

Efkti antibakteror i *Thymus serpyllum* ndaj *E. faecalis* në dentinën radikulare

Ariana Kameri

Autorë

Ariana Kameri

Universiteti i Prishtinës, Fakulteti i Mjekësisë, Dega e Stomatologjisë, Departamenti i Sëmundjeve të Dhëmbit, Prishtinë, Kosovë

Për korrespondencë

Ariana Kameri

ariana.kameri@uni-pr.edu

ABSTRACT

Despite the advanced use of preparation techniques, instruments, application of irrigants, namely simultaneous root canal medications, endodontic failures can occur. Therefore, in order to find a new alternative, we have determined that the purpose of this in vitro research is: to evaluate the antibacterial efficiency of the extract of *Thymus serpyllum* alone and in combination with NaOCl 2%, as well as Chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* in the solution with dentin powder using the agar disk diffusion method. The zones of inhibition caused by the herbal extract of *Thymus serpyllum* were evaluated after 5 minutes, 60 minutes and 24 hours, and were compared with the standard solutions of NaOCl 2% and Chlorhexidine after mixing with the dentin powder. The statistical analysis of the results was done with One Way ANOVA and the Kruskal Wallis test. Sodium hypochlorite 2% has shown antibacterial effect against *Enterococcus faecalis* by forming a wide zone of inhibition, but after mixing with dentin powder, its effect is reduced. Chlorhexidine 2% has shown an antibacterial effect against *E. faecalis*, giving an inhibition zone, which is reduced under the influence of dentin powder.

Chlorhexidine after mixing with plant extracts of *Thymus serpyllum* has resulted in more powerful antibacterial ef-

fect against *E. faecalis*. The herbal extract of *Thymus serpyllum* has been shown to be effective against *E. faecalis*, which is reduced under the influence of dentin powder.

ABSTRAKTI

Përkundër përdorimit të avancuar të teknikave përpunuese, instrumenteve, aplikimit të irriguesve, përkatësisht medikimeve bashkohore të kanalit, dështimet endodontike mund të shfaqen. Andaj, për të gjetur një alternativë të re, jemi përcaktuar që qëllimi i këtij hulumtimi in vitro të jetë: vlerësimi i efikasitetit antibakteror i ekstraktit të *Thymus serpyllum* i vetëm dhe në kombinim me NaOCl 2%, si dhe Klorheksidinën ndaj *Enterococcus faecalis* në tretësirën me pluhur të dentinës duke përdorur metodën e agar disk difuzionit. Zonat e inhibimit të shkaktuara nga ekstrakti bimor i *Thymus serpyllum* janë vlerësuar pas 5 minutave, 60 minutave dhe 24 orëve, si dhe janë krahasuar me tretësirat standarde të tretjes së NaOCl 2% dhe Klorheksidinën pas përzierjes me pluhurin e dentinës. Analiza statistikore e rezultateve është bërë me One Way ANOVA dhe Kruskal Wallis testin. Hipokloruri i natriumit 2% ka treguar efekt antibakteror ndaj *Enterococcus faecalis* duke formuar zonë të gjerë të inhibimit, por pas përzierjes me pluhur të dentinës, efekti i tij është zvogëluar. Klorheksidina 2% ka treguar efekt antibakteror ndaj *E. faecalis*, duke dhënë zonë inhibimi, zonë kjo e cila është zvogëluar nën

ndikimin e pluhurit të dentinës. Klorheksidina pas përzierjes me ekstraktet bimore të *Thymus serpyllum* ka rezultuar në efekt më të fuqishëm antibakteror ndaj *E. faecalis*. Ekstrakti bimor i *Thymus serpyllum* është treguar efikas ndaj *E. faecalis*, gjë kjo e cila është zvogëluar nën ndikimin e pluhurit të dentinës.

Fjalët kyçe: kanali i rrënjës, *Enterococcus Faecalis*, ekstrakti bimor, metoda e difuzionit, *thymus serpyllum*.

