Original Article

10.22122/jids.v22.i2.0121

Journal of Isfahan Dental School

2026; 22(2): 121-32

Antimicrobial Comparison of Licorice and Aloe Vera Extracts versus Sodium Hypochlorite Against Enterococcus faecalis Biofilm

Hasan Maslahati[1]
Kamal Amini[1]
Parisa Ranjbarian[1]
Mehrzad Moazzam[2]
Arezoo Tahmourespour[3]

1. Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran
2. **Corresponding Author:** Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran **Email:** mehrzad.moazzam@iau.ir
3. Department of Basic Medical Sciences, Isf.C., Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Abstract

Introduction: Elimination of resistant microorganisms, particularly *Enterococcus faecalis*, is essential for successful endodontic therapy. Although sodium hypochlorite is considered the gold-standard root canal irrigant, its undesirable side effects have encouraged the search for effective herbal alternatives. This study aimed to compare the antimicrobial efficacy of licorice (Glycyrrhiza glabra) and aloe vera extracts with sodium hypochlorite against *E. faecalis* biofilm.

Materials & Methods: In this in vitro study conducted in the School of Dentistry at Islamic Azad University (Isfahan Branch) in 2024, 60 single-rooted, single-canal teeth were prepared and inoculated with a three-week *Enterococcus faecalis* biofilm before being randomly assigned to four groups: positive control (normal saline), 5.25% sodium hypochlorite, licorice extract (1.4 mg/mL), and Aloe vera extract (2 mg/mL). Following irrigation, microbiological sampling was performed, and the number of colony-forming units (CFUs) was determined. Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by an appropriate post hoc test at a significance level of 0.05.

Results: A statistically significant difference was observed among the four groups regarding E. faecalis colony counts ($P < 0.001$). All experimental irrigants significantly reduced bacterial colonies compared with the control group ($P < 0.05$). However, no statistically significant differences were found among sodium hypochlorite, licorice extract, and aloe vera extract in reducing CFU counts ($P > 0.05$).

Conclusion: Licorice and aloe vera extracts demonstrated considerable antimicrobial activity against *E. faecalis* biofilm and showed efficacy comparable to sodium hypochlorite under the conditions of this study. These herbal agents may represent promising candidates for further investigation as alternative root canal irrigants.

Key words: *Enterococcus faecalis*, Root canal irrigant, Sodium hypochlorite

Received: 13.05.2026 **Revised**: 15.08.2026 **Accepted:** 15.09.2026

How to cite: Maslahati H, Amini K, Ranjbarian P, Moazzam M, Tahmourespour A. Antimicrobial Comparison of Licorice and Aloe Vera Extracts versus Sodium Hypochlorite Against Enterococcus faecalis Biofilm. J Isfahan Dent Sch 2026; 22 (2): 121- 132.

مقاله اصیل پژوهشی

10.22122/jids.v22.i2.0121

مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان

۱۴۰۵؛ ۲۲ (۲): ۱۲۱- ۱۳۲

مقایسه‌ی ضدمیکروبی عصاره‌های شیرین بیان و آلوئه‌ورا با هیپوکلریت سدیم بر بیوفیلم *انتروکوکوس فکالیس*

حسن مصلحتی [۱]

کمال امینی [۱]

پریسا رنجبریان [۱]

مهرزاد معظم [۲]

آرزو طهمورث‌پور [۳]

۱. گروه علمی اندودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲. **نویسنده مسؤول:** گروه علمی اندودانتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

Email: mehrzad.moazzam@iau.ir

۳. گروه علمی علوم پایه پزشکی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

چکیده

مقدمه: حذف میکروارگانیسم‌های مقاوم به‌ویژه *Enterococcus faecalis* از مهم‌ترین عوامل موفقیت درمان ریشه است. هیپوکلریت سدیم به عنوان استاندارد طلایی شستشوی کانال ریشه شناخته می‌شود، اما به دلیل برخی عوارض جانبی، یافتن جایگزین‌های گیاهی مؤثر مورد توجه قرار گرفته است. هدف این مطالعه، مقایسه‌ی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های شیرین‌بیان و آلوئه‌ورا با هیپوکلریت سدیم بر بیوفیلم *Enterococcus faecalis* بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی که در دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی (واحد اصفهان) در سال ۱۴۰۳ به انجام رسید، ۶۰ دندان تک‌ریشه و تک‌کانال پس از آماده‌سازی و ایجاد بیوفیلم سه‌هفته‌ای *Enterococcus faecalis* به چهار گروه تقسیم شدند: کنترل مثبت (نرمال‌سالین)، هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد، عصاره‌ی شیرین‌بیان با غلظت ۱/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و عصاره‌ی آلوئه‌ورا با غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر. پس از شستشو، نمونه‌برداری میکروبی انجام و تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده‌ی کلنی (CFU) تعیین شد. داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی مناسب در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: بین چهار گروه از نظر تعداد کلونی‌های *Enterococcus faecalis* اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$). هر سه محلول آزمایشی نسبت به گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار تعداد کلونی‌ها شدند ($P < ۰/۰۵$). با این حال، اختلاف آماری معنی‌داری بین هیپوکلریت سدیم، عصاره شیرین‌بیان و عصاره‌ی آلوئه‌ورا مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌های شیرین‌بیان و آلوئه‌ورا، اثر ضدمیکروبی قابل توجهی علیه بیوفیلم *Enterococcus faecalis* نشان دادند و عملکردی مشابه هیپوکلریت سدیم داشتند. این ترکیبات می‌توانند به عنوان گزینه‌های گیاهی امیدوارکننده برای مطالعات بیشتر در زمینه‌ی شستشوی کانال ریشه مطرح شوند.

کلید واژه‌ها: *انتروکوکوس فکالیس*؛ شستشودهنده‌ی کانال ریشه؛ هیپوکلریت سدیم

تاریخ ارسال: ۱۴۰۵/۰۲/۲۳ تاریخ اصلاح: ۱۴۰۵/۰۵/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۲۴

استناد به مقاله: مصلحتی حسن، امینی کمال، رنجبریان پریسا، معظم مهرزاد، طهمورث‌پور آرزو. مقایسه‌ی ضدمیکروبی عصاره‌های شیرین بیان و آلوئه‌ورا با هیپوکلریت سدیم بر بیوفیلم *انتروکوکوس فکالیس*. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۵؛ ۲۲ (۲): ۱۲۱- ۱۳۲.

مقدمه

درمان موفق اندودنتیک، مستلزم پاک‌سازی کامل یا کاهش میکروارگانیسم‌ها از ساختار آناتومیک کانال ریشه و سیل کامل سیستم کانال است (۱). برای دستیابی به این امر، پاک‌سازی کامل مکانیکی و شیمیایی کانال ضروری است (۲). مطالعات نشان داده‌اند که پیچیدگی‌های آناتومیک سیستم کانال ریشه در دندان مانع حذف کامل میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۳). البته، برخی میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌های گرم مثبت و برخی قارچ‌ها ممکن است پس از آماده‌سازی شیمیایی- مکانیکی سیستم کانال ریشه هم زنده مانده و عفونت‌های داخل ریشه‌ای مقاومی ایجاد کنند (۴). گزارش شده سلول‌های باکتری و میکروارگانیسم‌های غیرهوازی در طول زمان و در شرایط عفونی شدن کانال‌های ریشه افزایش پیدا می‌کنند (۵). همچنین تشکیل بیوفیلم نیز به دلیل مقاوم‌سازی به عوامل ضد عفونی کننده، عامل دیگر حذف ناکامل آنهاست (۶).

