ประสิทธิผลของสารสกัดพรอพอลิสไทยในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสในห้องปฏิบัติการ

Effectiveness of Thai Propolis Extract in Eradicating *Enterococcus faecalis: In vitro* Study

นุดีกร นันทนาวุฒิ (Nudeekorn Nanthanavoot)* ดร.ปัทมา ชัยเลิศวณิชกุล (Dr.Pattama Chailertvanitkul)**
ดร.ศจี สัตยุตม์ (Dr.Sajee Sattayut)*** ดร.อาริยา รัตนทองคำ (Dr.Ariya Rattanathongkom)****
ดร.รัชฎา น้อยสมบัติ (Dr.Rajda Noisombut)****

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดพรอพอลิสไทยในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส โดยหาความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสที่น้อยที่สุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) ด้วยวิธี broth microdilution ของเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส และศึกษาเวลาในการฆ่าเชื้อด้วยวิธี time-kill โดยความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสที่นำมาทดสอบคือ ความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อ และความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อ เพื่อหาปริมาณเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เหลืออยู่ ณ เวลาต่างๆ ได้แก่ 0 1 2 3 4 5 10 15 20 15 20 30 45 และ 60 นาที ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดพรอพอลิสไทยจะนำไปใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันต่อไป พบว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดพรอพอลิสที่ยับยั้งและฆ่าเชื้อคือ 50 และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ และการทดสอบ Time-kill พบว่าสารสกัดพรอพอลิสความเข้มข้น 4 เท่าของความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อ (400 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) สามารถกำจัดเชื้อทั้งหมดได้ภายในเวลา 2 นาที

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of Thai propolis extract, against *Enterococcus faecalis*. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) were evaluated by broth microdilution method. Time-kill determinations were performed to examine the bactericidal kinetics, testing MBC, 2×MBC, 4×MBC of propolis, by counting viable bacteria after 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 minutes. Proper concentration of Thai propolis extract will be used for root canal irrigation. The MIC and MBC of propolis extract were 50 and 100 mg/ml, respectively. Time-kill determinations indicated that propolis extract at the concentration of 4×MBC had rapid killing effects and eliminated all bacteria within 2 minutes.

คำสำคัญ: สารสกัดพรอพอลิสไทย เอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส

Keywords: Thai propolis extract, *Enterococcus faecalis*

** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาทันตแพทยศาสตร์ วิชาเอกทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

*** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาทันตกรรมบูรณะ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

**** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาศัลยกรรมช่องปากและกระดูกขากรรไกร คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

***** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

****** อาจารย์ ภาควิชาทันตกรรมชุมชน คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทนำ

การรักษาคลองรากฟันนั้น ความสำเร็จในการรักษาพยาธิสภาพปลายรากฟันขึ้นอยู่กับการกำจัดเชื้อโรคภายในระบบคลองรากฟัน ดังนั้นการใช้เครื่องมือทำความสะอาดและการล้างคลองรากฟันถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการกำจัดเชื้อจุลชีพ (Haapasalo et al., 2005) ซึ่งมีการศึกษาโดยใช้ micro computed tomography ในการตรวจก่อนและหลังการขยายคลองรากฟัน พบว่ามีพื้นผิวภายในคลองรากฟันมากกว่าร้อยละ 35 ที่ไม่ได้รับการทำความสะอาด (Peters et al., 2001) ฉะนั้นการล้างคลองรากฟันจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นเนื่องจากน้ำยาล้างคลองรากฟันสามารถทำความสะอาดได้มากกว่าการขยายคลองรากฟันเพียงอย่างเดียว โดยเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส (*Enterococcus faecalis*) เป็นแบคทีเรียซึ่งพบในฟันที่ล้มเหลวจากการรักษาคลองรากฟันได้ถึงร้อยละ 29 (Sundqvist et al.,1998) ปัจจุบันน้ำยาล้างคลองรากฟันที่นิยมใช้มากที่สุดคือโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite, NaOCl) เนื่องจากเป็นสารต้านเชื้อโรคที่มีประสิทธิภาพ (Byström, Sundqvist, 1983) และมีคุณสมบัติในการละลายเนื้อเยื่อใน (Grossman, Meiman, 1982)แต่อย่างไรก็ตามโซเดียมไฮโปคลอไรต์ยังคงมีข้อด้อย คือเป็นพิษกับเนื้อเยื่อเมื่อน้ำยาเกินออกไปนอกปลายรากฟัน (Pashley et al., 1985) มีกลิ่นฉุนและทำให้เครื่องมือรักษาคลองรากฟันเกิดการสึกกร่อน (Neal et al., 1983) อีกทั้งยังขาดคุณสมบัติของน้ำยาล้างคลองรากที่ต้องการอีกหลายประการ เช่น ไม่ระคายเคืองต่อเนื้อเยื่อปลายราก การคงตัวในสารละลาย และการออกฤทธิ์กำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ยาวนาน เป็นต้น จึงยังคงมีความต้องการหาน้ำยาล้างคลองรากชนิดอื่นมาทดแทน