Hyrje

Trajtimi i suksesshëm endodontik i kanalit të rrënjës së dhëmbit arrihet përmes diagnostifikimit dhe trajtimit adekuat, bazuar në aplikimin e njohurive të terapeutit mbi anatomicën dhe morfologjinë e dhëmbit, e cila rezulton në pastrimin, përpunimin, dezinfektimin dhe obturimin e tërë sistemit të kanalit të rrënjës. Irrigimi i kanalit të rrënjës bëhet me anë të disa tretjeve, të cilat duhet të kenë toksicitet të ulët, të zbërthejnë indin dhe debrisin, të kenë veprim antibakteror, të inaktivizojnë endotoksinet, të jenë lubrifikues, të largojnë smear shtresën, të mos jenë kaustike ndaj indeve periodontale, si dhe të mos kenë potencial për shkakim të reaksioneve anafilaktike [1]. Hipokloruri i natriumit (NaOCl) është irriguesi më i shpeshtë që përdoret në endodoncion dhe atë në koncentrim 0.5%–5.25%. Përpos që ka veprim antibakterial, kjo tretje mundëson edhe largimin mekanik të debrisit, duke zbërthyer mbetjet e pulpës dhe kolagjenit. Hipokloruri i natriumit është i vetmi irrigues, i cili shpërbën indin organik vital dhe nekrotik [2]. Ky irrigues në kombinim me EDTA-në, ose acidin citrik mundëson largimin e tërësishëm të smear shtresës [3]. Mirëpo, në anën tjetër hipokloruri i natriumit i ka disa veti të padëshirueshme: ka potencial alergjik, shije të keqe, si dhe mund të jetë toksik [4]. Klorheksidina depërton në murin qelizor të bakteres dhe atakon citoplazmën qelizore, apo në rast të pranisë së fungjeve depërton në membranën plazmatikë të tyre. Klorheksidina nuk ka shije të keqe, si dhe nuk irriton indin periapikal, por nuk ka aftësi të zbërthimit të indit. Eliminimi i mikroorganizmave nga kanali i rrënjës së dhëmbit është mjaft kompleks. Hulumtimet kanë vërtetuar se *Enterococcus faecalis* mund të izolohet në 24-77% të rasteve me kanale të infektuara [5]. *Enterococcus faecalis* posedon një seri veçorish që i mundësojnë mbijetesën në kanalet e trajtuara, duke përfshirë rezistencën ndaj barnave intrakanalikulare, aftësinë e formimit të biofilmit, invadimin e kanalëve të dentinës dhe mbijetesën në mungesë të materieve ushqyese në periudha të gjata kohore [6]. Duke pasur parasysh karakteristikat fizike dhe veçoritë rezistuese të mikroorganizmave ndaj irriguesve dhe medikamenteve të ndryshme të njohura deri më tani, paraqitet nevoja e aplikimit të ndonjë ekstrakti bimor për mbizotërimin e këtyre vetive. Ekstraktet bimore në stomatologji janë bërë afirmative për shkak të disponueshmërisë së lehtë, kostonë së përshtatshme,

toksicitetit të ulët, si dhe mungesës së rezistencës mikrobike dhe rritjes së shkallës së veprimit [7].

Qëllimi i punimit ishte që të vlerësohet efikasiteti antibakteror i ekstraktit të *Thymus serpyllum* ndaj *Enterococcus faecalis*, si dhe të krahasohet efekti i saj pas përzierjes me pluhurin e dentinës.

Materiali dhe metoda

Pjesa eksperimentale e këtij hulumtimi është realizuar në Katedrën e Sëmundjeve të Dhëmbit me Endodoncion dhe Departamentin e Mikrobiologjisë, Fakulteti i Mjekësisë, si dhe në Departamentet e Biologjisë dhe Kimisë të Fakultetit të Shkencave Natyrore të Universitetit të Prishtinës “Hasan Prishtina”.