میکروارگانیسم‌های مختلفی در عفونت داخل و خارج ریشه‌ای و عفونت‌های پایدار دخیل هستند. گونه باکتریایی *انتروکوکوس فکالیس* به طور مکرر از عفونت‌های پایدار یا دندان‌هایی که تحت درمان مجدد ریشه قرار گرفتند جدا شده است (۷). بر اساس یافته های موجود، *انتروکوکوس فکالیس* شایع‌ترین کوکسی دخیل در عفونت‌های مقاوم یا عود کننده می‌باشد و غالباً در کانال‌های درمان ریشه شده با علائم پریودنتیت اپیکال مزمن یافت می‌شود که به دلیل توانایی آن در مقاومت در برابر هیپوکلریت سدیم به واسطه تولید ژلاتیناز، نفوذ به داخل توبول‌های عاجی و تولید بیوفیلم ضخیم باعث شکست درمان ریشه می‌شود (۸، ۹).

انتروکوکوس فکالیس، یک میکروارگانیسم مقاوم بوده و نقش اساسی در ضایعات پری‌رادیکولار پایدار پس از درمان ریشه دارد. این باکتری در ۲۷-۲۴ درصد موارد شکست درمان ریشه دیده شده و به عنوان یک تک ارگانیسم یا به عنوان جزئی از فلور باکتریایی باقی مانده است (۱۰). حذف این باکتری از طریق دارو درمانی از کانال ریشه مشکل است، چرا که باکتری در توبول‌های عاجی نفوذ کرده و تثبیت می‌شود. توانایی آن برای تشکیل بیوفیلم و تحمل شرایط نامساعد محیطی شیوع زیاد آن در عفونت‌های مقاوم را توجیه می‌کند، لذا کاربرد یک محلول شستشو دهنده که روی این باکتری مؤثر باشد، به جلوگیری از ایجاد عفونت‌های پایدار اندو کمک می‌کند (۱۱).

داروهای داخل کانال ریشه و عوامل شوینده‌ی مختلف برای ضدعفونی کانال ریشه کاربرد دارند. این داروها باید اثرات شیمیایی قوی و اثرات سایتوتوکسیک کمتری داشته باشند. کلرهگزیدین و هیپوکلریت سدیم از عوامل شستشوی اصلی کانال ریشه بوده و فعالیت ضدمیکروبی بالایی هم دارند. هیپوکلریت سدیم به عنوان یک محلول شستشوی موفق کاربردهای فراوانی پیدا کرده است. این محلول به دلیل فعالیت ضدمیکروبی و خواص بی‌نظیر در حلالیت بافتی، شوینده‌ی انتخابی در درمان دندان‌های نکروز بوده ولی هیپوکلریت سدیم برای بافت زنده سمی بوده و خروج آن از آپکس باعث ایجاد درد و آمفیزم می‌گردد. این محلول، حساسیت‌زا بوده، طعم آن برای بیماران نامطلوب و بخار آن محرک چشم می‌باشد (۱۲، ۱۳).

در سال‌های اخیر، گیاهان دارویی به دلیل خصوصیات ضدمیکروبی، زیست‌سازگاری و اثرات سایتوتوکسیک کمتر و نیز به دلیل داشتن ترکیبات فعال بیولوژیک در درمان‌های دندانپزشکی وارد شده و تحقیقاتی بر روی آنها انجام شده است.

شیرین‌بیان یکی از گیاهان دارویی سنتی در طب ایرانی و نیز طب سنتی چین و ژاپن می‌باشد (۱۴). ایمنی کاربرد آن در آمریکا نیز به تأیید رسیده است (۱۵). شیرین‌بیان اثرات ضدالتهابی (۱۶، ۱۷)، ضدویروسی (۱۸) و ضدکارسینوژنیک دارد (۱۹، ۲۰). مطالعات جدید بیانگر اثرات ضدمیکروبی شیرین‌بیان بر علیه گونه‌های *استافیلوکوک آرئوس* (۲۱)، *ایشرشیاکلای* (۲۲)، *سودوموناس آئروژینوزا* (۲۳) و *باسیلوس ساب‌تیلیس* می‌باشد (۲۴).

بر این اساس، شاید بتوان از شیرین‌بیان به عنوان داروهای داخل کانال ریشه و عامل شستشوی کانال ریشه برعلیه

گونه‌های میکروبی مانند *انتروکوکوس فکالیس* و *کاندیدا آلبیکنس* استفاده کرد که این موضوع مستلزم بررسی‌های بیشتری است. قسمت مورد استفاده شیرین بیان، ساقه های زیرزمینی و ریشه های گیاه است که دارای ترکیبات مختلفی است. درطب سنتی از این گیاه برای درمان اسپاسم عضلات، تورم، برونشیت، روماتیسم و ورم مفاصل استفاده میشود. امروزه نیز عصاره‌ی شیرین بیان یکی از اجزاء ترکیبی شربت سرفه به شمار میرود. این گیاه، در درمان زخم‌های دهان و دستگاه گوارشی مفیداست. شیرین بیان همچنین مدر (ادرارآور) و ملّین است و می توان از آن به عنوان عامل ضد ویروس موضعی برای زخم و التهاب زونا، چشم، دهان و دستگاه تناسلی استفاده کرد. مهمترین خاصیت شیرین بیان، تأثیر بر دستگاه گوارش است. این گیاه درمان‌کننده‌ی ورم و زخم معده و اثنی‌عشر است و بر روی سرطان معده تأثیر مطلوب دارد. همچنین برای درمان سوء هاضمه و از بین بردن نفخ شکم مفید است (۲۵، ۲۶).

آلوئه‌ورا یک گیاه بادوام با گل‌های زرد است که تنها برگهای این گیاه ارزش دارویی دارند. این گیاه دارویی در درمان آرتریت، آسم، سندرم خستگی مزمن، سوء هاضمه و اختلالات روده‌ای، بیماری‌های پوستی، صرع، میگرن و غیره مفید است. ژل این گیاه به صورت موضعی برای درمان سوختگی‌های خفیف، جراحات پوستی، آکنه و التهاب مخاط دهان نیز کاربرد دارد (۲۷). بیوفیلم، یک اجتماع میکروبی پیچیده است که از انواع باکتری‌ها تشکیل شده و به صورت موثری باکتری‌ها را در برابر دفاع میزبان و عوامل ضدعفونی کننده محافظت می کند. باکتری‌ها می‌توانند بر روی هر سطحی که دارای مایعات مغذی باشد، بیوفیلم تشکیل دهند (۲۸). درمان موفق این گونه عفونت‌ها به حذف بیوفیلم و کشتن مؤثر باکتری‌های موجود در بیوفیلم بستگی دارد (۲۹).

