروية وتأمين غذاء لها. (Kayaoglu and Ørstavik 2004) (Fisher and Phillips 2009) (Hynes and Walton 2000)

5- الانزيم الحال للخلايا :Cytolysin:

شكّلت بعض سلالات المكورة المعوية البرازية الحالة للدم بيتا في عدة دراسات مخبرية أجريت عليها مناطق انحلال دم على أوساط آغار دموي وذلك عن طريق الانزيم الحال للخلايا cytolysin والذي يملك القدرة على حل طيف واسع من الخلايا كالجراثيم إيجابية الغرام، كريات الدم البيضاء عديدة النوى، العدلات والبالعات الكبيرة إضافة إلى الكريات الحمراء فيؤمن مصدر تغذية للمكورات المعوية البرازية ومهرب من الجهاز المناعي.

(Portenier, Waltimo et al. 2003) (Van Tyne, Martin et al. 2013)

6- مادة التكدس Aggregation Substnce:

هي بروتينات سطحية على هيئة أشعار تتواسط عملية ارتباط من نمط خلية - خلية من الإقتران وتسهيل تبادل البلاسميدات بين سلالات المعطي والمتلقي وبالتالي نقل المادة الوراثية المسؤولة عن مقاومة المضادات الحيوية بين هذه السلالات. (Portenier, Waltimo et al. 2003)

تعتبر مادة التكدس محدد لقدرة المكورات المعوية البرازية على إحداث الفوعة فهي تلعب دوراً في انتقال عوامل الفوعة المشفرة بالبلاسميدات كالإنزيم الحال للخلايا ومورثات مقاومة المضادات الحيوية ضمن النوع وتسهل التصاق المكورات المعوية بالخلايا الظهارية المعوية والكلوية وبروتينات الوسط خارج الخلوي وبشكل خاص الكولاجين من النمط I وهو ذو أهمية كبيرة خاصة في الإنتانات اللبية كونه المكون الرئيسي العضوي للعاج.

(Duggan and Sedgley 2007) (Ricucci and Siqueira Jr 2010)

وتعد سلاسل المكورات المعوية البرازية *E. faecalis* التي تعبر عن مادة التجميع قادرة على ربط الكولاجين من النمط I أكثر فعالية بمرتين من تلك السلاسل سلبية مادة التجميع. (Rozdzinski, Marre et al. 2001) (Linde and Goldberg 1993)

كما أنها تقدم حماية ضد القتل المتواسط بالكريات البيضاء عديدة النوى و البالعات الكبيرة، وبالتالي تكون عاملاً هاماً في مقاومة دفاعات المضيف و زيادة الاستعمار الجرثومي للأقنية الجذرية. (Thurlow, Thomas et al. 2010) (Kishen and Haapasalo 2010).

7- البروتين السطحي للمكورات المعوية (ESP) Surface Protein:

هو بروتين سطحي كبير مشفر وراثياً ذو بنية خاصة له علاقة بدعم الارتباط الأولي وتشكيل الغلاف الحيوي للمكورات المعوية البرازية على السطوح غير الحيوية. حيث وجد A.Toledo-Arana أن هناك علاقة بين وجود البروتين السطحي Esp في المكورات المعوية البرازية *E. faecalis* وقدرتها على تشكيل الغلاف الحيوي (الببوفيلم) وذلك بمقارنتها بالسلاسل المعيبة لجراثيم *E. faecalis* والتي لا تملك هذا البروتين السطحي حيث خلصت الدراسة إلى أن 93.5 % من عزلات المعوية البرازية إيجابية البروتين السطحي كانت قادرة على تشكيل الغلاف الحيوي (الببوفيلم) ، بينما كانت جميع العزلات السلبية غير قادرة على تشكيله. (Toledo-Arana, Valle et al. 2001)

وأبدت عزلات المكورات المعوية البرازية إيجابية البروتين السطحي مقاومة لتأثير ضما
هيدروكسيد الكالسيوم في الأقمشة الجذرية المخمجة بها بسبب تشكيلها للغلاف الحيوي. (Distel, 2002
(Hatton et al. 2002

8- الفيرومونات الجنسية Sex Phermons:

هي ببتيديات صغيرة مشفرة وراثياً كارهة للماء تعمل كببتيديات إشارة حيث تقوم سلالات المتلقي
بتحرير فيرومونات تتوافق مع البلاسميد الذي لا تملكه إلى الوسط خارج الخلوي وبالمقابل تقوم سلالات
المعطي عن طريق مادة التكدس بنقل البلاسميد هذا إلى سلالات المتلقي فتنتقل صفات كمقاومة
المضادات الحيوية وعوامل فوعة أخرى كالإنزيم الحال للخلايا عبر سلالات المكورة المعوية البرازية
عبر نظام الفيرومونات الجنسية هذا. (Clewel and Weaver 1989)

1-1-4 الغلاف الحيوي الجرثومي Biofilm:

هي نمط من أنماط النمو الجرثومي تلتصق فيه تجمعات حيوية من جراثيم لاطئة مع بعضها
البعض على وسط صلب وتتدخل ضمن قالب من مواد بوليميرية تصنعها الخلايا نفسها. (Donlan 2002
(and Costerton 2002 (Jamal, Ahmad et al. 2018)
ويلعب هذا القالب دوراً في تحديد شكل وبيئة وبنية المجتمع الحيوي للويحة الجرثومية وقدرتها
على مقاومة دفاعات المضيف والبقاء حية. (Flemming and Wingender 2010)

وتتبع الجراثيم التي تعيش ضمن هذا المجتمع للمعايير التالية: (Caldwell, Atuku et al. 1997)

- 1- القدرة على التنظيم الذاتي (التكوين الذاتي). Autopoiesis
- 2- مقاومة الاضطرابات المحيطة (الاستقرار). Homeostasis
- 3- أن تكون أكثر فعالية ضمن المجتمع الحيوي من كونها منفردة (التآزر). Synergy
- 4- أن تستجيب للتغيرات البيئية كوحدة واحدة وليس كأفراد منعزلين (المجتمعية)
Communality

كشفت دراسات سابقة وجود مجتمعات جرثومية ضمن الأقمشة الجرثومية المخمجة تشابه ما
يعرف حالياً بالويحة الجرثومية. (Siqueira Jr, Rôças et al. 2002) حيث وصف Van
Leeuwenhoek ظاهرة تلتصق فيها الكائنات الحية الدقيقة وتنمو على السطوح المكشوفة.

وأوضحت دراسات أخرى أن هذه الجراثيم القادرة على الارتباط بالسطوح أبدت نمطاً ظاهرياً متميزاً بما يتعلق بمعدل النمو، النسخ المورثي وآليات خاصة لتحقيق ارتباط أولي مع السطح ونمو وتطور بيئة وبنية المجتمع الحيوي للويحة الجرثومية وانفصاله. (Donlan 2002)

وكان Ricucci و Siqueira أول من أشار إلى ارتباط الغلاف الحيوي الجرثومي بالتهاب النسج حول الذروي الأولي والتالي للمعالجة اللبية حيث وجد انتشار للويحة الجرثومية داخل الأقنية الجذرية بنسبة 80% في الأقنية غير المعالجة و74% في الأقنية المعالجة وبنسب أكبر في حالات الآفات الكبيرة أو الكيسية. (Ricucci and Siqueira Jr 2010)

1-4-1-1 تركيب الغلاف الحيوي الجرثومي:

يتألف الغلاف الحيوي الجرثومي الناضج من تجمع غير متجانس من للجراثيم على سطح صلب ضمن قالب يحوي بروتينات، عديدات سكار، أحماض دسمة وأحماض نووية تشكل الجزء العضوي ومن الكالسيوم، المغنيزيوم، الفوسفات والفلورايد كجزء غير عضوي. ويشكل القالب 85% من حجم اللويحة الجرثومية بينما تشكل الخلايا الجرثومية الـ 15% المتبقية. (Nivens, Ohman et al. 2001) (Tronstad and Sunde 2003) (Whitchurch, Tolker-Nielsen et al. 2002)

ويقسم القالب بتشعبات الأقنية المائية التي تقوم بنقل المواد الغذائية، الفضلات، الإنزيمات، المستقلبات والأكسجين من وإلى الغلاف الحيوي. (Mohammadi, Palazzi et al. 2013)

يُمر تشكل البيوفيلم ب 3 مراحل:

- 1- تجمع للمواد والجزيئات العضوية وغير العضوية على السطح الصلب وتشكل طبقة مكثفة conditioning layer.
- 2- التصاق الخلايا الجرثومية على هذه الطبقة وتشكيلها لمستعمرات صغيرة.
- 3- نمو وانتشار الغلاف الحيوي الجرثومي عبر نمو هذه المستعمرات الصغيرة عن طريق التصاق عضيات دقيقة أخرى وتشكل تشعبات الأقنية المائية ثم انفصالها إلى الوسط الخارجي للسماح لها بالانتقال إلى سطح جديد ونشر الإنتان. (Ch'ng, Chong et al. 2019)

مع نمو الغلاف الحيوي الجرثومي تخضع بينته وتركيبه لتعديلات لتتناسب مع الظروف البيئية (توافر الغذاء، الخصائص الفيزيائية والكيميائية لسطح الارتباط، طبيعة حركة السوائل إضافة إلى خصائص النوع الجرثومي). (Donlan 2002) (Costerton, Stewart et al. 1999)

وليتمكن من التكيف مع الظروف المحيطة يجب على الجراثيم ضبط وتنظيم مورثاتها حتى تتمكن من الحصول على النمط الظاهري المناسب لتلك الظروف، حيث يختلف النمط الظاهري لجراثيم الغلاف الحيوي الجرثومي عن نظيرتها العوالية. فأثناء نمو اللويحة تتفعل العديد من المورثات، بما في ذلك المورثات التي تضبط الالتصاق بالسطح (التكدس) وإنتاج السموم والمورثات التي تدعم نمو وانتشار الغلاف الحيوي. (Li, Chen et al. 2000) (Mohammadi, Palazzi et al. 2013)

يؤمن الغلاف الحيوي الجرثومي حماية للجراثيم من الظروف البيئية القاسية عبر حجز المواد الغذائية وتسهيل تبادل المستقلبات بين جراثيم النوع نفسه و/أو أنواع مختلفة ضمنها، كما أنه يحوي تقسيم داخلي منظم يسمح بنمو أنواع مختلفة من الجراثيم ذات متطلبات نمو مختلفة. (Lewis 2001) (Jhajharia, Parolia et al. 2015)

وسمح بتبادل المادة الوراثية بين الخلايا الجرثومية وتحقيق تواصل بينها عبر مسارات إشارة متعددة مما يمكنها من امتلاك خصائص وأنماط ظاهرية جديدة تسهم في نمو وتمايز الغلاف الحيوي وإحداث الفوعة الجرثومية. (Lewis 2001) (O'tool and Kolter 1998) (Parsek and Greenberg 2000)

وبسبب هذا التواصل انتقل التركيز في المعالجة من مفهوم العامل الممرض الفرد إلى مفهوم مجتمع العوامل الممرضة، وتم تطبيقه في سياق معالجة الإنتانات الفموية. (Jenkinson and Lamont 2005) بما في ذلك التهاب النسيج حول الذروية. (Siqueira Jr and Rôças 2009)

1-1-4-2 الغلاف الحيوي الجرثومي في الأخماج اللبية:

يُعتبر Nair أول من قدم وصفا للغلاف الحيوي الجرثومي ضمن الأقنية الجذرية المخمجة باستخدام المجهر الإلكتروني النافذ. (TEM)

يُقسم الغلاف الحيوي الجرثومي في الإنتانات اللبية إلى غلاف حيوي داخل جذري، غلاف حيوي خارج جذري و غلاف حيوي حول ذروي. (Jhajharia, Parolia et al. 2015)

1- الغلاف الحيوي الجرثومي داخل الجذري:

تكون الجراثيم في الإنتانات داخل الجذرية الأولية على شكل تجمّعات متجانسة أو غير متجانسة من الجراثيم الملتصقة على جدران الأقنية الجذرية إضافة إلى الجراثيم العوالية ضمن السوائل الموجودة في لمعتها. حيث يمتد الغلاف الحيوي الجرثومي على جدران الأقنية الجذرية بشكل غير منتظم على طول القناة تتخلله مناطق تحوي جراثيم منفصلة عنه أو مناطق خالية من الجراثيم وتغطي جزءاً أكبر من القناة في حالات التهاب النسيج حول الذروية طويل الأمد ذو آفة ذروية كبيرة. (Ricucci and Siqueira Jr 2010) (Siqueira Jr, Rôças et al. 2002)

يمكن للإنتان أن ينتقل من القناة الجذرية الرئيسية إلى مناطق أخرى من المنظومة القنيوية (كالفرعات الذروية، الأقنية الجانبية، البرزخ، التجاويف والقنيات العاجية). (Ricucci and Siqueira Jr 2010) (Matsuo, Shirakami et al. 2003) والذي بدوره يشكّل تحدي كبير لإجراء تطهير ملائم للمنظومة القنيوية. (Perez, Ricucci et al. 2020) حيث تشكّل هذه التعقيدات التشريحية مخازن للجراثيم المتبقية المسببة لالتهاب النسيج حول الذروي الثانوي (التالي للمعالجة). (Prada, Micó-) (Muñoz et al. 2019)

تُبدى الإنتانات داخل الجذرية الثانوية تنوع جرثومي أقل من الأولية وخاصة في الأقنية الجذرية المعالجة ذات الحشو القنيوي ذو الختم الجيد في حين تبدى الأقنية الجذرية ذات الحشو القنيوي غير الكامل تنوع مشابه لما هو عليه في الإنتانات الأولية. (Sakamoto, Siqueira Jr et al. 2008) وكانت المكورات المعوية البرازية أكثر الأنواع انتشاراً في حالات الإنتانات الثانوية أو التالية للمعالجة وذلك بشكل أكبر من انتشارها في الإنتانات الأولية حيث تم العثور عليها في 89,6% من حالات التهاب النسيج حول الذروية الثانوي بالمقارنة مع 67,5% من حالات التهاب النسيج حول الذروية الأولي. (Sedgley, Nagel et al. 2006) ويُرجّح ذلك إلى قدرتها على البقاء حية ضمن ظروف بيئية قاسية. (Kayaoglu and Ørstavik 2004)

2- الغلاف الحيوي الجرثومي خارج الجذري:

يتميز التهاب النسيج حول الذروية بوجود استجابة مناعية طبيعية ومكتسبة متركزة حول نقاط خروج الإنتان من الأقنية الجذرية. (Cavalla, Letra et al. 2021) وعادة ما تتجح هذه الاستجابة في منع تقدم الإنتان وحجزه ضمن الأقنية المصابة. (Ricucci, Pascon et al. 2006)

ولكن قد تتجح الجراثيم في تجاوز الثقبه الذروية باتجاه النسيج حول الذروية حيث أبدت دراسات متعددة وجود إنتان جرثومي خارج جذري على شكل غلاف مرتبطة بسطح الجذر بالقرب من ذروة الجذر أو على شكل جراثيم عوالية ضمن جسم الآفة الذروية وخاصة في حالات التهاب النسيج حول الذروية التالي للمعالجة. (Ricucci, Candeiro et al. 2016) (Ricucci, Lopes et al. 2018) حيث سُجِّل وجود الغلاف الحيوي الجرثومي في 6% من حالات التهاب النسيج حول الذروية (Ricucci and Siqueira Jr 2010) أبدى بعضها درجات مختلفة من التمدن. (Ricucci, Candeiro et al. 2016) (Ricucci, Martorano et al. 2005) وكان الخراج المزمن ذو الناسور المفتوح على الحفرة الفموية أكثر نمط التهابي مرتبط بوجود إنتان خارج جذري حيث سجل وجود جرثومي خارج جذري في 83% من الحالات وكان معظمها على شكل غلاف حيوي جرثومي حول الثقبه الذروية. (Ricucci, Loghin et al. 2018) قام Leonardo وزملاؤه بفحص المنطقة الذروية لأسنان مقلوعة بحالات لبية مختلفة (لب حي، لب متموت دون آفة ذروية ولب متموت مع آفة ذروية) وأشار إلى أن الغلاف الحيوي الجرثومي يتشكل فقط على جذور الأسنان المصابة بالتهاب نسيج حول ذروية وأنه احتوى على أنواع مختلفة من الجراثيم كالمكورات والعصيات. (Leonardo, Rossi et al. 2007) وفي دراسة أخرى قام Tronstad وزملاؤه بفحص المنطقة الذروية لجذور أسنان مصابة بإنتان داخل الأقنية الجذرية بعد استئصالها جراحياً باستخدام المجهر الإلكتروني الماسح (SEM)، وأشار إلى وجود طبقة مستمرة ملساء عديمة البنية على سطح الجذر قريباً من الذروة وخاصة في المناطق ذات الشذوذات التشريحية تحوي على أنواع جرثومية متعددة أهمها المكورات والعصيات مع وجود أشكال ليفية مرتبطة مع بعضها بواسطة قالب خارج خلوي. (Tronstad, Barnett et al. 1990)

3- الغلاف الحيوي الجرثومي حول الذروي:

يشاهد هذا النمط من الغلاف الحيوي في المنطقة حول الذروية للأسنان المصابة بإنتان داخل جذري وقد يشكل استمراراً مع الغلاف الحيوي داخل الجذرية مما يُرَجَّح اعتماده عليه للبقاء حياً. يكون انتشار الغلاف الحيوي الجرثومي محدداً ضمن الأقنية الجذرية فمعظم الأنواع الجرثومية الموجودة ضمنها عبارة عن جراثيم انتهازية لا تستطيع البقاء حية أمام دفاعات المضيف في المنطقة حول الذروية. (Ricucci and Siqueira Jr 2010) إلا أن بعضها كالشعيات والبروبيونات قد تتغلب على دفاعات المضيف وتُحدث آفة ذروية. (Jontell, Gunraj et al. 1987)

1-1-4-3 الغلاف الحيوي الجرثومي للمكورة المعوية البرازية:

يمر تشكّل الغلاف الحيوي الجرثومي للمكورة المعوية البرازية بثلاث مراحل:

- 1- التصاق المكورة المعوية البرازية على سطوح الأفنية الجذرية وتشكيلها لمستعمرات صغيرة.
 - 2- حلّ الجزء المتمعدن من العاج مما يؤدي إلى زيادة موضّعة لشوارد الكالسيوم والفوسفات وبالتالي تمعدن اللويحة.
 - 3- تمعدن الغلاف الحيوي نتيجة التفاعل بين الجراثيم ومنتجاتها الاستقلابية في العاج.
- ويمكن لعوامل متعددة أن تؤثر على تشكّل الغلاف الحيوي كطاقة سطح الركيزة، توافر الغذاء، Ph الوسط ودرجة الحرارة. (Hubble, Hatton et al. 2003) (Distel, Hatton et al. 2002) يتضمن تشكّل الغلاف الحيوي في المكورة المعوية البرازية تفاعلات معقدة بين عوامل الفوعة المفرّزة، بروتينات السطح، استشعار النصاب وتبادل المادة الوراثية بين الخلايا الجرثومية إضافة إلى تفاعلات أخرى مع أنواع متعددة من الجراثيم لدعم نمو ومقاومة الغلاف الحيوي. (Ch'ng, Muthu et al. 2022)

يُبدى الغلاف الحيوي للمكورة المعوية البرازية خواص فيزيائية وكيميائية متكيفة مع الظروف البيئية المحيطة. ففي الظروف الملائمة يكون الغلاف الحيوي ذو شكل نموذجي من حيث نمو الخلايا الجرثومية وتجمعها على سطح الركيزة وتشعب الأفنية المائية بينها، وبالمقابل يكون على شكل تجمعات غير منتظمة من الخلايا الجرثومية مع وجود خلايا جرثومية متموتة في الظروف البيئية القاسية وشحّ التغذية. (Jhajharia, Parolia et al. 2015) حيث يزداد تصنيع البروتين وتنخفض مستويات الحمض النووي في هذه الخلايا، بما في ذلك البروتينات المسؤولة عن العمليات الاستقلابية، البروتينات المرتبطة بالفوعة الجرثومية (كالبروتينات وبروتينات الالتصاق) والبروتينات المرتبطة بمقاومة المضادات الحيوية (كالترسيكلينات والبيتالاكتامات). (Francisco, Delboni et al. 2019)

1-1-4-4 آليات مقاومة الغلاف الحيوي الجرثومي للعوامل المضادة للجراثيم:

سُجّلت مقاومة المكورات المعوية البرازية للأمينوغليكوزيدات كالجنتاميسين والستربتومايسين في سبعينيات القرن الماضي ولفئة البيتا لاكتام والجليكوببتيدات في الثمانينات. (Leclercq, Derlot et al. 1988) (Murray 1990) (García-Solache and Rice 2019)

تُبدى المكورات المعوية البرازية مقاومة للمضادات الحيوية بسبب جدرانها السميكة والنفوذية المنخفضة لغشائها الخلوي وتشكيلها الغلاف الحيوي. (Rello, Campogiani et al. 2020)

(Sandoe, Witherden et al. 2003) فهي تتبنى استراتيجيات خاصة عند التعرض لبيئات قاسية وتشكل نوعاً محدداً من الخلايا الجرثومية ضمن مجتمع الغلاف الحيوي تعرف بالخلايا المُستديمة (persister) cells تكون أكثر قدرة على التكيف ومقاومة هذه الظروف من باقي خلايا المجتمع الحيوي للغلاف من خلال إيقاف نموها وتغييرها للنمط الظاهري. (Fisher, Gollan et al. 2017)

تبقى الخلايا المُستديمة دون نمو أو انقسام ضمن الغلاف الحيوي، وبوجود الظروف البيئية الملائمة (توفر الغذاء وغياب العوامل المؤثرة كالمضادات الحيوية وتدفق سوائل الإرواء على جدران القناة) تعود لتنمو بسرعة وتتكاثر في مرحلة ما بعد المعالجة. (Pont, Bernay et al. 2024)

أشار Pajkos إلى أن جراثيم الغلاف الحيوي الجرثومي تمتلك معدل استقلاب أقل ونمو أبطأ للقلب خارج الخلوي في حالات نقص الغذاء مما يدخلها في حالة عدم نمو أو نمو بطيء والذي بدوره يحمي الجراثيم من تأثير المضادات الحيوية التي تكون أكثر فعالية على الجراثيم التي تنمو بشكل سريع. ويمكن للتغيرات الكيميائية التي تطرأ على البيئة المحيطة كنقص الأكسجين وتراكم الفضلات الاستقلابية الحمضية أن تعطل عمل بعض المضادات الحيوية. (Portenier, Waltimo et al. 2003)

(Pajkos, Vickery et al. 2004) (Athanassiadis, Abbott et al. 2007)

يمكن للقلب البوليميري خارج الخلوي الحاوي على عديدات السكار أن يقلل انتشار المضادات الحيوية وأن يخفض من فعاليتها ضد الجراثيم حيث يحتجز هذا القلب بعض الإنزيمات الجرثومية خارج الخلية كالبيتا لكتاماز ويزيد من تركيزها وبالتالي تعطيل عمل فئة البيتا لكتام من المضادات الحيوية. وتحمي الجراثيم نفسها باندخالها ضمن الجزء الداخلي من الغلاف الحيوي وبالتالي يكون تأثير المضادات الحيوية مقتصرًا على الجراثيم الموجودة في الأجزاء المحيطية للغلاف الحيوي.

(Goh, Yong et al. 2017) (Dunavant, Regan et al. 2006)

كما يُمكن للمكورات المعوية البرازية الموجودة ضمن القنيات العاجية مقاومة تأثير ضما د هيدروكسيد الكالسيوم لمدة 10 أيام بتشكيلها للغلاف الحيوي والذي يجعلها أكثر مقاومة بـ 1000 مرة لأضداد المضيف والمضادات الحيوية من العضويات الدقيقة غير المشكّلة للغلاف الحيوي الجرثومي.

(Sedgley, Lennan et al. 2005)

الفصل الثاني الإرواء في المعالجات اللبية القنيوية

1-2-1 سوائل الإرواء Irrigants:

لفترة طويلة، كان يُنظر إلى تنضير وتطهير منظومة الأقنية الجذرية على أنه وظيفة التحضير الميكانيكي في المقام الأول بينما كان الاهتمام بسوائل الإرواء أقل. (Schilder 1974) حيث وُجد أن التحضير الميكانيكي قادر لوحده على تخفيض أعداد الجراثيم الموجودة ضمن الأقنية الجذرية بإزالتها ميكانيكياً وتعريضها للأكسجين كون الجراثيم اللاهوائية أقل تحملاً للأكسجين.

(BYSTRÖM and SUNDQVIST 1981)

ولكن تبيّن أن أكثر من 35% من مساحة الأقنية الجذرية تبقى دون تحضير بغض النظر عن طريقة التحضير المستخدمة. (Wong, Cheung et al. 2023) وقد تصل إلى 80% في الأقنية الجذرية ذات البنية الجذرية الأكثر تعقيداً. (Siqueira Junior, Rôças et al. 2018) حيث تستعمر العضيات الدقيقة المتبقية ضمن القنّيات العاجية والأجزاء غير المحضرة الأقنية الجذرية مجدداً وتسبب التهاب نسج حول ذروية ثانوي (تالي للمعالجة) (Zehnder 2006)

ويتشكل على جدران الأقنية الجذرية نتيجة التحضير الميكانيكي طبقة من مكونات عضوية ولا عضوية من البرادة العاجية، البقايا اللبية والعضويات الدقيقة ومنتجاتها تدعى طبقة اللطاخة Smear layer والتي تشكل حماية للويحة الجرثومية الملتصقة على جدران القناة وتتداخل مع تكيف مواد الحشو القنيوي عليها. (Zehnder 2006) كما أنها تمنع وصول الهيبوكلوريت إلى القنّيات العاجية.

(Tonini, Giovarruscio et al. 2020)

تؤكد هذه العوامل على حجم أهمية سوائل الإرواء في إزالة طبقة اللطاخة والجراثيم ومنتجاتها من المناطق غير المحضرة والتي يصعب الوصول إليها بالتحضير الميكانيكي فقط. (Zou, Shen et al. 2010) وعلى الرغم من استخدام العديد من سوائل الإرواء في العيادات، إلا أنه لا يوجد سائل أو محلول إرواء واحد يلبي جميع متطلبات تطهير الأقنية الجذرية بشكل فعال وآمن دون آثار جانبية.

(Kawashima, Wadachi et al. 2009)

يُعرّف إرواء الأوعية الجذرية على أنه إجراء لتوصيل محلول أو سائل الإرواء إلى منظومة الأوعية الجذرية قبل، أثناء وبعد التحضير الميكانيكي للأوعية الجذرية. ويهدف إلى الفصل الميكانيكي لكل من النسيج اللبي، البرادة العاجية، طبقة اللطاخة الناجمة عن التحضير، العضيات الدقيقة ومنتجاتها عن جدران الأوعية الجذرية وتثبيتها وحلها كيميائياً خارج منظومة الأوعية الجذرية. (Kim, Kwon et al. 2017)

وتقسم سائل الإرواء إلى خاملة وفعالة:

سائل الإرواء الخاملة: وهي تستخدم بهدف الغسل فقط إلا أنها قادرة على تخفيض الحمل الجرثومي ضمن الأوعية الجذرية عبر الإزالة الميكانيكية بفعل التدفق كالماء المقطر ومحلول السالين الملحي. (Kim, Kwon et al. 2017) (Marinho, Martinho et al. 2014)

سائل الإرواء الفعالة:

تصنف سائل الإرواء الأكثر شيوعاً إلى: (Basrani and Haapasalo 2012)

1- عوامل كيميائية:

- (1) حالة للنسج كهيبوكلووريت الصوديوم
- (2) مضادة للجراثيم: إما مثبطة للنمو الجرثومي كالكلورهيكسيدين وبعض المضادات الحيوية أو قاتلة للجراثيم كهيبوكلووريت الصوديوم وبعض المضادات الحيوية.
- (3) مخلبة قوية كـ EDTA أو ضعيفة كـ HEBP
- (4) منتجات تجمع بين الخاصية المضادة للجراثيم وحل النسج: MTAD، QMix، Tetraclean و Smearclear.

2- عوامل طبيعية: كالشاي الأخضر و الـ Triphala

الصفات التي يجب أن يتمتع بها سائل الإرواء المثالي: (Basrani and Haapasalo 2012)

- (1) قاتل جرثومي وقاتل فطري فعال.
- (2) غير مخرش للنسج حول الذروية.
- (3) مستقر في المحاليل.
- (4) له تأثير طويل الأمد مضاد للعضويات الدقيقة يبقى مستمراً بعد الإستعمال.
- (5) فعال في وجود الدم والمصل ومشتقات البروتين.
- (6) قادر على الإزالة الكاملة لطبقة اللطاخة.
- (7) ذو توتر سطحي منخفض.
- (8) يمكن تثبيطه ضمن أوساط الزرع.
- (9) لا يتداخل مع شفاء الأنسجة حول الذروية.
- (10) لا يحدث تصبُّغ في بنية السن.
- (11) قادر على تطهير العاج/القنيات العاجية.
- (12) لا يحدث استجابة مناعية خلوية وغير مسرطن وغير سام لخلايا النسج حول السنية.
- (13) ليس له آثار ضارة على الخصائص الفيزيائية للعاج .
- (14) ليس له آثار ضارة على قدرة الختم لمواد الحشو.
- (15) سهل الاستخدام والتطبيق.
- (16) غير مكلف.

1-2-2 هيبوكلوريت الصوديوم: NaOCl

واحد من أكثر أنواع سوائل الإرواء الموصى بها والمستخدم على نطاق واسع بسبب فعله المضاد للجراثيم وعوامل الفوعة وقدرته على حل مكونات اللويحة الجرثومية وبقايا النسيج اللبي. (Busanello, 2019) (Petridis et al. 2016) (Hong, Baik et al. 2016)

تم إنتاج هيبوكلوريت الصوديوم للمرة الأولى في عام 1789 في مدينة جافيل في فرنسا وتم استخدامه بتركيز 0.5% لتطهير الجروح في الحرب العالمية الأولى من قبل ديكين. (Basrani and 2012) (Haapasalo 2012)

وهو مؤكسد قوي تتحدد فعاليته من كمية الكلورين الحر الموجود ضمنه، إذ يمتلك تأثيراً مضاداً لطيف واسع من العضيات الدقيقة بما في ذلك الفطور والفيروسات فبينما يكون الأكسجين مسؤولاً عن قتل الجراثيم اللاهوائية ضمن الأوعية الجذرية يتحقق تحلل النسيج اللبي المتآخر عبر التأثير الحال للبروتين للكلورين الحر. (Kim, Kwon et al. 2017) إلا أن تركيز الكلورين الحر في هيبوكلوريت الصوديوم ينخفض بمرور الوقت وتعرضه للضوء، الحرارة، الهواء، المعادن، الشوارد المعدنية والمواد العضوية. (Clarkson, Moule et al. 2001)

في درجة حرارة الجسم الطبيعية يمكن أن يأخذ الكلورين التفاعلي في المحاليل المائية شكلين أساسيين: الهيبوكلوريت (OCI^-) وحمض الهيبوكلوروس ($HOCl$) وتعتمد حالة الكلورين المتوفر على درجة حموضة المحلول، فيكون الهيبوكلوريت (OCI^-) هو الشكل المهيمن للكلورين في درجة الحموضة فوق 7.6 ويكون حمض الهيبوكلوروس ($HOCl$) هو المهيمن دونها، وكلا الشكلين عبارة عن عوامل مؤكسدة عالية التفاعل.