Pas aprovimit nga komiteti etik, janë testuar 100 dhëmbë një rrënjësh të ekstrahuar human për shkaqe periodontologjike dhe ortodontike. Para kohës së fillimit të pjesës eksperimentale dhëmbët e ekstrahuar janë ruajtur në tretje të hipoklorurit të natriumit në koncentrim 1%. Në momentin e fillimit të pjesës eksperimentale dhëmbët janë shpërlarë në rrjedhjen e ujit, si dhe janë dezinfektuar në autoklav për 15 minuta në temperaturë 121 °C. Pjesa e kurores së dhëmbëve është larguar deri në kufirin smalt-cement me anë të diskut të diamantit në aparatën për prerje të dhëmbëve (Smart Cut 4002, UKAM, Valencia, USA) (Figura 1). Pas kësaj faze, në rrënjën e mbetur me anë të nerv ekstrikatorit (Maillefer Instruments SA, Switzerland) kemi bërë largimin e indit pulpar nga kanali i rrënjës së dhëmbit. Përpunimi mekanik i kanaleve është bërë me anë të gjilpërave Endostar E5 (Poldent Co., Warsaw, Poland) të montuara në endomotorin endodontik (Entran, W&H Burmoos, Austria) bazuar në udhëzimet e prodhuesit, për të fituar pluhurin e dentinës (Figura 2). Pluhuri i dentinës është pezulluar në ujë të destiluar deri në 28 mg per 50 µl sasi.

Për realizimin e pjesës eksperimentale të këtij hulumtimi in vitro janë përdorur këto medikamente endodontike: hipokloruri i natriumit 2% (ChloraxD, CerKamed, StatowaWola, Poland), klorheksidina 2% (Glucoc-Chex, CerKamed, StatowaWola, Poland), etil acetati (EthAOc, Sigma Aldrich, Switzerland) dhe dimetil formamidi (DMF; Sigma Aldrich, Switzerland), si grup kontrollues pozitiv. Ndërsa, uji steril ka shërbyer si grup kontrollues negativ.

Speciet bimore –*Thymus serpyllum* L2(4) të familjes *Labiales* janë grumbulluar gjatë ekspeditës rutinore me datë 15.09.2018 në Malet e Sharrit. Materiali i i freskët bimor është përcaktuar nga botanistët e lëndës, si dhe është bërë herbarizimi. Pas tharjes së bimëve është bërë

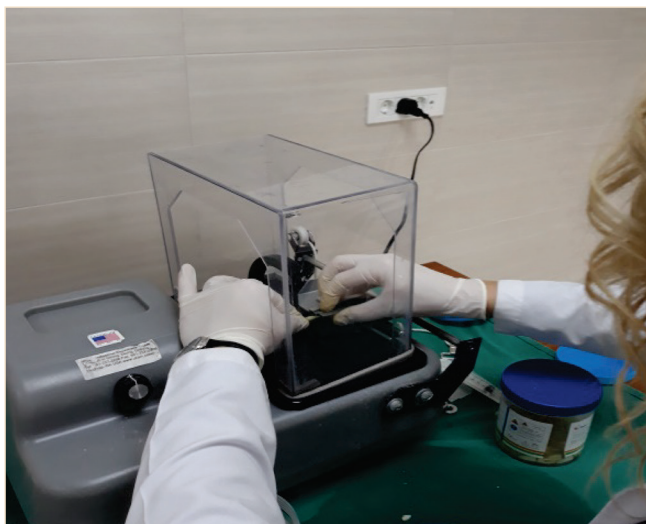


Figura 1 Aparati për prerjen e dhëmbëve.



Figura 2 Mënyra e përfitimit të pluhurit të dentinës.

bluarja e tyre me grimcues kuzhine. Pas bluarjes është fituar masa e grimcuar e pluhurit, i cili është vakuumuar dhe ruajtur në temperaturë $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ deri në momentin e përdorimit. Për vlerësimin antimikrobik të materialeve testuese bimore, endodontike, si dhe kombinimin e ekstrakteve bimore me agjentët endodontik është përdorur: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 Thermo scientific).