با توجه به آنچه گفته شد، تحقیق حاضر با هدف مقایسه‌ی اثر ضدمیکروبی عصاره‌ی شیرین بیان و آلوئه‌ورا با هیپوکلریت سدیم بر بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس کانال ریشه‌ی دندان انجام شد.

فرض صفر مطالعه‌ی حاضر این بود که بین اثر ضدمیکروبی هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد، عصاره‌ی شیرین‌بیان و عصاره‌ی آلوئه‌ورا بر بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و با کد اخلاق *IR.IAU.KHUISF.REC.1403.480* در دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه آزاد اصفهان در سال ۱۴۰۳ به انجام رسید. جامعه‌ی آماری دندان‌های پرمولر تک ریشه‌ای و تک کانال کشیده شده‌ی انسانی به شکل کانالی گرد و فاقد هر گونه تحلیل داخلی و خارجی، کلسیفیکاسیون، ترک و پوسیدگی در سطح ریشه و با آپکس تکامل یافته است. معیارهای ورود شامل دندان‌های تک ریشه و تک کاناله با شکل کانالی گرد که به دلایل ارتودنسی، بیماری پریودنتال یا مشکلات پروتزی خارج شده بودند، وارد مطالعه شدند. دندان‌های با ریشه‌های نابالغ، دچار تحلیل، ترک و شکستگی و پوسیدگی ریشه، کنار گذاشته شدند (۳۰).

از دندان‌ها رادیوگرافی تهیه شد (هر تصویر سه دندان را در بر می‌گرفت) و دندان‌های دارای کانال‌های کلسیفیه، تنوعات آناتومیک یا بی‌نظمی‌های زیاد و نیز تک ریشه‌های دو کاناله حذف و از مطالعه خارج شدند. تعداد ۶۰ دندان پرمولر سالم انسانی تک‌ریشه و تک کانال کشیده شده انتخاب و با استفاده از کورت، سطح خارجی آنها از بقایای بافت نرم و جرم و نیز استخوان پاک‌سازی می‌شود. دندان‌ها همگی دارای شکل کانالی گرد و فاقد تحلیل‌های داخلی و خارجی، کلسیفیکاسیون، ترک و پوسیدگی در سطح ریشه بوده و اپکس آنها باید تکامل یافته باشد. نمونه‌ها در زمان انجام مراحل آماده‌سازی در محلول تیمول ۰/۱ درصد نگهداری می‌شوند (۳۰).

برای شروع تحقیق، تاج دندان توسط یک دیسک برای رسیدن به طول ریشه‌ی استاندارد ۱۵ میلی‌متری قطع شدند. نمونه‌ها با استفاده از گیتس گلیدن شماره‌های ۱ و ۲ و نیز فایل

K شماره‌ی ۱۰ و ۱۵ آماده‌سازی می‌شوند. برای برداشت لایه‌ی اسمیر و باز نگهداشتن توبول‌های عاجی برای نفوذ باکتری انتروکوکوس فکالیس ، دندان‌ها ابتدا با محلول *EDTA* ۱۷٪ به مدت ۱ دقیقه و سپس، با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت، با سالین شستشو داده می‌شوند. پس از خشک کردن کانال، دندان‌ها با کن‌های کاغذی استریل، فورامن اپیکال دندان‌ها با چسب سیانوآکریلات برای جلوگیری از نشت اپیکال سیل شده و سطح خارجی ریشه‌ها با لایه‌ای از لاک پوشیده می‌شود. برای تهیه محیط کشت BHI-Broth (Brain heart infusion) KGaA (Darmstadt, Germany, Merck)، ۳۷ گرم از پودر تجاری این ماده در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. محیط‌های کشت پس از خارج شدن از اتوکلاو و خنک شدن، داخل لوله‌های آزمایش استریل توزیع شدند. هر دندان به یک لوله‌ی آزمایش محتوی محیط کشت انتقالی از نوع BHI-broth استریل منتقل شده و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پاسکال برای ۳۰ دقیقه اتوکلاو می‌شوند. برای اطمینان از استریلیزاسیون، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری می‌شوند تا در صورت مشاهده‌ی تیرگی در محیط BHI، استریلیزاسیون تکرار شود. سوسپانسیون تلقیحی شامل ۱/۵×۱۰^CFU/ml انتروکوکوس فکالیس (ATCC33186) توسط سمپلر در هر کانال تلقیح شده و نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ هفته در لوله‌های آزمایش محتوی محیط کشت انتقالی قرار می‌گیرند (۳۰).

پس از قرار گیری نمونه در انکوباتور برای تشکیل بیوفیلم و جلوگیری از خشک شدن محیط و به صورت روزانه محیط کشت تازه به سوسپانسیون حاوی دندان اضافه می‌شد. نمونه‌گیری برای تعیین میزان (Colony-forming Unit) CFU اولیه از ۱۵ نمونه انجام می‌شود. بدین صورت که کانال ریشه در هر نمونه توسط کن کاغذی استریل خشک شده و با استفاده از سالین بافر فسفات پر می‌شود. یک *K* فایل شماره‌ی ۱۵ در درون کانال تا ۱ میلی‌متری طول کارکرد قرار داده شده و کانال به مدت ۱۰ ثانیه به طور محیطی فایل می‌شود تا سبب از هم گسیختگی بیوفیلم و تسهیل نمونه‌برداری شود. سه عدد کن کاغذی استریل به کانال ریشه وارد می‌شوند تا محتویات کانال را جذب و به ویال حاوی ۰/۹ میلی‌لیتر سالین بافر فسفات منتقل کنند. ۱۰ رقت از هر نمونه تهیه شد و بر اساس روش قطره پلیت، سه قطره به میزان هر قطره ۱۰ میکرولیتر در محیط کشت آگار تلقیح و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO2 قرار داده شد و سپس، شمارش کلونی‌های انتروکوکوس فکالیس براساس CFU/mL انجام گردید. شمارش کلنی‌ها بر اساس فرمول تعداد کلنی در عکس ضریب رقت در حجم تلقیح شده محاسبه شد. میانگین CFU اولیه در ۱۵ نمونه مقیاسی برای میزان CFU نهایی شد (۳۰).

به منظور استفاده از غلظت مورد نظر، چند آزمون با غلظت‌های مختلف از عصاره‌های شیرین بیان و آلوورا انجام شد و مناسب‌ترین غلظت از نظر محلول مورد استفاده در مراحل بعدی و خاصیت آنتی‌باکتریال انتخاب شد. آماده‌سازی کانال‌ها توسط فایل‌های روتاری ProTaper انجام شده و گشادسازی هم تا فایل F3 انجام می‌شود (۳۱). بین استفاده از هر فایل روتاری شستشوی کانال‌های ریشه توسط ۲ میلی‌لیتر از ماده‌ی شستشودهنده‌ی شیرین بیان mg/ml ۱/۴ (۳۱) با غلظت و آلوئه‌ورا mg/ml ۲ (۳۲، ۳۳) انجام شده و در انتها، هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر از ماده‌ی شستشو به مدت ۲ دقیقه شستشو داده می‌شود. در گروه شستشو با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد (۳۳)، متعاقب شستشو با آن برای غیرفعال‌سازی ماده‌ی شستشو و خنثی‌سازی آن از ۳ میلی‌لیتر محلول تیوسولفات سدیم ۵ درصد استفاده می‌شود. در گروه‌های دیگر هم با استفاده از سالین، شستشو انجام شده و محلول‌ها خارج می‌شوند(۳۰). بعد از اتمام آماده‌سازی و گشادسازی کانال‌ها، مجدداً نمونه‌گیری ثانویه از محتویات داخل کانال توسط پیزو ریمر شماره‌ی ۳ (سایز ISO معادل ۱۱۰) انجام شده و