تمتلك محاليل الهيبوكلوريت النقية المستخدمة في المعالجة اللبية درجة حموضة 12، وبالتالي فإن كل الكلورين الحر يكون على شكل هيبوكلوريت OCI^- . وبما أن حمض الهيبوكلوروس أكثر فعالية في قتل الجراثيم من الهيبوكلوريت يمكن زيادة فعالية محاليل الهيبوكلوريت عبر خفض درج الحموضة. (Zehnder 2006) (Jungbluth, Marending et al. 2011)

1-2-2-1 خصائص هيبوكلوريت الصوديوم:

يعتبر سائل الإرواء المفضل حاليًا فهو يمتلك فعالية مضادة للجراثيم، حال ممتاز للأنسجة العضوي، مزلق لأدوات التحضير القنيوي وفَعَال بسرعة إلى حد ما. (Basrani and Haapasalo 2012) (Walsh and George 2017)

1- حل النسيج العضوية:

- يقوم هيبوكلوريت الصوديوم بحل المواد العضوية من خلال ثلاثة تفاعلات:
- (1) تحليل الأحماض الدهنية إلى أملاح وغلشرين من خلال تفاعل التصبن.
 - (2) تحييد الأحماض الأمينية عن طريق تشكيل الماء والأملاح (تفاعل التحييد) وإنتاج جذور الهيدروكسيل.
 - (3) حل البروتينات عبر استبدال الهيدروجين ضمن مجموعة الأمين ($-NH-$) بالكلورين ($-NCL-$) وتشكيل الكلورامين والذي بدوره يعيق عمليات الاستقلاب الجرثومي. (Estrela, Estrela et al. 2002) (Zollinger, Attin et al. 2019)

2- التأثير المضاد للجراثيم:

يعتبر سائل الإرواء الوحيد الذي يمتلك القدرة على تفكيك وتعطيل اللويحة الجرثومية (Zollinger, Attin et al. 2019) فهو يمكن أن يحدث تأثيرات مختلفة على الجراثيم المقيمة في اللويحة الجرثومية: (أ) التحلل الكامل للخلايا الجرثومية (ب) تموت وانفصال الخلايا الجرثومية عن اللويحة الجرثومية (ج) تبقى الخلايا الجرثومية ملتصقة ضمن اللويحة الجرثومية مع تموتها (د) تنفصل الخلايا الجرثومية عن اللويحة الجرثومية مع بقائها حية (هـ) تبقى الخلايا الجرثومية حية وملتصقة باللويحة الجرثومية. (Kandaswamy and Venkateshbabu 2010)

يتشكل حمض الهيبوكلوروس في محاليل الهيبوكلوريت، والذي يتحلل بعد ذلك ضمن الأتنية الجذرية إلى أكسجين بيئي جديد يساهم في تخريب البروتينات الجرثومية ويعيق الفسفرة التأكسدية للويحة الجرثومية وتصنيع الحمض النووي الجرثومي ويُحدث تأثير قاتل للجراثيم واسع الطيف. (Zou, Zheng et al. 2024)

وله القدرة على تعطيل السموم الداخلية للجراثيم كحمض الليبوتيكويد (Hong, Baik et al. 2016) وعديدات السكاكر الشحمي (LPS) وهو أحد مكونات الغشاء الخارجي للجراثيم سلبية الغرام وهو وسيط مهم في تطور التهاب النسيج حول الذروي. ومن المعروف أنه يزيد من الإحساس بالألم في حالات الإنتان اللبي. (Marinho, To et al. 2018) إضافة إلى العديد من الإنزيمات الجرثومية عبر أكسدة مجموعة السلفدريل SH- بشكل غير عكوس. (Gambarini, Gerosa et al. 2008)

3- درجة الحموض العالية:

يُعتبر هيبوكلوريت الصوديوم أساساً قوياً (درجة الحموضة < 11) ويُحدث تأثيراً مضاداً للجراثيم مشابهاً لآلية عمل هيدروكسيد الكالسيوم (عمل أيونات الهيدروكسيل). تتداخل درجة الحموضة العالية مع تماسك الغشاء السيتوبلازمي للجراثيم بسبب التثبيط الإنزيمي غير القابل للعكس، تعديل الاستقلاب الخلوي وهدر كسلة الليبيدات. (Estrela, Estrela et al. 2002)

4- تأثير التركيز وفترة التعرض:

لا يوجد إجماع حتى الآن بشأن التركيز الأمثل لمحاليل الهيبوكلوريت، حيث تتراوح قيم التراكيز المقترحة من 0.5 إلى 8.25%. (Demenech, de Freitas et al. 2021) يمكن لمحلول هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز فوق 2.5% حل الأنسجة العضوية، ومع زيادة التركيز، درجة الحرارة كمية الإرواء والوقت، يتم تعزيز التأثير القاتل للجراثيم وقدرة حل الأنسجة العضوية تدريجياً. (Zou, Zheng et al. 2024) وقد اقترح استخدام التراكيز الأعلى للقضاء على اللويحة الجرثومية للمكورات المعوية البرازية إذ أنها قادرة على تحمل تأثير هيبوكلوريت الصوديوم في التراكيز القليلة. (Mohammadi and Abbott 2009)

خلصت دراسات سابقة إلى أن التراكيز الأعلى قد توفر ميزات أكبر على الرغم من ضعف الأدلة (Fedorowicz, Nasser et al. 2012) في حين لم تكشف الدراسات السريرية الحديثة عن وجود فرق كبير في التأثير المضاد للجراثيم أو شفاء التهاب النسيج حول السنية الذروي بين تركيزات مختلفة من الهيبوكلوريت. (Ulin, Magunacelaya-Barria et al. 2020) وينصح عمومًا بتجديد الهيبوكلوريت بشكل متكرر أثناء التحضير الكيميائي الميكانيكي. (Macedo, Wesselink et al. 2010) إذ أن إطالة فترة تعرض اللويحة الجرثومية للهيبوكلوريت يسهل من إزالتها، طالما لم يتم استنفاد الكلورين، ويبدو أيضًا أن هذا التأثير يتكثف بزيادة التركيز. (Petridis, Busanello et al. 2019)

إلا أن زيادة التركيز قد تؤدي أيضاً إلى تأثيرات غير مرغوبة، حيث يؤثر هيبوكلوريت الصوديوم على الكولاجين في القلب العضوي للعاج، وخاصة بعد التعرض المسبق لعامل مخلب، وقد يؤدي هذا إلى تغيير معامل المرونة، قوة الشد وصلابة العاج. (Pascon, Kantovitz et al. 2009) وبالتالي، فإن حجم الهيبوكلوريت الذي يجب توصيله، وقت التعرض المطلوب، تكرار الإرواء وتركيز المحلول هي إجراءات مترابطة تعتمد بقوة على الظروف المتغيرة للغاية في منظومة أقمية الجذرية. (Zou, Zheng et al. 2024)

5- تأثير درجة الحرارة:

اقترح تسخين الهيبوكلوريت كطريقة أخرى لتحسين فعالية المحاليل منخفضة التركيز، (Sirtes, Waltimo et al. 2005) إما خارج الفم بمصدر حراري أو داخل الأقمية الجذرية باستخدام الأدوات فوق الصوتية Ultrasonic، حامل حراري أو الليزر. (Iandolo, Abdellatif et al. 2020) (Shahriari, Kasraei et al. 2017)

يُخفّض تسخين الهيبوكلوريت من لزوجة المحلول ويزيد من تدفقه ضمن الأقمية الجذرية واختراقه للقنات العاجية ويحسن من خواصه المطهرة والحالة للنسج. (Shahriari, Kasraei et al. 2017) وبالرغم من تعدد محاسن هذه الطريقة إلا أنها تمتلك مساوئ أيضاً حيث أن التسخين غير المضبوط للمحلول داخل قناة الجذر قد يؤدي إلى انتقال الحرارة عبر عاج الأقمية الجذرية ويشكل خطراً على النسج المحيطة، العظم السنخي والرباط حول السني. (Sirtes, Waltimo et al. 2005)

1-2-2-2 محدوديات هيبوكلوريت الصوديوم:

1- غير قادر على إزالة الجزء اللاعضوي من طبقة اللطاخة مما يوجب استخدامه مع عامل مخلب كـ EDTA. (Zehnder 2006)

2- يخفّض من قوة الارتباط بين عاج الأقمية الجذرية وأنظمة الربط حيث يزيل ألياف الكولاجين من سطح العاج مما يمنع تشكل طبقة هجينة ثابتة. (Gomes, Vianna et al. 2013) إضافة إلى أن تجمع بقايا نواتج أكسدة الهيبوكلوريت للنسج العضوية قد يؤثر سلباً على تماثر أنظمة الربط. (Pimentel, Cecchin et al. 2016)

- 3- ذو رائحة غير محببة، تأثير غير مديد ويسبب تآكل المعادن. (Basrani and (Kim, Kwon et al. 2017) (Haapasalo 2012
- 4- يؤثر سلباً على الخواص الميكانيكية للعاج كمعامل المرونة، مقاومة الانثناء والقساوة الدقيقة فهو يؤثر بشكل غير تمييزي على النسيج العضوية ويقوم بأكسدة القالب العضوي للعاج ويخرب محتوى طبقة اللطاخة من الكولاجين. (Zehnder 2006) (Zhang, Kim et al. 2010) (Rath, Yiu et al. 2020)
- 5- غير ثابت في المحاليل حيث ينخفض محتواه من الكلورين ويتم استهلاكه بسرعة عند تماسه مع النسيج العضوية. (Van der Sluis, Versluis et al. 2007)
- 6- ذو سُمية خلوية عالية ومخرش للنسج حول السنية وخاصةً في التراكيز العالية في حال تجاوزه للثقة الذروية، فعند تماسه مع النسيج الحية يقوم بأكسدة سريعة لها ويسبب حلها وتقرُّحها، كما يسبب ألماً ونزفاً شديدين، كدمة واضحة، تؤذم مباشر وخدر في منطقة الإصابة أحياناً. (Gonçalves, Rodrigues et al. 2016) (Bramante, Duque) (et al. 2015) (Guivarc'h, Ordioni et al. 2017)
- 7- يقدّم تحديات في سياق المعالجة اللبية التجديدية حيث يتداخل مع التصاق الخلايا الجذعية مع العاج ويثبط قدرة عوامل النمو الموجودة ضمن العاج على إحداث التجدد اللبي-العاجي. (Fouad 2017) (Kim, Kwon et al. 2017)

1-2-3 الكلورهيكسيدين: CHX

هو عبارة عن بيسبيغوانيد موجب الشحنة، اقترح كسائل إرواء نهائي في المعالجات اللبية. (Basrani and Haapasalo 2012) يُستخدم على نطاق واسع في طب الأسنان بتركيز 0.12% كغسول فم و 0.2% كسائل إرواء في المعالجات اللبية. (Gomes, Vianna et al. 2013) يمتلك الكلورهيكسيدين فعالية مضادة لطيف واسع من الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام، اللاهوائيات المجبرة و المخيرة، الفطور الخمائية (وخصوصا المبيضات البيض) وبعض الفيروسات. (Gomes, Vianna et al. 2013) (Gonçalves, Rodrigues et al. 2016) ويُعزى تأثيره الجرثومي إلى التفاعل الكهروستاتي بين شحنته الموجبة والجزيئات سالبة الشحنة على سطوح جدران الخلايا الجرثومية (مجموعة الفوسفات) والتي تؤدي إلى اختلال التوازن الحلوي وانحلال الخلية الجرثومية. وتعتمد فعاليته على درجة حموضة الوسط PH حيث تتراوح درجة الـ PH المناسبة لعمله (5.5-7) والتي تقع ضمن PH أنسجة الجسم. (Kandaswamy and Venkateshbabu 2010)

يمكن تطبيق الكلورهيكسيدين في أي مرحلة من مراحل المعالجة اللبية بدءاً من تطهير مساحة العمل وأثناء توسيع فوهات الأقمية، إزالة النسيج اللبي المتخثر والتحصير الميكانيكي الكيميائي. كما يمكن استخدامه كضمد داخل قنيوي إما لوحده أو مع مواد علاجية أخرى. (Gomes, Vianna et al. 2013)

1-3-2-1 محاسن الكلورهيكسيدين: CHX

- 1- عدم وجود طعم سيء أو رائحة غير مُحَبَّبة. (Marinho, To et al. 2018)
- 2- ذو تأثير مديد، فهو يرتبط بالعاج ويُعطي تأثير مُطوّل مضاد للجراثيم والذي يمكن أن يمنع إعادة استعمار الخلايا الجرثومية للأقمية الجذرية بعد المعالجة اللبية. (Komorowski, Grad et al. 2000) (Neelakantan, Herrera et al. 2019) كما يحتفظ بفعاليته حتى بعد تماسه مع الدم، الجروح، الحروق والمواد العضوية. (Gelinas and Goulet 1983)
- 3- فعال ضد جراثيم اللويحة السنية، إلا أنه لا يؤثر على بينتها. (Gomes, Vianna et al. 2013)

4- يزيد من قوة ارتباط العاج حيث يشبّط عمل الميتالوبروتيازات (MMPs (Matrix Metalloproteases التي تلعب دوراً في تفكيك الكولاجين ضمن القلب العضوي للعاج وبالتالي يساعد في الحفاظ على بنية جيدة للعاج للارتباط بالمواد ذات الأساس الراتنجي والحفاظ على طبقة هجينة ثابتة. (Kandaswamy and Venkateshbabu 2010)

5- يساهم في زيادة طاقة السطح للعاج وبالتالي زيادة قدرة ترطيب السطح لمعاجين الحشو القنيوي وتكيفها على سطح العاج. (Prado, Simao et al. 2014)

6- كما يمكن استخدامه لتطهير أقماع الكوتابيركا. (Gomes, Vianna et al. 2013)

1-2-3-2 مساوي الكلورهيكسيدين: CHX

- 1- عدم قدرته على حل النسيج العضوية. (Gonçalves, Rodrigues et al. 2016)
- 2- عدم قدرته على تثبيط/تحييد السموم الداخلية للجراثيم. (Marinho, To et al. 2018)
- 3- تفاعله مع سوائل الإرواء الأخرى، حيث يشكل راسب أبيض حليبي مع EDTA عبر تفاعل حمض-أساس يتجمع على جدران الأقنية. (Gomes, Vianna et al. 2013) كما يشكل معقد سام ذو لون برتقالي إلى بني مع هيبوكلوريت الصوديوم والذي قد يسبب تلون السن أيضاً. (Jeong, Sarmast et al. 2021)

4- يمتلك الكلورهيكسيدين سمية خلوية مساوية أو أكبر من سمية هيبوكلوريت الصوديوم في التركيز نفسه على عكس الاعتقاد السائد. (Scott II, Zilinski et al. 2018) وقد أبدى آثار سمية مباشرة وغير مباشرة على الخلايا الجذعية في الحليمة الذروية. (Widbiller, Althumairy et al. 2019)

5- وعلى الرغم من أن التأثير المديد للكلورهيكسيدين يعتبر من أفضل خصائصه إلا أن بعض الدراسات اعتبرت أن هذا التأثير مبالغ فيه وأن الفعالية المضادة للجراثيم لا تمتد لأكثر من

6- 12 أسبوع بعد تطبيق الكلورهيكسيدين ضمن الأقنية الجذرية. (Barrios, Ferrer- Luque et al. 2013) وهي تُعتبر مدة ذات أهمية قليلة مقارنة بالفترة الزمنية التي من المتوقع أن تبقى فيها الأسنان المعالجة لبيا سليمة ووظيفية ضمن الفم. (Boutsioukis and Arias-Moliz 2022)

1-2-4: Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)

تُعيق البرادة العاجية والبقايا اللبية الناتجة عن التحضير القنيوي فعالية سوائل الإرواء المضادة للجراثيم (Kim, Kwon et al. 2017) حيث تُشكل ركائز للاستقلاب الجرثومي، تمنع الانتشار الأمثل لسوائل الإرواء وتؤثر على الختم القنيوي التاجي الذروي مما يُسهم في عودة الإنتان وحدوث التهاب نسيج حول ذروي ثانوي. (Neelakantan, Herrera et al. 2019) ولتحقيق قتل جرثومي كافٍ ضمن الأقنية الجذرية يجب استخدام سائل إرواء قادر على اختراق أو إزالة طبقة اللطاخة والبرادة العاجية. (Kim, Kwon et al. 2017) لا يوجد حتى الآن سائل إرواء قادر على التأثير على كل من المكونات العضوية وغير العضوية لطبقة اللطاخة في آن واحد. (Zhang, Kim et al. 2010) ولذلك يجب الجمع بين استخدام سائل إرواء مضاد للجراثيم مع عامل مخلص لتحقيق إزالة كاملة لنواتج التحضير وتطهير وتنظيف أفضل للأقنية الجذرية والسماح لسوائل الإرواء والضمادات داخل قنيوية باختراق أكبر ضمن القنيات العاجية. (Fouad 2011)

يعتبر EDTA العامل المخلص الأشيع في المعالجات اللبية. (Willershausen, Wolf et al. 2015) مخلص قوي قادر على إزالة البرادة العاجية وطبقة اللطاخة عند تطبيقه بعد انتهاء التحضير الميكانيكي للأقنية الجذرية ويمتلك درجة حموضة معتدلة إلى قلوية خفيفة (PH=7-8). يقوم بالتأثير على الجزء اللاعضوي من طبقة اللطاخة عبر تخليب الكالسيوم حيث يتفاعل مع أيونات الكالسيوم ضمن العاج ويشكل مخرجات كالسيوم قابلة للانحلال بالماء. (Zhang, Kim et al. 2010) (De-) (Deus, Zehnder et al. 2008)

أثناء المعالجة اللبية يقوم EDTA بخلب الكالسيوم من العاج داخل القنيوي حتى $20-30\mu\text{m}$ خلال 5 دقائق ولكن يتوقف تأثيره عند عمق $50\mu\text{m}$ حتى بعد 24 ساعة. وكان الإرواء المستمر لـ 5 mL من EDTA بتركيز 17% لمدة 3 دقائق ضمن بروتوكول الإرواء النهائي فعالاً في إزالة طبقة اللطاخة من جدران الأقنية الجذرية. (Kandaswamy and Venkateshbabu 2010)

1-4-2-1 محاسن EDTA:

- 1- إزالة الجزء اللاعضوي من طبقة اللطاخة. (Kandaswamy and Venkateshbabu 2010)
- 2- ذو فعالية ضعيفة مضادة للجراثيم تعتمد على حساسية الجراثيم نفسها تجاه EDTA. (Prado, Silva et al. 2015) إضافة إلى قدرته على فصل اللويحة الجرثومية الملتصقة على جدران الأقنية الجذرية بسبب تأثيره المخلب والذي يسهم في إزالة عديد السكاكر الشحمية بشكل غير مباشر من السطوح العاجية. (Marinho, To et al. 2018) (Busanello, Petridis et al. 2019)
- 3- تثبيط تأثير MMPs (Matrix Metaloproteases) خلال 1-2 دقيقة من تطبيقه ضمن الأقنية الجذرية وبالتالي حماية الطبقة الهجينة المشكلة من قبل أنظمة الربط. (Thompson, Agee et al. 2012)
- 4- يُسهم في تحرير عوامل النمو من القلب العاجي للعاج الجذري. (Fouad 2011)
- 5- يُمكن تحسين تأثيره المخلب من خلال تنشيطه بأجهزة الأمواج فوق الصوتية. (Herrera, Santos et al. 2013)

1-4-2-2 مساوئ EDTA:

- 1- ذو فعالية مضادة للجراثيم ضعيفة بالمقارنة مع هيبوكلوريت الصوديوم والكلورهيكسيدين. (Fouad 2011) (Zehnder 2006)
- 2- يتداخل مع عمل هيبوكلوريت الصوديوم حيث يخفّض من كمية الكلورين الحر ضمن المحلول وبالتالي يخفّض من فعالية الهيبوكلوريت ضد الجراثيم وفي حل النسيج العضوية. (Herrera, Santos et al. 2013) (Zehnder 2006)

3- كما يتفاعل مع الكلورهيكسيدين ويشكل راسب حليبي ضمن القناة. (Gomes, Vianna et al. 2013)

4- يُعتبر EDTA مادة ملوثة للبيئة فهو غير قابل للتحلل الحيوي بسهولة. (Oviedo and Rodríguez 2003) ويُبدي سمية خلوية تجاه النسيج حول الذروية بتركيز مختلفة. (Ballal, Kundabala et al. 2009)

تم استخدام عوامل مخلبة أخرى ذات تقبل حيوي أكبر كسوائل إرواء ضمن الأقنية الجذرية كحمض الستريك وحمض الماليك (Ballal, Kundabala et al. 2009) (Amaral, Rogero et al. 2007) إلا أن الدراسات وجدت أنهما يتداخلان مع عمل الهيوكلوريت (Ballal, Moorkoth et al. 2011) (Zehnder, Schmidlin et al. 2005) إضافة إلى انخفاض الفعالية المضادة للجراثيم لحمض الستريك. (Arias-Moliz, Ferrer-Luque et al. 2009)

1-2-5 الخلائط: Mixtures

تحتاج سوائل الإرواء إلى أداء مجموعة من الأدوار لإنجاز الهدف المطلوب من المعالجة اللبية، ونظراً لعدم توافر سائل إرواء مثالي يقوم بهذه الأدوار جميعاً في آن واحد، فقد تم تطوير عدة منتجات من محلولين أو أكثر من أجل جمع خصائصها المرغوبة. (Boutsioukis and Arias-Moliz 2022)

هذه المنتجات كـ Biopure MTAD، Qmix و Tetraclean تحتوي على عامل مضاد للجراثيم، عامل مخلب وعامل مخفض للتوتر السطحي للمحلول. وبالرغم من اقتراح هذه المنتجات في معظم الدراسات كسائل إرواء نهائي في نهاية المعالجة اللبية كبديل عن EDTA ولدعم المفعول المضاد للجراثيم لهيبوكلوريت الصوديوم (Stojicic, Shen et al. 2012) (Torabinejad, Khademi et al. 2003) (Giardino, Ambu et al. 2007) تشير الأدلة المتاحة حالياً أنها لا توفر أي ميزة واضحة مقارنة باستخدام كل من هيبوكلوريت الصوديوم و EDTA بعد التحضير القنيوي. (Ye, Fan et al. 2018) (Ordinola-Zapata, Bramante et al. 2013) إضافة إلى المخاوف الأخرى المتعلقة بالمقاومة الجرثومية وتغير لون الأسنان بفعل الدوكسي سيكلين الموجود في MTAD و Tetraclean. (Tay, Mazzoni et al. 2006)

1-2-6 حمض الفيتيك Phytic Acid:

اكتُشف حمض الفيتيك أو ما يُعرف بالإينوزيتول سداسي الفوسفات Inositol Hexaphosphate (IP6) أو بالPhytate على شكل ملح من قبل Pfeffer عام 1872 وتم وصف بنيته الجزيئية من قبل Anderson عام 1914. (Nassar, Nassar et al. 2021) هو عبارة عن حمض حلقي واستر فوسفات الإينوزيتول ذو صيغة $C_6H_{18}O_{24}P_6$ يمتلك كثافة عالية من الشحنات السالبة وذلك بسبب التشرّد الجزيئي لمجموعات الفوسفات الستة في درجة الحموضة الفيزيولوجية.

يُعتبر أكثر أشكال الإينوزيتول فوسفات الموجود في الطبيعة وهو عامل مهم لعدة وظائف حيوية في الكائنات الحية. حيث يتواجد بشكل كبير في النباتات كالنخالة والحبوب ويشكل مخازن الفوسفات الأساسية فيها. (Schlemmer, Frølich et al. 2009) كما يتواجد في الخلايا الحيوانية كمصدر للميوإينوزيتول ويؤثر على نوع معين من البروتينات داخل الخلية ويسهم في تثبيط أو تعزيز النشاط الفيزيولوجي لها. (Hanakahi, Bartlet-Jones et al. 2000) حيث تُشير الدراسات إلى دور IP6 داخل الخلايا كعامل مساعد في إصلاح الـ DNA إضافة إلى دوره في نقل mRNA المرسل من نواة الخلية إلى العصارة الخلوية. (Shears 2001)

قام Ernst Graf بدراسة خصائص IP6 كمادة كيميائية خاملة، غير مكلفة، غير سامة، متوفرة بكثرة ويمكن الحصول عليها بسهولة من مصادر نباتية مختلفة بإجراءات سهلة نسبياً إضافة إلى إمكانية تطبيقه في مجالات واسعة، وكان أول من أعطى وصفاً معمقاً لخصائص IP6 المضادة للأكسدة والمخلبة للمعادن. (Nassar, Nassar et al. 2021)

يمتلك IP6 ألفة قوية للارتباط بالمعادن الهامة الموجودة في الغذاء في شكلها العنصري بما في ذلك الكالسيوم، الحديد والزنك (Schlemmer, Frølich et al. 2009) (Gupta, Gangoliya et al. 2015) ويشكل معها رواسب غير قابلة للانحلال ويمنع امتصاصها مما قد يؤدي إلى عوز هذه المعادن عند الأشخاص المعتمدين على الأطعمة للحصول على هذه المعادن. (D Kancheva and T Kasaikina 2013)

إلا أن تأثيرات IP6 المتعلقة بالحماية الغذائية يجب ألا تغطي على فوائده (Nissar, Ahad et al. 2017) حيث يبدي تأثيراً مضاداً للأكسدة ويمنع تشكّل الجذور الحرة عبر تخليب الحديد الذي يُحفز تشكّل جذور الهيدروكسيل الحرة. (Graf 1983) (Graf, Empson et al. 1987) (Xu,) (Kanthasamy et al. 2008) إضافة إلى استخدامه كمادة حافظة للأطعمة. (Graf and Eaton 1990)

وأشارت الدراسات إلى تأثيره الواقي من حصيات الكلى والسرطانات (Grases, Costa- 2006) (Bauza et al. 2006) واقترحت استخدامه في دراسات سريرية تجريبية على البشر كعامل مضاد للأورام. (Vucenik and Shamsuddin 2006)

1-6-2-1 حمض الفيتيك في طب الأسنان:

نظراً لبنيته الفريدة وخصائصه المميزة ، فإن حمض الفيتيك يفسح المجال للعديد من التطبيقات في طب الأسنان، كمواد الإلصاق السنية (Nassar, Hiraishi et al. 2013) أو كسائل إرواء في المعالجات اللبية فهو يملك القدرة على إزالة طبقة اللطاخة (Nassar, Hiraishi et al. 2015) إضافة لامتلاكه تأثير قاتل للجراثيم ومزيل للويحة الجرثومية. (Nassar, Nassar et al. 2021) وتأثيره المحرر لعوامل النمو من القنيات العاجية. (Deniz Sungur, Aksel et al. 2019)

1- مواد الإلصاق السنية:

حسّن IP6 من الخواص الميكانيكية لاسمنت فوسفات الزنك وأدت إضافته بتركيز 2% إلى مضاعفة مقاومة الضغط compressive strength وأن استبدال جزء من حمض الفوسفور ب 3- 5% من IP6 أدت إلى أقصى قدر من مقاومة الضغط للاسمنت كما أن إضافة IP6 بمفرده، زادت من سرعة التفاعل التصلبي. وكان الاسمنت الناتج (فيتات الزنك) ذو استقرار أعلى مقارنةً بفوسفات الزنك مما يتيح استخدام هذه الميزة في التطبيقات التي قد يتعرض فيها جزء كبير من اسمنت الإلصاق للعاب. (Li, Forberg et al. 1994)

عند إضافة IP6 بتركيز معين، يمكن أن يقلل بشكل فعال من زمن تصلب اسمنتات سيليكات الكالسيوم دون تغيير مقاومتها لقوى الشد القطرية microtensile strength، وكان هذا التأثير أكثر وضوحاً مع Biodentine™ مقارنةً بـ MTA. (Uyanik, Nagas et al. 2019)

ويُعزى تقليل زمن التصلب إلى الطبيعة المحبة للماء لـ IP6 والتي لها تأثير معزز للتصلب في اسمنتات سيليكات الكالسيوم التي تتصلب من خلال تفاعل الإماهة. ويمكن تفسير ذلك أيضاً من خلال مجموعات الفوسفات ذات الشحنة السالبة الكثيفة في IP6 والتي ترتبط بقوة بالأيونات المعدنية داخل الاسمنتات. (Hsieh, Teng et al. 2009) (Silva and Bracarense 2016)

كما تزيد نسبة الماء إلى المسحوق العالية من مسامية وقابلية انحلال الاسمنت، مما يؤثر سلباً على الخواص الميكانيكية لـ MTA و Biodentine™ ويُعتقد أن استخدام IP6 يؤدي إلى تقليل كمية الماء في الاسمنت، ومع ذلك، لم يتم اكتشاف أي تحسن في مقاومة الشد القطرية. (Uyanik, Nagas et al. 2019)

يُستخدم اسمنت فوسفات الكالسيوم في العديد من التطبيقات في طب الأسنان، مثل طب الأسنان الوقائي، معالجة الأمراض حول السنية، مداواة الأسنان الترميمية واللبية وزراعة الأسنان. (Meyer, Amaechi et al. 2018)

يُعتبر فوسفات الكالسيوم مادة بديلة للعظام تمتلك خصائص مرغوبة، ولكنها تمتلك أيضاً العديد من المحدوديات كزمن التصلب القصير، المقاومة الميكانيكية المنخفضة وصعوبة التطبيق. (Gbureck, Barralet et al. 2004)

في عام 2017، أشار Meiningner وزملاؤه إلى دور IP6 في تأخير تصلب اسمنت فوسفات الكالسيوم، وهو التأثير الذي كان ضرورياً لتلبية المتطلبات السريرية لزمن العمل اللازم للاسمنت الذي يتصلب عادةً في أقل من دقيقة واحدة في بيئة خالية من المواد المؤخرة للتصلب. (Meiningner, Blum et al. 2017)

2- منتجات العناية الفموية:

إن الاهتمام بالتأثيرات الوقائية المحتملة لفئات مختلفة من مركبات الفوسفات بما في ذلك IP6 ضد نخور الأسنان ليس جديداً.

لم يتم فهم آلية عمل IP6 المضادة للنخر بشكل كامل، ولكن يقترح معظم الباحثين تأثيراً موضعياً وليس جهازياً، حيث يمتاز IP6 بسرعة على بلورات الهيدروكسي أباتيت ويشكل طبقة أحادية الجزيئات Monomolecular تلتصق على سطح السن وتزيد مقاومة ميناء الأسنان للهجوم الحمضي من خلال العمل كحاجز يمنع انتشار الأيونات إضافة إلى تعديل شحنة سطح الأسنان وبالتالي منع تشكل اللويحة الجرثومية. (Magrill 1973)

تلتصق الطبقة أحادية الجزيئات Monomolecular على سطح السن بقوة ولا تتأثر بشكل كبير بعد تعرضها للماء والحموض، إذ أنها تشكل 13 رابطة كهربائية ساكنة مع بلورت الهيدروكسي أباتيت مما يمنحها طاقة امتزاز عالية. (Fernández, Ortega-Castro et al. 2017)

أشار Grases وزملائه في دراسة قام بها إلى أن استخدام غسول فموي يحوي IP6 أدى إلى منع تشكل القلح السني. ويعزى هذا التأثير إلى خصائص IP6 التي تؤثر سلباً على التصاق البروتينات وتشكيلها طبقة رقيقة على سطح الأسنان تمنع تبلور فوسفات الكالسيوم. (Grases, Ramis et al. 2000)

وقام Milleman بدراسة محلول مائي من IP6 بتركيز 0.85% في معاجين تجريبية، وأشار إلى قدرته على إزالة التصبغات السنية ومنع تشكلها دون زيادة الفعل الساحل لمعجون الأسنان. وذلك بفعل الطبقة أحادية الجزيئات التي تمنع أيضاً التصاق الجزيئات الصبغية. (Milleman, Creeth et al. 2018)

وبالخلاصة، اقترحت الدراسات استخدام IP6 بخصائصه المضادة للنخر ولتشكل اللويحة والقلح السني ضمن منتجات سنية وفموية متعددة كالغسولات الفموية، المعاجين السنية ومواد تبييض الأسنان وإزالة التصبغات. (Nassar, Nassar et al. 2021)

3- عامل مخرش في أنظمة الربط:

يؤدي تطبيق حمض الفوسفور 37% على العاج إلى كشف ألياف كولاجين خالية تماماً من الهيدروكسي اباتيت، وتكون شبكات هذه الألياف الهشة عرضة للانهيال، مما يمنع الاندخال الأمثل للراتنج وضعف الارتباط بالعاج. (De Munck, Van Meerbeek et al. 2003) (El Feninat,) (Ellis et al. 2001)

كما ينشط حمض الفوسفور الإنزيمات الحالة للبروتين في العاج (DeVito-Moraes,) (Francci et al. 2016) مما يعرض ديمومة الترميمات ذات الأساس الراتنجي للخطر. (Pashley,) (Tay et al. 2004)

في عام 2013، قام Nassar بدراسة فعالية IP6 كعامل مخرش للعاج وأظهر أنه عند تخريش العاج ب IP6، زادت قوة ارتباط الراتنج بالعاج بشكل كبير بالمقارنة مع التخريش ب حمض الفوسفور. وقد ثبت أن IP6 قادر على إزالة طبقة اللطاخة بشكل فعال بتركيزات أقل من حمض الفوسفور، وكان ذو تأثير سلبي أقل على خلايا اللب السني. (Nassar, Hiraishi et al. 2013)

تلعب الميتالوبروتيازات دوراً مهماً في تفكك القالب العضوي للعاج، والذي يتكون في الغالب من ألياف الكولاجين، مما يؤدي إلى فشل ارتباط مواد الترميم الراتنجية بالعاج. وتعتمد هذه الإنزيمات على أيونات الكالسيوم والزنك للحفاظ على بنيتها المثلى وإبقاء مواقع تنشيطها في حالة وظيفية. (Visse and Nagase 2003) (Thompson, Agee et al. 2012)

وأشار Nassar وزملاؤه أن خصائص IP6 المخلبة لأيونات المعدنية الموجبة كالسيوم والزنك والتي تمكنه من الارتباط بهذه الأيونات وتشكيل معقدات غير قابلة للانحلال قد تعطل عمل الميتالوبروتيازات المعتمدة عليها مما يجعله مثبطاً محتملاً لميتالوبروتيازات القالب العاجي. (Nassar,) (Hiraishi et al. 2013)

4- التأثير المخلب:

في عام 2015، سلط Nassar الضوء على إمكانات IP6 كعامل مخلب بديل للأقنية الجذرية. (Nassar, Hiraishi et al. 2015) وتُعزى الفعالية المخلبة ل IP6 إلى شحناته السالبة المتعددة والتي تمنحه ألفة كبيرة للكالسيوم. (Torres, Domínguez et al. 2005)

تُسهّل كثافة الشحنة السالبة العالية لحمض الفيتيك عملية التخليب، مما يمنح IP6 القدرة على إزالة طبقة اللطاخة وفتح القنيات العاجية بتركيزات أقل من تلك المستخدمة في EDTA بغض النظر عن زمن التطبيق بسبب حموضته الأعلى.