พรอพอลิส (propolis) หรือกาวผึ้งเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลชีพ และต้านการอักเสบ (Kujumgiev et al., 1999) ในทางทันตกรรมมีการนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันโดยการศึกษาของ Phankhongsap et al. (2014) ที่ศึกษาสารสกัดพรอพอลิสเป็นน้ำยาฆ่าเชื้อในคลองรากฟันต่อเชื้อสเตรปโตคอคคัส กอร์โดไน (*Streptococcus gordonii*) ผสมกับเชื้อเอ็นเตอโรคอกคัส ฟีคัลลิสโดยเปรียบเทียบสารสกัดพรอพอลิสผสมปาเปน (papain) สารสกัดจากเปลือกมังคุดผสมปาเปน และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 พบว่าน้ำยาฆ่าเชื้อทั้ง 3 ชนิดสามารถฆ่าเชื้อได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของพลอพอลิสกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์เมื่อนำมาใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน พบว่าพรอพอลิสมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอกคัส ฟีคัลลิส และแคนดิดา อัลบิแคนส์ (Candida albicans) เทียบเท่ากับโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Garg et al., 2014) แต่ก็พบการศึกษาในห้องปฏิบัติการและทางคลินิกที่มีผลขัดแย้งกันโดยพบว่าสารสกัดพรอพอลิสมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อในคลองรากฟันได้น้อยกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (hingare, Chaugule, 2011) และคลอเฮกซิดีน (Jahromi et al., 2013) จึงนำไปสู่การศึกษาประสิทธิผลของสารสกัดพรอพอลิสไทยในการฆ่าเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส เพื่อใช้เป็นอีกทางเลือกในการพัฒนาน้ำยาล้างคลองรากฟัน

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อหาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของสารสกัดพรอพอลิสไทยในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส เมื่อใช้เป็นน้ำยาล้างคลองรากฟัน

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการวิจัยจุลชีววิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิธีการวิจัย

1. เตรียมสารสกัดพรอพอลิสไทย

สารสกัดพรอพอลิสที่ใช้ในการศึกษาเป็นพรอพอลิสจากจังหวัดหนองคาย สกัดตามวิธีการศึกษาของ Prueksakorn และคณะ โดยนำก้อนพรอพอลิสที่ได้จากการขูดรังผึ้งมาฉีกและปั่นให้มีขนาดเล็ก เติมตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วนพรอพอลิส 1 กรัมต่อเอทานอล 5 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรอง (Whatman Inc., USA) ด้วยชุดกรวยกรองบุชเนอร์ เพื่อแยกกาก ไข เศษผงและขี้ผึ้งออก เก็บสารละลายใสที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองด้วยวิธีข้างต้นซ้ำจนได้สารละลายใส นำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ (Eyela, Japan) จะได้สารสกัดพรอพอลิสชนิดเหลว ที่มีความเข้มข้น 1,185 mg/ml และ %yield 3.42% (w/w) จากนั้นนำไปกรองด้วยตัวกรองแบคทีเรียเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.2 ไมครอน (Minisart® Germany) ก่อนนำสารสกัดหยาบพรอพอลิสที่ได้ไปทดสอบต่อไป (Prueksakorn, Puasiri et al., 2016)

2. การทดสอบความไวต่อการต้านเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของสารสกัดพรอพอลิสไทย

2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรียเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส (DMST4736) จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นชนิดวุ้นโดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นโดยวัดค่าออพติคอล เดนซิตี (optical density,OD) ให้ได้เท่ากับ 0.1 (ประมาณ 5×10^7 $CFUmL^{-1}$) ก่อนนำไปทดสอบ