جدول ۱. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه در مقایسه‌ی میانگین تعداد کلونی‌های باکتری انتروکوکوس فکالیس بین چهار گروه

منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	P
گروه	۶/۱۶×۱۰^{۱۳}	۳	۲/۰۵×۱۰^{۱۳}	۴۷/۲۱۷	<۰/۰۰۱
خطا	۲/۴۴×۱۰^{۱۳}	۵۶	۴/۳۵×۱۰^{۱۱}		
کل	۸/۶۰×۱۰^{۱۳}	۵۹			

جدول ۲. نتایج آزمون تعقیبی Tukey در مقایسه‌های دوتایی میانگین تعداد کلونی باکتری *انتروکوکوس فکالیس* بین چهار گروه

گروه (۱)	گروه (۲)	میانگین گروه (۱)	میانگین گروه (۲)	اختلاف میانگین (۱)-(۲)	P	نتیجه
کنترل مثبت	عصاره‌ی شیرین بیان	۱/۶۱×۱۰^{۹}	۳/۹۴×۱۰^{۴}	۱/۶×۱۰^{۹}	<۰/۰۰۱	اختلاف معنادار
کنترل مثبت	عصاره‌ی آلوئه‌ورا	۱/۶۱×۱۰^{۹}	۲/۳۵×۱۰^{۶}	۱/۶۰×۱۰^{۹}	<۰/۰۰۱	اختلاف معنادار
کنترل مثبت	هیپوکلریت سدیم	۱/۶۱×۱۰^{۹}	۲/۲۵×۱۰^{۲}	۱/۶۱×۱۰^{۹}	<۰/۰۰۱	اختلاف معنادار
عصاره‌ی شیرین بیان	عصاره‌ی آلوئه‌ورا	۳/۹۴×۱۰^{۴}	۲/۳۵×۱۰^{۶}	-۲/۳۱×۱۰^{۶}	>۰/۹۹۹	اختلاف غیرمعنادار
عصاره‌ی شیرین بیان	هیپوکلریت سدیم	۳/۹۴×۱۰^{۴}	۲/۲۵×۱۰^{۲}	۳/۹۲×۱۰^{۴}	>۰/۹۹۹	اختلاف غیرمعنادار
عصاره‌ی آلوئه‌ورا	هیپوکلریت سدیم	۲/۳۵×۱۰^{۶}	۲/۲۵×۱۰^{۲}	۲/۳۵×۱۰^{۶}	>۰/۹۹۹	اختلاف غیرمعنادار

براده‌های عاجی را به لوله‌های Eppendorf حاوی ۱ میلی‌لیتر سالین برای هر کانال ریشه منتقل شد. کشت صورت گرفته و CFU ثانویه شمارش شده و در نهایت، میزان CFU اولیه با نهایی با سطح معنی داری ۰/۰۵ در نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ (version 26, IBM Corporation, Armonk, NY) مقایسه شد و داده‌ها ثبت گردید.

یافته‌ها

به منظور مقایسه‌ی میانگین تعداد کلونی‌های باکتری *انتروکوکوس فکالیس* بین چهار گروه مورد مطالعه و با توجه به برقراری فرض نرمال بودن مقادیر در گروه‌ها، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

بر اساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، طبق جدول ۱، میانگین تعداد کلونی‌های باکتری *انتروکوکوس فکالیس* بین چهار گروه اختلاف معناداری داشت (P <۰/۰۰۱). آزمون تعقیبی Tukey برای انجام مقایسه‌های دو به دو میان گروه‌ها انجام شد.

بر اساس نتایج آزمون تعقیبی Tukey، طبق جدول ۲، میانگین تعداد کلونی *باکتری انتروکوکوس* فکالیس در گروه کنترل مثبت بطور معناداری بیشتر از گروه‌های عصاره‌ی شیرین‌بیان (P <۰/۰۰۱)، عصاره‌ی آلوئه‌ورا (P <۰/۰۰۱) و هیپوکلریت سدیم (P <۰/۰۰۱) بود. تعداد کلونی باکتری *انتروکوکوس فکالیس* بین گروه‌های عصاره‌ی شیرین بیان و عصاره‌ی آلوئه‌ورا (P >۰/۹۹۹)، عصاره‌ی شیرین بیان و هیپوکلریت سدیم (P >۰/۹۹۹)، عصاره‌ی آلوئه‌ورا و هیپوکلریت سدیم (P >۰/۹۹۹) اختلاف معناداری نداشت.

بحث

طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش، فرضیه‌ی صفر مطالعه تأیید شد. هدف از درمان اندودنتیک، تمیز کردن و ضدعفونی کردن سیستم کانال ریشه از تمام بافت‌های پالپ حیاتی یا نکروتیک آسیب دیده، میکروارگانیسم‌ها و محصولات فرعی میکروبی است. سیستم کانال ریشه بسیار پیچیده و متغیر است، بنابراین توانایی تمیز کردن و ضدعفونی کردن قابل پیش‌بینی آن را محدود می‌کند. بنابراین، استفاده از یک شوینده اندودونتیک همراه با ابزار مکانیکی برای کمک به ضدعفونی و روان‌سازی کانال ریشه، تخلیه بقایای سیستم کانال و حل بافت‌های آلی و غیر آلی الزامی است (۳۴).

همان طور که اشاره شد، موفقیت درمان ریشه به میزان مؤثر بودن روند پاکسازی و شکل‌دهی کانال بستگی دارد و هدف اولیه از درمان اندودنتیک نیز، ضدعفونی کردن کانال و شبکه‌ی سه بعدی توبول‌های عاجی می‌باشد (۳۵، ۳۶)؛ در واقع باقی ماندن باکتری‌ها در این شبکه‌ی سه بعدی را می‌توان عامل اصلی شکست درمان ریشه دانست. عفونت‌های دندانی ماهیت پلی‌میکروبیال دارند و میکروارگانیسم‌های مختلفی در عفونت‌های داخل و خارج ریشه ای و عفونت‌های پایدار دخیل‌اند. گونه‌ی باکتریایی انتروکوکوس فکالیس به طور مکرر از دندان‌هایی که تحت درمان مجدد ریشه قرار گرفته‌اند و یا از عفونت‌های پایدار جدا شده است (۳۷).

Love، در مطالعه‌ای نشان داد که درصد قابل توجهی از دندان‌های درمان ریشه شده‌ی شکست خورده آلودگی با *انتروکوکوس فکالیس* داشته‌اند (۳۷). این باکتری بی‌هوازی گرم مثبت می‌تواند به تنهایی و بدون حمایت و اثرات سینرژیک سایر گونه‌ها، تکثیر شود و دوره‌های طولانی بی‌غذایی را تحمل کند و همچنین قادر است در فرم بیوفیلم رشد کند و به همین دلیل در مطالعه‌ی حاضر، *انتروکوکوس فکالیس* به عنوان ارگانیسم هدف انتخاب شد. به علاوه دلیل انتخاب بیوفیلم سه هفته‌ای این باکتری، مقاومت بالاتر آن نسبت به بیوفیلم‌های جوان‌تر می‌باشد که این موضوع حذف کردن آن را مشکل‌تر می‌کند (۳۵، ۳۸).