إضافة إلى كونه ذو تقبل حيوي أكبر مع الخلايا البانية للعظم. وذلك بسبب التركيز المنخفض لـ IP6 اللازم لإزالة المكون غير العضوي لطبقة اللطاخة وخصائصه المفيدة لحماية الخلايا من الضرر الناجم عن الحديد الذي يحفز تشكيل جذور الهيدروكسيل الحرة. وذلك ما تم إيجاده من دراسات نشاط الفوسفاتاز القلوي واختبار الحيوية عند مقارنة حمض الفيتيك مع الـ EDTA والذي بدوره قد ينعكس سريراً بشفاء أسرع للمنطقة حول الذروية في حال تجاوز الذروة. (Nassar, Hiraishi et al. 2020) (Nassar, Hiraishi et al. 2015)

يخفض هيبوكلوريت الصوديوم من قوة الارتباط بين عاج الأقنية الجذرية وأنظمة الربط حيث يزيل ألياف الكولاجين من سطح العاج مما يمنع تشكل طبقة هجينة ثابتة. (Gomes, Vianna et al. 2013) إضافة إلى أن تجمع بقايا نواتج أكسدة الهيبوكلوريت للنسج العضوية قد يؤثر سلباً على تماثر أنظمة الربط. (Pimentel, Cecchin et al. 2016)

إلا أن استخدام كل من EDTA و IP6 يخفض من تأثيراته السلبية وذلك بسبب الفعالية الخالبة لكل منهما والتي تكشف الجزء الداخلي من العاج الذي لم يتعرض للهيبوكلوريت بشكل كبير إضافة إلى التفاعل من نمط حمض-أساس بين كل من EDTA، IP6 والهيبوكلوريت ضمن القناة. وكانت قوة الارتباط أكبر بعد استخدام EDTA وذلك بسبب قدرته الأكبر على تثبيط فعالية هيبوكلوريت الصوديوم المتبقي ضمن القناة. (Nassar, Hiraishi et al. 2020)

تم إجراء عدة دراسات لمقارنة الفعالية المخلبة لـ IP6 مع العوامل المخلبة الأخرى المستخدمة، ففي دراسة أجراها Elsamra et al قام بمقارنة الفعالية المخلبة لكل من 1% IP6، 10% حمض الستريك و 17% EDTA وأشار إلى تفوق IP6 في إزالة طبقة اللطاخة في الثلثين التاجي والذروي من الأقنية الجذرية بعد تطبيقه لمدة دقيقة وتغوص EDTA في الثلث المتوسط. (Elsamra, Darrag et al. 2023)

تمت دراسة تأثير IP6 على خشونة العاج وصلابته الدقيقة مؤخراً ومقارنتها بـ EDTA. حيث أفاد Nikhil et al بانخفاض أكبر في صلابة العاج الدقيقة مع 17% EDTA مقارنة بـ 1% IP6 (Nikhil, Jaiswal et al. 2016)، بينما أظهر Muana et al أن 1% IP6 أدى إلى خشونة أعلى بشكل ملحوظ وصلابة دقيقة أقل مقارنة بـ 17% EDTA. (Muana, Nassar et al. 2021) وبالمقابل أشار Jagzap et al. إلى انخفاض فعالية 1% IP6 بالمقارنة مع EDTA. (Jagzap, Patil et al. 2017) ويُعزى اختلاف هذه النتائج إلى اختلاف PH الوسط ووقت وطريقة التطبيق بين هذه الدراسات. (Muana, Nassar et al. 2021)

وفي دراسة أخرى أشار Gandhi أن حمض الفيتيك يمتلك بتركيز 10% تأثير مشابه لـ EDTA في إزالة طبقة اللطاخة مع اهتراء أقل للعاج. كما أظهر تركيز 17% فعالية مشابهة لتركيز 10% في الثلثين التاجي والمتوسط وبنسبة أقل في الثلث الذروي من الأفنية الجذرية. (Gandhi, Chandrasekar et al. 2020) وخلص إلى أن استخدام IP6 كمحلول إرواء نهائي في المعالجات اللبية يعد أمراً واعداً نظراً لكونه مكون طبيعى، متقبل حيويًا، قادر على إزالة طبقة اللطاخة بشكل فعال في كل أجزاء القناة الجذرية بنتائج مشابهة لتأثير EDTA. (Gandhi, Chandrasekar et al. 2020)

5- تطبيقاته في الزرع السني:

تعتبر زراعة الأسنان واحدة من مجالات طب الأسنان سريعة النمو، وتهدف إلى تقديم زرعات سنية ذات خصائص متفوقة. (He, Yin et al. 2019)

اختبرت دراسات حديثة IP6 كبديل لمواد معالجة سطح الزرع التقليدية، حيث يقوم بتفعيل سطوح التيتانيوم من خلال التفاعل المباشر بين مجموعات الفوسفات لـ IP6 وأكسيد التيتانيوم دون الحاجة لوسيط. وينتج عن هذا التفاعل سطوح فعالة حيويًا تمتلك خصائص مثبطة للامتصاص العظمي ومحفزة لتشكيل العظم وتعزيز اندخاله ضمن حلزونات الزرعة حيث يُعتقد أن IP6 يعمل كجسر وصل بين تيتانيوم سطح الزرعة وأيونات الكالسيوم. (Córdoba, Hierro-Oliva et al. 2016) (Liu, Zhang et al. 2019)

6- المعالجة اللبية التجديدية:

اكتسبت المعالجة اللبية التجديدية في طب الأسنان اهتماماً كبيراً. وتهدف بشكل أساسي لاستعادة حيوية الأسنان والحفاظ عليها من خلال إجراءات ذات أساس حيوي مصممة لاستبدال بنية الأسنان المتضررة كالعاج والمعقد العاجي-اللبي. (Kim, Malek et al. 2018)

يلعب العاج دوراً أساسياً في هذه المعالجات حيث يُعتبر القلب العاجي مصدراً أساسياً لمكونات فعالة حيوية كالبروتينات المخلفة للعظم وعوامل النمو الضرورية من أجل عملية التجدد. (Smith 2003) واكتسب EDTA اهتماماً خاصاً واعتُبر المعيار الذهبي في طب الأسنان التجديدي (Atesci, Avci et al. 2020) نظراً لقدرته على التخليب وإطلاق عوامل النمو من القلب العاجي. (Galler, Widbiller et al. 2016) كما أنه يحفز على هجرة والتصاق الخلايا الجذعية اللبية على جدران العاج وتمايزها إلى خلايا شبيهة بالخلايا العاجية. (Galler, Widbiller et al. 2016) (Sonoyama, Liu et al. 2008)

تُعتبر الدراسات التي تناولت IP6 في سياق المعالجات اللبية التجديدية محدودة. في عام 2018، قارن Deniz Sungur وزملاؤه تأثير 1% IP6 و 17% EDTA و 9% حمض الإيتيدرونك على تحرر عوامل النمو وحيوية وهجرة الخلايا الجذعية اللبية. ووجد أن IP6 يعزز إطلاق عامل النمو المتحول-بيتا ($TGF-\beta$)، والذي بدوره أثر على النشاط الخلوي وزاد من هجرة الخلايا الجذعية اللبية وانتشارها. وكان هذا التحرير أقل بالمقارنة مع تأثير EDTA أو حمض إيتيدرونك، ومع ذلك، لم تكن الاختلافات ذات دلالة إحصائية.

وأدى تطبيق كل من EDTA و IP6 إلى هجرة وانتشار مماثلين للخلايا بعد التعرض لمدة 24 ساعة. إلا أن الخلايا تحت تأثير EDTA أبدت شكلاً كروياً ومتقلصاً، بينما أظهرت الخلايا تحت تأثير IP6 شكلاً أكثر استطالة على الجدار العاجي. (Deniz Sungur, Aksel et al. 2019)

وقام Atesci وزملاؤه بدراسة تأثير 17% EDTA و 1% IP6 على تحرير أنواع مختلفة من عوامل النمو وسلوك الخلايا الجذعية الضامة. وأشار إلى عدم وجود فرق إحصائي بين كمية العوامل المحررة، ولم يُظهر أي منهما أي آثار ضارة على تكاثر الخلايا الجذعية وارتباطها بعاج الجذر. (Atesci, Avci et al. 2020)

7- التأثير المضاد للجراثيم:

ظهرت الحموض العضوية مثل حمض الفيتيك كبديل لسوائل الإرواء التقليدية؛ فهو يمتلك خصائص بيولوجية ممتازة وتبين أنه فعال حتى في تركيزات أقل. وقد ثبت أن حمض الفيتيك بتركيز 1% هو الأكثر استخدامًا كعامل مخلب ومضاد فعال للجراثيم. (Halkai, Halkai et al. 2023)

يملك حمض الفيتيك تأثيراً قاتل ومثبطاً للجراثيم حسب تركيزه ومدة تطبيقه ضد مجموعة متنوعة من السلالات الجرثومية، بما في ذلك الجراثيم موجبة وسالبة الغرام وفطور المبيضات البيض إضافة إلى قدرته على إزالة اللويحة الجرثومية. (Zhou, Zhao et al. 2019) (Nassar, Nassar et al. 2021)

تم تقييم تأثير IP6 على *E. faecalis* في دراسة أجراها Nassar and Nassar، ووجد أن التأثير المضاد لجراثيم المكورة المعوية البرازية بواسطة 1% IP6 فعال في تطهير الأقنية الجذرية. كما أشار إلى آلية عمله القوية حتى في التركيزات المنخفضة كعامل مضاد للجراثيم والتي لا ينتج عنها أي آثار جانبية تذكر حتى عند استخدامه لفترة طويلة بسبب كونه متقبل حيويًا إضافة إلى خاصيته المضادة للأكسدة التي تمنع تلف الخلايا. (Nassar and Nassar 2016)

أظهر IP6 أقل عدد من الوحدات المشكلة للمستعمرات (Colony forming units (CFUs لكل مليلتر في أوساط الزرع مقارنة بسوائل الإرواء التقليدية مثل EDTA وكان التأثير السريع لحمض الفيتيك في تخريب جدار الخلية الجرثومية متفوقًا على EDTA؛ (Puvvada, Latha et al. 2017) إضافة إلى أن طيفه الواسع المضاد للجراثيم وخاصية تخليب الحديد تتطلب الحد الأدنى من وقت التعرض. (Nassar and Nassar 2016)

وقد يُعزى تأثيره السريع إلى خصائصه المخلبة وتخريبه للغشاء الخلوي (Kim and Rhee 2016)، حيث يتسبب في نفوذية مفرطة لأغشية الخلايا الجرثومية، تغيرات في المورفولوجيا الخاص بها وانخفاض تركيز الـ ATP داخل الخلوي. (Zhou, Zhao et al. 2019) إضافة إلى تحرير أيونات الهيدروجين، والتي تثبط عملية الاستقلاب الجرثومي وتخليبه للحديد الذي يعد ذو أهمية في تكاثر الجراثيم وتشكيل لويحتها الجرثومية. (Nassar and Nassar 2016)

وكان الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) minimum inhibitory concentration 1 IP6 0.156% بينما كان الحد الأدنى للتركيز القاتل له 0.625% للمكورات المعوية البرازية و 10% ضد فطور المبيضات البيض بالمقارنة مع هيبوكلوريت الصوديوم الذي امتلك تأثير أدنى قاتل ومثبط للجراثيم بتركيز 0.041% . وفي نفس الدراسة، كان الحد الأدنى للتركيز المثبط لـ $EDTA$ 0.14% ؛ ومع ذلك، لم يُظهر $EDTA$ تأثيراً قاتلاً للجراثيم ضمن أوساط زرع. (Nassar and Nassar 2016)

وفي دراسة أخرى تم تحقيق تأثير قاتل للجراثيم على المكورات المعوية البرازية بعد وقت تعريض 5 دقائق بتركيزات 0.5% ، 1% و 2% ضمن أوساط زرع. (Nassar, Nassar et al. 2021)

أبدى $IP6$ تأثيراً مضاداً للويحة الجرثومية الناضجة للمكورة المعوية البرازية حيث أظهر تأثيراً قاتلاً لجراثيم اللويحة وأدى في التركيزات الأقل التي لا تمتلك قدرة على الإزالة الكاملة للويحة الجرثومية إلى تثبيط نشاطها الاستقلابي. ولم يؤثر $IP6$ على الكتلة الحيوية الكلية للويحة الجرثومية، حتى بالنسبة للتركيزات ذات التأثير القاتل للجراثيم. (Nassar, Nassar et al. 2023)

وفي دراسة أخرى أظهر $IP6$ تأثيراً مضاداً للويحة الجرثومية للمكورة المعوية البرازية عند تطبيقه بتركيز 1% مع $chitosan$ 0.2% وأظهر منطقة تثبيط جرثومي أكبر من استخدامه لوحده وأكبر من $EDTA$ 17% و $EDTA$ 17% مع $Chitosan$ 0.2% ضمن أوساط الزرع. (Halkai, Halkai et al. 2023)

ويُعزى تأثير $IP6$ على اللويحة الجرثومية من خلال التفاعل مع الأيونات الموجبة ضمن اللويحة الجرثومية، والتي من المعروف أنها تلعب دوراً في استقرارها من خلال ارتباطها بالبوليمرات ذات الشحنة السالبة في اللويحة الجرثومية، وبالتالي تقليل التنافر وتعزيز استقرار اللويحة الجرثومية. (Körstgens, Flemming et al. 2001) (Flemming, van Hullebusch et al. 2023)

يمكن لـ $IP6$ تثبيط تكوين اللويحة الجرثومية تماماً عند استخدامه كعامل تكييف للسطوح، حيث يمكن معالجة جدران الأقنية الجذرية باستخدام $IP6$ لتثبيط التصاق الجراثيم المشكلة للويحة الجرثومية مما يساهم في منع الإنتانات الثانوية ضمن منظومة الأقنية الجذرية. ويمكن أيضاً استغلال هذه الخاصية في تكييف مواد الحشو القنوي أو سطوح الزراعات السنية لمنع التصاق الجراثيم بها، وبالتالي زيادة معدلات نجاح المعالجة. (Zheng, Bawazir et al. 2021) (Minamisawa, Kojima et al. 2022)

إذ تمنع الطبقة أحادية الجزيئات التي يشكلها IP6 على السطوح العاجية من التصاق الجراثيم عبر تأثيره على قابلية ترطيب الهيدروكسي أباتيت وتغيير شحنة سطحه حيث تسبب شحنة IP6 السالبة إلى حدوث تنافر بينها وبين الجراثيم ذات الشحنة السالبة. (Zheng, Bawazir et al. 2021)

8- استخدامات أخرى:

زاد الاهتمام بالتدخلات المحتملة بين سائل الإرواء المختلفة المستخدمة في المعالجات اللبية. (Prado, Júnior et al. 2013) حيث كان التفاعل بين 5.25% هيبوكلوريت الصوديوم و17% EDTA في دراسة أجراها Nassar وزملائه ناشراً للحرارة وأدى إلى ارتفاع درجة حرارة الوسط إلى 43.2 °C مع درجة حموض PH=7.1 مع فوران ملاحظ للمزيج وانخفاض محتوى الهيبوكلوريت من الكلورين. بينما لم يلاحظ فوران في مزيج الهيبوكلوريت مع 1% IP6 مع درجة حرارة 26 °C ودرجة حموضة PH=8.0 بعد دقيقة من المزج. إضافة إلى احتفاظ مزيج هيبوكلوريت/IP6 بفعله المبيض Bleaching بعكس مزيج هيبوكلوريت/EDTA. (Nassar, Hiraishi et al. 2020) ولم يُظهر 1% IP6 تأثيراً ذو دلالة إحصائية على خاصية هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% الحالة للنسج العضوية بعد 30 دقيقة من مزجها. (Chundi, Ndig et al. 2022)

بالخلاصة تشير الأبحاث السابقة المتعلقة بـ IP6 بما يجمعه من خصائص مخلبة ومضادة للجراثيم إضافة إلى تقبله الحيوي إلى أن استخدام IP6 كسائل إرواء نهائي في المعالجات اللبية يعد أمراً واعداً.

الباب الثاني

المواد والطرائق

**Materials and
methods**

2-1 تصميم العينة:

تألفت عينة البحث من 45 ضاحكة أولى سفلية بشرية، مكتملة الذروة، وحيدة القناة الجذرية مقلوعة لأسباب تقويمية.

معايير التضمن والاستبعاد:

ضواحك أولى سفلية:

1. وحيدة القناة.
2. وحيدة الجذر.
3. مقلوعة لأسباب تقويمية.
4. مكتملة الذروة.
5. لا يوجد امتصاص خارجي.
6. لا تحوي تشقق بالجذر.
7. لا يوجد تغيرات تشريحية.
8. لم تخضع لمعالجة لبية سابقة.
9. لم تُقلع بسبب مرض حول سني.
10. لا يوجد تكلسات.
11. لا يوجد تغيرات مرضية.

2-2 مجموعات الدراسة:

كانت الأقنية الجذرية في عينة البحث مقسمةً إلى ثلاث مجموعات رئيسة متساوية ($n=15$) وفقاً لوسائل الإرواء المستخدم:

- المجموعة الأولى ($n=15$): حمض الفيتيك IP6 17%
- المجموعة الثانية ($n=15$): محلول هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl 5.25 % . (العنصر الشاهد الإيجابي)
- المجموعة الثالثة ($n=15$): المصل الفيزيولوجي الملحي. (العنصر الشاهد السلبي)

2-3 مواد وأدوات الدراسة:**2-3-1 أدوات تهيئة العينة:**

- أدوات تقليح يدوية U15.



الشكل (2-1) أداة تقليح يدوية U15

- أقراص ماسية لقص تيجان الأسنان.



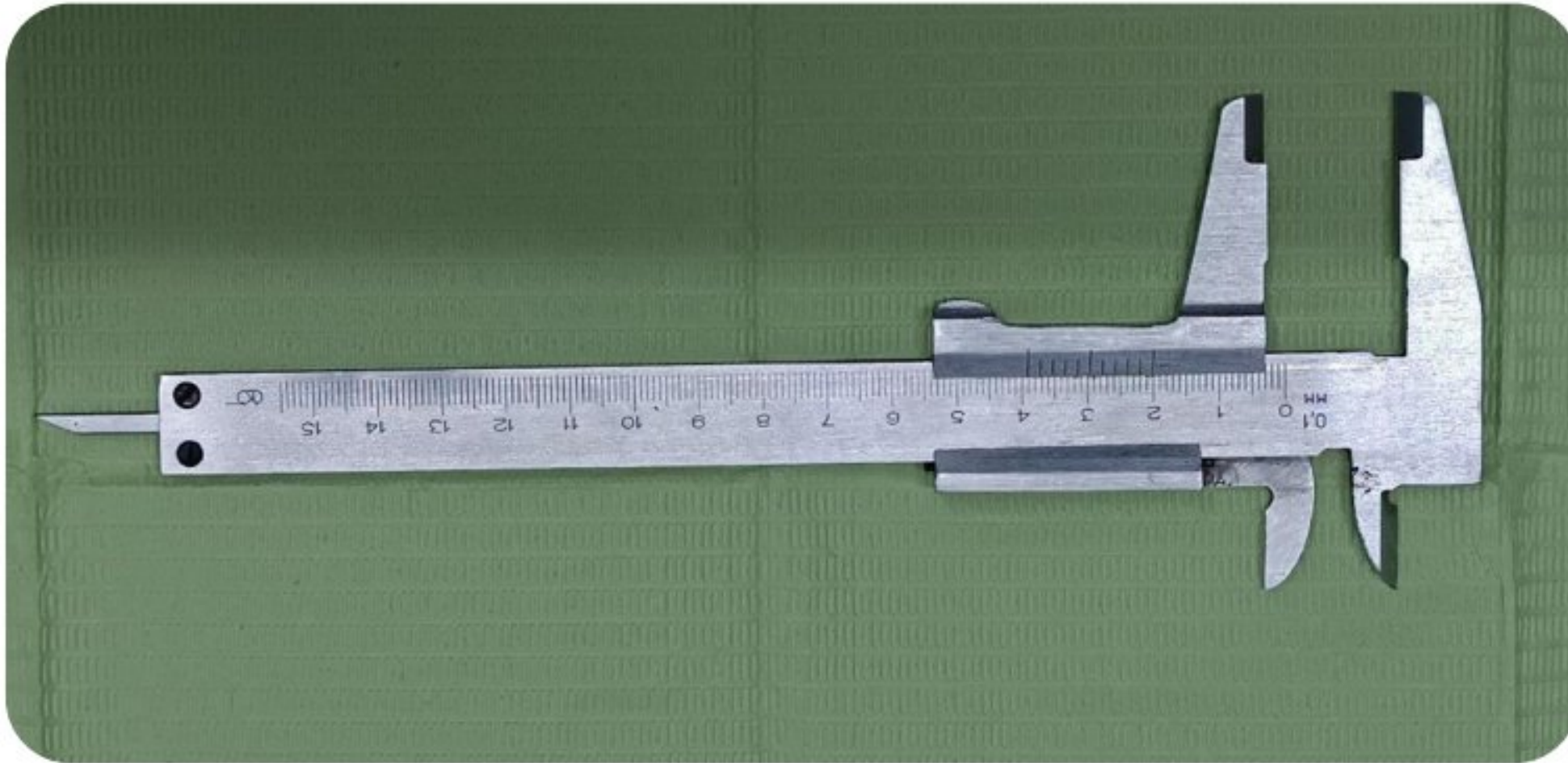
الشكل (2-2) أقراص ماسية لقص تيجان الأسنان

- موتور (ميكروتو) صناعي مع قبضة مستقيمة لقص الأسنان.



الشكل (2-3) موتور ميكروترو مع قبضة مستقيمة

- (البياكوليس) استخدم لتوحيد أطوال الأسنان بعد قص التيجان.



الشكل (2-4) المقياس الرقمي (البياكوليس)

- كومبوزيت سيال لإغلاق ذرا الأسنان نوع B&E Flow.



الشكل (5-2) كومبوزيت B&E

- حمض الفوسفور 37% N-Etch من شركة Ivoclar.



الشكل (6-2) حمض الفوسفور 37%

- مادة رابطة (بوند) Ivoclar Tetric N-Bond.



الشكل (7-2) مادة رابطة (بوند) Tetric

- جهاز التصليب الضوئي من شركة Cicada.



الشكل (8-2) جهاز التصليب الضوئي

- جهاز تعقيم بالحرارة الرطبة نوع WOSON.



الشكل (2-9) جهاز تعقيم بالحرارة الرطبة

2-3-2 أدوات التحضير القنيوي:

- مبارد K-File من شركة (MANI, INC) بطول 25 وقياس 15.



الشكل (2-10) مبارد K-File قياس 15

- مبارد H-File من شركة (MANI, INC) بطول 25 وقياس 25.



الشكل (2-11) مبارد H-File

- مبارد تحضير آلي R25 من شركة VDW.



الشكل (2-12) مبارد تحضير آلي

- جهاز تحضير آلي E-CONNECT من شركة Eighteeth.



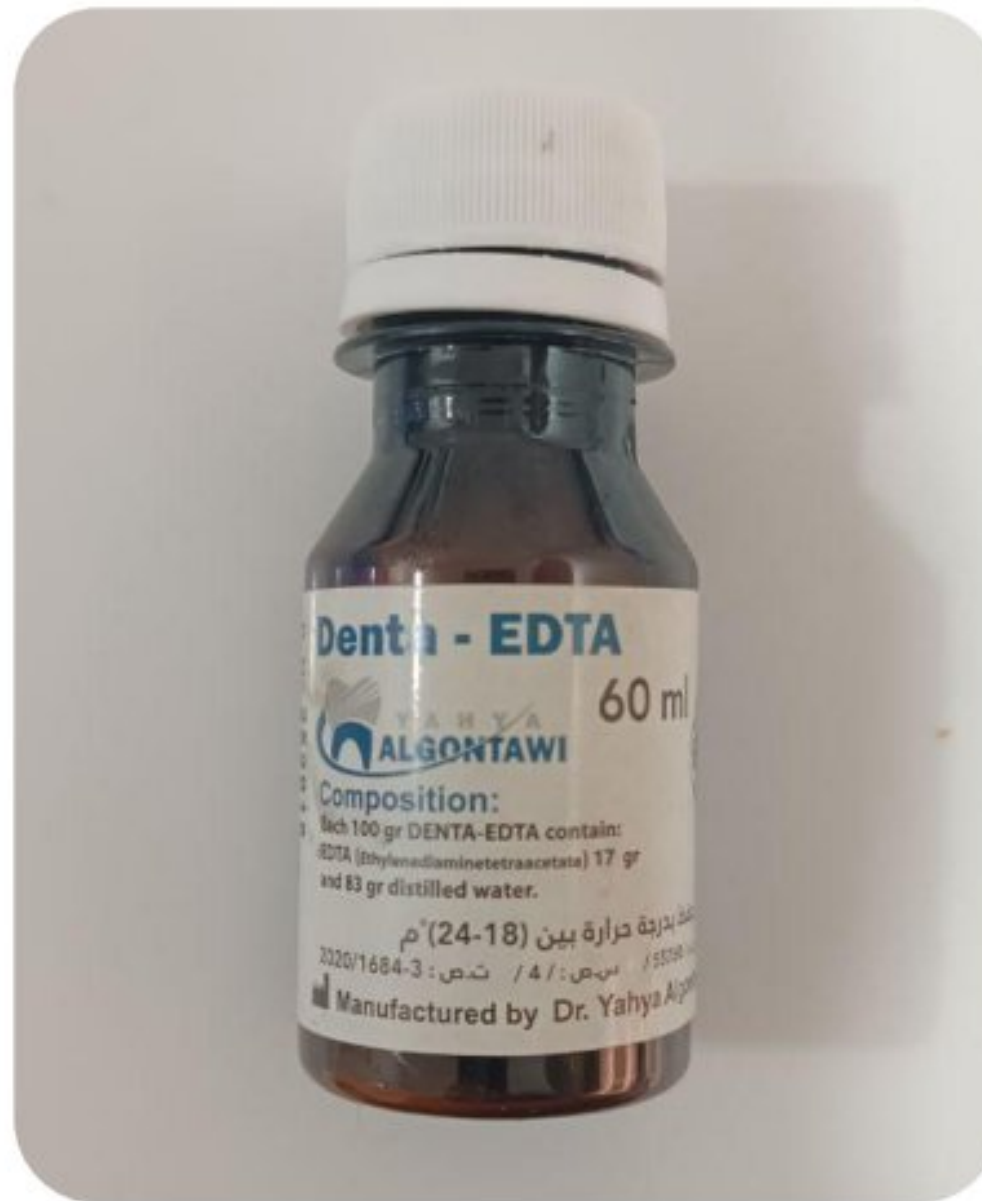
الشكل (2-13) جهاز تحضير آلي E-CONNECT

- محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5,25% من شركة شهابميد.



الشكل (2-14) محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5,25%

- محلول EDTA 17% من شركة YAHYA ALGONTAWI.



الشكل (2-15) محلول EDTA 17%

- محلول السيروم الملحي المعقم 0,9 % (كلور الصوديوم) من شركة مسعود.



الشكل (2-16) محلول السيروم الملحي المعقم

- أقماع ورقية معقمة متوافقة مع قياس أداة التحضير 25/06 من شركة ROGIN.



الشكل (2-17) أقماع ورقية

- محاقن بلاستيكية معقمة نبوذة لإرواء الأقفنية الجذرية بحجم 5 مل و 10 مل.



الشكل (2-18) محاقن بلاستيكية معقمة نبوذة

- رؤوس إرواء مرنة نوع ENDO-TOP قياس 27 gauge.



الشكل (2-19) رؤوس إرواء قياس 27 gauge

- حمض الفيتيك IP6 17% من شركة Merck Sigma-Aldrich.



الشكل (2-20) حمض الفيتيك 17%

- ماء مقطر من شركة AQUARAMA.



الشكل (21-2) ماء مقطر

2-3-3 المواد المستخدمة في الدراسة الجرثومية :

- أطباق بيتري (Petri Dishes): هي عبارة عن أطباق شفافة، لدنة، ذات شكل مدور بأقطار مختلفة وعمق قليل، قاعها مسطح، تُستخدم لصب وسط الزرع الذي تنمو عليه المستعمرات الجرثومية المدروسة، وتأتي هذه الأطباق معقمة ضمن أكياس بلاستيكية، واستُخدم في هذا البحث أطباق بقطر 9 سم.



الشكل (22-2) أطباق بيتري

- وسط الزرع الجرثومي: هو الوسط الملائم لنوع الجرثومة المدروسة يمكنها من النمو والتكاثر والاستمرار في الحياة ويؤمن له كافة المتطلبات الحيوية والكيميائية والفيزيائية. واستُخدم في هذا البحث آغار Bile Esculine من شركة BD BBL™.



الشكل (2-23) آغار بايل اسكولين

- أنابيب إيبيندورف Eppendorf بسعة 1 مل: أنابيب صغيرة مخروطية الشكل، نصف شفافة ومزودة بغطاء متصل بها ومحكم الغلاق، يوضع ضمنها الوسط الناقل لعينات الزرع الجرثومي.



الشكل (2-24) أنبوب إيبندورف

- ماصة **Micropipette** وحيدة القناة بسعة 50 ميكروليتر.



الشكل (2-25) أنبوب إيبندورف

- حاضنة **Incubator**: جهاز يُستخدم لحضن عينات الزرع الجرثومي ويؤمن لها درجة حرارة ثابتة وملائمة لنمو الجراثيم، وضُبِطت درجة الحرارة على 37 درجة مئوية.



الشكل (2-26) الحاضنة

- **الدوامة Vortex:** جهاز كهربائي يقوم بعمل حركات اهتزازية تنقلها قاعدة مطاطية مقعرة موجودة على سطحه العلوي، يُستخدم لجعل العينة المراد دراستها متجانسة المحتوى.