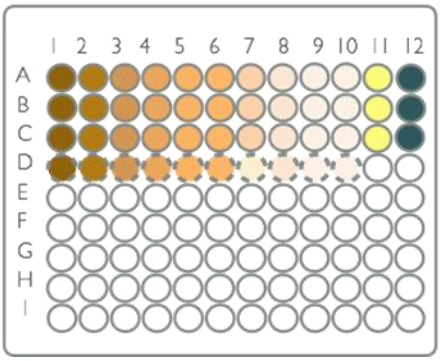
2.2 การทดสอบความไวต่อการต้านแบคทีเรียของสารสกัดพรอพอลิสไทย

ใช้วิธี broth microdilution โดยเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสไทยลงหลุมละ 2 เท่าด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลว และเติมเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ที่มีค่า OD เท่ากับ 0.1 ในหลุมควบคุมลบเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลว หลุมควบคุมบวกเติมอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ทำซ้ำ 3 แถวดังแสดงในภาพที่ 1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยหลุมที่มีความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสไทยต่ำที่สุดที่ไม่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และอ่านค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย โดยดูดสารแต่ละหลุมมาหยดบนอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หลุมที่ไม่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียถือเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์

3. การยับยั้งการเจริญของเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ต่อหน่วยเวลา (Time-Kill Assay)

ใส่สารสกัดพรอพอลิสไทยปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่เตรียมไว้ในขั้นตอน 2.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำเข้าตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 และตรวจการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เวลาเริ่มต้น 1 5 10 15 20 25 30 45 และ 60 นาที โดยดูดสาร 100 ไมโครลิตร มาหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยวิธีเจือจางเชื้อ (serial dilution) และในกลุ่มควบคุมจะใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลายน์แทนสารสกัดพรอพอลิสไทย นับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นในจานเพาะเชื้อ ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์

หลุม A1 - A10 บรรจุสารสกัดพรอพอลิสไทย ที่เจือจางความเข้มข้นลง 2 เท่า และ แบคทีเรีย
หลุม A11 บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลว (กลุ่มควบคุมลบ)
หลุม A12 บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลวและแบคทีเรีย (กลุ่มควบคุมบวก)
หลุม B และ C บรรจุเช่นเดียวกับแถว A
หลุม D1 ถึง D10 บรรจุสารสกัดพรอพอลิสไทย ที่เจือจางความเข้มข้นลง 2 เท่า และอาหารเลี้ยงเชื้อเบรนฮาร์ทอินฟิวชั่นเหลว



ภาพที่ 1 จานเลี้ยงเชื้อแบบ 96 หลุม ที่ใช้ทดสอบด้วยวิธี broth microdilution

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistic) โดยใช้สถิติค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD) สำหรับค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อแบคทีเรีย ($CFUmL^{-1}$) วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 19

ผลการวิจัย

1. **การหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสด้วยวิธีบรอท ไมโครไดลูชั่น**

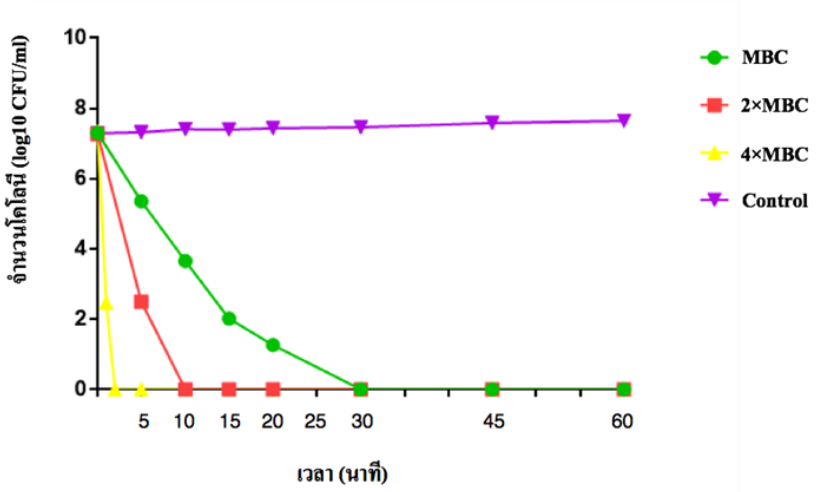
ความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสไทยที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมีค่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสไทยที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อมีค่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. **การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ต่อหน่วยเวลา (Time-Kill Assay)**

ผลของการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสต่อหน่วยเวลาพบว่า ความความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดพรอพอลิสไทยที่สามารถฆ่าเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ที่เวลา 30 นาที เมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 2 เท่าของความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ฆ่าเชื้อได้ที่เวลา 10 นาที และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 4 เท่าของความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ฆ่าเชื้อได้ที่เวลา 2 นาที ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 2

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีในแต่ละช่วงเวลา

ความเข้มข้นสารสกัดพรอพอลิสไทย	ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีในแต่ละช่วงเวลา (CFUml-1)									
	0 min	1 min	2 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	60 min
MBC	1.97×10^{7}	1.23×10^{7}	5.07×10^{6}	2.25×10^{6}	4.5×10^{6}	1.02×10^{2}	1.83×10^{1}	0	0	0
2MBC	1.85×10^{7}	1.55×10^{4}	6.11×10^{3}	3.13×10^{2}	0	0	0	0	0	0
4MBC	2.17×10^{7}	2.97×10^{2}	0	0	0	0	0	0	0	0
Control (PBS)	1.91×10^{7}	1.61×10^{7}	1.34×10^{7}	2.06×10^{7}	2.53×10^{7}	2.47×10^{7}	2.67×10^{7}	2.90×10^{7}	3.81×10^{7}	4.35×10^{7}



ภาพที่ 2 ผลของสารสกัดพรอพอลิสไทยที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิส ต่อหน่วยเวลา เมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุม (สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ซาลายน์)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ใช้เชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสเนื่องจากเป็นเชื้อที่พบได้บ่อยในการรักษาคลองรากฟันที่ล้มเหลว (Rôças et al., 2004) เชื้อชนิดนี้เป็นแบคทีเรียที่มีขนาดเล็กจึงสามารถเข้าไปตั้งถิ่นฐานในท่อเนื้อฟันได้ ทนต่อสภาวะที่ขาดแคลนอาหารและทนต่อแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่เป็นยาใส่ในคลองรากฟัน สร้างตัวอยู่ในรูปแบบของไบโอฟิล์ม จึงสามารถรอดชีวิตจากการทำความสะอาดคลองรากฟันและกลับมาติดเชื้อซ้ำ (Stuart et al., 2006) การศึกษานี้ใช้วิธี broth microdilution เนื่องจากเป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด ซึ่งผลที่ได้จะสามารถบอกปริมาณความเข้มข้นของสารฆ่าเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและฆ่าเชื้อได้ (Balouiri et al., 2016) พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตมีค่า 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นที่ฆ่าเชื้อมีค่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นนี้มากกว่าการศึกษาของ Ferraira et al. (2007) ที่ศึกษาในพรอพอลิสจากบราซิล พบว่าสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสที่ความเข้มข้น 6.425 และ 7.64 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร และมากกว่าการศึกษาของ Arslan et al. (2014) ศึกษาสารสกัดพรอพอลิสจากตุรกี พบว่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสได้ คือ 0.3 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกันในแต่ละการศึกษา อาจเป็นเพราะพรอพอลิสที่นำมาใช้มีส่วนประกอบและแหล่งที่ได้แตกต่างกัน โดยเปลี่ยนแปลงไปตาม