بیوفیلم ساختار دینامیکی از باکتری های مدفون در یک ماتریس پلی ساکاریدی است (۳۹). طبق مطالعه‌ی Kishen و همکاران (۴۲-۴۰)، در هفته‌ی چهارم پس از انکوباسیون، باکتری‌ها تمام سطوح عاج را می‌پوشانند و پس از هفته ششم، آنها با ظهور کانی‌سازی بالغ می‌شوند. با افزایش سن بیوفیلم، مقاومت آن به دلیل کلسیفیکاسیون و سازمان‌دهی افزایش می‌یابد (۴۳). دوره‌های منتخب این مطالعه ۳ هفته بود. به منظور بازسازی وضعیت بالینی، از دندان‌های کشیده شده استفاده شد و بیوفیلم در در داخل کانال دندان کشت شد و عوامل ضد میکروبی در معرض اثر انسداد عاج بر توانایی ضد میکروبی مواد مورد استفاده قرار گرفتند.

در مطالعه‌ی حاضر، اثر ضدمیکروبی مواد شستشودهنده‌ی شیرین بیان، آلوئه‌ورا با هیپوکلریت سدیم مقایسه شده است. در این مطالعه سعی شد از دندان‌های تک ریشه با حجم ریشه‌ی نسبتا یکسان استفاده شود، زیرا تأثیر مواد شستشو دهنده تا حدی به حجم ریشه بستگی دارد (۴۴). حجم ماده‌ی شستشو دهنده و میزان نفوذ نیدل شستشو به داخل کانال ریشه نیز می‌تواند در قدرت ضدعفونی کنندگی مؤثر باشد که در این مطالعه ما از حجم یکسان ماده‌ی شستشو برای هر گروه استفاده کرده و میزان نفوذ نیدل شستشو تا ۱ میلی‌متری آپکس تعیین شد و همچنین مدت زمان شستشو از دیگر فاکتورهای مؤثر بیان شده است (۴۵، ۴۶) که در مطالعه‌ی حاضر گروه‌ها در مدت زمان یکسانی شستشو داده شدند.

در مطالعه‌ی حاضر، گروه شستشو با سرم به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شد. علت این انتخاب این بود که نرمال‌سالین با وجود دارا بودن خاصیت شویندگی، فاقد خاصیت آنتی‌باکتریال می‌باشد، و در نتیجه همانند مطالعات پیشین مشابه (۲۳، ۳۱) می‌تواند به عنوان معیاری برای مقایسه با سایر گروه‌ها استفاده شود. نگرانی‌های ایمنی، عوارض جانبی، افزایش مداوم مقاومت آنتی‌بیوتیکی و ناکارآمدی فرمولاسیون‌های دارویی مرسوم، محققان را بر آن داشته تا به سراغ جایگزین‌های گیاهی بروند (۳۳). به عبارتی دیگر، گرایش به استفاده از شستشو دهنده‌های گیاهی با خواص مشابه و جایگزین کردن آن‌ها با هیپوکلریت بیشتر شده است. محصولات گیاهی بهترین جایگزین برای عوارض جانبی کم‌تر و مقاومت میکروبی کم‌تر محسوب می‌شوند، به شرطی که بتوانند نیازهای اصلی برای استفاده به عنوان شوینده‌ی ریشه را برآورده کنند (۳۳).

یکی از این گیاهان که دارای ارزش دارویی است، محصول «شیرین‌بیان» است (۴۷). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که محلول‌های حاوی شیرین بیان به طور قابل توجهی در کاهش کلنی‌های این باکتری مؤثر بودند. این یافته با مطالعه‌ی انجام شده توسط Badr و همکاران همسو می‌باشد که در آن اثر ضد میکروبی شیرین بیان و هیدروکسید کلسیم در برابر

انتروکوکوس فکالیس مقایسه شد و به این نتیجه رسید که عصاره‌ی شیرین بیان دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی علیه این باکتری است (۴۸).

مطالعه‌ی Abinaya و همکاران، اثر ضد میکروبی عصاره‌ی شیرین بیان بر شایع‌ترین پاتوژن‌های ریشه مورد بررسی قرار داد و به این نتیجه رسیدند که عصاره‌ی اتانولی شیرین بیان دارای اثر ضد باکتریایی قوی بر علیه *E.faecalis* و *C. albicans* نسبت به عصاره‌ی آبی است (۵۲). از این‌رو می‌توان از آن به عنوان داروی داخل کانالی در درمان ریشه‌ای معمول استفاده کرد. در این تحقیق نیز نتیجه مشابهی حاصل شد، با این تفاوت که در این تحقیق خواص عصاره هیدروالکی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات نشان داده است که عصاره‌ی اتانولی دارای سطوح گلابریدین بالایی در عصاره است (۵۱-۴۹).

در مطالعه‌ی انجام گرفته توسط Grenier و همکاران که به بررسی اثرات سینرژیک ضدباکتریایی نیسین و پلی‌فنل‌های مختلف شیرین بیان (شامل *glabridin*، *licoricidin* و *licochalcone A*) بر علیه سلول‌های انتروکوکوس فکالیس پلانکتونی و غوطه‌ور شده در بیوفیلم پرداخته بودند نشان دادند که این ترکیبات خصوصیات ضدالتهابی داشته‌اند (۵۰). به طور کلی مطالعات نشان داده است گلیسیریزین شیرین بیان دارای اثر ضد باکتریایی در برابر انتروکوکوس فکالیس است (۵۱). ساپونین شیرین بیان دارای خاصیت پاک کنندگی بوده است، و محتوای فلاونوئید یک مهارکننده‌ی قوی برای مصرف اکسیژن در سلول باکتری است، که نشان دهنده‌ی اثر ضد باکتریایی است. اکثر اثرات ضد میکروبی شیرین بیان به دلیل ترکیبات ایزوفلاونوئیدی به ویژه هیپاگلابرین و B,4'-O-methylglabridin، glabridin، glabrol و ۳-hydroxyglabrol است (۵۲).

همچنین Abinaya و همکاران، اثرات ضدمیکروبی عصاره‌های شیرین‌بیان و عوامل شستشو دهنده‌ی کانال ریشه شامل کلسیم هیدروکساید و کلرهگزیدین برعلیه گونه‌های *انتروکوکوس فکالیس* و *کاندیدا آلبیکانس* را مقایسه کردند (۵۲). در مجموع نشان داده شد که عصاره‌ی شیرین بیان اثرات ضدمیکروبی احتمالی به عنوان داروی کانال ریشه دارد. این داروی خام و عامل طعم دهنده رایج در داروهای کامپو (داروهای سنتی چینی اصلاح شده در ژاپن) است و شناخته شده است (۵۳). دارای خواص ضد میکروبی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی است. به عنوان یک عامل داخل کانال و کانال ریشه استفاده شده است. در برخی مطالعات دارای خاصیت آبرسانی است. شیرین بیان با غلظت ۵۰ درصد بر *استرپتوکوک موتانس* و *انتروکوکوس فکالیس* اثر مهاری دارد (۵۴، ۵۵).