الشكل (27-2) الدوامة

- **الغانة Inoculation loop:** أو حلقة التلقيح وهي أداة تتكون من سلك معدني من خليطة النيكل -الكروم سريع الاحمرار وسريع التبريد يُثَبَّت على حامل معدني أو خشبي، ويشكّل السلك حلقة صغيرة يبلغ قطرها حوالي 5 ملم، تستخدم لأخذ عينات الزروع أو لزرعها على أوساط الزرع. الشكل (32-2)
- **الملهب Flamm:** مصدر للهب، يمكن استخدامه لتلبيب الغانة وفوهات أنابيب الزرع الزجاجية ورؤوس الملاقط.



الشكل (28-2) الغانة

- جهاز عد المستعمرات الجرثومية: Colony counter 560 من شركة Suntex.



صورة (29-2) جهاز عد المستعمرات الجرثومية

2-4 طريقة العمل:

2-4-1 تحضير العينة: (Yeniçeri Özata, Acer et al. 2022)

أُجري تنضير لسطوح جذور الأسنان بواسطة أداة تقليح يدوية U15 لإزالة البقايا الرباطية والنسجية من سطح الجذور، غُمرت بعدها جميع الأسنان في محلول هيبوكلوريت الصوديوم 5,25% لمدة ساعة ثم حُفظت في السيروم المعقم إلى حين التحضير. وتم قص تيجان الأسنان باستخدام أقراص ماسية بهدف توحيد قياس طول الجذور إلى 10مم.

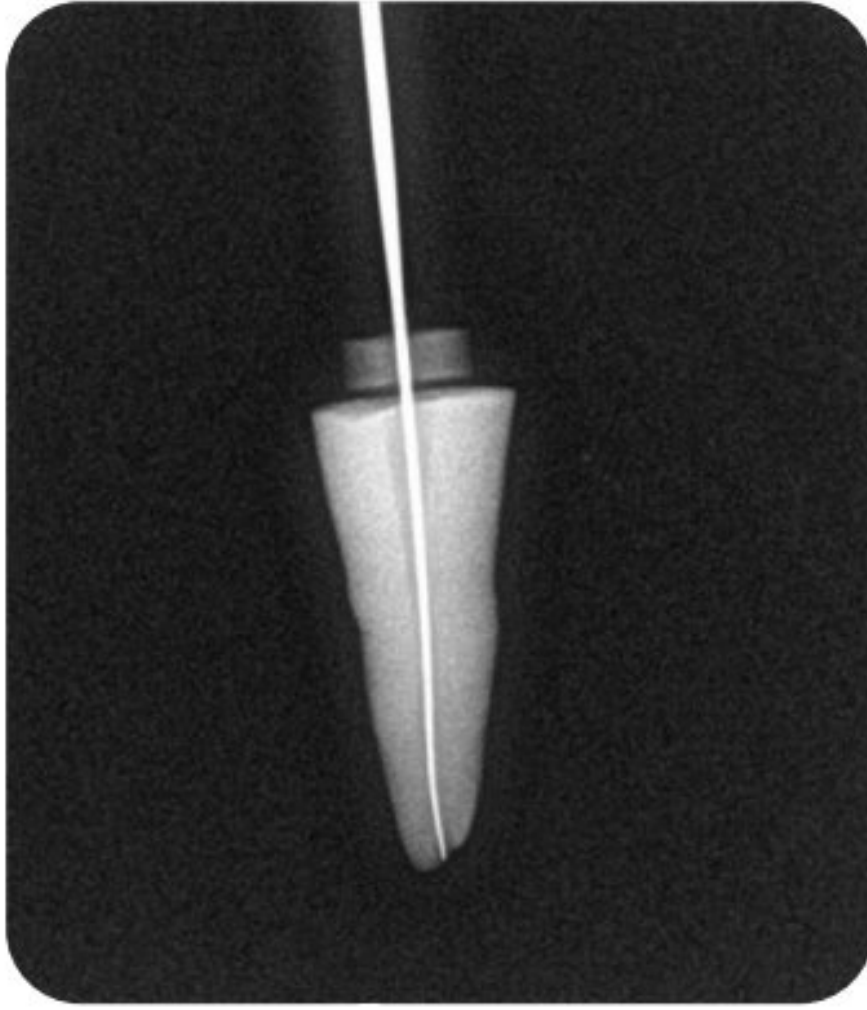
الشكل (2-34)



الشكل (2-30) عينة البحث

تم تحديد الطول العامل باستخدام مبادر K-File (MANI,INC) بقياس #15 على بعد 1mm من الطول العامل.

ثم تم تحضير الأفنية بواسطة المبادر الآلية R25 من شركة VDW مع الإرواء بـ 5 ml محلول هيبوكلوريت الصوديوم 2.5% حسب بروتوكول (Yeniçeri Özata, Acer et al. 2022) أثناء التحضير باستخدام رؤوس إرواء ذات قياس Gauge 27. الشكل (2-35)



الشكل (2-31) التحضير الآلي للأسنان

الشكل (2-32) صورة شعاعية من عينة البحث

بعد الانتهاء من التحضير تم إرواء كل قناة جذرية ب 5 ml من محلول هيبوكلوريت الصوديوم بالتناوب مع 5 ml من 17% EDTA لإزالة طبقة اللطاخة المتشكلة أثناء التحضير، ثم الإرواء ب 10 ml ماء مقطر ثم التجفيف.

وبعدها تم تخريش المنطقة الذروية لأسنان العينة بحمض الفوسفور 37 %، وتطبيق المادة الرابطة والتصليب الضوئي لمدة 20 ثانية، ثم أغلقت الذروة باستخدام راتنج مركب سيال. الشكل (2-37)

(37)



الشكل (2-33) ختم الذروة بالكومبوزيت

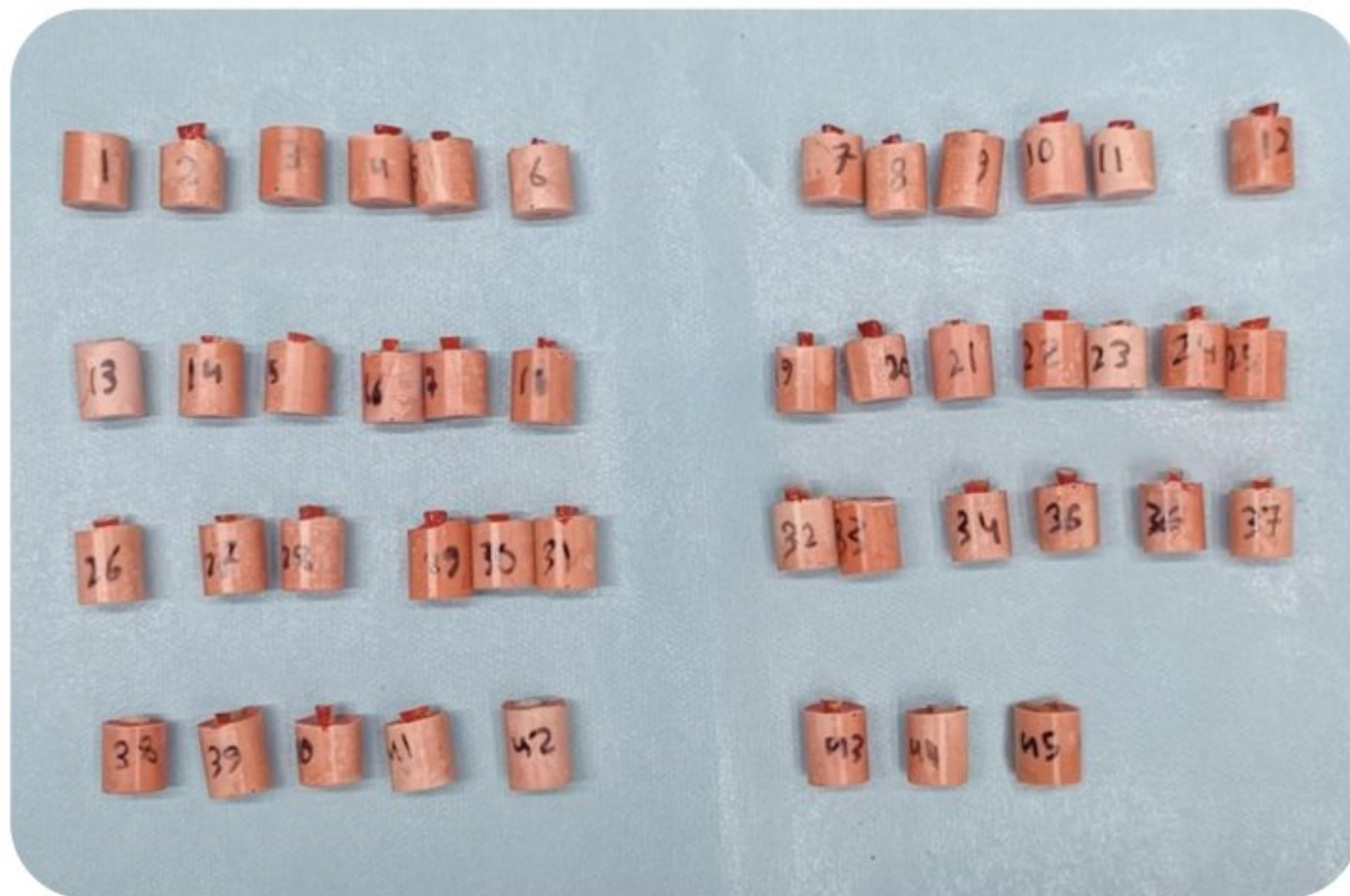
طُليت الجذور بطبقتين من طلاء الأظافر الأحمر على كل السطوح الخارجية للجذور باستثناء مداخل الأقنية وعلى بعد 2 مم من ذروة الجذر لمنع التسرب الجرثومي الشكل (2-38). (Afkhami,)

(Nasri et al. 2021)



الشكل (2-34) طلي الجذور بطبقتين من طلاء الأظافر

وُضعت كرية قطنية في فوهة كل جذر وُثْم خُتِمت بترميم مؤقت وُوضعت الجذور في قوالب من الأكريل البارد **الشكل (2-35)** ، وبعد اكتمال تصلب الأكريل تم ترقيم جميع العينات ثم أُزيل الترميم المؤقت مع الكرية القطنية ووضعت العينات بشكل إفرادي ضمن أكياس التعقيم الخاصة بالحرارة الرطبة وتم تعقيمها بدرجة حرارة 120 درجة مئوية ولمدة 15 دقيقة **الشكل (2-36)**، بعد الانتهاء من التعقيم تم أخذ 5 عينات بشكل عشوائي وأُخذت منها مسحات جرثومية للتأكد من عقامة العينات.



الشكل (2-35) العينة بعد وضعها ضمن قوالب الإكريل البارد



الشكل (2-36) تعقيم العينات بالحرارة الرطبة

2-4-2 تحضير المعلق الجرثومي :

تم عزل جراثيم المكورة المعوية البرازية سريعاً بأخذ عينات من الأقنية الجذرية المصابة بخرجات مزمدة حيث تم تحديد السلالة المختبرة من خلال اختبار الكاتالاز للتفريق بين العقديات والعنقوديات ثم صبغة غرام لتحديد إذا كانت الجرثومة المختبر إيجابية أو سلبية الغرام، ثم اختبار تفريقي (اختبار البایل اسكولين) حيث يعد وسطاً ناخباً للمكورات المعوية ثم اختبار Chapman, Mannitol salt agar (MSA) للتمييز بينها وبين المكورات المعوية الغائطية *E. faecium* وتبين أنها مكورات برازية سلبية الكاتالاز، إيجابية الغرام، وقادرة على هدرلة الاسكولين وتحويله إلى اسكولتين وقادرة على تخمير سكر المانيتول.

- اختبار الكاتالاز: (Gupta, Shah et al. 2022)

تكون العقديات إيجابية اختبار الكاتالاز، أما العقديات بأنواعها فتكون سلبية الكاتالاز. يُوضع 0.5 مل من الماء الأكسجيني بتركيز 3% على صفيحة وتستحلب فيه المستعمرات الجرثومية المعزولة ويكون غياب الفوران أو عدم ظهور فقاعات دليلاً على أن الجراثيم المختبرة سلبية خميرة

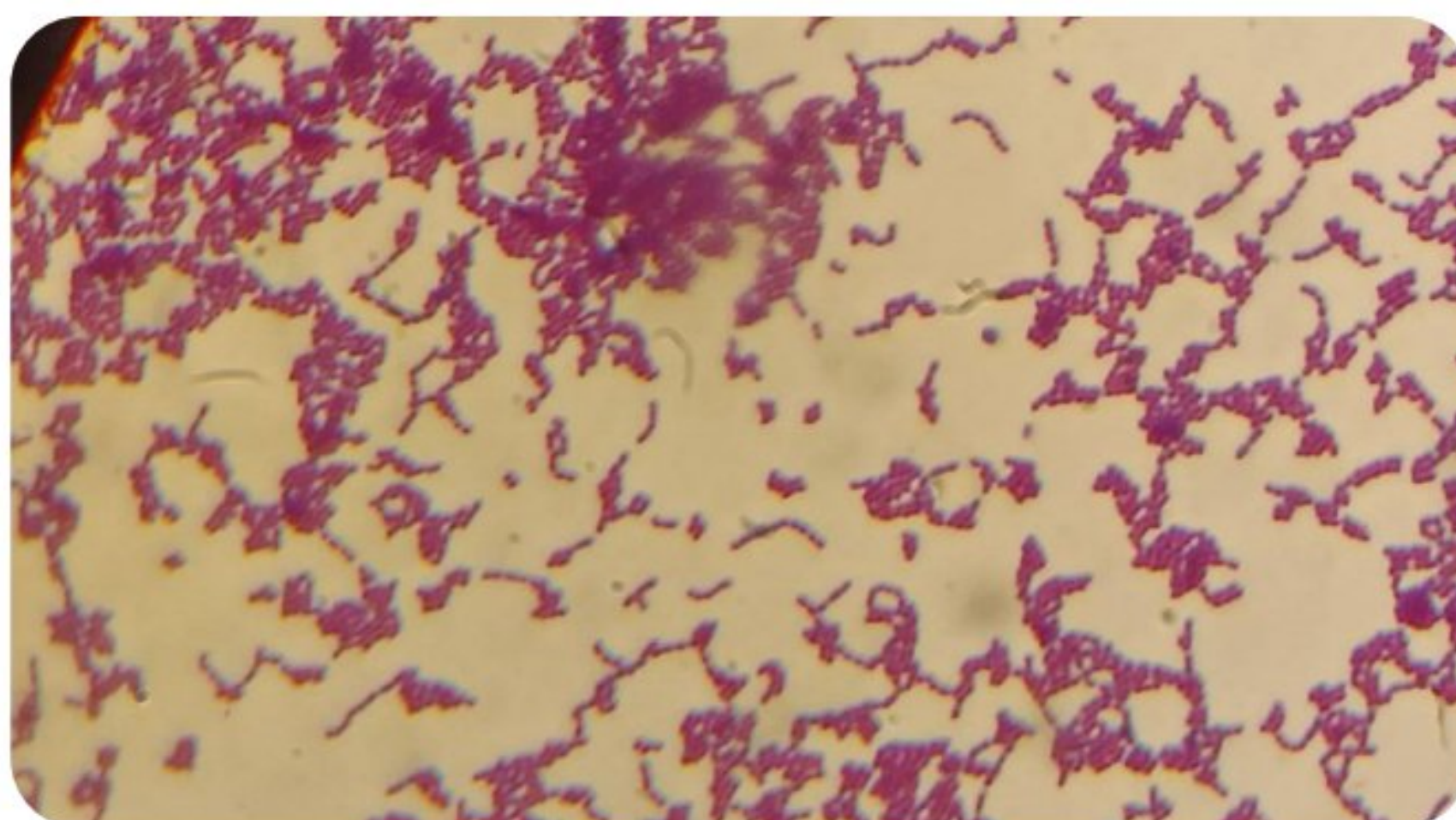
الكاتالاز. الشكل (2-37)



الشكل (2-37) المكورات المعوية البرازية سلبية اختبار الكاتالاز (يمين). العنقوديات المذهبة كعينة شاهدة إيجابية اختبار الكاتالاز (يسار)

- صبغة غرام: (Beveridge 2001)

- 1- يتم وضع المعلق الجرثومي على شريحة مجهر زجاجية وتثبيتها بالتسخين اللطيف.
2. تضاف بضعة قطرات من محلول البنفسجية المتبلورة (بنفسجية الجنطيان) (1.24 غرام في 100 مل ماء) إلى العينة وتترك لمدة 30 ثانية.
3. تضاف بضعة قطرات من محلول غرام اليودي (مزيج من 0.33 غرام يود و 0.67 غرام يوديد البوتاسيوم في 100 مل ماء) مباشرة إلى البنفسج البلوري على الشريحة ليكون بمثابة مادة رابطة لمدة 30 ثانية.
4. يستنضب مزيج محلولي البنفسجية المتبلورة ويود غرام من الشريحة، ثم تغسل الشريحة بسرعة بالماء وتطبق سائل إزالة اللون برفق (95% v/v إيثانول في الماء) لمدة 20 ثانية.
5. تُغسل الشريحة مرة أخرى بسرعة بالماء، ويُضاف كاربول فوكسين (أو سافرانين) إلى العينة لمدة دقيقة واحدة.
6. تغسل الشريحة بالماء وتُجفف بورق الترشيح. تصبح العينة جاهزة للفحص المجهر.



الشكل (2-38) صبغة غرام

حيث ظهرت العينة على شكل مكورات بشكل أزواج وسلاسل قصيرة ذات لون بنفسجي مما يعني أنها إيجابية الغرام.

- اختبار البايل اسكولين: (Gupta, Shah et al. 2022)

يعتبر البايل اسكولين وسطاً ناخباً لعزل وتحديد أفراد جنس المكورات المعوية.

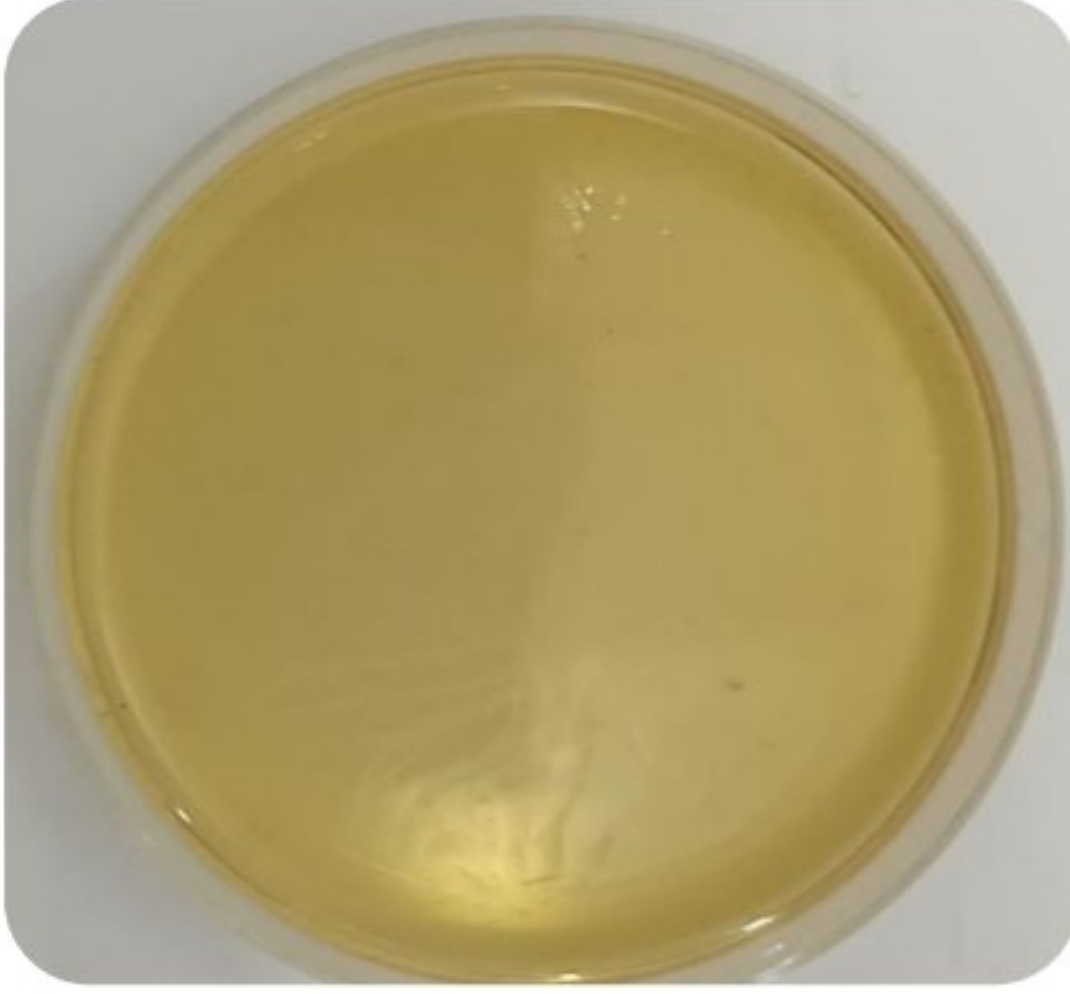
ويعتمد على مزج المكونات التالية:

- 1- بيبتون 5 غرام/ليتر.
- 2- خلاصة لحم البقر 3 غرام/ليتر.
- 3- اسكولين 1 غرام/ليتر
- 4- أملاح الصفراء 40 غرام/ليتر
- 5- سترات الحديد 0.5 غرام/ليتر
- 6- آغار 14 غرام/ليتر

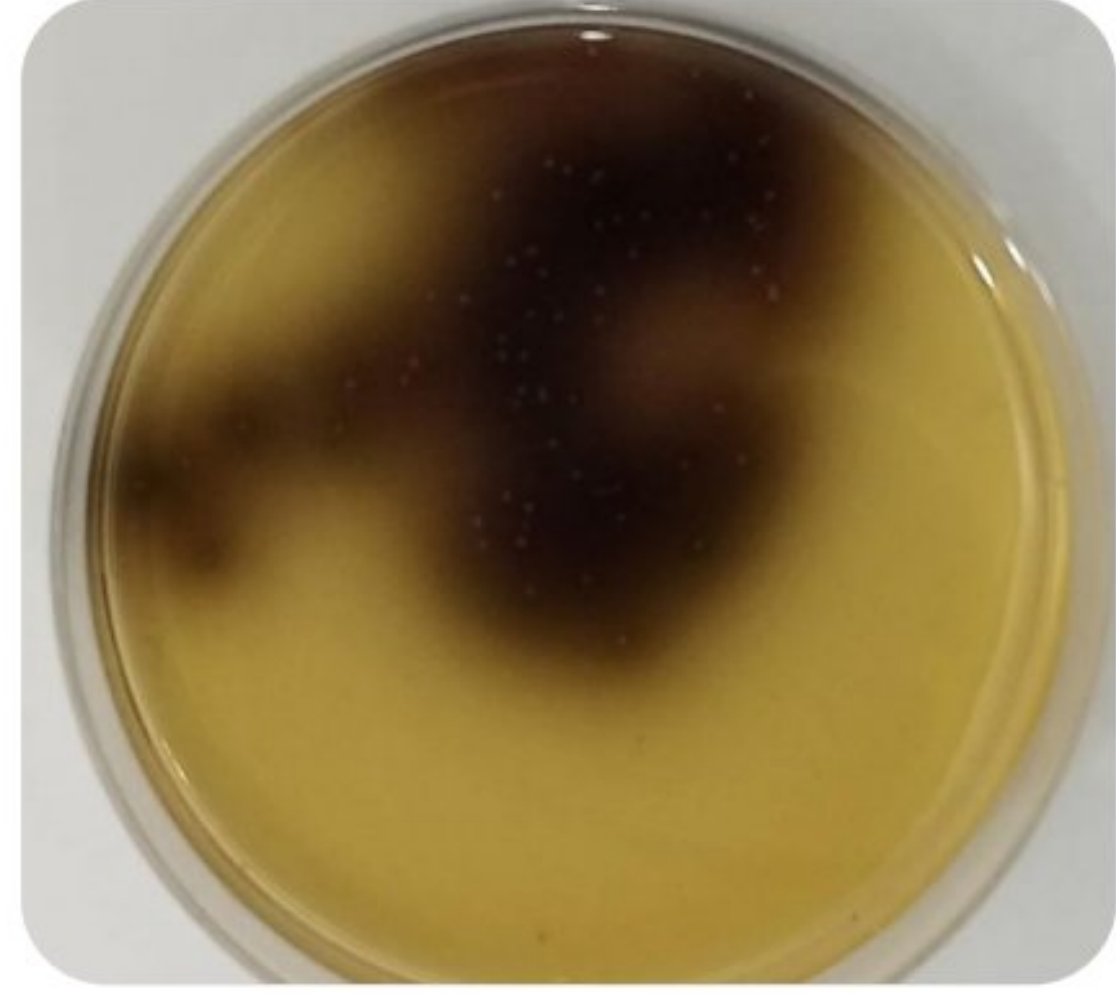
ثم تم تحضير معلق من 64.5 غرام من المزيج في 1000 مل من الماء المقطر ويتم غليه ليذوب المزيج بشكل كامل. بعد ذلك يتم وضع المزيج في أنابيب وتعقم في الأوتوكلاف بدرجة حرارة 121 لمدة 15 دقيقة.

بعد تصلب المزيج يوضع بسماكة 2.5 سم في أطباق بيتري معقمة ويتم زرع الجراثيم المعزولة سريرياً على هذه الأطباق وحضنها في درجة حرارة 37 لمدة 24 ل 48 ساعة. حيث يشير تشكل مستعمرات جرثومية ذات لون أسود إلى إيجابية الاختبار.

تقوم المكورات المعوية البرازية بتحويل الاسكولين إلى اسكولتين والذي بدوره يتفاعل مع أيونات الحديد ضمن الوسط مشكلاً مستعمرات سوداء.



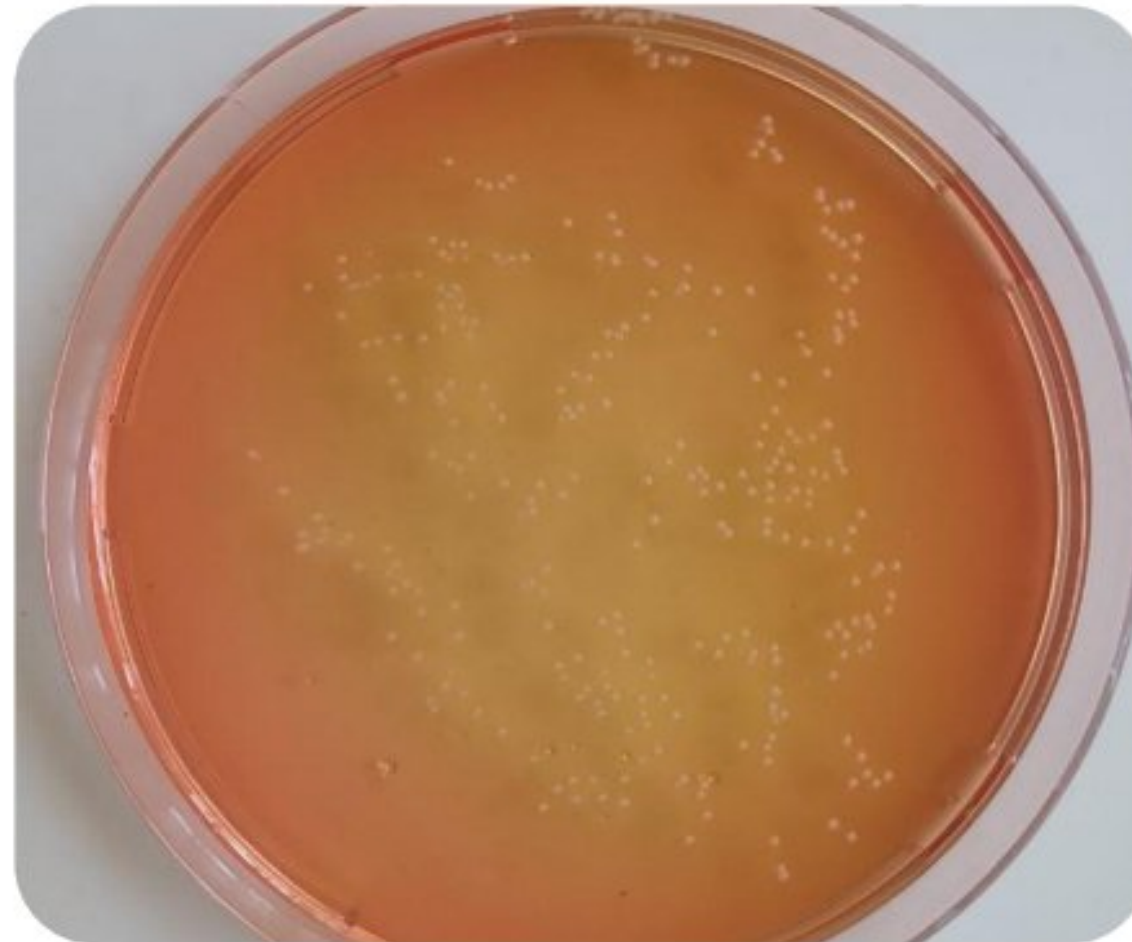
الشكل (2-40) آغار بايل اسكولين قبل الزرع



الشكل (2-39) المستعمرات سوداء اللون دليل على أن الجراثيم هي المكورات المعوية البرازية

- اختبار (MSA) Chapman/Mannitol Salt Agar:

يمنع تركيز الملح العالي (7.5% كلوريد الصوديوم) لهذا الوسط نمو معظم الجراثيم، مما يسمح في المقام الأول للكائنات الحية الدقيقة المحبة للملوحة Halophilic والمتحملة للملوحة halotolerant بالنمو. ويمكن للمكورات المعوية البرازية والغائطية أن تنمو على MSA لأنها تتحمل الملوحة العالية ويمكن للمكورات المعوية البرازية أن تخمر سكر المانيتول وأن تحول لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر على عكس المكورات المعوية الغائطية. حيث أشار تحول لون الوسط من الأحمر البنفسجي إلى الأصفر إلى نمو المكورات المعوية البرازية. (Quiloon, Vu, & Carvalho, 2012)



الشكل (2-41) آغار Chapman/Mannitol Salt Agar يظهر نمو المكورات المعوية البرازية.

تم إجراء زرع فرعية من الجراثيم وزرعها على أطباق بيتري حاوية على آغار دموي وحضنها لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 للحصول على جراثيم طازجة وتم تحضير المعلق الجرثومي المستخدم في هذه البحث من هذه الجراثيم بحيث تكون كثافة المعلق الجرثومي 10^8 من الوحدات المشكلة للمستعمرات (CFU)/مل باستخدام جدول McFarland.

حُقن ضمن كل قناة من الأقفنية الجذرية المحضرة والمعقمة 50 ميكرون من المعلق الجرثومي المحضر بواسطة MicroPipette وقُسمت الأسنان على ثلاثة أنابيب معقمة حاوية على مرق مغذي (Brain Heart Infusion) غُلف كل منها بورق قصدير لضمان عدم حدوث تلوث تم بعدها حضن العينات داخل الحاضنة بشروط حضن هوائية وبدرجة 37 مئوية لمدة 7 أيام للسماح للجراثيم باختراق عاج الأقفنية الجذرية، وجُدَّ المرق الغذي داخل الأسنان أثناء فترة الحضن لضمان عدم جفاف المعلق الجرثومي داخل الأقفنية. وأُخذت عينة من المرق وزُرعت على الآغار المغذي للتأكد من عدم وجود تلوث، ووضع الوسط داخل الحاضنة لمدة 24 ساعة ودرجة حرارة 37.