Metoda e disk difuzionit është përdorur për të bërë vlerësimin antibakteror të ekstrakteve bimore, si dhe preparateve endodontike (**Figura 3**). Suspensionet e pluhurit të dentinës në ujë, në sasi prej $50\ \mu\text{l}$ janë përzier me $50\ \mu\text{l}$ material testues, si dhe pas ven-

dosjes në epruveta janë vendosur në inkubator për 24 orë në temperaturë $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ para shtimit të bakteres. Uji steril prej $50\ \mu\text{l}$ ka shërbyer si grup kontrollues negativ në vend të pluhurit të dentinës. Vëllimi total i materialeve eksperimentale, si dhe atyre kontrolluese ka qenë $150\ \mu\text{l}$. Të gjitha përzierjet janë vendosur edhe një herë në inkubator në temperaturën $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pluhuri i dentinës së bashku me materialet testuese dhe suspensionet e mikrobeve janë përzier me pipeta sterile dy herë (para orës së parë), ose tri herë (përgjatë 24 orëve) të periudhës së inkubimit. Pas shtimit të mikroorganizmave testues të këtij hulumtimi $-10\ \mu\text{l}$ për mostër të kulturave mikrobike janë marrë nga suspensionet eksperimentale dhe kontrolluese pas 5 minutave, 60 min dhe 24 h.

Rezultatet janë regjistruar në bazë të standard disk metodës sipas të dhënave nga Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, USA), si dhe European Committee for Antibiotic Sensitivity Testing (EUCAST). Përpunimi i të dhënave është bërë me paketin statistikor SPSS 22.0. Testimi i të dhënave kuantitative në mes të disa grupeve që kanë pasur shpërndarje normale është bërë me One Way ANOVA, ndërsa kur nuk kanë pasur shpërndarje normale me Kruskal Wallis test. Vlera e $P < 0.05$ u konsiderua statistikisht e rëndësishme.



Figura 3 Observimi i zonës së inhibimit pas 5 minutave tek *Thymus Serpyllum* me pluhur të dentinës ndaj *Enterococcus faecalis*.

Rezultatet

Pas 5 minutave, kur ekstrakti bimor L2(4) është përdorur në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur vetëm ($10.0\ \text{mm}$) dhe në kombinim me CHX ($28.7\ \text{mm}$) ka pasur zonë inhibimi. Po ashtu, edhe NaOCl i vetmuar, ka treguar zonë inhibi-

mi me madhësi 31.7 mm. Pas analizës statistikore, raportohet se ka pasur dallim sinifikant statistikor në rritjen e *E. faecalis*, pesë minuta pas mbjelljes në tretësirën pa pluhur të dentinës varësisht prej preparatit të përdorur ($P=0.001$), (**Tabela 1**). Një orë pas mbjelljes pa pluhur të dentinës, kur ekstrakti bimor L2(4) është përdorë në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur i vetëm zona ishte (10.3 mm), si dhe në kombinim me CHX (24.3 mm). Gjithashtu edhe kur NaOCl është përdorur i vetëm ka pasur zonë inhibimi me madhësi 34.7 mm. 24 orë pas mbjelljes në tretësirën pa pluhur të dentinës, është bërë matja e rritjes së kolonive të *E. faecalis*. Kur ekstrakti bimor L2(4) është përdorur në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur vetëm (10.0 mm) dhe në kombinim me CHX (24.7 mm). Po ashtu, edhe kur NaOCl është përdorur i vetëm ka pasur zonë inhibimi me madhësi 38.3 mm. Pesë minuta pas mbjelljes në tretësirën me pluhur të dentinës, u raportua se te ekstrakti bimor L2(4) i përdorur në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur vetëm zona e inhibimit ishte (8.7 mm), e pas kombinimit me CHX (21.7 mm). Gjithashtu edhe kur NaOCl është

përdorur i vetëm ka pasur zonë inhibimi me madhësi 26.0 mm. Kemi fituar dallim me sinifikancë të rëndësishme statistikore në rritjen e *E. faecalis* pesë minuta pas mbjelljes në tretësirën me pluhur të dentinës varësisht prej preparatit të përdorur ($P=0.001$), (**Tabela 2**). Ndërsa, 60 min. pas mbjelljes në tretësirën me pluhur të dentinës, kur ekstrakti bimor L2(4) është përdorur në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur i vetëm, zona ishte (8.3 mm), si dhe në kombinim me CHX (23.7 mm). Po ashtu, ka pasur zonë inhibimi, edhe kur NaOCl është përdorur i vetëm (18.0 mm).