از سوی دیگر در مطالعات نشان داده شده است که حذف میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فراورده‌های آنها از داخل کانال یکی از اهداف درمان کانال ریشه می‌باشد، لذا آماده‌سازی بخش آپیکال کانال ریشه به اندازه‌ی ابزار بزرگ‌تر به از بین بردن میکروارگانیسم‌های داخل کانال با رسیدن به مناطقی که توسط فایل‌های آپیکال اصلی کوچک‌تر غیرقابل دسترس هستند، کمک خواهد کرد. به عبارتی این پتانسیل حذف باکتری‌های داخل لوله‌ای و باز کردن توبول‌های عاج را فراهم می‌کند تا به آنتی‌بیوتیک‌ها اجازه نفوذ مؤثرتری بدهد (۵۶). در همین راستا در این پژوهش آماده‌سازی کانال تا فایل آماده‌سازی تا فایل F3 روتاری انجام گردید.

اخیراً توجه به استفاده از داروهای گیاهی در اندودنتیکس جلب شده است زیرا داروهای مصنوعی باعث افزایش مقاومت باکتریایی می‌شوند. در عوض، داروهای گیاهی ارزان، در دسترس و کمتر سمی هستند، دارای خواص درمانی هستند و به خوبی مورد استقبال بیمار قرار می‌گیرند (۵۷، ۵۸). لذا در این مطالعه از آلوئه‌ورا به عنوان یک ماده شستشودهنده استفاده شد. آلوئه‌ورا ترکیبی گیاهی با خواص ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد قارچی، التیام زخم و مسکن درد است و در نواحی مختلف دندانی کاربرد دارد (۵۸، ۵۹).

آلوئه‌ورا می‌تواند در محیط‌های وحشی و وسیعی رشد کند. می‌تواند در محیط‌های متشکل از چندین عامل خطر زنده

بماند. بنابراین، برای زنده ماندن باید چندین عامل ضد باکتری تولید کند. آلوئه‌ورا رشد فیبروبلاست و سنتز کلاژن را تحریک می‌کند. تحریک تکثیر سلولی پالپ، تمایز و کانی‌سازی ماتریکس خارج سلولی از دیگر خواص آلوئه‌ورا است (۶۰، ۶۱). با توجه به اینکه آلوئه‌ورا اثر ضد درد دارد (۶۲) می‌توان از آن به عنوان روان‌کننده و صاف‌کننده در هنگام آماده‌سازی کانال استفاده کرد (۳۳). با این حال، تأثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکی عاج مانند سختی و تأثیر آن بر مقاومت در برابر شکستگی ریشه در مواردی که از آن به عنوان داروی داخل کانالی استفاده می‌شود، بهتر است بررسی شود.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میانگین کاهش کلونی در گروه شیرین‌بیان بیشتر از آلوئه‌ورا بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. این یافته با مطالعه انجام شده توسط برجیان و همکاران همسو می‌باشد که به صورت کلی طبق نتایج این مطالعه، عصاره‌ی شیرین بیان با دارا بودن ترکیبات فنلی بیشتر نسبت به عصاره‌ی آلوئه‌ورا اثر ضد میکروبی روی باکتری‌های مورد مطالعه داشته و مقاومت *استرپتوکوکوس موتانس* در مقابل عصاره‌های این دو گیاه بیش از ۳ باکتری دیگر (*استرپتوکوکوس سالیواریوس*، *استرپتوکوکوس سانگوئیس*، *اکتینومایسس ویسکوزوس*) بوده است (۳۱). با این حال تفاوت مطالعه‌ی آنها با مطالعه‌ی حاضر در نوع باکتری بود. در پژوهش حاضر تنها از باکتری *انتروکوکوس فکالیس* استفاده شد.

Ghasemi و همکاران در مطالعه‌ای با عنوان خواص ضدباکتریایی آلوئه‌ورا بر داروهای داخل کانالی علیه بیوفیلم *انتروکوکوس فکالیس* در مراحل مختلف رشد به این نتیجه رسیدند که آلوئه ورا بر خلاف هیدروکسید کلسیم، بیوفیلم‌های هفته چهارم و ششم را حذف کرد و خواص ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر بیوفیلم *E. faecalis* نشان داد. این نتایج از قدرت آلوئه‌ورا برای استفاده به عنوان یک ماده ضد میکروبی طبیعی در داروی داخل کانال حمایت می‌کند (۳۳). یافته‌های بدست آمده از این مطالعه‌ی همسو با یافته‌های پژوهش حاضر می‌باشد با این تفاوت که مطالعه‌ی حاضر بر روی بیوفیلم‌های سه هفته‌ای انجام گرفت. برخلاف اکثر مطالعات ضد میکروبی، ما از بیوفیلم به جای فرم پلانکتون استفاده کردیم که ۱۰۰۰ برابر بیشتر از حالت پلانکتون مقاوم است که ارزش این تحقیق را افزایش می‌دهد. روش بررسی فعالیت ضد میکروبی، شمارش CFU بود. مطالعات قبلی، روش مورد استفاده عمدتاً انتشار آگار بود که دقت کمتری نسبت به CFU داشت.

بررسی مقالات نشان داد که عصاره‌ی آبی و اتانولی آلوئه‌ورا در مهار رشد میکروارگانیسم‌ها مؤثر است. با این حال، مشخص شد که عصاره‌ی اتانولی آلوئه‌ورا خاصیت آنتی‌باکتریال بهتری نسبت به عصاره‌ی آبی علیه *انتروکوکوس فکالیس* دارد. توده‌ی مخاطی داخلی آلوئه‌ورا حاوی آنتراکینون است که ممکن است مسئول خاصیت ضد باکتریایی آن باشد (۶۳) که در این تحقیق نیز نتیجه مشابهی حاصل شد. با این تفاوت که در این تحقیق خواص عصاره‌ی هیدروالکی مورد بررسی قرار گرفت.

از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر می‌توان به انجام آزمایش در شرایط آزمایشگاهی، استفاده از بیوفیلم تک‌گونه‌ای *Enterococcus faecalis* و عدم بررسی ویژگی‌های مهمی نظیر سمیت سلولی، قابلیت حل‌کنندگی بافتی، تأثیر بر ساختار عاج و قدرت حذف لایه اسمیر اشاره کرد.

پیشنهاد می‌شود برای تأیید قابلیت استفاده بالینی عصاره‌های شیرین‌بیان و آلوئه‌ورا، مطالعات حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی با استفاده از این شستشودهنده‌های کانال در غلظت‌های متفاوت انجام شود و با شستشودهنده‌های معمول در درمان کانال ریشه مانند هیپوکلریت سدیم و کلرهگزیدین مقایسه شوند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، عصاره‌های شیرین‌بیان و آلوئه‌ورا فعالیت ضدمیکروبی قابل توجهی علیه بیوفیلم *Enterococcus faecalis* نشان دادند و در شرایط آزمایشگاهی عملکردی مشابه هیپوکلریت سدیم داشتند. با

این حال، برای تأیید اثربخشی بالینی و بررسی ویژگی‌هایی نظیر زیست‌سازگاری، سمیت سلولی و قابلیت حل‌کنندگی بافتی، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است. استفاده از ترکیبات گیاهی به دلیل زیست‌سازگاری بیشتر و عوارض جانبی کمتر، می‌تواند رویکردی نویدبخش در توسعه شوینده‌های اندودنتیک آینده باشد.