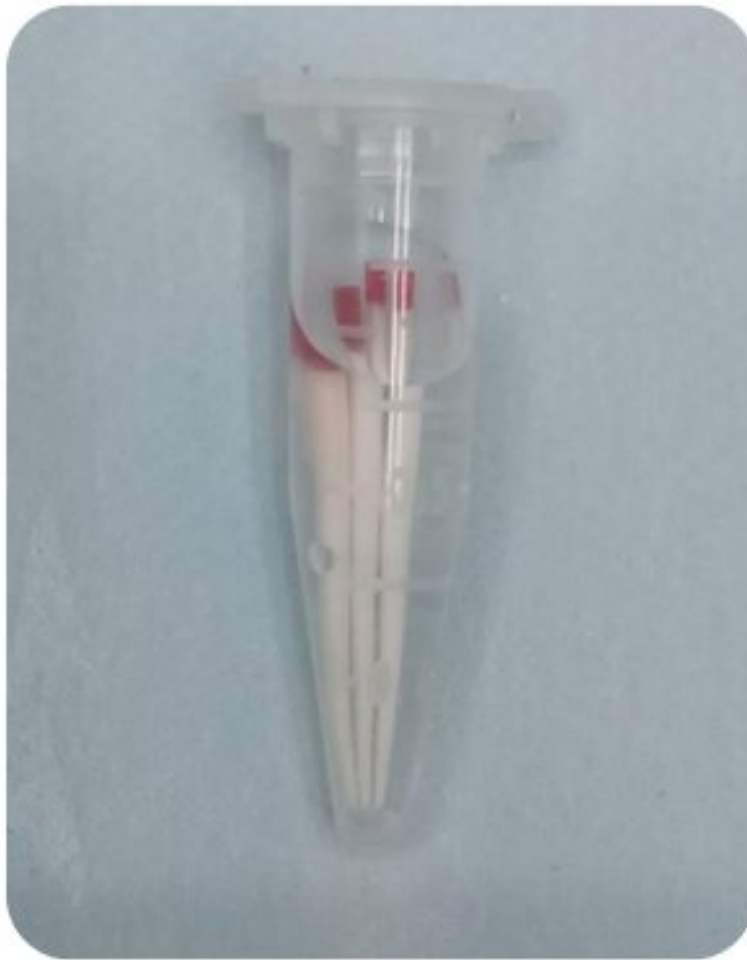
(Garg, Mala et al. 2021)



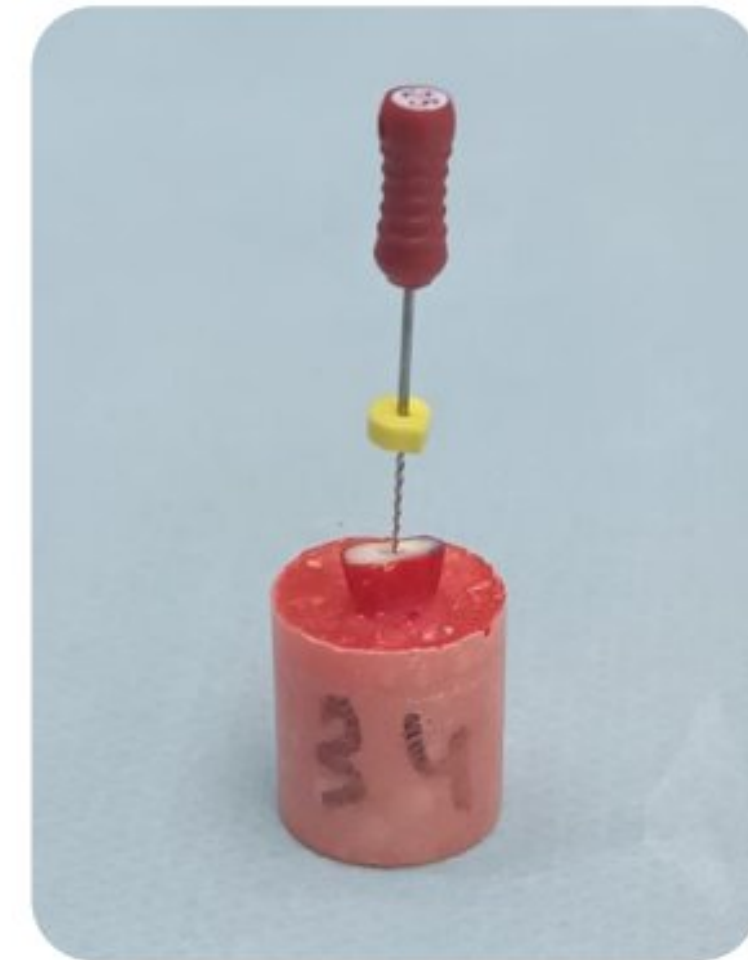
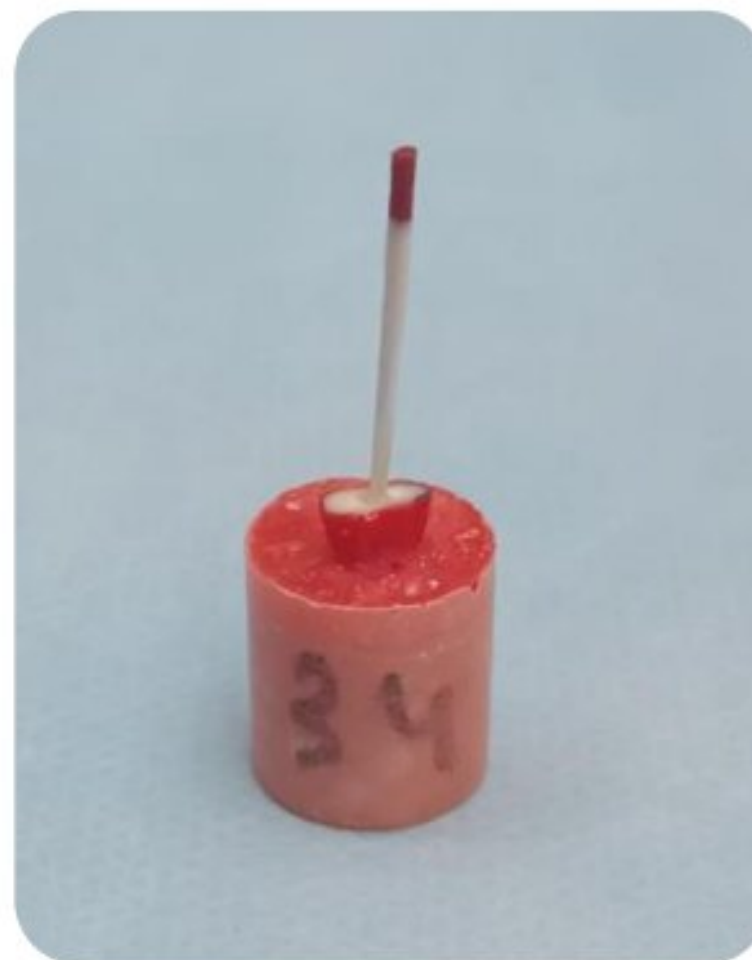
الشكل (2-42) العينة ضمن أنبوب حاوي على مرق مغذي

2-4-3 التعداد الأولي للوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية:

بعد انتهاء فترة الحضانة تم عد الجراثيم الموجودة داخل الأوعية الجذرية بطريقة Viable Count أخذت المسحة الجرثومية من كل قناة جذرية على النحو التالي: ملئت القناة الجذرية بالسيروم الملحي المعقم وتم إجراء برد محيطي لمدة 15 ثانية باستخدام مبرد H-File معقم بالحرارة الرطبة، ثم أخذت المسحة عن طريق ادخال قمع ورقي معقم متوافق مع قياس أداة التحضير 25/06 حيث أدخل القمع على كامل الطول العامل للقناة وترك فيها لمدة 60 ثانية، نُقل بعدها إلى أنبوب إندورف معقم وحوي على 1 مل من السيروم الملحي المعقم، تم تكرار المسحة ثلاث مرات متتالية لكل قناة جذرية بهدف الحصول على واقع جرثومي حقيقي للقناة.



الشكل (2-44) المسحة الجرثومية



الشكل (2-43) البرد المحيطي

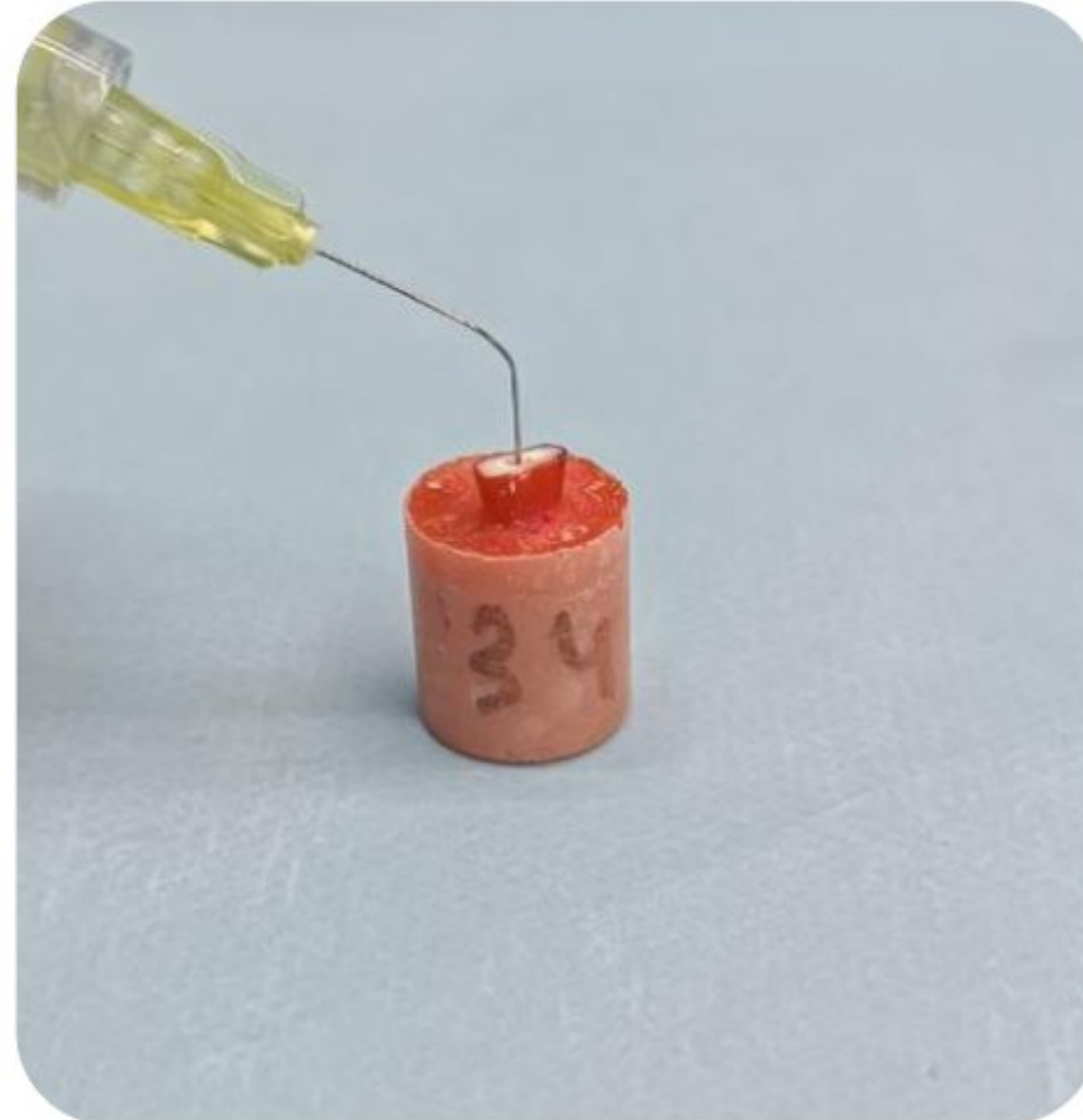
تم رج الأنابيب الحاوية على الأقماع الورقية لمدة 20 ثانية بواسطة جهاز الدوامة لضمان تجانس المحلول. بعدها أُجري 6 تمديدات عشرية مع المزج المستمر لكل أنبوب لمدة 20 ثانية، ثم أُخذ من كل تمديد 6 حمولات بسعة 50 ميكرون بواسطة ماصة MicroPipette زُرعت على ستة أطباق بيتري مجهزة مسبقاً حاوية على آغار بايل اسكولين ثم وُضعت الأطباق ضمن الحاضنة بنفس الشروط السابقة، وذلك بهدف الوصول إلى تمديد مناسب يمكن من خلاله عد الوحدات الجرثومية. وبعد 24 ساعة تم إخراج الأطباق من الحاضنة وتم عد الوحدات الجرثومية باستخدام جهاز عد المستعمرات الجرثومية Colony Counter 560، تم تحويل عد الوحدات الجرثومية إلى أرقام لوغاريتمية لتسهيل إجراء التحليل الإحصائي.



الشكل (2-45) أطباق البتري ضمن الحاضنة

2-4-4 تطبيق سوائل الإرواء :

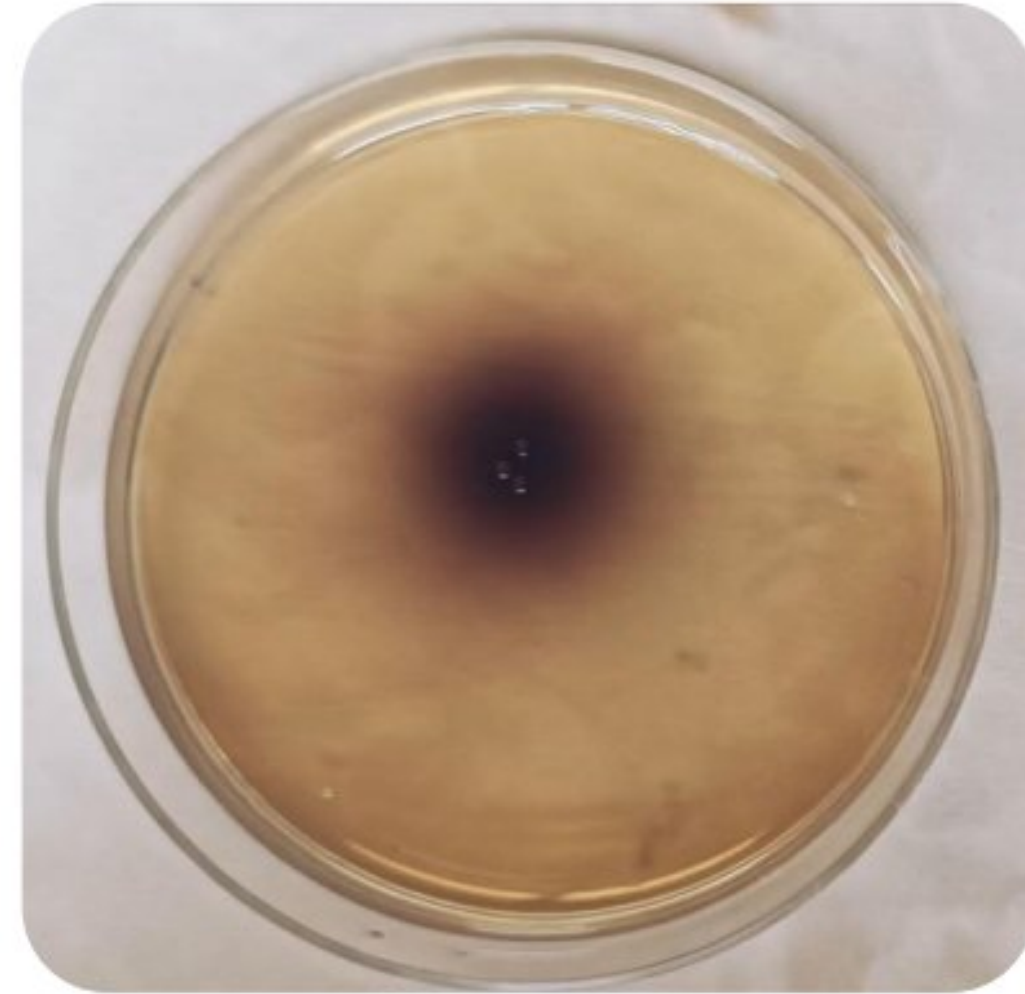
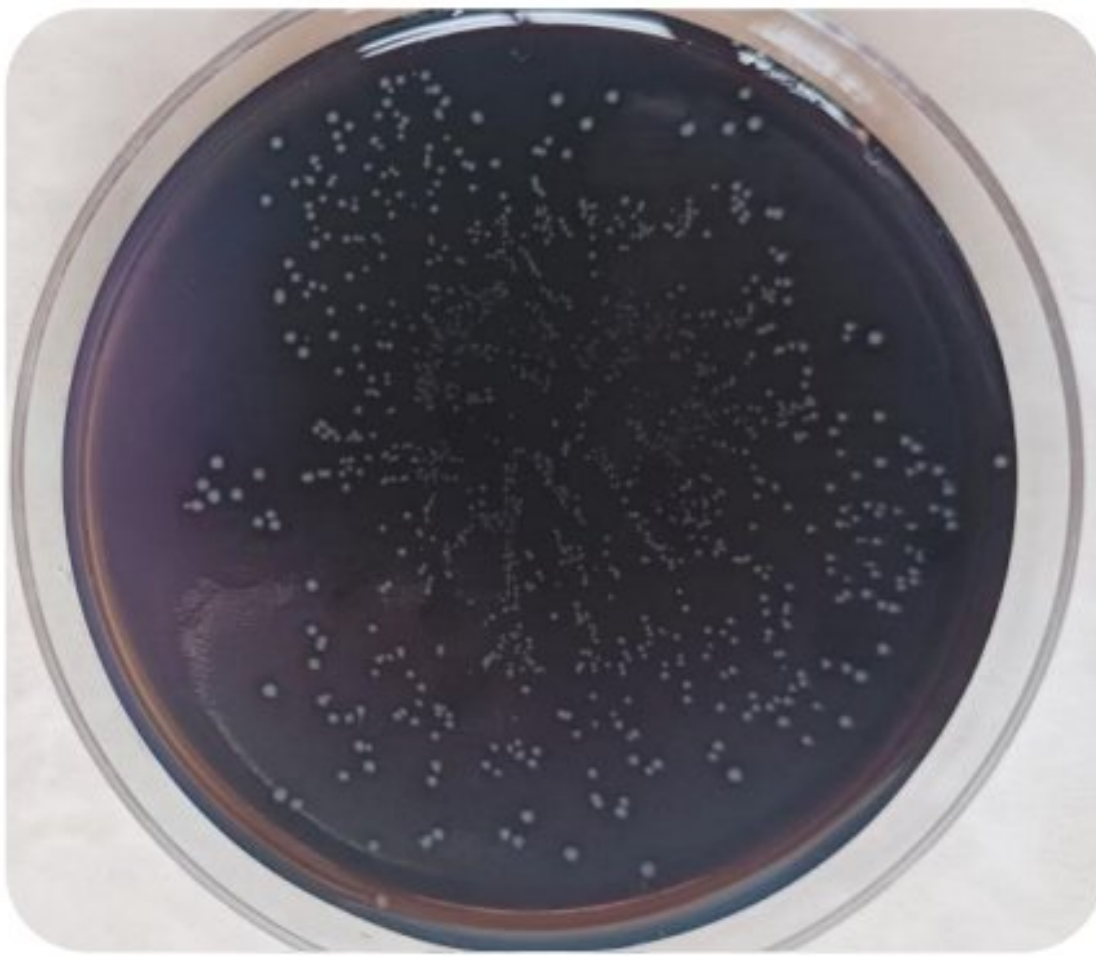
تم تقسيم الأقنية الجذرية المخمجة بشكل عشوائي إلى 3 مجموعات ($n=15$) تبعاً لسائل الإرواء المستخدم حيث تم إرواء الأقنية الجذرية بـ 5 مل من كل سائل إرواء لمدة 3 دقائق باستخدام إبرة إرواء جانبي بقياس 27 Gauge على كامل الطول العامل ثم الإرواء بـ 10 مل ماء مقطر لإزالة تأثير سوائل الإرواء. (Gandhi, Chandrasekar et al. 2020)



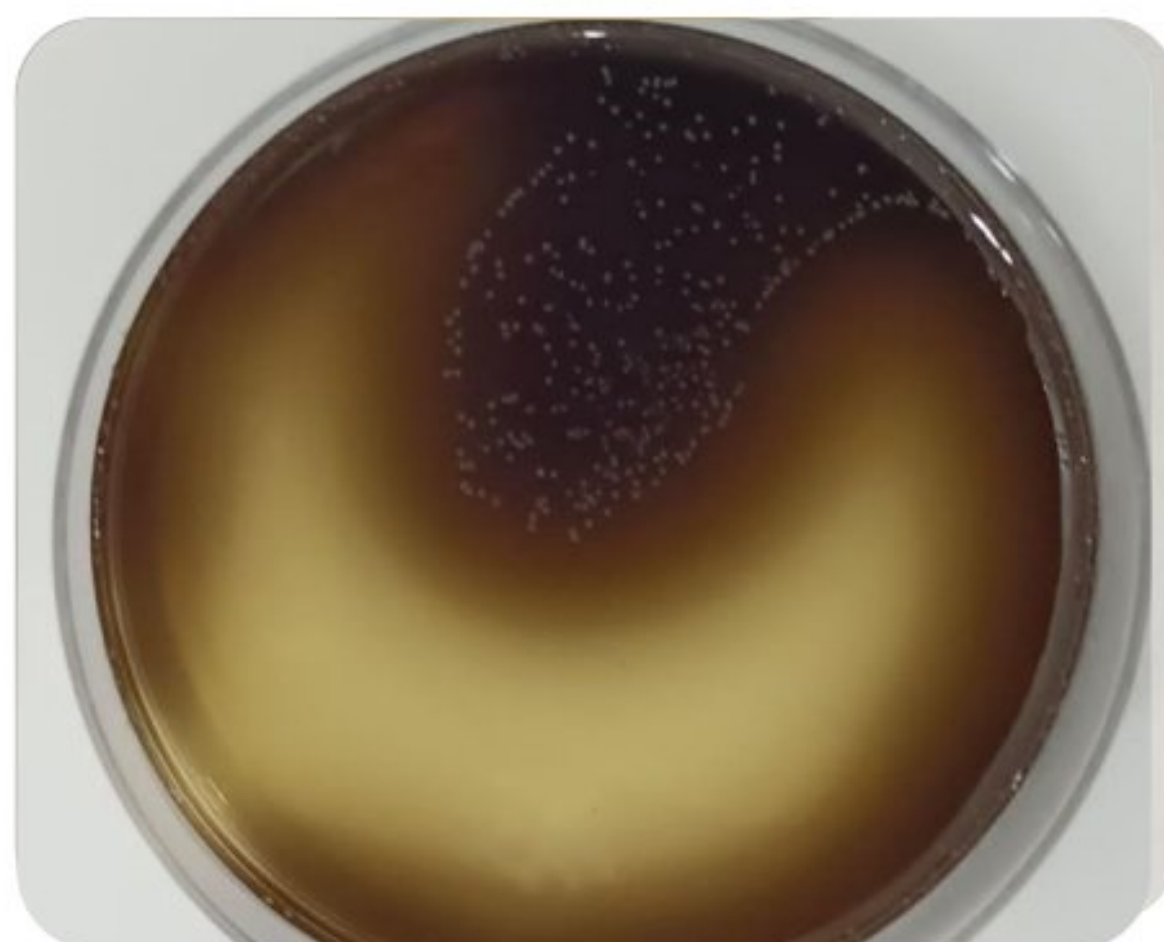
الشكل (2-46) إرواء الأقنية

2-4-5 التعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد تطبيق سائل الإرواء :

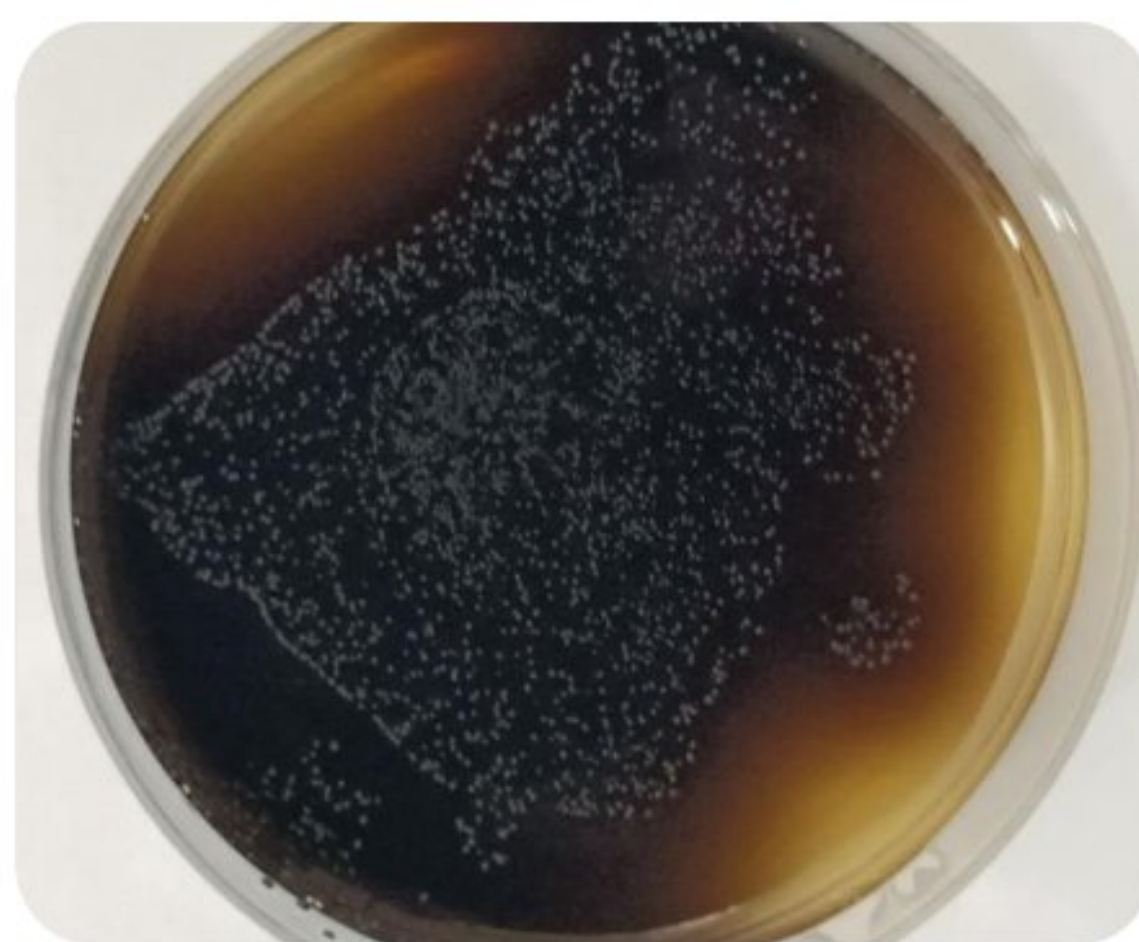
أخذت المسحات الجرثومية من الأوعية الجذرية وفقاً للطريقة التي تم وصفها عند أخذ المسحات الأولية حيث تم غسل كل قناة من الأوعية الجذرية بـ 5 مل من السيروم الملحي المعقم وترك المحلول بداخلها مع إجراء برد محيطي لمدة 15 ثانية بواسطة مبرد H-File معقم بالحرارة الرطبة. ثم تم استخدام أقماع ورقية متوافقة مع قياس أداة التحضير 25/06 الورقي على كامل الطول العامل حيث تم إدخال القمع وترك فيها لمدة دقيقة، ثم تم نقل القمع الورقي إلى أنبوب إيندورف معقم والحاوي على 1 مل من السيروم الملحي المعقم، تم تكرار المسحة ثلاث مرات لكل قناة لكي نحصل على واقع جرثومي حقيقي للقناة، تم رج الأنابيب الحاوية على الأقماع الورقية لمدة 20 ثانية بواسطة جهاز الدوامة لضمان تجانس المحلول ثم تم أخذ 50 ميكرون من المحلول داخل أنبوب إيندورف بواسطة ماصة MicroPipette وزرعها على أطباق بتري المجهزة مسبقاً والحاوية على آغار بايل اسكولين ثم وضعت الأطباق ضمن الحاضنة بنفس الشروط السابقة، وبعد 24 ساعة تم إخراج الأطباق من الحاضنة وأجري عد للوحدات الجرثومية باستخدام جهاز عد المستعمرات الجرثومية Colony counter 560، تم تحويل عدد الوحدات الجرثومية إلى أرقام لوغاريتمية لتسهيل إجراء التحليل الإحصائي.