Gjithashtu është bërë matja e rritjes së kolonive të *E. faecalis* 24 orë pas mbjelljes në tretësirën me pluhur të dentinës. Kur ekstrakti bimor L2(4) është përdorur në kombinim me NaOCl nuk ka pasur zonë inhibimi, ndërsa kur ekstrakti është përdorur i vetëm (8.7 mm) dhe në kombinim me CHX (23.7 mm). Kur NaOCl është përdorur i vetëm, zona e inhibimit ishte 14.3 mm. Kemi fituar dallim me sinifikancë të rëndësishme statistikore në rritjen e *E. faecalis* 24 ore pas mbjelljes në tretësirën me pluhur të dentinës varësisht prej preparatit të përdorur ($P=0.001$), (**Figura 4**).

► **Tabela 1** Ndikimi i ekstraktit bimor të *Thymus serpyllum* L2(4) me kombinime në rritjen e *E. faecalis* në tretësirën pa pluhur të dentinës.

N=3	5 min				60 min				24 h			
	Mesatarja	DS	Min	Max	Mesatarja	DS	Min	Max	Mesatarja	DS	Min	Max
L2 (4)	10.0	1.0	9	11	10.3	1.2	9	11	10.0	1.0	9	11
NaOCl / L2 (4)	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0
CHX / L2 (4)	28.7	1.2	28	30	24.3	0.6	24	25	24.7	1.2	24	26
NaOCl	31.7	0.6	31	32	34.7	0.6	34	35	38.3	0.6	38	39
CHX	24.7	1.5	23	26	24.3	0.6	24	25	23.0	1.0	22	24
DMF	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0
Kruskal Wallis	p=0.001				p=0.001				p=0.001			

► **Tabela 2** Ndikimi i ekstraktit bimor të *Thymus serpyllum* L2(4) me kombinime në rritjen e *E. faecalis* në tretësirën me pluhur të dentinës.

N=3	5 min				60 min				24 h			
	Mesatarja	DS	Min	Max	Mesatarja	DS	Min	Max	Mesatarja	DS	Min	Max
L2 (4)	8.7	0.6	8	9	8.3	1.2	7	9	8.7	0.6	8	9
NaOCl / L2 (4)	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0
CHX / L2 (4)	21.7	0.6	21	22	23.7	0.6	20	21	23.7	0.6	23	24
NaOCl	26.0	1.0	25	27	18.0	1.0	17	19	19.7	0.6	19	20
CHX	22.3	0.6	22	23	20.3	0.6	20	21	19.7	0.6	19	20
DMF	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0	0.0	0.0	0	0
Kruskal Wallis	p=0.001				p=0.001				p=0.001			

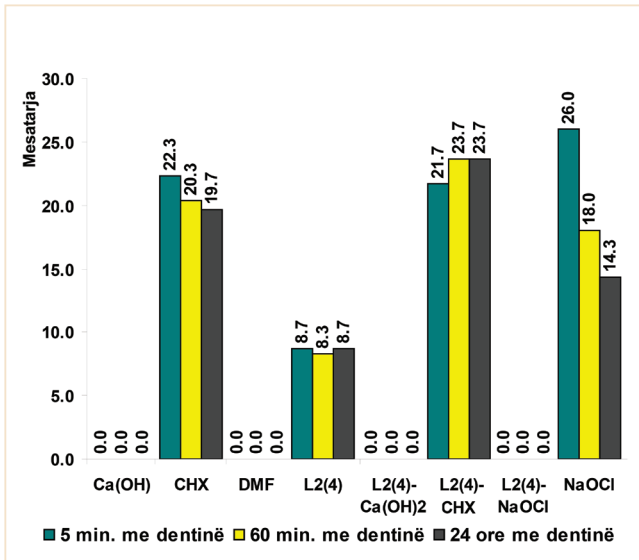


Figura 4 Ndikimi i L2 (4)Thymus serpyllum me kombinime në rritjen e E. faecalis në tretësirën me pluhur të dentinës pas 5 minutave, 60 minutave dhe 24 orëve.