ลักษณะพันธุ์พืชในบริเวณนั้น (Seidel et al., 2008) นอกจากนี้วิธีการสกัดที่ต่างกันจะส่งผลให้ส่วนประกอบและการออกฤทธิ์มีความแตกต่างกัน โดยจากการศึกษาพบว่าการสกัดพรอพอลิสด้วยเอทานอลที่อุณหภูมิห้องจะให้สารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ (Mello, Hubinger, 2012) อีกทั้งปริมาณความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายก็มีผลต่อการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้ออีกด้วย (Park et al., 1998) ในการศึกษานี้เลือกใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญมากที่สุด แต่จากผลการศึกษานี้กลับพบว่าการฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อเอ็นเตอโรคอคคัส ฟีคัลลิสของสารสกัดพรอพอลิสไทยนั้นมีค่าน้อยกว่าการศึกษาอื่นๆ อาจเนื่องมาจากปริมาณสารสำคัญของสารสกัดพรอพอลิสไทยน้อยกว่าแหล่งอื่น ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Kumazawa et al. (2004) ที่พบว่าสารสกัดพรอพอลิสจากประเทศไทยมีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าสารสกัดพรอพอลิสจากประเทศอื่น และจากผลการทดสอบ Time-kill assay พบว่าสารสกัดพรอพอลิสไทยความเข้มข้น 4 เท่าของความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ฆ่าเชื้อซึ่งเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อทั้งหมดภายในเวลา 2 นาที ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดพรอพอลิสและเวลาที่ฆ่าเชื้อในความเข้มข้นต่างๆนี้ จะนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานการศึกษาสารสกัดพรอพอลิสไทยเพื่อเป็นน้ำยาล้างคลองรากฟันเปรียบเทียบกับโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในฟันมนุษย์ที่ถูกถอนในห้องปฏิบัติการและทางคลินิกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

de Andrade Ferreira FB, Torres SA, da Silva Rosa OP, Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC, et al. Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 2007; 104(5): 709-16.

Arslan H, Capar I, Saygili G, Gok T, Akcay M. Effect of photon-initiated photoacoustic streaming on removal of apically placed dentinal debris. International endodontic journal 2014; 47(11): 1072-7.

Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Ana 2016; 6(2): 71-9.

Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology 1983; 55(3): 307-12.

Garg P, Tyagi SP, Sinha DJ, Singh UP, Malik V, Maccune ER. Comparison of antimicrobial efficacy of propolis, Morinda citrifolia, Azadirachta indica, triphala, green tea polyphenols and 5.25% sodium hypochlorite against Enterococcus fecalis biofilm. Saudi Endodontic Journal 2014; 4(3): 122.

Grossman LI, Meiman BW. Solution of pulp tissue by chemical agents. Journal of endodontics 1982; 8: S10-S2.

Haapasalo M, Endal U, Zandi H, Coil JM. Eradication of endodontic infection by instrumentation and irrigation solutions. Endodontic topics 2005; 10(1): 77-102.

Jahromi MZ, Tahmourespour A, Ziaei S. The effect of propolis on bacterial population isolated from necrotizing single canal tooth with chronic apical periodontitis versus chlorhexidine gluconate. Journal of Medicinal Plants Research 2013; 7(38): 2873-8.

Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of ethnopharmacology 1999; 64(3): 235-40.

Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food chemistry 2004; 84(3): 329-39.

Mello BC, Hubinger MD. Antioxidant activity and polyphenol contents in Brazilian green propolis extracts prepared with the use of ethanol and water as solvents in different pH values. International Journal of Food Science & Technology 2012; 47(12): 2510-8.

Neal RG, Craig RG, Powers JM. Effect of sterilization and irrigants on the cutting ability of stainless steel files. Journal of endodontics 1983; 9(3): 93-6.

Park YK, Koo MH, Abreu JA, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. Current microbiology 1998; 36(1): 24-8.

Pashley E, Birdsong N, Bowman K, Pashley DH. Cytotoxic effects of NaOCl on vital tissue. Journal of endodontics 1985; 11(12): 525-8.

Peters O, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni–Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. International endodontic journal 2001; 34(3): 221-30.

Phankhongsap ACP, Juntavee A, Peerapattana J, Puasiri S. Effectiveness of root canal irrigants from mangosteen pericarp extracts with papain and propolis with papain on mixture of Streptococcus gordonii and Enterococcus faecalis. J Dent Assoc Thai 2014; 64(4): 234-42.

Prueksakorn A, Puasiri S, Ruangsri S, Makeudom A, Sastraruji T, Krisanaprakornkit S, et al. The preservative effect of Thai propolis extract on the viability of human periodontal ligament cells. Dental Traumatology. 2016.

Rôças IN, Siqueira JF, Santos KR. Association of Enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. Journal of endodontics 2004; 30(5): 315-20.

Seidel V, Peyfoon E, Watson DG, Fearnley J. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. Phytotherapy Research 2008; 22(9): 1256-63.

Shingare P, Chaugule V. Comparative evaluation of antimicrobial activity of miswak, propolis, sodium hypochlorite and saline as root canal irrigants by microbial culturing and quantification in chronically exposed primary teeth. Germs 2011; 1(1): 12.

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.

Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology 1998; 85(1): 86-93.