سپاسگزاری

این مقاله منتج از پایان‌نامه‌ی مقطع دکتری تخصصی رشته اندودانتیکس با کد ۱۷۵۴۲۹۴۴۳۱۰۵۹۹۱۱۲۰۲۵۱۶۲۸۷۲۹۴۶ می‌باشد که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به تصویب رسیده و بدون حمایت مالی به انجام رسیده است. بدین‌وسیله از زحمات تمامی دست‌اندرکاران پژوهش تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Al-Hezaimi K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Effect of white-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on Candida albicans in vitro. J Endod 2005; 31(9): 684-6.
2. Tabrizizadeh M, Zandi H, Mosaddegh Mehrjardi M, Mahmodizadeh H. Comparing the antibacterial effect of Peganum harmala extract and 5/25% sodium hypochlorite on Enterococcus faecalis biofilm [in Persian]. SSU Journals 2014; 22(3): 1256-64.
3. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev 2002; 15(2): 167-93.
4. Nabavizadeh M, Abbaszadegan A, Gholami A, Sheikhiani R, Shokouhi M, Shams MS, et al. Chemical constituent and antimicrobial effect of essential oil from Myrtus communis leaves on microorganisms involved in persistent endodontic infection compared to two common endodontic irrigants: An in vitro study. J Conserv Dent 2014; 17(5): 449-53.
5. Peciuliene V, Reynaud A, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001; 34(6): 429-34.
6. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev Drug Discov 2003; 2(2): 114-22.
7. Love R. Enterococcus faecalis–a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J 2001; 34(5): 399-405.
8. Sohrabi K, Sooratgar A, Zolfagharnasab K, Kharazifard MJ, Afkhami F. Antibacterial activity of diode laser and sodium hypochlorite in Enterococcus faecalis-contaminated root canals. Iran Endod J 2016; 11(1): 8-12.
9. Guneser MB, Eldeniz AU. The effect of gelatinase production of Enterococcus faecalis on adhesion to dentin after irrigation with various endodontic irrigants. Acta Biomater Odontol Scand 2016; 2(1): 144-9.
10. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998; 31(1): 1-7.
11. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. J Endod 2006; 32(2): 93-8.
12. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya M, Mahalakshmi K, Sehgal P, Sukumaran V. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against Enterococcus faecalis biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. J Endod 2010; 36(1): 83-6.
13. Ravanshad S, Basiri E, Mohammadzadeh M. An in vitro evaluation of antibacterial effect of Zataria multiflora Boiss as an irrigant against Enterococcus faecalis [in Persian]. Shiraz Univ Dent J 2009; 10(2): 92-8.
14. Fukai T, Marumo A, Kaitou K, Kanda T, Terada S, Nomura T. Anti-Helicobacter pylori flavonoids from licorice extract. Life Sci 2002; 71(12): 1449-63.
15. Van Gelderen C, Bijlsma J, Van Dokkum W, Savelkoull T. Glycyrrhizic acid: the assessment of a no effect level. Hum Exp Toxicol 2000; 19(8): 434-9.
16. Bodet C, La VD, Gafner S, Bergeron C, Grenier D. A licorice extract reduces lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine secretion by macrophages and whole blood. J Periodontol 2008; 79(9): 1752-61.

17. Shibata S. A drug over the millennia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. Yakugaku Zasshi 2000; 120(10): 849-62.
18. White CP, Hirsch G, Patel S, Adams F, Peltekian KM. Complementary and alternative medicine use by patients chronically infected with hepatitis C virus. Can J Gastroenterol Hepatol 2007; 21(9): 589-95.
19. Lee CK, Park KK, Lim SS, Park JHY, Chung WY. Effects of licorice extract against tumor growth and cisplatin-induced toxicity in a mouse xenograft model of colon cancer. Biol Pharm Bull 2007; 30(11): 2191-5.
20. Lee S, Oh HM, Lim WB, Choi EJ, Park YN, Kim JA, et al. Gene induction by glycyrol to apoptosis through endonuclease G in tumor cells and prediction of oncogene function by microarray analysis. Anticancer Drugs 2008; 19(5): 503-15.
21. Long DR, Mead J, Hendricks JM, Hardy ME, Voyich JM. 18β-Glycyrrhetinic acid inhibits methicillin-resistant Staphylococcus aureus survival and attenuates virulence gene expression. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(1): 241-7.
22. Awandkar S, Mendhe M, Badukale D, Kulkarni M. Antimicrobial action of cold aqueous and cold ethanolic root extracts of Glycyrrhiza glabra against bovine mammary pathogens. Anim Sci Rep 2012; 6(3): 88-91.
23. Yoshida T, Yoshida S, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F. Glycyrrhizin restores impaired production of β-defensins in burn wounds and improves resistance to Pseudomonas aeruginosa infection. J Leukoc Biol 2010; 87(1): 35-41.
24. Irani M, Sarmadi M, Bernard F, Bazarnov HS. Leaves antimicrobial activity of Glycyrrhiza glabra L. Iran J Pharm Res 2010; 9(4): 425-8.
25. Akhondzadeh S. Encyclopedia of Iranian medicinal plants. Tehran, Iran: Arjomand Publications; 2000. [in Persian]
26. Bahmani M, Rafieian-Kopaei M, Jeloudari M, Eftekhari Z, Delfan B, Zargaran A, et al. A review of the health effects and uses of licorice (Glycyrrhiza glabra L.) in Iran. Asian Pac J Trop Dis 2014; 4: S847-S9.
27. Baradaran A, Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of Aloe vera on gentamicin-induced nephrotoxicity. Clin Ter 2014; 165(1): 7-11.
28. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Drucker DB, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. Antimicrobial susceptibility of Enterococcus faecalis isolated from root canals. Int Endod J 2004; 37(11): 756-63.
29. Jhajharia K, Parolia A, Shetty KV, Mehta LK. Biofilm in endodontics: a review. J Int Soc Prev Community Dent 2015; 5(1): 1-12.
30. Xie Q, Johnson BR, Wenckus CS, Fayad MI, Wu CD. Efficacy of berberine as an endodontic irrigant against biofilm. J Endod 2012; 38(8): 1114-7.
31. Borjian Brojeni S, Kaveh Baba Heydari E, Mortezaei S, Karimian M, Shirzad M, Validi M. Antibacterial effects of hydroalcoholic extracts of Aloe vera and Glycyrrhiza glabra [in Persian]. J Babol Univ Med Sci 2016; 18(4): 14-20.
32. Eskandarinezhad M, Soroush Barhaghi MH, Allameh K, Sadrhaghighi A, Katebi K. Comparison of calcium hydroxide, curcumin, and Aloe vera antibacterial effects. Dent Res J (Isfahan) 2022; 19: 14.
33. Ghasemi N, Behnezhad M, Asgharzadeh M, Zeinalzadeh E, Samadi Kafil H. Antibacterial properties of Aloe vera on intracanal medicaments. Int J Dent 2020; 2020: 8855277.
34. Salem WH, Moussa TA, Abou Abouraya NL. Cytotoxicity and antibacterial activity of turmeric extract versus sodium hypochlorite. Braz Dent Sci 2022; 25(4): e3566.
35. Elbatouty KM, Nour MS. Evaluation of diode laser and irrigation techniques. Egypt Dent J 2017;63: 1617-25.
36. Preethee T, Kandaswamy D, Arathi G, Hannah R. Bactericidal effect of the 908 nm diode laser on Enterococcus faecalis in infected root canals. J Conserv Dent 2012; 15(1): 46-50.
37. Love RM. Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. Int Endod J 2001; 34(5): 399-405.
38. Asnaashari M, Tahmasebi Ebad L, Shojaeian S. Comparison of Antibacterial Effects of 810 and 980-nanometer Diode Lasers on Enterococcus Faecalis in the Root Canal System -An in vitro stud. Laser Ther 2016; 25(3): 209-14.
39. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms. Virulence 2018; 9(1): 522-54.
40. Kishen A, Shrestha A, Del Carpio-Perochena A. Validation of biofilm assays in root canals. J Endod 2018; 44(2): 292-8.
41. Layton G, Wu WI, Ravi Selvaganapathy P, Friedman S, Kishen A. Fluid dynamics and biofilm removal in irrigation methods. J Endod 2015; 41(6): 884-9.