Diskutimi

Suksesi i trajtimit endodontik është në korrelacion të drejtpërdrejt me eliminimin e mikroorganizmave nga sistemi i kanalit të rrënjës. Infeksioni primar i kanalit të rrënjës është pasojë e mbetjes së mikroorganizmave në pjesët e patrajuara të kanalit [8], ndërsa infeksioni sekondar lajmërohet për shkak të dështimit të trajtimit endodontik dhe pranisë së mikroorganizmave në sistemin e kanalit të rrënjës [9].

Hulumtimet mikrobiologjike të realizuara në kanalet e obturuara, por me leziona perzistuese periapikale, kanë raportuar për prani të *Enterococcus faecalis* prej 29%–77% [10]. Përderisa, autori Prabhakar me bp. (2010) ka vërtetuar se hipokloruri i natriumit 5.25% ka treguar efikasitet maksimal ndaj biofilmit të *E. faecalis* në substratin e dhëmbit, autorët tjerë kanë raportuar për aktivitet të ulët antibakteror të hipoklorurit të natriumit në koncentrim 2.5% ndaj *E. faecalis* [11-13]. Ndërsa, në punimin tonë NaOCl 2% ka treguar efekt antibakterial, pasi që ky preparat pas tri intervaleve kohore të testuara ka rezultuar në zonë të lartë të inhibimit (31.7 mm, 34.7 mm dhe 38.3 mm për *E. faecalis*). Hipokloruri i natriumit 2% ka treguar efekt antibakteror ndaj *Enterococcus faecalis* duke formuar zonë të gjerë të inhibimit, por pas përzierjes me pluhur të dentinës, efekti i tij është zvogëluar. Po ashtu, edhe CHX 2% në hulumtimin tonë është treguar mjaft efikas në eliminimin e kolonive të *E. faecalis* në tri intervalet kohore të testuara. Klorheksidina 2% ka treguar efekt antibakteror ndaj *E. faecalis*, duke dhënë zonë inhibimi, zonë kjo e cila është zvogëluar nën ndikimin e pluhurit të dentinës. Të

gjithë irriguesit dhe medikamentet endodontike, të cilat janë në dispozicion në praktikën e sotshme endodontike kanë efektet e tyre të limituara sa i përket vetive antimikrobike, si dhe kanë efekte anësore: hipokloruri i natriumit ka veti kaustike, ndërsa, klorheksidina përkundër asaj se është më pak kaustike, mund të irritojë lëkurën dhe mukozën, si dhe nuk mund të zërthejë indin nekrotik. Për t'i tejkaluar këto efekte anësore të medikamenteve, kanë filluar të përdoren produktet natyrale bimore të ndryshme, siç janë: Propolisi, Curcuma longa, Acacia nilotica, Aloe vera, etj. Oncag me bp. (2008) pas krahasimit të efektit antibakteror ndaj *E. faecalis* të tri medikamenteve endodontike, ka konkluduar se propolisi ka potencial të lartë antibakteror duke e sygjëruar këtë ekstrakt bimor si alternativë e medikamentit intrakanalikular endodontik [14]. Po ashtu, Awawdeh me bp. (2009) ka raportuar për efikasitetin shumë më të fuqishëm të propolisit në eliminimin e *E. faecalis* nga kanali i rrënjës së dhëmbit. Efikasitetin e propolisit, autorët e kanë bazuar në prezencën e flavanoideve dhe përbërësve aromatik [15, 16].