الشكل (2-47) التعداد الجرثومي قبل وبعد تطبيق سائل الإرواء في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم



الشكل (2-48) التعداد الجرثومي قبل وبعد تطبيق سائل الإرواء في مجموعة IP6



الشكل (2-49) التعداد الجرثومي قبل وبعد تطبيق سائل الإرواء في مجموعة السالين

الباب الثالث النتائج

Results

3-1 وصف العينة:

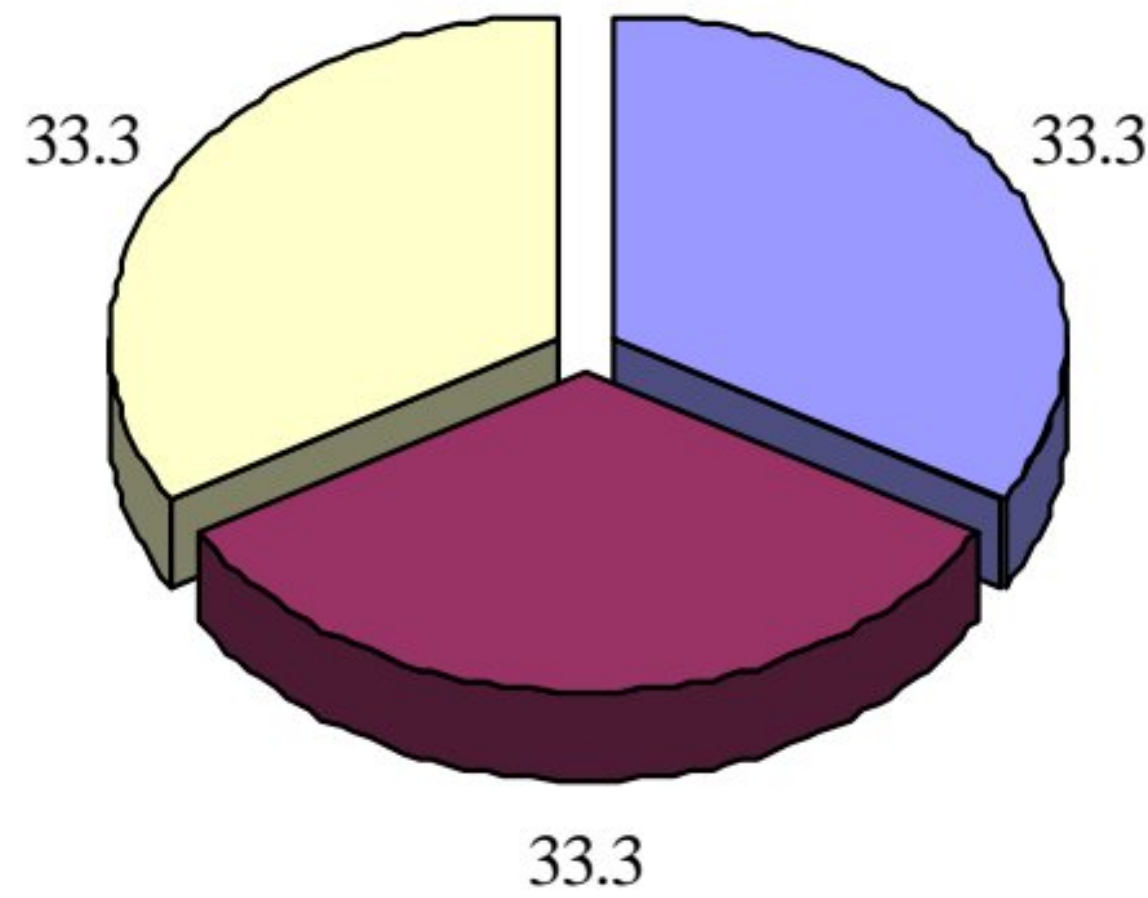
تألفت عينة البحث من 45 ضاحكاً سفلياً كانت مقسمةً إلى ثلاث مجموعات رئيسة متساوية وفقاً لسائل الإرواء المستخدم (مجموعة حمض الفيتيك 17%، مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي)، وكان توزع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم كما يلي:

(1) توزع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم:

جدول رقم (3-1) يبين توزع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

سائل الإرواء المستخدم	عدد الضواحك السفلية	النسبة المئوية
حمض الفيتيك 17%	15	33.3
هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	15	33.3
مصل فيزيولوجي ملحي	15	33.3
المجموع	45	100

النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم



■ حمض الفيتيك 17% ■ هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% ■ مصل فيزيولوجي ملحي

مخطط رقم (3-1) يُمثل النسبة المئوية لتوزع عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

3-2 الدراسة الإحصائية التحليلية:

تمت دراسة توزيع قيم تعداد المستعمرات الجرثومية وفقاً للمنحنى الطبيعي باستخدام اختبار Kolmogorov-Smirnov وكانت النتائج أن توزيع قيم مقدار تعداد المستعمرات الجرثومية كان لا يتبع التوزيع الطبيعي وبالتالي تم استخدام اختبارات لابارامترية (Mann-Whitney U، Kruskal-Wallis، Wilcoxon)

تم إجراء الحسابات الإحصائية للبحث باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية SPSS الإصدار 13.0. بعد الانتهاء من عد الجراثيم تم حساب اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مرحلتين مختلفتين (قبل تطبيق سوائل الإرواء، بعد تطبيق سوائل الإرواء) مقدار التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية لكل قناة من الأقنية الجذرية المدروسة في عينة البحث وفقاً للمعادلة التالية:

مقدار التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية لكل ضاحك سفلي

$$= \text{اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء} - \text{اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية قبل الإرواء للضاحك السفلي نفسه،}$$

كما تم حساب نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث لكل ضاحك سفلي من الضواحك السفلية المدروسة في عينة البحث وفقاً للمعادلة التالية:

نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية لكل ضاحك سفلي

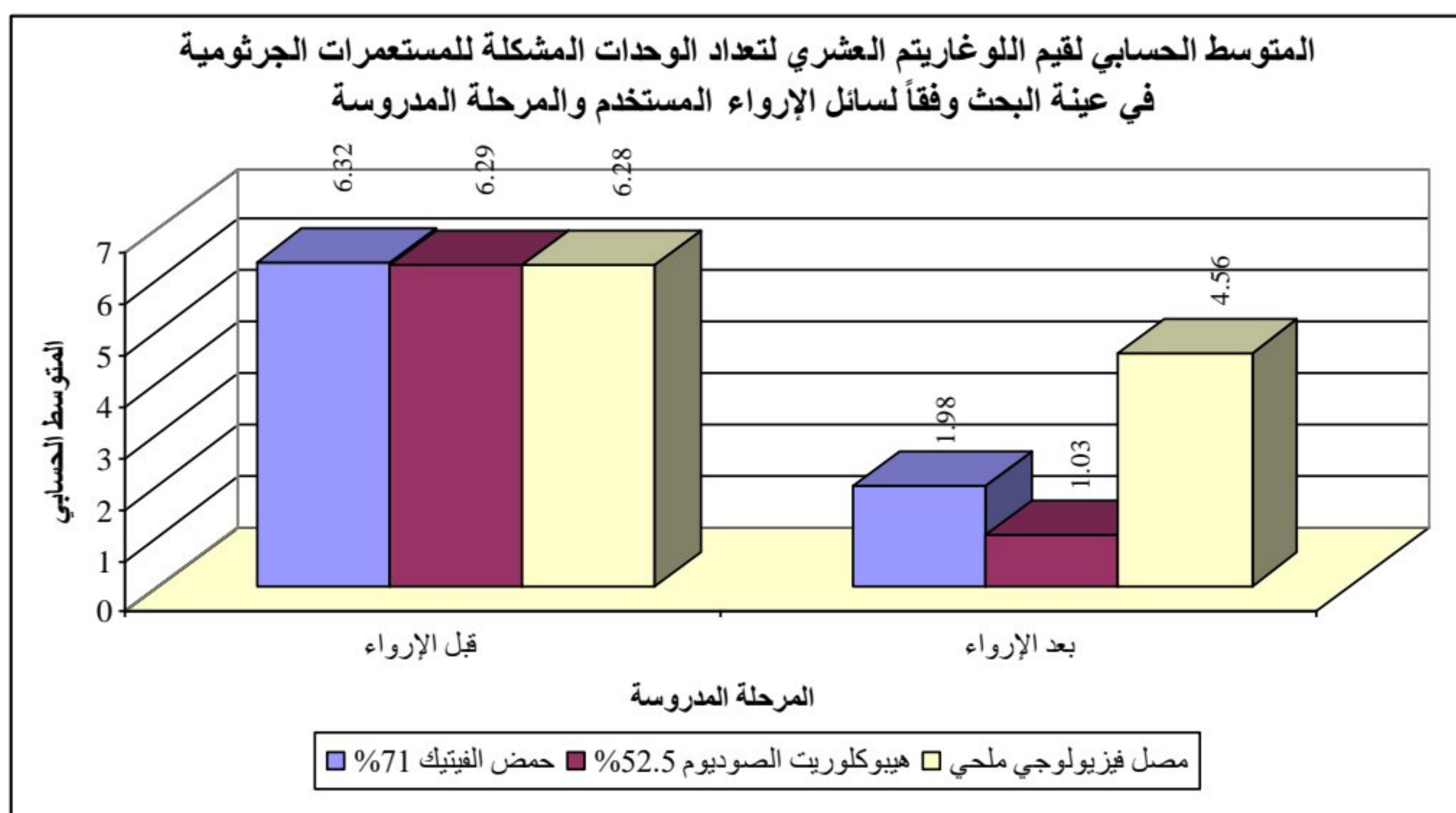
$$= (\text{مقدار التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية} \div \text{اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية قبل الإرواء}) \times 100 \text{ للضاحك السفلي نفسه.}$$

3-2-1 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية وفقاً للمرحلة المدروسة:

- الإحصاء الوصفي:

جدول رقم (3-2) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم والمرحلة المدروسة.

المتغير المدروس = اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية							
المرحلة المدروسة	سائل الإرواء المستخدم	عدد الضوايح السفلية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
قبل الإرواء	حمض الفيتيك 17%	15	6.32	0.06	0.02	6.198	6.412
	هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	15	6.29	0.06	0.02	6.158	6.363
	مصل فيزيولوجي ملحي	15	6.28	0.08	0.02	6.159	6.432
بعد الإرواء	حمض الفيتيك 17%	15	1.98	1.13	0.29	0	3.685
	هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	15	1.03	0.89	0.23	0	2
	مصل فيزيولوجي ملحي	15	4.56	0.33	0.09	4.010	4.960



مخطط رقم (3-2) يمثل المتوسط الحسابي لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم والمرحلة المدروسة.

قبل تطبيق سائل الإرواء ضمن الألفية كان المتوسط الحسابي للوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مجموعة حمض الفيتيك 17% (6.32) وفي مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% (6.29) وفي مجموعة السيروم الملحي (6.28).

وبعد تطبيق سائل الإرواء ضمن الألفية كان المتوسط الحسابي للوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مجموعة حمض الفيتيك 17% (1.98) وفي مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% (1.03) وفي مجموعة السيروم الملحي (4.56).

- الإحصاء التحليلي:

تم إجراء الحسابات الإحصائية للبحث باستخدام برنامج الحزمة الإحصائية SPSS الإصدار 13.0. تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم (مجموعة حمض الفيتيك 17%، مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي) في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة كما يلي:

جدول رقم (3-3) يبين نتائج اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة.

المتغير المدروس = اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية			
المرحلة المدروسة	قيمة كاي مربع	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
قبل الإرواء	1.929	0.381	لا توجد فروق دالة
بعد الإرواء	33.403	0.000	<u>توجد فروق دالة</u>

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أكبر بكثير من القيمة 0.05 قبل الإرواء، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق دالة إحصائية في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية قبل الإرواء بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث. أما بعد الإرواء فيلاحظ أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق دالة إحصائية في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء بين اثنتين على الأقل من مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث، ولمعرفة أي المجموعات تختلف عن الأخريات جوهرياً في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء تم إجراء نتائج اختبار Mann-Whitney U للمقارنة الثنائية بين المجموعات في عينة البحث كما يلي:

جدول رقم (3-4) يبين نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق الثنائية في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم الثلاث المدروسة في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة.

المتغير المدروس = اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية					
سائل الإرواء المستخدم (I)	سائل الإرواء المستخدم (J)	الفرق بين المتوسطين I-J (J)	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
حمض الفيتيك 17%	هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	0.95	43.0	0.003	توجد فروق دالة
	مصل فيزيولوجي ملحي	-2.59	0	0.000	توجد فروق دالة
هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	مصل فيزيولوجي ملحي	-3.54	0	0.000	توجد فروق دالة

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 بالنسبة لجميع المقارنات الثنائية المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم (مجموعة حمض الفيتيك 17%، مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي) في عينة البحث، وبدراسة الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات نستنتج أن اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء في مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي كانت أكبر منها في كل من مجموعة حمض الفيتيك 17% ومجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% على حدة، ونستنتج أن اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء في مجموعة حمض الفيتيك 17% كانت أكبر منها في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% في عينة البحث.

3-2-2 دراسة تأثير المرحلة المدروسة في قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية وفقاً لسائل الإرواء المستخدم:

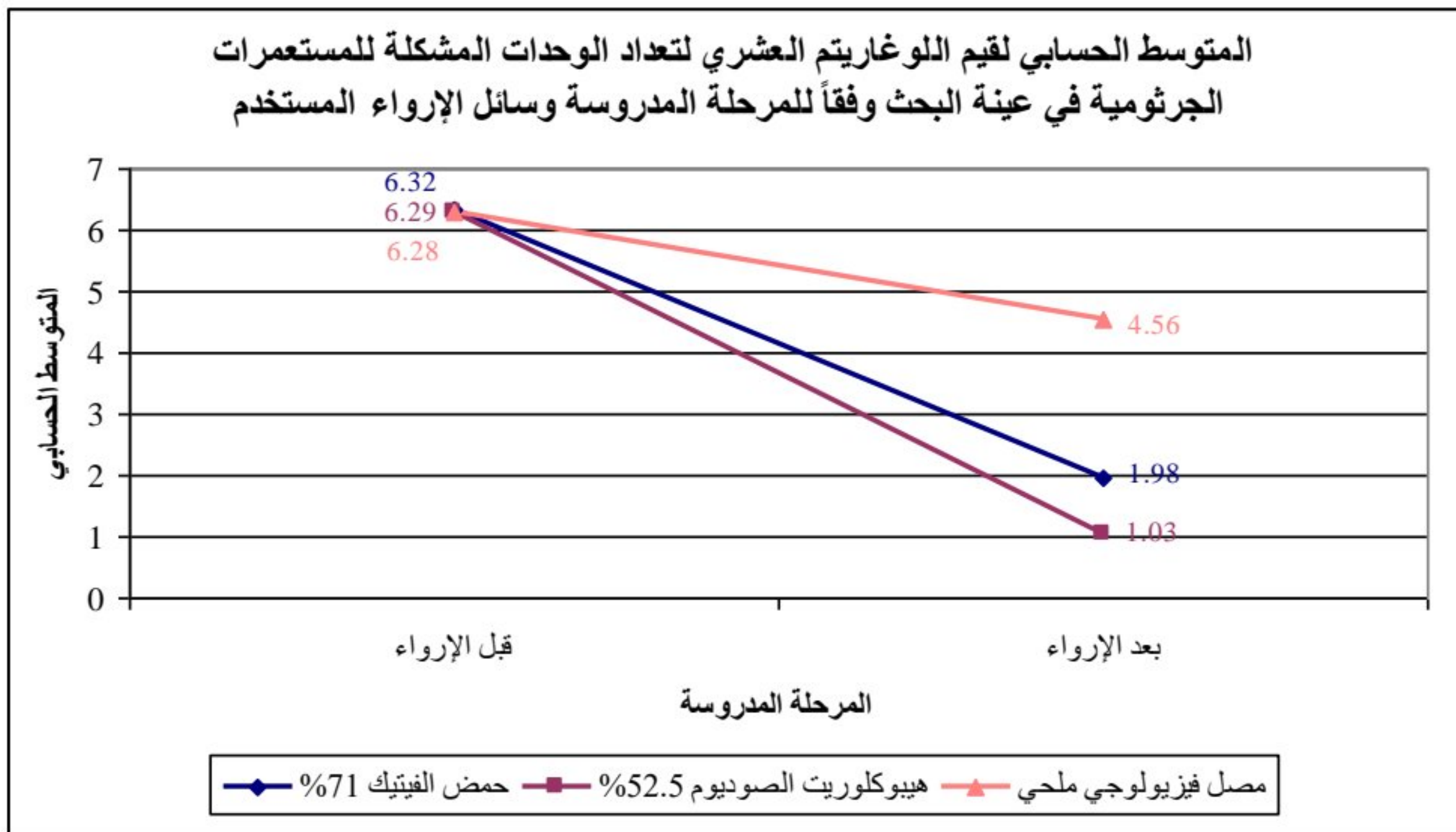
تم إجراء اختبار Wilcoxon للرتب ذات الإشارة الجبرية لدراسة دلالة الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين المرحلتين المدروستين (قبل الإرواء، بعد الإرواء) في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم كما يلي:

جدول رقم (3-5) يبين نتائج اختبار Wilcoxon للرتب ذات الإشارة الجبرية لدراسة دلالة

الفروق في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين المرحلتين المدروستين (قبل الإرواء، بعد الإرواء) في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

المتغير المدروس = اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية					
المقارنة بين المرحلتين:	سائل الإرواء المستخدم	الفرق بين المتوسطين	قيمة Z	قيمة مستوى الدلالة	دلالة الفروق
بعد الإرواء - قبل الإرواء	حمض الفيتيك 17%	-4.34	-3.408	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>
	هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	-5.27	-3.408	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>
	مصل فيزيولوجي ملحي	-1.72	-3.408	0.001	<u>توجد فروق دالة</u>

يبين الجدول أعلاه أن قيمة مستوى الدلالة أصغر بكثير من القيمة 0.05 مهما كان سائل الإرواء المستخدم، أي أنه عند مستوى الثقة 95% توجد فروق ثنائية دالة إحصائياً في متوسط قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين المرحلتين المدروستين (قبل الإرواء، بعد الإرواء) مهما كان سائل الإرواء المستخدم في عينة البحث، وبما أن الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات سالبة نستنتج أن قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء كانت أصغر منها قبل الإرواء مهما كان سائل الإرواء المستخدم في عينة البحث.



مخطط رقم (3-3) يمثل المتوسط الحسابي لقيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً للمرحلة المدروسة وسائل الإرواء المستخدم.

3-2-3 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد

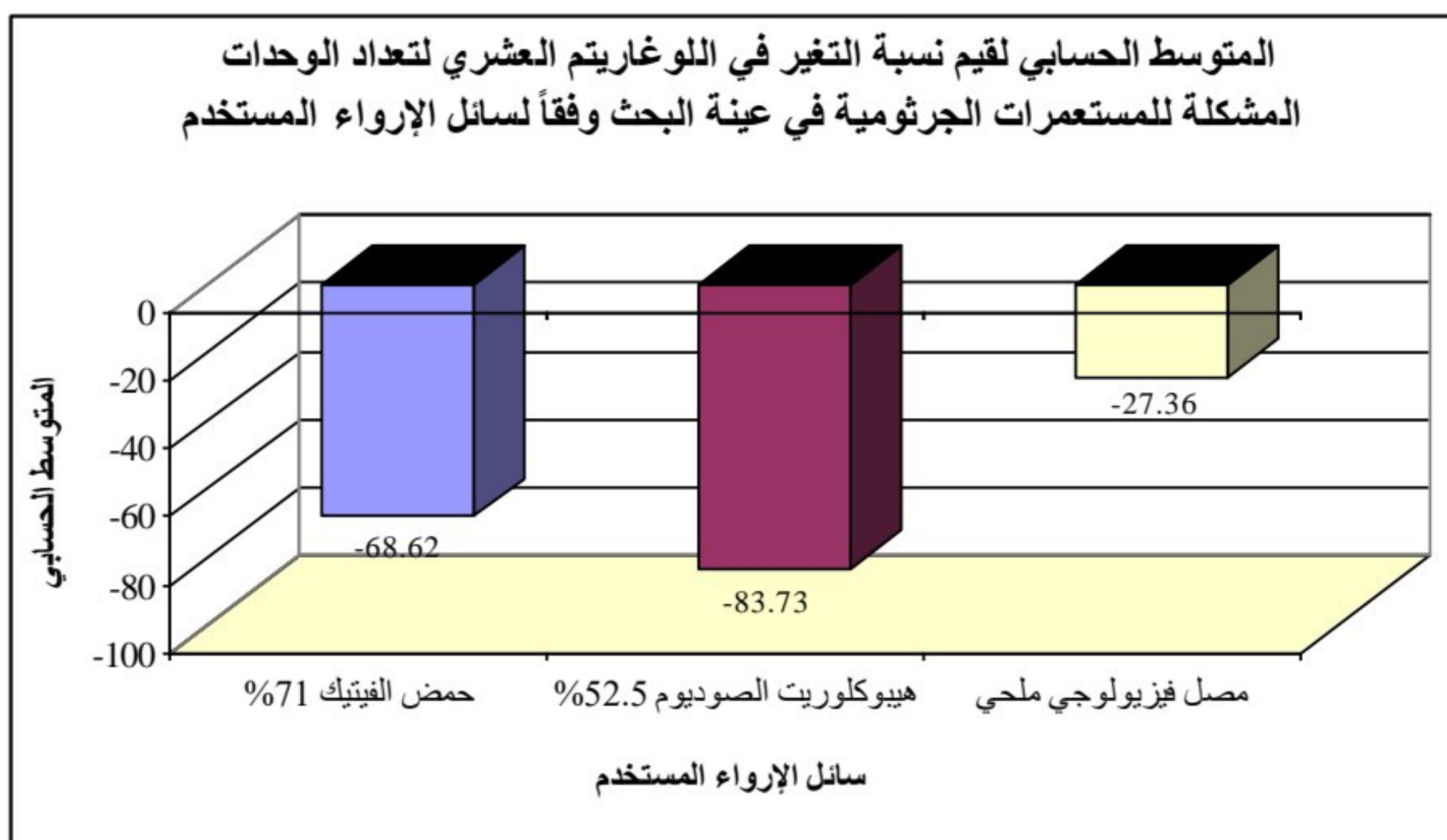
الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية:

تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في متوسط نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم (مجموعة حمض الفيتيك 17%، مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي) في عينة البحث كما يلي:

جدول رقم (3-6) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

المتغير المدروس = نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية						
سائل الإرواء المستخدم	عدد الضواحي السفلية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
حمض الفيتيك 17%	15	-68.62	17.96	4.64	-100	-41.64
هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	15	-83.73	14.06	3.63	-100	-68.54
مصل فيزيولوجي ملحي	15	-27.36	5.53	1.43	-37.16	-20.46

يبين الجدول أعلاه متوسط نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم وبما أن الإشارة الجبرية للفروق بين المتوسطات سالبة نستنتج أن قيم اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء كانت أصغر منها قبل الإرواء مهما كان سائل الإرواء المستخدم في عينة البحث. حيث بلغت نسبة النقص لمجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 83.73% وكانت 68.62% في مجموعة حمض الفيتيك و 27.36% في مجموعة السيروم الملحي.



مخطط رقم (3-4) يمثل المتوسط الحسابي لقيم نسبة التغير في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

4-2-3 دراسة تأثير سائل الإرواء المستخدم في نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية:

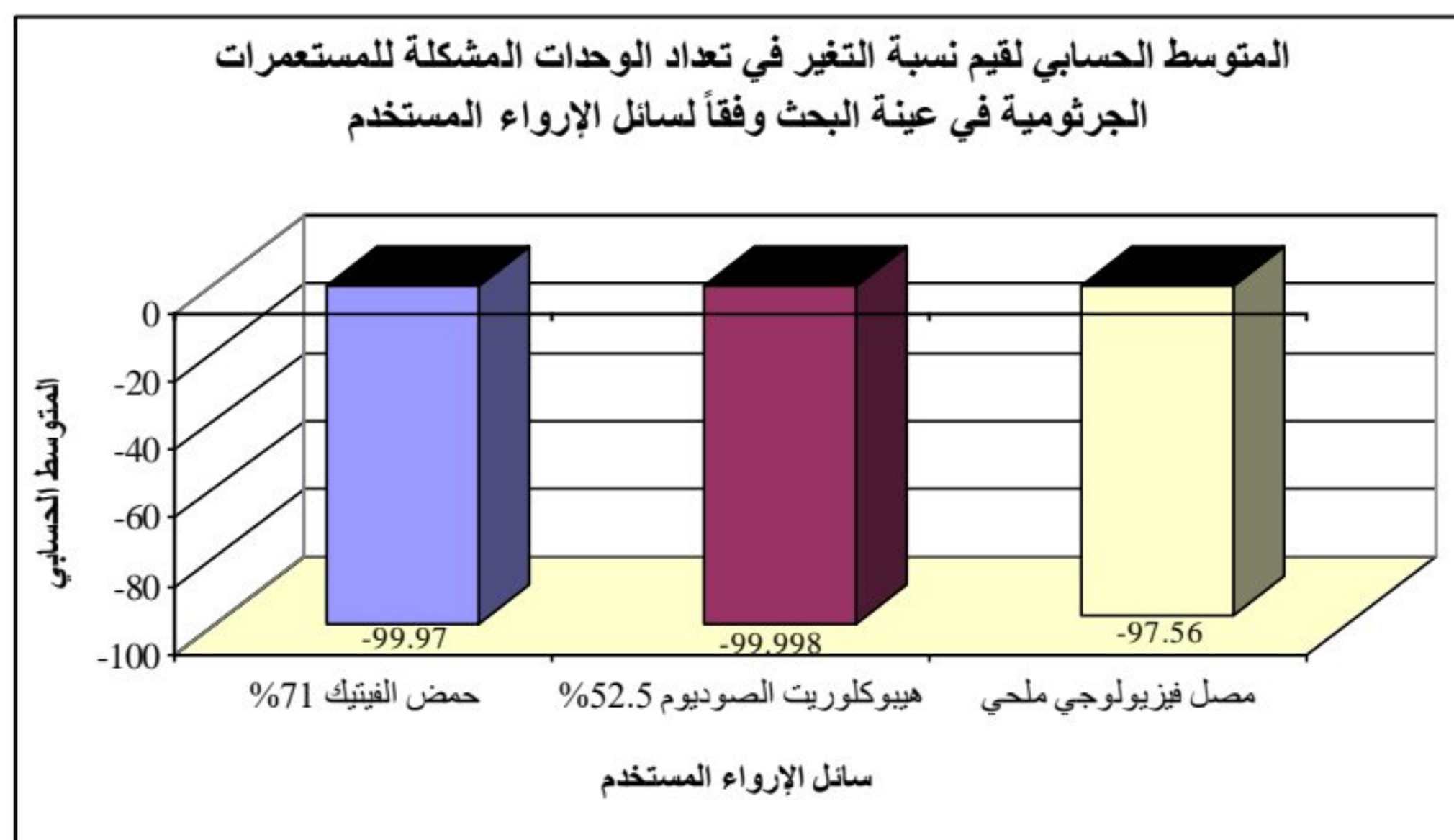
- الإحصاء الوصفي:

جدول رقم (3-7) يبين المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والخطأ المعياري لقيم نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

المتغير المدروس = نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية						
سائل الإرواء المستخدم	عدد الضواحي السفلية	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	الحد الأدنى	الحد الأعلى
حمض الفينيك 17%	15	-99.97	0.06	0.02	-100	-99.765
هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%	15	-99.998	0.002	0.00	-100	-99.996
مصل فيزيولوجي ملحي	15	-97.56	1.45	0.37	-99.57	-94.51

الإحصاء التحليلي:

تم إجراء اختبار Kruskal-Wallis لدراسة دلالة الفروق في متوسط نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بين مجموعات سائل الإرواء المستخدم (مجموعة حمض الفيتيك 17%، مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، مجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي) في عينة البحث.



مخطط رقم (3-5) يمثل المتوسط الحسابي لقيم نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم.

يبين الجدول رقم (3-7) لقيم نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية في عينة البحث وفقاً لسائل الإرواء المستخدم وبما أن الإشارة الجبرية لمتوسطات نسبة التغير سالبة نستنتج أن قيم نسبة التغير لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء كانت أصغر منها قبل الإرواء مهما كان سائل الإرواء المستخدم في عينة البحث حيث بلغت نسبة الانخفاض Log Cycle reductoin لمجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 99.998% وكانت 99.97% في مجموعة حمض الفيتيك و 97.56% في مجموعة السيروم الملحي. وبالتالي نستنتج أن هناك انخفاض بـ 4 دورات لوغاريتمية في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%، و 3 دورات لوغاريتمية في مجموعة حمض الفيتيك 17% وانخفاض دورة لوغاريتمية في مجموعة السيروم الملحي العقيم 0.9%.

يبين الجدول رقم (3-8) الدورات اللوغاريتمية لانخفاض أعداد الجراثيم بين مرحلتين الدراسة حسب سائل الإرواء المستخدم:

Log Cycle Reductoin	سائل الإرواء المستخدم
3	حمض الفيتيك 17%
4	هيبوكلوريت الصوديوم 5.25%
1	مصل فيزيولوجي ملحي 0.9%

الباب الرابع

المناقشة

Discussion

أُجريت هذه الدراسة لمقارنة التأثير المضاد للمكورات المعوية البرازية لسوائل إرواء مختلفة. ورُفضت فرضية العدم لأن نسبة التغير في تعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية CFU/ml في المجموعات المدروسة أظهرت فروق دالة إحصائية.

وتم اختيار المكورات المعوية البرازية نظراً لأهميتها السريرية حيث تعد السبب الرئيس لفشل المعالجات اللبية وذلك بسبب قدرتها الكبيرة على البقاء حية ضمن ظروف بيئية قاسية جداً.

(Siqueira Jr and Rôças 2022) حيث تستطيع المكورات المعوية البرازية تشكيل أغلفة حيوية سمكية على جدران الأقنية الجذرية مما يسمح لها بالاندخال ضمن القنيات العاجية والتعقيدات التشريحية للأقنية الجذرية (Momenijavid, Salimizand et al. 2022) (Hahn and Hanford 2021) وتشكيل بيئة مقاومة لدفاعات المضيف المناعية، المضادات الحيوية والضمادات المستخدمة في سياق المعالجة القنيوية. (Ali, Cheung et al. 2020) حيث تستعمر القنيات العاجية والأجزاء غير المحضرة الأقنية الجذرية مجدداً وتسبب التهاب نسج حول ذروية ثانوي (تالي للمعالجة) (Zehnder 2006)

يعتبر هيبوكلوريت الصوديوم المعيار الذهبي لسوائل الإرواء والأكثر استخداماً على نطاق واسع بسبب فعله المضاد للجراثيم وعوامل الفوعة وقدرته على حل مكونات اللويحة الجرثومية وبقايا النسيج اللبي بالرغم من العديد من سلبياته. (Busanello, Petridis et al. 2019) (Zehnder 2006) حيث يبدي سمية خلوية، يحل النسيج العضوية بشكل غير تمييزي، له رائحة غير مستحبة وغير قادر على إزالة طبقة اللطاخة بشكل كامل. (Basrani and Haapasalo 2012)

تشمل تأثيراته السامة على الأنسجة الحيوية انحلال الدم وتقرح البشرة والتتخر. تم وصف العديد من الحوادث التي حدثت أثناء الإرواء في أدبيات طب الأسنان؛ تتراوح هذه الأضرار من تخريب ملابس المريض، أذية عين المريض أو الطبيب، خطورة تجاوزه للثقبية الذروية، وردود الفعل التحسسية تجاهه، إلى الاستخدام غير المقصود له كمحلول مخدر. (HÜLSMANN, RÖDIG et al. 2007)

يعتبر EDTA العامل المخلب الأشيع في المعالجات اللبية. (Willershausen, Wolf et al. 2015) بتركيز 17% ووقت إرواء 1-5 دقائق لإزالة طبقة اللطاخة. وبالرغم من شعبيته إلا أن سلبيات استخدامه دفعت إلى البحث عوامل مخلبة بديلة. (Haapasalo, Shen et al. 2014)

وقد ثبت سابقاً نقص قدرة بروتوكول الإرواء القياسي الذهبي (هيبوكلوريت الصوديوم متبوعاً بـ EDTA) في القضاء على المكورات المعوية البرازية بسبب المقاومة العالية للغلاف الحيوي (البیوفيلم) الذي تشكله للمواد المضادة للجراثيم. (Alshanta, Alqahtani et al. 2020) وبالتالي من المرغوب فيه إيجاد سائل إرواء بخصائص محسنة مضادة للكائنات الحية الدقيقة ومخلبة.

يعتبر حمض الفيتيك (IP6) مخزن هام للفوسفور في بذور النباتات والحبوب ويتم استخراجه بعملية بسيطة وفعالة من حيث التكلفة. (Bloot, Kalschne et al. 2021) وهو غير مكلف، شامل، غير سام، متوفر ويمكن الحصول عليه بسهولة من مصادر نباتية مختلفة من خلال إجراءات بسيطة نسبياً. (Graf 1983)

له ألفة قوية للمعادن الهامة الموجودة في الغذاء في شكلها العنصري، بما في ذلك الكالسيوم والحديد والزنك؛ وبالتالي تثبيط امتصاصهم. (Schlemmer, Frølich et al. 2009) فله تأثير مضاد للأكسدة يشير إلى دوره في منع تكوين الجذور الحرة من خلال تخليب الحديد الذي يحفز إنتاج جذور الهيدروكسيل. (Graf 1983)

يفسح حمض الفيتيك المجال للعديد من التطبيقات في طب الأسنان، كمواد الإلصاق السنية (Nassar, Hiraishi et al. 2013) أو كسائل إرواء في المعالجات اللبية فهو يملك القدرة على إزالة طبقة اللطاخة (Nassar, Hiraishi et al. 2015) إضافة لامتلاكه تأثير قاتل للجراثيم ومزيل للأغلفة الحيوية. (Nassar, Nassar et al. 2021) وتأثيره المحرر لعوامل النمو من القنيات العاجية. (Deniz Sungur, Aksel et al. 2019)

في هذا البحث تمت مقارنة التأثير المضاد للمكورات المعوية البرازية بين حمض الفيتيك 17% وهيبوكلوريت الصوديوم 5.25% كعنصر شاهد إيجابي ومحلول السيروم الملحي 0.9% كعنصر شاهد سلبي وتم استخدام ضواحك سفلية بهدف توحيد العينات حيث تألفت عينة البحث من 45 ضاحكة سفلية بشرية مكتملة ووحيدة القناة الجذرية تم التأكد منها بواسطة الأشعة.

أُجري قص لتيجان الضواحك في كامل عينة البحث بهدف توحيد الأطوال وتوحيد حجم جزء القناة الجذرية الذي سيتم تحضيره وخبجه بالجراثيم وضمان تماثل أكبر في عينة الدراسة.