42. Neelakantan P, Qing Cheng C, Ravichandran V, Mao T, Priyanka Sriraman P, Sridharan S, et al. Photoactivation of curcumin and sodium hypochlorite. Photodiagn Photodyn Ther 2015; 12(1): 108-14.
43. Zand V, Milani AS, Amini M, Soroush Barhaghi MH, Lotfi M, Rikhtegaran S, et al. Antimicrobial efficacy of photodynamic therapy and sodium hypochlorite on monoculture biofilms of Enterococcus faecalis at different stages of development. Photomed Laser Surg 2014; 32(5): 245-51.
44. Toljan I, Bago I, Anić I. Eradication of Intracanal Enterococcus Faecalis Biofilm by Passive Ultrasonic Irrigation and RinsEndo System. Acta Stomatol Croat 2016; 50(1): 14-22.
45. Alakshar A, Mohammed Saleh AR, Gorduysus MO. Debris and Smear Layer Removal from Oval Root Canals Comparing XP-Endo Finisher, EndoActivator, and Manual Irrigation: A SEM Evaluation. Eur J Dent 2020; 14(4): 626-33.
46. Brito PRR, Souza LC, de Oliveira JCM, Alves FRF, De-Deus G, Lopes HP, et al. Comparison of the effectiveness of three irrigation techniques in reducing intracanal Enterococcus faecalis populations: an in vitro study. J Endod 2009; 35(10): 1422-7.
47. Ajagannanavar SL, Battur H, Shamarao S, Sivakumar V, Uday Patil P, Shanavas P. Effect of aqueous and alcoholic licorice (glycyrrhiza glabra) root extract against streptococcus mutans and lactobacillus acidophilus in comparison to chlorhexidine: an in vitro study. J Int Oral Health 2014; 6(4): 29-34.
48. Badr AE, Omar N, Badria FA. A laboratory evaluation of the antibacterial and cytotoxic effect of Liquorice when used as root canal medicament. Int Endod J 2011; 44(1): 51-8.
49. Tian M, Yan H, Row KH. Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. Int J Mol Sci 2008; 9(4): 571-7.
50. Grenier D, Marcoux E, Azelmat J, Lagha AB, Gauthier P. Synergistic effects of nisin and licorice polyphenols. AMB Express 2020; 10(1): 120.
51. Badria FA, Houssen WE, El-Nashar EM, Said SA. Evaluation of glycyrrhizin and Boswellia extract. Biosci Biotechnol Res Asia 2016; 1(2): 93-6.
52. Abinaya K, Divya R, Asha J, Subha A, Kumar Sneha S, Adhityavasun P. Antimicrobial efficacy of liquorice extracts. J Pharm Bioallied Sci 2023; 15(Suppl 1): S760-3.
53. Hegde V, Kesaria DP. Comparative evaluation of antimicrobial activity of neem, propolis, turmeric, liquorice and sodium hypochlorite as root canal irrigants against E. Faecalis and C. Albicans - An in vitro study. Endodontology 2013; 25(2): 38-45.
54. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. Caries Res. 2011; 45(3): 243-63.
55. Shirazi MH, Ranjbar R, Eshraghi S, Sadeghifard N. An evaluation of antibacterial activity of Glycyrrhiza glabra extract on the growth of Salmonella, Shigella and ETEC E. coli. J Biol Sci 2007; 7(5): 827-9.
56. Chittrarasu M, Sathyanarayana SS, Ahamed S, Aberna, Bhavani S, Rajaraman G. Antimicrobial efficacy of liquorice against Enterococcus faecalis biofilms in various concentrations at time-dependent variables: An in vitro study. J Conserv Dent 2019; 22(1): 7-11.
57. Vasudeva A, Sinha DJ, Tyagi SP, Singh NN, Garg P, Upadhyay D. Disinfection of dentinal tubules with 2% Chlorhexidine gel, Calcium hydroxide and herbal intracanal medicaments against Enterococcus faecalis: An in-vitro study. Singapore Dent J 2017; 38: 39-44.
58. Jaidka S, Somani R, Singh DJ, Sheikh T, Chaudhary N, Asiya Basheer A. Herbal combat against E. faecalis. J Oral Biol Craniofac Res 2017; 7(3): 178-81.
59. Khatri SG, Raj Samuel S, Acharya S, Patil ST. Antiplaque, Antifungal Effectiveness of Aloevera Among Intellectually Disabled Adolescents: Pilot Study. Pediatr Dent 2017; 39(7): 434-8.
60. Songsiripradubboon S, Kladkaew S, Trairatvorakul C, Sangvanich P, Soontornvipart K, Banlunara W, et al. Stimulation of Dentin Regeneration by Using Acemannan in Teeth with Lipopolysaccharide-induced Pulp Inflammation. J Endod 2017; 43(7): 1097-103.
61. Carvalho NC, Garcez Guedes SA, Cavalcanti Albuquerque-Júnior RL, de Albuquerque DS, de Souza Araújo AA, Paranhos LR, et al. Analysis of Aloe vera cytotoxicity and genotoxicity associated with endodontic medication and laser photobiomodulation. J Photochem Photobiol B 2018; 178: 348-54.
62. Sholehvar F, Mehrabani D, Yaghmaei P, Vahdati A. The effect of Aloe vera gel on viability of dental pulp stem cells. Dent Traumatol 2016; 32(5): 390-6.
63. Yavagal P, Sravanthi S. In vitro evaluation of antibacterial potential of Aloe vera against Enterococcus faecalis. J Ayurvedic Herb Med. 2019;5(3):96-9.