Ekstrakti bimor i testuar në hulumtimin tonë ishte ekstrakti i bimës *Thymus serpyllum*, bimë kjo që rritet në vendin tonë. Pas përdorimit si i vetëm, ky ekstrakt ka shfaqur zonë të inhibimit pas kontaktit me *E. faecalis*, zonë kjo e cila dukshëm është rritur në mostrat e kombinuara me CHX, ndërsa pas kombinimit me NaOCl nuk ka treguar fare zonë të inhibimit. Mirëpo, edhe pse ky ekstrakt bimor ka treguar efekt antibakteror ndaj *E. faecalis*, ky efekt i tij ka filluar të zbehet pas kontaktit me pluhurin e dentinës. Sa i përket krahasimit me rezultate të hulumtuesve tjerë, rezultate të ngjajshme me tonat, ka raportuar edhe autori Haapasalo me bp., pasi që është vërtetuar se pas mbjelljes së tretësirave me pluhur të dentinës, ka ardhur deri te zvogëlimi i zonave inhibuese pas kontaktit me *E. faecalis*, krahasuar me rastet e mbjelljes së tretësirave pa pluhur të dentinës në tri intervalet kohore [3]. Kjo mund të spjegohet me faktin se komponentet e dentinës janë përgjegjëse për efektin inhibitor ndaj medikamenteve. Medikamentet të cilat janë efikase në kushte in vitro, mund të mos jenë në kushte in vivo. Prandaj, pavarësisht të gjithave nevojiten hulumtime të mëtejshme in vitro dhe in vivo për të konfirmuar efektin antibakterial, duke përcaktuar kështu edhe dozën e nevojshme për t'i arritur këto efekte, por pa dhënë efekte anësore, si dhe toksike.

Përfundimi

Klorheksidina pas përzierjes me ekstraktet bimore të *Thymus serpyllum* ka rezultuar në efekt më të fuqishëm antibakteror ndaj *E. faecalis*. Pas përzierjes së hipoklorurit të natriumit me ekstraktin bimor të *Thymus serpyllum* ka humbur efekti antibakteror i tij.

Literatura

- [1] Zehnder M. Root canal irrigants. *Journal of Endodontics* 2006; vol. 32, no. 5, pp. 389–398.
- [2] Peters OA, Boessler C, Zehnder M. Effect of liquid and paste-type lubricants on torque values during simulated rotary root canal instrumentation. *IntEndod J* 2005; 38(4): 223.
- [3] Haapasalo M, YaShen, Wei Qian, Yuan Gao. Irrigation in endodontics. *Dent Clin North Am.* 2010 Apr;54(2):291-312.
- [4] Spangberg L, Engström B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973;36:856–71.
- [5] Carson KR, Goodell GG, McClanahan SB: Comparison of the antimicrobial activity of six irrigants on primary endodontic pathogens. *J Endod*, 2005; 31: 471–73 3.
- [6] Ashraf Fouad, Mahmoud Torabinejad, Richard E. Walton. *Endodoncia: Parimet dhe praktika, botimi i 4-të*, 2009.
- [7] Chandrabhatla SK, Rajasekhar V, Nalam SG, Pandranki J. Natural medicaments in endodontics. *J Oral Res Rev* 2012;4:25-31.
- [8] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*, 4th edition. St. Louis: Mosby; 2002: 35-47.
- [9] Siqueira JF Jr. Etiology of root canal treatment failure: why well-treated can fail. *Int Endod J* 2001; 34: 1-10.
- [10] Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL et al. Microorganisms from canals of root filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 2003; 36: 1-11.
- [11] Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, et al. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD and 5% NaOCl against *E. faecalis* biofilm formed on tooth substrate: An in vitro study. *Basic Research* 2010; 36:83-86.
- [12] Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H. Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms. *Int Endod J.* 1999;32:99–102.
- [13] Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna MEVB, Berber FB, Teixeira FJ, Souza-Filho F. In vitro antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J.* 2001;34(6):24-8.
- [14] Oncag O, Cogulu D, Uzel A, Sorkun K. Efficacy of propolis as an intracanal medicament against *E. Faecalis*. *General Dentistry* 2008; 54(5); 319-322.
- [15] Awawdeh L, Al-Beitawi M, Hammad M. Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: a laboratory study. *Aust. Endod. J* 2009; 35: 52-58.
- [16] Koru et al. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe* 2007; 13:140-145.