أجري إغلاق لذرى الأسنان بالكومبوزيت وطلبت الجذور بطبقتين من طلاء الأظافر بهدف عزل القناة الجذرية عن الوسط الخارجي ثم وضعت ضمن قوالب من الإكريل البارد بهدف سهولة التعامل مع عينات. (Afkhami, Nasri et al. 2021)

تم إنجاز المسحات الجرثومية باستخدام أقماع ورقية معقمة، ولكن أخذ المسحات بهذه الطريقة ذو محدوديات لأن العضويات الدقيقة الموجودة في القناة الجذرية هي فقط التي يمكن أخذ العينات منها في حين أن تلك الموجودة داخل القنيات العاجية لا يمكن كشفها. (Alves, Siqueira Jr et al. 2009) لذلك استخدم مبرد يدوي معقم H-file بحركة إدخال وإخراج على طول الأقنية الجذرية قبل أخذ المسحات الجرثومية وبذلك يمكن الحصول على مسحة جرثومية أكثر واقعية للقناة الجذرية. (Basmaci, Öztan et al. 2013) وتم استخدام الباييل اسكولين كوسط زرع يحت وسطاً ناخباً لعزل وتحديد أفراد جنس المكورات المعوية. (Gupta, Shah et al. 2022)

كشفت نتائج الدراسة أن التعداد الجرثومي الأولي كان متجانساً في جميع العينات أي أنه لم تكن هنالك فروق في الأحمال الجرثومية الأولية بين مجموعات البحث الثلاثة. حيث تم حضن الجراثيم ضمن الأقنية الجذرية لمدة أسبوع واحد قبل تطبيق سوائل الإرواء للحصول على بيوفيلم جرثومي ناضج. (Garg, Mala et al. 2021)

بعد ذلك تم تطبيق سوائل الإرواء ضمن الأقنية الجذرية للعينات بحسب بروتوكول الإرواء المستخدم ضمن دراسة Gandhi et al وذلك لاستخدام التركيز ووقت التطبيق المناسب لـ IP6 لإحداث نفس التأثير المزيل لطبقة اللطاخة الناتج ضمن تلك الدراسة والتي ثبت فيها أن إرواء الأقنية الجذرية بحمض الفتيك بتركيز 17% وبالمدة المذكورة يعطي تأثير مشابه لـ EDTA في إزالة طبقة اللطاخة مع اهتراء أقل للعاج. ومن ثم تقييم فعاليته المضادة للجراثيم عند نفس التركيز ومدة التطبيق حيث تم إرواء كل عينة بـ 5 مل من كل سائل إرواء لمدة 3 دقائق باستخدام إبرة إرواء جانبي بقياس Gauge 27 على كامل الطول العامل ثم الإرواء بـ 10 مل ماء مقطر لإزالة تأثير سوائل الإرواء. (Gandhi, Chandrasekar et al. 2020)

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن قيمة اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم بعد تطبيق سوائل الإرواء كانت أصغر منها قبل تطبيقه بشكل دال إحصائياً، وذلك مهما كان سائل الإرواء المستخدم. كما أظهرت النتائج أن نسبة النقص في اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم كان أكبر منها في كل من مجموعتي حمض الفتيك والسالين على حدة بفروق دالة إحصائية حيث كانت نسبة النقص في اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات

الجرثومية بعد الإرواء في ومجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% أكبر منها في كل من مجموعة حمض الفيتيك 17% ومجموعة المصل الفيزيولوجي الملحي على حدة، ونستنتج أن نسبة النقص في اللوغاريتم العشري اللوغاريتم العشري لتعداد الوحدات المشكلة للمستعمرات الجرثومية بعد الإرواء في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% كانت أكبر منها في مجموعة حمض الفيتيك 17% في عينة البحث.

وقد يُعزى التأثير المضاد للجراثيم لحمض الفيتيك إلى تخريبه للغشاء الخلوي (Kim and Rhee 2016)، وإحداث نفوذية مفرطة لأغشية الخلايا الجرثومية، تغيرات في المورفولوجيا الخاص بها وانخفاض تركيز الـ ATP داخل الخلوي. (Zhou, Zhao et al. 2019) إضافة إلى تحرير أيونات الهيدروجين، والتي تثبط عملية الاستقلاب الجرثومي. (Nassar and Nassar 2016) إلا أن حمض الفيتيك لا يملك القدرة على حل النسيج العضوية وبالتالي لا يمكن أن يكون بديلاً عن هيبوكلوريت الصوديوم في سياق المعالجات اللبية.

وبالرغم لعدم امتلاك محلول السيروم الملحي العقيم 0.9% لأي خصائص مضادة للجراثيم إلا أنه سبب انخفاض بنسبة 27.36% في اللوغاريتم الجرثومي لتعداد الجراثيم، ويعزى هذا الانخفاض إلى إزالته للجراثيم العوالية ميكانيكياً بفعل التدفق. (Chow 1983) (Iqbal, Khattak et al. 2021) وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما ذكرته دراسة (Yeniçeri Özata, Acer et al. 2022) التي استخدمت حمض الفيتيك IP6 1% ضمن أقنية جذرية مخمجة بجراثيم المكورات المعوية البرازية ويعود اختلاف نسبة النقص في التعداد الجرثومي إلى اختلاف التركيز المستخدم بين الدراستين. كما أيدت هذه الدراسة نتائج بحث (Nassar, Nassar et al. 2023) و (Nassar, Nassar et al. 2021) بأن حمض الفيتيك له تأثير مضاد للمكورات المعوية البرازية وأنه قادر على تخفيض أعدادها ضمن الأوساط الحيوية. إلا أن هذه الدراسات تم إجراؤها ضمن أنابيب زجاجية مخبرية وليس ضمن أقنية جذرية وهذا لا يتناسب مع الواقع السريري.

في النهاية لابد أن نشير إلى قلة الدراسات المنجزة عالمياً لتقييم فعالية حمض الفيتيك المضادة للجراثيم كوسائل إرواء للأقنية الجذرية وكان من الصعب إجراء تقييم ومقارنة لنتائج هذه الدراسة مع نتائج الدراسات السابقة. ولم تذكر أي دراسة الوقت أو التركيز الأمثل للتأثير المضاد للجراثيم لـ IP6 فلا يمكن بعد اقتراح حمض الفيتيك 17% كوسائل إرواء نهائي في سياق المعالجات اللبية.

الباب الخامس

الاستنتاجات

Conclusions

الباب الخامس: الاستنتاجات:

- أظهرت نتائج هذه الدراسة أن قيمة اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم بعد تطبيق سائل الإرواء كانت أصغر منها قبل تطبيقه بشكل دال إحصائياً، وذلك مهما كان سائل الإرواء المستخدم.
- كما أظهرت النتائج أن نسبة النقص في اللوغاريتم العشري لتعداد الجراثيم في مجموعة هيبوكلوريت الصوديوم كان أكبر منها في كل من مجموعتي حمض الفيتيك والسالين على حدة بفروق دالة إحصائياً
- حيث أبدى حمض الفيتيك بتركيز 17% قدرة على خفض التعداد الجرثومي ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بجرثومة المكورة المعوية البرازية وذلك بنسبة 68.62% في حين أبدى كل من هيبوكلوريت الصوديوم 5.25% ومحلل المصل الفيزيولوجي 0.9% قدرة على خفض التعداد الجرثومي ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بجرثومة المكورة المعوية البرازية وذلك بنسبة 83.73% و 27.36% على الترتيب.

الباب السادس

المقترحات والتوصيات

**Suggestions and
recommendations**

المقترحات Suggestions:

في نهاية هذا البحث تم اقتراح ما يلي:

- 1- إجراء دراسة إضافية لتقييم فعالية حمض الفيتيك المضادة لجرثومة المكورة المعوية البرازية ضمن الأقنية الجذرية المخمجة بها بتركيز مختلفة وأوقات تطبيق مختلفة.
- 2- إجراء دراسة لتقييم كل من فعالية حمض الفيتيك وهيبوكلوريت الصوديوم ضمن الأقنية الجذرية عند مزجهما وتطبيقهما معاً.
- 3- إجراء دراسة لتحري قدرة حمض الفيتيك على تخفيض الكتلة الحيوية للأغشية الحيوية للجراثيم.
- 4- إجراء مقارنة بين فعالية كل من حمض الفيتيك و EDTA عند تطبيقهما كمحلول إرواء نهائي في المعالجة اللبية بعد هيبوكلوريت الصوديوم.
- 5- دراسة تأثير استخدام حمض الفيتيك كسائل إرواء ضمن الأقنية الجذرية على تكيف أنواع مختلفة من معاجين الحشي.
- 6- دراسة تأثير استخدام حمض الفيتيك كسائل إرواء ضمن الأقنية الجذرية على وظيفة أنظمة ربط الترميمات المركبة.
- 7- متابعة البحث عن بدائل طبيعية لسوائل الإرواء ذات السمية العالية كهيبوكلوريت الصوديوم و EDTA.

التوصيات Recommendations:

استخدام حمض الفيتيك كمادة بحثية لدراسة تأثيره المحتمل المضاد للأورام وأمراض السكري إضافة إلى دراسة قدرته على تحرير عوامل نمو من القنيات العاجية وذلك للاستفادة منه في سياق المعالجات اللبية واللبية التجديدية.

الباب السابع

المراجع

References

references

1. Afkhami, F., S. Nasri and S. Valizadeh (2021). "Bacterial leakage assessment in root canals sealed with AH Plus sealer modified with silver nanoparticles." **BMC Oral Health** 21(1): 577-584.
2. Ali, I., B. Cheung, J. Yau, J. Matinlinna, C. Lévesque, G. Belibasakis and P. Neelakantan (2020). "The influence of substrate surface conditioning and biofilm age on the composition of *Enterococcus faecalis* biofilms." **International endodontic journal** 53(1): 53-61.
3. Alshanta, O. A., S. Alqahtani, S. Shaban, K. Albashaireh, W. McLean and G. Ramage (2020). "Comparison of three endodontic irrigant regimens against dual-species interkingdom biofilms: Considerations for maintaining the status quo." **Antibiotics** 9(9): 634-645.
4. Alves, F. R., J. F. Siqueira Jr, F. L. Carmo, A. L. Santos, R. S. Peixoto, I. N. Rôças and A. S. Rosado (2009). "Bacterial community profiling of cryogenically ground samples from the apical and coronal root segments of teeth with apical periodontitis." **Journal of endodontics** 35(4): 486-492.
5. Amaral, K., M. Rogero, R. A. Fock, P. Borelli and G. Gavini (2007). "Cytotoxicity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture." **International endodontic journal** 40(5): 338-343.
6. Antunes, H. S., I. N. Rôças, F. R. Alves and J. F. Siqueira Jr (2015). "Total and specific bacterial levels in the apical root canal system of teeth with post-treatment apical periodontitis." **Journal of endodontics** 41(7): 1037-1042.
7. Arias-Moliz, M. T., C. M. Ferrer-Luque, M. Espigares-García and P. Baca (2009). "Enterococcus faecalis biofilms eradication by root canal irrigants." **Journal of endodontics** 35(5): 711-714.
8. Asmah, N. (2020). "Molecular aspects of *Enterococcus faecalis* virulence." **Journal of Syiah Kuala Dentistry Society** 5(2): 89-94.
9. Atesci, A. A., C. B. Avci, M. I. Tuglu, N. P. O. Ay and A. C. Eronat (2020). "Effect of different dentin conditioning agents on growth factor release, mesenchymal stem cell attachment and morphology." **Journal of endodontics** 46(2): 200-208.
10. Athanassiadis, B., P. Abbott and L. J. Walsh (2007). "The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics." **Australian dental journal** 52(1): S64-S82.
11. Ballal, N. V., M. Kundabala, S. Bhat, N. Rao and B. S. Rao (2009). "A comparative in vitro evaluation of cytotoxic effects of EDTA and maleic acid: root canal irrigants." **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** 108(4): 633-638.

12. Ballal, N. V., S. Moorkoth, K. Mala, K. S. Bhat, S. S. Hussien and S. Pathak (2011). "Evaluation of chemical interactions of maleic acid with sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate." **Journal of endodontics** **37**(10): 1402-1405.
13. Barrios, R., C. M. Ferrer-Luque, M. T. Arias-Moliz, M. Ruiz-Linares, M. Bravo and P. Baca (2013). "Antimicrobial substantivity of alexidine and chlorhexidine in dentin." **Journal of endodontics** **39**(11): 1413-1415.
14. Basmaci, F., M. Öztan and M. Kiyan (2013). "Ex vivo evaluation of various instrumentation techniques and irrigants in reducing *E. faecalis* within root canals." **International endodontic journal** **46**(9): 823-830.
15. Basrani, B. and M. Haapasalo (2012). "Update on endodontic irrigating solutions." **Endodontic topics** **27**(1): 74-102.
16. Beveridge, T. J. (2001). "Use of the Gram stain in microbiology." **Biotechnic & Histochemistry** **76**(3): 111-118.
17. Blome, B., A. Braun, V. Sobarzo and S. Jepsen (2008). "Molecular identification and quantification of bacteria from endodontic infections using real-time polymerase chain reaction." **Oral microbiology and immunology** **23**(5): 384-390.
18. Boschi, G., G. Piccinelli, C. Bonfanti and S. A. Salgarello (2022). "Ex-vivo study about antimicrobial effectiveness of phytic acid against *Enterococcus faecalis* into root canals." **Minerva Dental and Oral Science** **71**(6): 299-307.
19. Boutsoukis, C. and M. T. Arias-Moliz (2022). "Present status and future directions—irrigants and irrigation methods." **International Endodontic Journal** **55**(3): 588-612.
20. Bramante, C. M., J. A. Duque, B. C. Cavenago, R. R. Vivan, A. S. Bramante, F. B. de Andrade and M. A. H. Duarte (2015). "Use of a 660-nm laser to aid in the healing of necrotic alveolar mucosa caused by extruded sodium hypochlorite: a case report." **Journal of endodontics** **41**(11): 1899-1902.
21. Busanello, F. H., X. Petridis, M. V. So, R. J. Dijkstra, P. K. Sharma and L. W. van der Sluis (2019). "Chemical biofilm removal capacity of endodontic irrigants as a function of biofilm structure: optical coherence tomography, confocal microscopy and viscoelasticity determination as integrated assessment tools." **International Endodontic Journal** **52**(4): 461-474.
22. BYSTRÖM, A. and G. SUNDQVIST (1981). "Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy." **European Journal of Oral Sciences** **89**(4): 321-328.
23. Caldwell, D. E., E. Atuku, D. C. Wilkie, K. P. Wivcharuk, S. Karthikeyan, D. R. Korber, D. F. Schmid and G. M. Wolfaardt (1997). "Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms." **Advances in dental research** **11**(1): 4-13.

24. Cavalla, F., A. Letra, R. M. Silva and G. Garlet (2021). "Determinants of periodontal/periapical lesion stability and progression." **Journal of Dental Research** **100**(1): 29-36.
25. Ch'ng, J.-H., K. K. Chong, L. N. Lam, J. J. Wong and K. A. Kline (2019). "Biofilm-associated infection by enterococci." **Nature Reviews Microbiology** **17**(2): 82-94.
26. Ch'ng, J.-H., M. Muthu, K. K. Chong, J. J. Wong, C. A. Tan, Z. J. Koh, D. Lopez, A. Matysik, Z. J. Nair and T. Barkham (2022). "Heme cross-feeding can augment *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* dual species biofilms." **The ISME journal** **16**(8): 2015-2026.
27. Chow, T. (1983). "Mechanical effectiveness of root canal irrigation." **Journal of endodontics** **9**(11): 475-479.
28. Chundi, B., P. Ndig and K. Jayalakshmi (2022). "Effect of Phytic acid on the tissue dissolving ability of Sodium hypochlorite: An ex-vivo study." **UNIVERSITY JOURNAL OF DENTAL SCIENCES** **8**(1): 07-10
29. Clarkson, R., A. Moule and H. Podlich (2001). "The shelf-life of sodium hypochlorite irrigating solutions." **Australian Dental Journal** **46**(4): 269-276.
30. Clewell, D. B. and K. E. Weaver (1989). "Sex pheromones and plasmid transfer in *Enterococcus faecalis*." **Plasmid** **21**(3): 175-184.
31. Córdoba, A., M. Hierro-Oliva, M. A. n. Pacha-Olivenza, M. C. Fernández-Calderón, J. Perelló, B. Isern, M. L. González-Martín, M. Monjo and J. M. Ramis (2016). "Direct covalent grafting of phytate to titanium surfaces through ti–O–P bonding shows bone stimulating surface properties and decreased bacterial adhesion." **ACS Applied Materials & Interfaces** **8**(18): 11326-11335.
32. Costerton, J. W., P. S. Stewart and E. P. Greenberg (1999). "Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections." **science** **284**(5418): 1318-1322.
33. D Kancheva, V. and O. T Kasaikina (2013). "Bio-antioxidants—a chemical base of their antioxidant activity and beneficial effect on human health." **Current medicinal chemistry** **20**(37): 4784-4805.
34. De-Deus, G., M. Zehnder, C. Reis, S. Fidel, R. A. S. Fidel, J. Galan Jr and S. Paciornik (2008). "Longitudinal co-site optical microscopy study on the chelating ability of etidronate and EDTA using a comparative single-tooth model." **Journal of endodontics** **34**(1): 71-75.
35. De Munck, J., B. Van Meerbeek, Y. Yoshida, S. Inoue, M. Vargas, K. Suzuki, P. Lambrechts and G. Vanherle (2003). "Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin." **Journal of dental research** **82**(2): 136-140.
36. Demenech, L. S., J. V. de Freitas, F. S. F. Tomazinho, F. Baratto-Filho and M. C. L. Gabardo (2021). "Postoperative pain after endodontic treatment under irrigation with 8.25% sodium hypochlorite and other solutions: a randomized clinical trial." **Journal of endodontics** **47**(5): 696-704.

37. Deniz Sungur, D., H. Aksel, S. Ozturk, Z. Yılmaz and K. Ulubayram (2019). "Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability." **International Endodontic Journal** 52(6): 838-846.
38. DeVito-Moraes, A., C. Francci, C. Vidal, D. Nesadal, L. Yamasaki, J. Nicolau, F. Nascimento, D. Pashley and M. Carrilho (2016). "Phosphoric acid concentration affects dentinal MMPs activity." **Journal of dentistry** 53(1): 30-37.
39. Distel, J. W., J. F. Hatton and M. J. Gillespie (2002). "Biofilm formation in medicated root canals." **Journal of endodontics** 28(10): 689-693.
40. Donlan, R. M. (2002). "Biofilms: microbial life on surfaces." **Emerging infectious diseases** 8(9): 881-890.
41. Donlan, R. M. and J. W. Costerton (2002). "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms." **Clinical microbiology reviews** 15(2): 167-193.
42. Duggan, J. M. and C. M. Sedgley (2007). "Biofilm formation of oral and endodontic *Enterococcus faecalis*." **Journal of endodontics** 33(7): 815-818.
43. Dunavant, T. R., J. D. Regan, G. N. Glickman, E. S. Solomon and A. L. Honeyman (2006). "Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms." **Journal of endodontics** 32(6): 527-531.
44. Duncan, H. F., L. L. Kirkevang, O. A. Peters, I. El-Karim, G. Krastl, M. Del Fabbro, B. S. Chong, K. M. Galler, J. J. Segura-Egea and M. Kebschull (2023). "Treatment of pulpal and apical disease: the European Society of Endodontology (ESE) S3-level clinical practice guideline." **International endodontic journal** 56(3): 238-295.
45. El Feninat, F., T. Ellis, E. Sacher and I. Stangel (2001). "A tapping mode AFM study of collapse and denaturation in dentinal collagen." **Dental Materials** 17(4): 284-288.
46. Elsamra, A. H., A. M. Darrag and W. M. Ghoneim (2023). "Efficacy of different chelating agents in smear layer removal." **Tanta Dental Journal** 20(1): 27-33.
47. Estrela, C., C. R. Estrela, E. L. Barbin, J. C. E. Spanó, M. A. Marchesan and J. D. Pécora (2002). "Mechanism of action of sodium hypochlorite." **Brazilian dental journal** 13(2): 113-117.
48. Fabretti, F., C. Theilacker, L. Baldassarri, Z. Kaczynski, A. Kropec, O. Holst and J. Huebner (2006). "Alanine esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilm formation and resistance to antimicrobial peptides." **Infection and immunity** 74(7): 4164-4171.

49. Fedorowicz, Z., M. Nasser, P. Sequeira-Byron, R. F. de Souza, B. Carter and M. Heft (2012). "*Irrigants for non-surgical root canal treatment in mature permanent teeth.*" **Cochrane Database of Systematic Reviews** **9**(1):1465-1858 .
50. Fernández, D., J. Ortega-Castro and J. Frau (2017). "*Theoretical study of the HAP crystal growth inhibition potency of pyrophosphate, etidronate, citrate and phytate. Deciphered the adsorbed conformation of phytate on the HAP (001) surface.*" **Applied Surface Science** **408**(1): 110-116.
51. Fisher, K. and C. Phillips (2009). "*The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus.*" **Microbiology** **155**(6): 1749-1757.
52. Fisher, R. A., B. Gollan and S. Helaine (2017). "*Persistent bacterial infections and persister cells.*" **Nature Reviews Microbiology** **15**(8): 453-464.
53. Flemming, H.-C., E. D. van Hullebusch, T. R. Neu, P. H. Nielsen, T. Seviour, P. Stoodley, J. Wingender and S. Wuertz (2023). "*The biofilm matrix: multitasking in a shared space.*" **Nature Reviews Microbiology** **21**(2): 70-86.
54. Flemming, H.-C. and J. Wingender (2010). "*The biofilm matrix.*" **Nature reviews microbiology** **8**(9): 623-633.
55. Fouad, A. (2011). "*The microbial challenge to pulp regeneration.*" **Advances in dental research** **23**(3): 285-289.
56. Fouad, A. F. (2017). "*Microbial factors and antimicrobial strategies in dental pulp regeneration.*" **Journal of endodontics** **43**(9): S46-S50.
57. Francisco, P., M. Delboni, A. Lima, Y. Xiao, W. Siqueira and B. Gomes (2019). "*Proteomic profile of root canal contents in teeth with post-treatment endodontic disease.*" **International endodontic journal** **52**(4): 451-460.
58. Franz, C. M., M. E. Stiles, K. H. Schleifer and W. H. Holzapfel (2003). "*Enterococci in foods—a conundrum for food safety.*" **International journal of food microbiology** **88**(2-3): 105-122.
59. Gajan, E. B., M. Aghazadeh, R. Abashov, A. S. Milani and Z. Moosavi (2009). "*Microbial flora of root canals of pulpally-infected teeth: Enterococcus faecalis a prevalent species.*" **Journal of dental research, dental clinics, dental prospects** **3**(1): 24-27.
60. Galler, K., M. Widbiller, W. Buchalla, A. Eidt, K. A. Hiller, P. Hoffer and G. Schmalz (2016). "*EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells.*" **International endodontic journal** **49**(6): 581-590.

61. Gambarini, G., R. Gerosa, M. De Luca, M. Garala and L. Testarelli (2008). *"Mechanical properties of a new and improved nickel-titanium alloy for endodontic use: an evaluation of file flexibility."* **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** 105(6): 798-800.
62. Gandhi, S. A., P. Chandrasekar, J. Nachimuthu, C. S. Abraham and K. J. Venkataraman (2020). *"A Comparative Evaluation of Phytic Acid as Final Rinse Solution with Other Chelating Agents for Elimination of Intraradicular Smear: A Scanning Electron Microscopy Study."* **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences** 12(1): S576-S582.
63. Gandhi, S. A., P. Chandrasekar, J. Nachimuthu, C. S. Abraham and K. J. Venkataraman (2020). *"A comparative evaluation of phytic acid as final rinse solution with other chelating agents for elimination of intraradicular smear: A scanning electron microscopy study."* **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences** 12(1): S576-S582.
64. Garg, A., K. Mala and P. M. Kamath (2021). *"Biofilm models in endodontics-A narrative review."* **Journal of Conservative Dentistry** 24(1): 2-9.
65. Gbureck, U., J. E. Barralet, K. Spatz, L. M. Grover and R. Thull (2004). *"Ionic modification of calcium phosphate cement viscosity. Part I: hypodermic injection and strength improvement of apatite cement."* **Biomaterials** 25(11): 2187-2195.
66. Gelinas, P. and J. Goulet (1983). *"Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter."* **Journal of Applied Microbiology** 54(2): 243-247.
67. Giardino, L., E. Ambu, E. Savoldi, R. Rimondini, C. Cassanelli and E. A. Debbia (2007). *"Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of sodium hypochlorite, MTAD, and Tetraclean against Enterococcus faecalis biofilm."* **Journal of endodontics** 33(7): 852-855.
68. Gilmore, M.S., Coburn, P.S., Nallapareddy, S.R., and Murray, B.E. 2002. "Enterococcal virulence". M.S. Gilmore (ed.) *The enterococci: pathogenesis, molecular biology, antibiotic resistance and infection control*. 1st ed., pp. 301–354 **American Society for Microbiology**.
69. Ginsburg, I. (2002). *"Role of lipoteichoic acid in infection and inflammation."* **The Lancet infectious diseases** 2(3): 171-179.
70. Goh, H. S., M. A. Yong, K. K. L. Chong and K. A. Kline (2017). *"Model systems for the study of Enterococcal colonization and infection."* **Virulence** 8(8): 1525-1562.
71. Gomes, B. P., M. E. Vianna, A. A. Zaia, J. F. A. Almeida, F. J. Souza-Filho and C. C. Ferraz (2013). *"Chlorhexidine in endodontics."* **Brazilian dental journal** 24(2): 89-102.
72. Gonçalves, L. S., R. C. V. Rodrigues, C. V. A. Junior, R. G. Soares and M. V. Vettore (2016). *"The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine as irrigant solutions for root canal disinfection: a systematic review of clinical trials."* **Journal of endodontics** 42(4): 527-532.

73. Graf, E. (1983). "Applications of phytic acid." **Journal of the American Oil Chemists' Society** **60**(11): 1861-1867.
74. Graf, E. and J. W. Eaton (1990). "Antioxidant functions of phytic acid." **Free Radical Biology and Medicine** **8**(1): 61-69.
75. Graf, E., K. L. Empson and J. W. Eaton (1987). "Phytic acid. A natural antioxidant." **Journal of Biological Chemistry** **262**(24): 11647-11650.
76. Grases, F., A. Costa-Bauza and R. M. Prieto (2006). "Renal lithiasis and nutrition." **Nutrition journal** **5**: 1-7.
77. Grases, F., M. Ramis and A. Costa-Bauza (2000). "Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization: comparison with the action of other polyphosphates." **Urological Research** **28**(2): 136-140.
78. Guivarc'h, M., U. Ordioni, H. M. A. Ahmed, S. Cohen, J.-H. Catherine and F. Bukiet (2017). "Sodium hypochlorite accident: a systematic review." **Journal of endodontics** **43**(1): 16-24.
79. Gupta, A., A. A. Shah, S. Khursheed, A. Rashid and V. Kumar (2022). "Isolation, identification, speciation, and antibiogram of enterococcus species by conventional methods and assessment of the prevalence of vana genotype among VRE." **J. Med. Pharm. Allied. Sci** **11**(4): 5037-5044.
80. Gupta, R. K., S. S. Gangoliya and N. K. Singh (2015). "Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains." **Journal of food science and technology** **52**: 676-684.
81. Haapasalo, M., Y. Shen, Z. Wang and Y. Gao (2014). "Irrigation in endodontics." **British dental journal** **216**(6): 299-303.
82. Hahn, C.-L. and K. Hanford (2021). "An in Vitro Model to study the colonization and Tubular Invasion of *Enterococcus faecalis*." **Journal of Endodontics** **47**(3): 451-457.
83. Halkai, R., K. R. Halkai, S. U. Mahveen, S. Zakaullah, S. S. Ishaq and J. Firdous (2023). "Evaluation of antimicrobial efficacy of 1% phytic acid incorporated with 0.2% chitosan nanoparticles against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study." **Endodontology** **35**(3): 248-253.
84. Hanakahi, L. A., M. Bartlet-Jones, C. Chappell, D. Pappin and S. C. West (2000). "Binding of inositol phosphate to DNA-PK and stimulation of double-strand break repair." **Cell** **102**(6): 721-729.
85. Hong, S. W., J. E. Baik, S.-S. Kang, K.-Y. Kum, C.-H. Yun and S. H. Han (2016). "Sodium hypochlorite inactivates lipoteichoic acid of *Enterococcus faecalis* by deacylation." **Journal of Endodontics** **42**(10): 1503-1508.
86. Hsieh, S.-C., N.-C. Teng, Y.-C. Lin, P.-Y. Lee, D.-Y. Ji, C.-C. Chen, E.-S. Ke, S.-Y. Lee and J.-C. Yang (2009). "A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials." **Journal of endodontics** **35**(9): 1292-1295.

87. Hubble, T., J. Hatton, S. Nallapareddy, B. Murray and M. Gillespie (2003). "Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin." **Oral microbiology and immunology** **18**(2): 121-126.
88. HÜLSMANN, M., T. RÖDIG and S. Nordmeyer (2007). "Complications during root canal irrigation." **Endodontic topics** **16**(1): 27-63.
89. Huycke, M. M., V. Abrams and D. R. Moore (2002). "Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA." **Carcinogenesis** **23**(3): 529-536.
90. Hynes, W. L. and S. L. Walton (2000). "Hyaluronidases of Gram-positive bacteria." **FEMS microbiology letters** **183**(2): 201-207.
91. Iandolo, A., D. Abdellatif, M. Amato, G. Pantaleo, A. Blasi, V. Franco and P. Neelakantan (2020). "Dentinal tubule penetration and root canal cleanliness following ultrasonic activation of intracanal-heated sodium hypochlorite." **Australian Endodontic Journal** **46**(2): 204-209.
92. Iqbal, A., O. Khatkhat, M. A. Alonazi, H. Algarni, A. M. Khan, F. Chaudhary and R. Issrani (2021). "Comparison of effects of different endodontic irrigating solutions on post-operative pain during single visit root canal treatment." **Pakistan J Med Health Sci** **15**(1): 3037-3039.
93. Jagzap, J. B., S. S. Patil, V. J. Gade, D. J. Chandhok, M. A. Upagade and D. A. Thakur (2017). "Effectiveness of three different irrigants-17% ethylenediaminetetraacetic acid, Q-MIX, and phytic acid in smear layer removal: A comparative scanning electron microscope study." **Contemporary clinical dentistry** **8**(3): 459-463.
94. Jamal, M., W. Ahmad, S. Andleeb, F. Jalil, M. Imran, M. A. Nawaz, T. Hussain, M. Ali, M. Rafiq and M. A. Kamil (2018). "Bacterial biofilm and associated infections." **Journal of the chinese medical association** **81**(1): 7-11.
95. Jenkinson, H. F. and R. J. Lamont (2005). "Oral microbial communities in sickness and in health." **Trends in microbiology** **13**(12): 589-595.
96. Jeong, J. W., N. D. Sarmast, T. Terlier, R. van der Hoeven, J. N. Holland and N. Parikh (2021). "Assessment of the cytotoxic effects and chemical composition of the insoluble precipitate formed from sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate." **International Endodontic Journal** **54**(10): 1892-1901.
97. Jett, B. D., M. M. Huycke and M. S. Gilmore (1994). "Virulence of enterococci." **Clinical microbiology reviews** **7**(4): 462-478.
98. Jhajharia, K., A. Parolia, K. V. Shetty and L. K. Mehta (2015). "Biofilm in endodontics: a review." **Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry** **5**(1): 1-12.
99. Jontell, M., M. Gunraj and G. Bergenholtz (1987). "Immunocompetent cells in the normal dental pulp." **Journal of dental research** **66**(6): 1149-1153.
100. Jungbluth, H., M. Marending, G. De-Deus, B. Sener and M. Zehnder (2011). "Stabilizing sodium hypochlorite at high pH: effects on soft tissue and dentin." **Journal of endodontics** **37**(5): 693-696.

101. Kandaswamy, D. and N. Venkateshbabu (2010). "Root canal irrigants." **Journal of Conservative Dentistry and Endodontics** **13**(4): 256-264.
102. Kawashima, N., R. Wadachi, H. Suda, T. Yeng and P. Parashos (2009). "Root canal medicaments." **International dental journal** **59**(1): 5-11.
103. Kayaoglu, G. and D. Ørstavik (2004). "Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease." **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine** **15**(5): 308-320.
104. Kim, N. H. and M. S. Rhee (2016). "Phytic acid and sodium chloride show marked synergistic bactericidal effects against nonadapted and acid-adapted *Escherichia coli* O157: H7 strains." **Applied and Environmental Microbiology** **82**(4): 1040-1049.
105. Kim, S., M. Malek, A. Sigurdsson, L. Lin and B. Kahler (2018). "Regenerative endodontics: a comprehensive review." **International endodontic journal** **51**(12): 1367-1388.
106. Kim, T. I., B. Kwon, J. Yoon, I.-J. Park, G. S. Bang, Y. Park, Y.-S. Seo and S.-Y. Choi (2017). "Antibacterial activities of graphene oxide–molybdenum disulfide nanocomposite films." **ACS applied materials & interfaces** **9**(9): 7908-7917.
107. Kishen, A. and M. Haapasalo (2010). "Biofilm models and methods of biofilm assessment." **Endodontic Topics** **22**(1): 58-78.
108. Koch, S., M. Hufnagel, C. Theilacker and J. Huebner (2004). "Enterococcal infections: host response, therapeutic, and prophylactic possibilities." **Vaccine** **22**(7): 822-830.
109. Koehler, P., N. Jung, O. A. Cornely, J. Rybníček and G. Fätkenheuer (2019). "Combination antimicrobial therapy for *Enterococcus faecalis* infective endocarditis." **Clinical Infectious Diseases** **69**(5): 900-900.
110. Komorowski, R., H. Grad, X. Y. Wu and S. Friedman (2000). "Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin." **Journal of endodontics** **26**(6): 315-317.
111. Körstgens, V., H.-C. Flemming, J. Wingender and W. Borchard (2001). "Influence of calcium ions on the mechanical properties of a model biofilm of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*." **Water science and technology** **43**(6): 49-57.
112. Lebreton, F., E. Riboulet-Bisson, P. Serror, M. Sanguinetti, B. Posteraro, R. Torelli, A. Hartke, Y. Auffray and J.-C. Giard (2009). "ace, which encodes an adhesin in *Enterococcus faecalis*, is regulated by *Ers* and is involved in virulence." **Infection and immunity** **77**(7): 2832-2839.
113. Leclercq, R., E. Derlot, J. Duval and P. Courvalin (1988). "Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*." **New England Journal of Medicine** **319**(3): 157-161.

114. Leonardo, M. R., M. A. Rossi, K. C. Bonifacio, L. A. B. d. Silva and S. Assed (2007). "Scanning electron microscopy of the apical structure of human teeth." **Ultrastructural pathology** **31**(4): 321-325.
115. Lewis, K. (2001). "Riddle of biofilm resistance." **Antimicrobial agents and chemotherapy** **45**(4): 999-1007.
116. Li, J., S. Forberg and R. Söremark (1994). "Influence of phytic acid on zinc phosphate cement." **Acta Odontologica Scandinavica** **52**(4): 209-213.
117. Li, M., F. Yang, Y. Lu and W. Huang (2020). "Identification of *Enterococcus faecalis* in a patient with urinary-tract infection based on metagenomic next-generation sequencing: a case report." **BMC Infectious Diseases** **20**: 1-7.
118. Li, Y. H., Y. Y. M. Chen and R. A. Burne (2000). "Regulation of urease gene expression by *Streptococcus salivarius* growing in biofilms." **Environmental microbiology** **2**(2): 169-177.
119. Linde, A. and M. Goldberg (1993). "Dentinogenesis." **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine** **4**(5): 679-728.
120. Lins, R. X., A. de Oliveira Andrade, R. H. Junior, M. J. Wilson, M. A. Lewis, D. W. Williams and R. A. S. Fidel (2013). "Antimicrobial resistance and virulence traits of *Enterococcus faecalis* from primary endodontic infections." **Journal of dentistry** **41**(9): 779-786.
121. Liu, K., H. Zhang, M. Lu, L. Liu, Y. Yan, Z. Chu, Y. Ge, T. Wang and C. Tang (2019). "Enhanced bioactive and osteogenic activities of titanium by modification with phytic acid and calcium hydroxide." **Applied Surface Science** **478**: 162-175.
122. Macedo, R., P. Wesselink, F. Zaccheo, D. Fanali and L. Van Der Sluis (2010). "Reaction rate of NaOCl in contact with bovine dentine: effect of activation, exposure time, concentration and pH." **International endodontic journal** **43**(12): 1108-1115.
123. Magrill, D. (1973). "The reduction of the solubility of hydroxyapatite in acid by adsorption of phytate from solution." **Archives of Oral Biology** **18**(5): 591-600.
124. Mäkinen, P., D. Clewell, F. An and K. Mäkinen (1989). "Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ("gelatinase") from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10)." **Journal of Biological Chemistry** **264**(6): 3325-3334.
125. Marinho, A., T. To, R. Darveau and B. Gomes (2018). "Detection and function of lipopolysaccharide and its purified lipid A after treatment with auxiliary chemical substances and calcium hydroxide dressings used in root canal treatment." **International Endodontic Journal** **51**(10): 1118-1129.
126. Marinho, A. C. S., F. C. Martinho, A. A. Zaia, C. C. R. Ferraz and B. P. F. d. A. GOMES (2014). "Monitoring the effectiveness of root canal procedures on endotoxin levels found in teeth with chronic apical periodontitis." **Journal of applied oral science** **22**(6): 490-495.

127. Marton, I., G. Balla, C. Hegedus, P. Redl, Z. Szilagyi, L. Karmazsin and C. Kiss (1993). "The role of reactive oxygen intermediates in the pathogenesis of chronic apical periodontitis." **Oral microbiology and immunology** 8(4): 254-257.
128. Matsuo, T., T. Shirakami, K. Ozaki, T. Nakanishi, H. Yumoto and S. Ebisu (2003). "An immunohistological study of the localization of bacteria invading root pulpal walls of teeth with periapical lesions." **Journal of endodontics** 29(3): 194-200.
129. Meininger, S., C. Blum, M. Schamel, J. E. Barralet, A. Ignatius and U. Gbureck (2017). "Phytic acid as alternative setting retarder enhanced biological performance of dicalcium phosphate cement in vitro." **Scientific Reports** 7(1): 558-568.
130. Meyer, F., B. T. Amaechi, H.-O. Fabritius and J. Enax (2018). "Overview of calcium phosphates used in biomimetic oral care." **The open dentistry journal** 12: 406-423.
131. Milleman, K. R., J. E. Creeth, G. R. Burnett and J. L. Milleman (2018). "A randomized clinical trial to evaluate the stain removal efficacy of a sodium phytate dentifrice formulation." **Journal of Esthetic and Restorative Dentistry** 30(2): E45-E51.
132. Minamisawa, H., Y. Kojima and M. Aizawa (2022). "Adsorption of inositol phosphate on hydroxyapatite powder with high specific surface area." **Materials** 15(6): 2176-2187.
133. Mohammadi, Z. and P. Abbott (2009). "The properties and applications of chlorhexidine in endodontics." **International endodontic journal** 42(4): 288-302.
134. Mohammadi, Z., F. Palazzi, L. Giardino and S. Shalavi (2013). "Microbial biofilms in endodontic infections: an update review." **Biomedical journal** 36(2):59-70.
135. Momenjavid, M., H. Salimizand, A. Korani, O. Dianat, B. Nouri, R. Ramazanzadeh, A. Ahmadi, J. Rostamipour and M. R. Khosravi (2022). "Effect of calcium hydroxide on morphology and physicochemical properties of *Enterococcus faecalis* biofilm." **Scientific reports** 12(1): 7595-7606.
136. Muana, H. L., M. Nassar, A. Dargham, N. Hiraishi and J. Tagami (2021). "Effect of smear layer removal agents on the microhardness and roughness of radicular dentin." **The Saudi Dental Journal** 33(7): 661-665.
137. Murray, B. E. (1990). "The life and times of the *Enterococcus*." **Clinical microbiology reviews** 3(1): 46-65.
138. Nair, P., S. Henry, V. Cano and J. Vera (2005). "Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment." **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** 99(2): 231-252.
139. Narayanan, L. L. and C. Vaishnavi (2010). "Endodontic microbiology." **Journal of Conservative Dentistry and Endodontics** 13(4): 233-239.

140. Nasaj, M., S. M. Mousavi, S. M. Hosseini and M. R. Arabestani (2016). *"Prevalence of virulence factors and vancomycin-resistant genes among Enterococcus faecalis and E. faecium isolated from clinical specimens."* **Iranian Journal of Public Health** 45(6): 806-813.
141. Nassar, M., N. Hiraishi, M. S. Islam, M. Aizawa, Y. Tamura, M. Otsuki, S. Kasugai, K. Ohya and J. Tagami (2013). *"Effect of phytic acid used as etchant on bond strength, smear layer, and pulpal cells."* **European journal of oral sciences** 121(5): 482-487.
142. Nassar, M., N. Hiraishi, M. S. Islam, M. J. Romero, M. Otsuki and J. Tagami (2020). *"Effect of phytic acid as an endodontic chelator on resin adhesion to sodium hypochlorite-treated dentin."* **Restorative Dentistry & Endodontics** 45(4): e44-e53.
143. Nassar, M., N. Hiraishi, Y. Tamura, M. Otsuki, K. Aoki and J. Tagami (2015). *"Phytic acid: An alternative root canal chelating agent."* **Journal of endodontics** 41(2): 242-247.
144. Nassar, M., R. Nassar, H. Maki, A. Al-Yagoob, M. Hachim, A. Senok, D. Williams and N. Hiraishi (2021). *"Phytic acid: Properties and potential applications in dentistry."* **Frontiers in Materials** 8(1): 1-17.
145. Nassar, R., M. Nassar, A. Senok and D. Williams (2023). *"Phytic acid demonstrates rapid antibiofilm activity and inhibits biofilm formation when used as a surface conditioning agent."* **Microbiology spectrum** 11(3): 223-267.
146. Nassar, R., M. Nassar, M. E. Vianna, N. Naidoo, F. Alqutami, E. G. Kaklamanos, A. Senok and D. Williams (2021). *"Antimicrobial activity of phytic acid: An emerging agent in endodontics."* **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 11(3): 22-30.
147. Nassar, R. I. and M. Nassar (2016). *"Antimicrobial effect of phytic acid on Enterococcus faecalis."* **The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents** 6(4):1-7.
148. Neelakantan, P., D. Herrera, V. Pecorari and B. Gomes (2019). *"Endotoxin levels after chemomechanical preparation of root canals with sodium hypochlorite or chlorhexidine: a systematic review of clinical trials and meta-analysis."* **International Endodontic Journal** 52(1): 19-27.
149. Nikhil, V., S. Jaiswal, P. Bansal, R. Arora, S. Raj and P. Malhotra (2016). *"Effect of phytic acid, ethylenediaminetetraacetic acid, and chitosan solutions on microhardness of the human radicular dentin."* **Journal of Conservative Dentistry** 19(2): 179-183.
150. Nissar, J., T. Ahad, H. Naik and S. Hussain (2017). *"A review phytic acid: As antinutrient or nutraceutical."* **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry** 6(6): 1554-1560.
151. Nivens, D. E., D. E. Ohman, J. Williams and M. J. Franklin (2001). *"Role of alginate and its O acetylation in formation of Pseudomonas aeruginosa microcolonies and biofilms."* **Journal of bacteriology** 183(3): 1047-1057.

152. O'tool, G. and R. Kolter (1998). "Initiation of biofilm in *Pseudomonas fluorescens* WC365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis." **Mol Microbiol** 28(3): 449-461.
153. Ordinola-Zapata, R., C. M. Bramante, R. Brandão Garcia, F. Bombarda de Andrade, N. Bernardineli, I. Gomes de Moraes and M. A. Duarte (2013). "The antimicrobial effect of new and conventional endodontic irrigants on intra-orally infected dentin." **Acta Odontologica Scandinavica** 71(3-4): 424-431.
154. Oviedo, C. and J. Rodríguez (2003). "EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny." **Quimica Nova** 26(1): 901-905.
155. Pajkos, A., K. Vickery and Y. Cossart (2004). "Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and decontamination?" **Journal of Hospital Infection** 58(3): 224-229.
156. Parsek, M. R. and E. P. Greenberg (2000). "Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram-negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms." **Proceedings of the National Academy of Sciences** 97(16): 8789-8793.
157. Pascon, F. M., K. R. Kantovitz, P. A. Sacramento, M. Nobre-dos-Santos and R. M. Puppim-Rontani (2009). "Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review." **Journal of dentistry** 37(12): 903-908.
158. Pashley, D. H., F. Tay, C. Yiu, M. Hashimoto, L. Breschi, R. M. d. Carvalho and S. Ito (2004). "Collagen degradation by host-derived enzymes during aging." **Journal of dental research** 83(3): 216-221.
159. Perez, A. R., D. Ricucci, G. C. Vieira, J. C. Provenzano, F. R. Alves, M. F. Marceliano-Alves, I. N. Rôças and J. F. Siqueira Jr (2020). "Cleaning, shaping, and disinfecting abilities of 2 instrument systems as evaluated by a correlative micro-computed tomographic and histobacteriologic approach." **Journal of Endodontics** 46(6): 846-857.
160. Petridis, X., F. H. Busanello, M. V. So, R. J. Dijkstra, P. K. Sharma and L. W. van der Sluis (2019). "Factors affecting the chemical efficacy of 2% sodium hypochlorite against oral steady-state dual-species biofilms: Exposure time and volume application." **International endodontic journal** 52(8): 1182-1195.
161. Pimentel, C., D. Cecchin, J. de Almeida, B. Gomes, A. Zaia and C. Ferraz (2016). "Sodium thiosulfate for recovery of bond strength to dentin treated with sodium hypochlorite." **Journal of Endodontics** 42(2): 284-288.
162. Pont, C. L., B. Bernay, M. Gérard, A. Dhalluin, F. Gravey and J.-C. Giard (2024). "Proteomic characterization of persisters in *Enterococcus faecium*." **BMC microbiology** 24(1): 9-18.
163. Portenier, I., T. M. Waltimo and M. Haapasalo (2003). "Enterococcus faecalis—the root canal survivor and 'star' in post-treatment disease." **Endodontic topics** 6(1): 135-159.

164. Prada, I., P. Micó-Muñoz, T. Giner-Lluesma, P. Micó-Martínez, N. Collado-Castellano and A. Manzano-Saiz (2019). "Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review." **Medicina oral, patología oral y cirugía bucal** **24**(3): e364-e372.
165. Prado, M., H. M. S. Júnior, C. M. Rezende, A. C. Pinto, R. B. Faria, R. A. Simão and B. P. Gomes (2013). "Interactions between irrigants commonly used in endodontic practice: a chemical analysis." **Journal of endodontics** **39**(4): 505-510.
166. Prado, M., E. J. N. L. d. Silva, T. M. Duque, A. A. Zaia, C. C. R. Ferraz, J. F. A. d. Almeida and B. P. F. d. A. Gomes (2015). "Antimicrobial and cytotoxic effects of phosphoric acid solution compared to other root canal irrigants." **Journal of Applied Oral Science** **23**(2): 158-163.
167. Prado, M., R. A. Simao and B. P. F. D. A. Gomes (2014). "A microleakage study of gutta-percha/AH Plus and Resilon/Real self-etch systems after different irrigation protocols." **Journal of Applied Oral Science** **22**(3): 174-179.
168. Puvvada, S., P. Latha, K. Jayalakshmi and S. Arul (2017). "Comparative assessment of chelating and antimicrobial efficacy of phytic acid alone and in combination with other irrigants." **Int J Appl Dent Sci** **3**(2): 19-22.
169. Qin, X., K. V. Singh, G. M. Weinstock and B. E. Murray (2000). "Effects of *Enterococcus faecalis* fsr genes on production of gelatinase and a serine protease and virulence." **Infection and immunity** **68**(5): 2579-2586.
170. Quiloon, M. L., et al. (2012). "Enterococcus faecalis can be distinguished from Enterococcus faecium via differential susceptibility to antibiotics and growth and fermentation characteristics on mannitol salt agar." **Frontiers in Biology** **7**(2): 167-177.
171. Rath, P. P., C. K. Y. Yiu, J. P. Matinlinna, A. Kishen and P. Neelakantan (2020). "The effect of root canal irrigants on dentin: a focused review." **Restorative Dentistry & Endodontics** **45**(3):39-50.
172. Rello, J., L. Campogiani and V. K. Eshwara (2020). "Understanding resistance in enterococcal infections." **Intensive Care Medicine** **46**: 353-356.
173. Ricucci, D., G. T. Candeiro, C. Bugea and J. F. Siqueira Jr (2016). "Complex apical intraradicular infection and extraradicular mineralized biofilms as the cause of wet canals and treatment failure: report of 2 cases." **Journal of endodontics** **42**(3): 509-515.
174. Ricucci, D., S. Loghin, L. S. Gonçalves, I. N. Rôças and J. F. Siqueira Jr (2018). "Histobacteriologic conditions of the apical root canal system and periapical tissues in teeth associated with sinus tracts." **Journal of endodontics** **44**(3): 405-413.

175. Ricucci, D., S. Loghin and J. F. Siqueira Jr (2014). "Correlation between clinical and histologic pulp diagnoses." **Journal of endodontics** **40**(12): 1932-1939.
176. Ricucci, D., W. S. Lopes, S. Loghin, I. N. Rôças and J. F. Siqueira Jr (2018). "Large bacterial floc causing an independent extraradicular infection and posttreatment apical periodontitis: a case report." **Journal of Endodontics** **44**(8): 1308-1316.
177. Ricucci, D., M. Martorano, A. Bate and E. Pascon (2005). "Calculus-like deposit on the apical external root surface of teeth with post-treatment apical periodontitis: report of two cases." **International endodontic journal** **38**(4): 262-271.
178. Ricucci, D., E. A. Pascon, T. R. P. Ford and K. Langeland (2006). "Epithelium and bacteria in periapical lesions." **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** **101**(2): 239-249.
179. Ricucci, D. and J. F. Siqueira Jr (2010). "Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings." **Journal of endodontics** **36**(8): 1277-1288.
180. Ricucci, D. and J. F. Siqueira Jr (2010). "Fate of the tissue in lateral canals and apical ramifications in response to pathologic conditions and treatment procedures." **Journal of endodontics** **36**(1): 1-15.
181. Rôças, I. and J. Siqueira Jr (2008). "Root canal microbiota of teeth with chronic apical periodontitis." **Journal of clinical microbiology** **46**(11): 3599-3606.
182. Rôças, I. N., J. F. Siqueira Jr and K. R. Santos (2004). "Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases." **Journal of endodontics** **30**(5): 315-320.
183. Rozdzinski, E., R. Marre, M. Susa, R. Wirth and A. Muscholl-Silberhorn (2001). "Aggregation substance-mediated adherence of *Enterococcus faecalis* to immobilized extracellular matrix proteins." **Microbial pathogenesis** **30**(4): 211-220.
184. Sakamoto, M., J. Siqueira Jr, I. Rôças and Y. Benno (2008). "Molecular analysis of the root canal microbiota associated with endodontic treatment failures." **Oral microbiology and immunology** **23**(4): 275-281.
185. Salem, A. S., G. R. Tompkins and P. R. Cathro (2022). "Alkaline tolerance and biofilm formation of root canal isolates of *Enterococcus faecalis*: an in vitro study." **Journal of Endodontics** **48**(4): 542-547.
186. Sandoe, J. A., I. R. Witherden, J. H. Cove, J. Heritage and M. H. Wilcox (2003). "Correlation between enterococcal biofilm formation in vitro and medical-device-related infection potential in vivo." **Journal of medical microbiology** **52**(7): 547-550.

187. Schilder, H. (1974). "Cleaning and shaping the root canal." **Dental clinics of north America** **18**(2): 269-296.
188. Schlemmer, U., W. Frølich, R. M. Prieto and F. Grases (2009). "Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis." **Molecular nutrition & food research** **53**(S2): S330-S375.
189. Scott II, M. B., G. S. Zilinski, T. C. Kirkpatrick, V. T. Himel, K. A. Sabey and T. E. Lallier (2018). "The effects of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla, including endocyn." **Journal of Endodontics** **44**(2): 263-268.
190. Sebring, D., K. Buhlin, A. Norhammar, L. Rydén, P. Jonasson, EndoReCo, H. Lund, T. Kvist, L. Bjørndal and V. Dawson (2022). "Endodontic inflammatory disease: A risk indicator for a first myocardial infarction." **International Endodontic Journal** **55**(1): 6-17.
191. Sedgley, C., S. Lennan and O. Appelbe (2005). "Survival of *Enterococcus faecalis* in root canals ex vivo." **International endodontic journal** **38**(10): 735-742.
192. Sedgley, C., A. Nagel, G. Dahlén, C. Reit and A. Molander (2006). "Real-time quantitative polymerase chain reaction and culture analyses of *Enterococcus faecalis* in root canals." **Journal of endodontics** **32**(3):173-177.
193. Shahriari, S., S. Kasraei, G. Roshanaei, H. Karkeabadi and H. Davanloo (2017). "Efficacy of sodium hypochlorite activated with laser in intracanal smear layer removal: an SEM study." **Journal of Lasers in Medical Sciences** **8**(1): 36-41.
194. Shears, S. B. (2001). "Assessing the omnipotence of inositol hexakisphosphate." **Cellular signalling** **13**(3): 151-158.
195. Shin, S.-J., J.-I. Lee, S.-H. Baek and S.-S. Lim (2002). "Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions." **Journal of Endodontics** **28**(4): 313-315.
196. Silva, E. O. and A. P. F. Bracarense (2016). "Phytic acid: from antinutritional to multiple protection factor of organic systems." **Journal of food science** **81**(6): R1357-R1362.
197. Siqueira Jr, J. F. and I. N. Rôças (2009). "Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis." **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** **107**(6): 870-878.
198. Siqueira Jr, J. F. and I. N. Rôças (2022). "Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections." **International endodontic journal** **55**(3): 512-530.
199. Siqueira Jr, J. F., I. N. Rôças and H. P. Lopes (2002). "Patterns of microbial colonization in primary root canal infections." **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology** **93**(2): 174-178.

200. Siqueira Junior, J. F., I. d. N. Rôças, M. F. Marceliano-Alves, A. R. Pérez and D. Ricucci (2018). "Unprepared root canal surface areas: causes, clinical implications, and therapeutic strategies." **Brazilian oral research** **32**(1): e65-e83.
201. Sirtes, G., T. Waltimo, M. Schaetzle and M. Zehnder (2005). "The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy." **Journal of endodontics** **31**(9): 669-671.
202. Smith, A. J. (2003). "Vitality of the dentin-pulp complex in health and disease: growth factors as key mediators." **Journal of dental education** **67**(6): 678-689.
203. Sonoyama, W., Y. Liu, T. Yamaza, R. S. Tuan, S. Wang, S. Shi and G. T.-J. Huang (2008). "Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study." **Journal of endodontics** **34**(2): 166-171.
204. Stojicic, S., Y. Shen, W. Qian, B. Johnson and M. Haapasalo (2012). "Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX." **International endodontic journal** **45**(4): 363-371.
205. Stuart, C. H., S. A. Schwartz, T. J. Beeson and C. B. Owatz (2006). "Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment." **Journal of endodontics** **32**(2): 93-98.
206. A. Mazzoni, D. H. Pashley, T. E. Day, E. C. Ngoh and L. Breschi (2006). "Potential iatrogenic tetracycline staining of endodontically treated teeth via NaOCl/MTAD irrigation: a preliminary report." **Journal of endodontics** **32**(4): 354-358.
207. Thurlow, L. R., V. C. Thomas, S. Narayanan, S. Olson, S. D. Fleming and L. E. Hancock (2010). "Gelatinase contributes to the pathogenesis of endocarditis caused by Enterococcus faecalis." **Infection and immunity** **78**(11): 4936-4943.
208. Tjäderhane, L., H. Palosaari, J. Wahlgren, M. Larmas, T. Sorsa and T. Salo (2001). "Human odontoblast culture method: the expression of collagen and matrix metalloproteinases (MMPs)." **Advances in Dental Research** **15**(1): 55-58.
209. Toledo-Arana, A., J. Valle, C. Solano, M. a. J. s. Arrizubieta, C. Cucarella, M. Lamata, B. Amorena, J. Leiva, J. R. Penadés and I. i. Lasa (2001). "The enterococcal surface protein, Esp, is involved in Enterococcus faecalis biofilm formation." **Applied and environmental microbiology** **67**(10): 4538-4545.
210. Tonini, R., M. Giovarruscio, F. Gorni, A. Ionescu, E. Brambilla, I. M. Mikhailovna, A. Luzi, P. Maciel Pires and S. Sauro (2020). "In vitro evaluation of antibacterial properties and smear layer removal/sealer penetration of a novel silver-citrate root canal irrigant." **Materials** **13**(1): 194-209.

211. Torabinejad, M., A. A. Khademi, J. Babagoli, Y. Cho, W. B. Johnson, K. Bozhilov, J. Kim and S. Shabahang (2003). "A new solution for the removal of the smear layer." **Journal of endodontics** **29**(3): 170-175.
212. Torres, J., S. Domínguez, M. F. Cerdá, G. Obal, A. Mederos, R. F. Irvine, A. Díaz and C. Kremer (2005). "Solution behaviour of myo-inositol hexakisphosphate in the presence of multivalent cations. Prediction of a neutral pentamagnesium species under cytosolic/nuclear conditions." **Journal of Inorganic Biochemistry** **99**(3): 828-840.
213. Tronstad, L., F. Barnett and F. Cervone (1990). "Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment." **Dental Traumatology** **6**(2): 73-77.
214. Tronstad, L. and P. T. Sunde (2003). "The evolving new understanding of endodontic infections." **Endodontic Topics** **6**(1): 57-77.
215. Ulin, C., M. Magunacelaya-Barria, G. Dahlén and T. Kvist (2020). "Immediate clinical and microbiological evaluation of the effectiveness of 0.5% versus 3% sodium hypochlorite in root canal treatment: A quasi-randomized controlled trial." **International endodontic journal** **53**(5): 591-603.
216. Usha, H. (2010). "Biofilm in endodontics: New understanding to an old problem." **International Journal of Contemporary Dentistry** **1**(3): 44-51.
217. Uyanik, O., E. Nagas, S. Kucukkaya Eren, Z. C. Cehreli, P. K. Vallittu and L. V. Lassila (2019). "Effect of phytic acid on the setting times and tensile strengths of calcium silicate-based cements." **Australian Endodontic Journal** **45**(2): 241-245.
218. Van der Sluis, L., M. Versluis, M. Wu and P. Wesselink (2007). "Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature." **International endodontic journal** **40**(6): 415-426.
219. Van Tyne, D., M. J. Martin and M. S. Gilmore (2013). "Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin." **Toxins** **5**(5): 895-911.
220. Visse, R. and H. Nagase (2003). "Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry." **Circulation research** **92**(8): 827-839.
221. Vucenik, I. and A. M. Shamsuddin (2006). "Protection against cancer by dietary IP6 and inositol." **Nutrition and cancer** **55**(2): 109-125.
222. Walsh, L. J. and R. George (2017). "Activation of alkaline irrigation fluids in endodontics." **Materials** **10**(10): 1214-1225.
223. Whitchurch, C. B., T. Tolker-Nielsen, P. C. Ragas and J. S. Mattick (2002). "Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation." **Science** **295**(5559): 1487-1487.
224. Widbiller, M., R. I. Althumairy and A. Diogenes (2019). "Direct and indirect effect of chlorhexidine on survival of stem cells from the apical papilla and its neutralization." **Journal of endodontics** **45**(2): 156-160.

225. Willershausen, I., T. Wolf, I. Schmidtman, C. Berger, V. Ehlers, B. Willershausen and B. Briseño (2015). "Survey of root canal irrigating solutions used in dental practices within Germany." **International Endodontic Journal** 48(7): 654-660.
226. Wong, J., G. S. P. Cheung, A. H. C. Lee, C. McGrath and P. Neelakantan (2023). "PROMs following Root Canal Treatment and Surgical Endodontic Treatment." **International dental journal** 73(1): 28-41.
227. Xu, Q., A. G. Kanthasamy and M. B. Reddy (2008). "Neuroprotective effect of the natural iron chelator, phytic acid in a cell culture model of Parkinson's disease." **Toxicology** 245(1-2): 101-108.
228. Ye, W.-h., B. Fan, W. Purcell, M. M. Meghil, C. W. Cutler, B. E. Bergeron, J.-z. Ma, F. R. Tay and L.-n. Niu (2018). "Anti-biofilm efficacy of root canal irrigants against in-situ *Enterococcus faecalis* biofilms in root canals, isthmuses and dentinal tubules." **Journal of dentistry** 79(1): 68-76.
229. Yeniçeri Özata, M., Ö. Acer, Ö. Demirci, M. Çolak and G. Akın Tartuk (2022). "Antimicrobial Activity of Phytic Acid, Citric Acid, and EDTA with and without Propolis against *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans*." **Journal of Dental Materials and Techniques** 11(3): 192-200.
230. Zargar, N., M. A. Marashi, H. Ashraf, R. Hakopian and P. Beigi (2019). "Identification of microorganisms in persistent/secondary endodontic infections with respect to clinical and radiographic findings: bacterial culture and molecular detection." **Iranian journal of microbiology** 11(2): 120-128.
231. Zehnder, M. (2006). "Root canal irrigants." **Journal of endodontics** 32(5): 389-398.
232. Zehnder, M., P. Schmidlin, B. Sener and T. Waltimo (2005). "Chelation in root canal therapy reconsidered." **Journal of endodontics** 31(11): 817-820.
233. Zhang, K., Y. K. Kim, M. Cadenaro, T. E. Bryan, S. J. Sidow, R. J. Loushine, J.-q. Ling, D. H. Pashley and F. R. Tay (2010). "Effects of different exposure times and concentrations of sodium hypochlorite/ethylenediaminetetraacetic acid on the structural integrity of mineralized dentin." **Journal of endodontics** 36(1): 105-109.
234. Zheng, S., M. Bawazir, A. Dhall, H.-E. Kim, L. He, J. Heo and G. Hwang (2021). "Implication of surface properties, bacterial motility, and hydrodynamic conditions on bacterial surface sensing and their initial adhesion." **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology** 9(1):1-22
235. Zhou, Q., Y. Zhao, H. Dang, Y. Tang and B. Zhang (2019). "Antibacterial effects of phytic acid against foodborne pathogens and investigation of its mode of action." **Journal of food protection** 82(5): 826-833.

236. Zollinger, A., T. Attin, D. Mohn and M. Zehnder (2019). "*Effects of endodontic irrigants on blood and blood-stained dentin.*" **Heliyon** 5(5):1-6.
237. Zou, L., Y. Shen, W. Li and M. Haapasalo (2010). "*Penetration of sodium hypochlorite into dentin.*" **Journal of endodontics** 36(5): 793-796.
238. Zou, X., X. Zheng, Y. Liang, C. Zhang, B. Fan, J. Liang, J. Ling, Z. Bian, Q. Yu and B. Hou (2024). "*Expert consensus on irrigation and intracanal medication in root canal therapy.*" **International Journal of Oral Science** 16(1): 23-33.

الملخص باللغة الإنجليزية

Abstract

Aim of study: This study investigated the antimicrobial effect of phytic acid against *Enterococcus faecalis*- infected root canals, the most resistant root canal pathogen.

Materials and Methods: 45 human single-rooted mandibular first premolars were extracted for orthodontic reasons. Each crown was removed to standardize root lengths to 10 mm and each canal was prepared using rotary files and irrigated with sodium hypochlorite, EDTA, and sterile saline solutions, then dried and autoclaved at 120°C for 15 minutes.

Samples were contaminated with 50 microns *Enterococcus faecalis* suspension at a density of 10^8 CFU/ml and incubated in aerobic conditions at 37°C for 7 days. canals were then randomly divided into three irrigation groups according to the used irrigant: the first group (n=15) was treated with 17% phytic acid, the second group (n=15) with 5.25% sodium hypochlorite, and the third group (n=15) with 0.9% sterile saline. Samples were taken from all canals before and after irrigant application and bacterial counts were then evaluated.

Results: The results of this study showed that the bacterial count after application of irrigation fluids was statistically significantly lower than before application, regardless of the irrigation fluid used.

The results also showed that the decrease in the bacterial count in the sodium hypochlorite group was greater than in both the phytic acid and saline groups, with statistically significant differences at the significance level of (0.05). with 83.73%, decrease in the sodium hypochlorite group compared to 68.62% in the phytic acid group and 27.36% in the saline group.

Conclusions: Phytic acid was clearly effective in reducing the bacterial count of *Enterococcus faecalis* within infected root canals.

Keywords: Sodium hypochlorite, phytic acid, inositol hexaphosphate IP6, saline, *Enterococcus faecalis* (E. faecalis).

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Dental Medicine
Department of Operative Dentistry



Antimicrobial Effect of Phytic Acid as an Endodontic Irrigant on Enterococcus faecalis: In Vitro Study.

A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the
degree of Master in Endodontic and Operative dentistry.

Prepared by:

Mohamed Kheir Meshmesh

Supervisor:

Teacher Emad Alayouby

2025 AD