

بررسی اثر ضد میکروبی و ارنیش فلوراید بعنوان سیلر علیه انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوک موتانس: یک مطالعه آزمایشگاهی

زکیه دنیوی^۱، سمیه دهقان
بنادکوی^۲، سمیه یسلیانی فرد^۳

^۱استادیار بخش اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
^۲استادیار بخش اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
^۳دانشیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۵/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه مقایسه اثر ضد میکروبی و ارنیش فلوراید (فلورودوز) با دو سیلر اندودنتیک رایج علیه انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس بود.

مواد و روش‌ها: اثر آنتی میکروبیال علیه استرپتوکوک موتانس و انتروکوک فکالیس بر روی دو سیلر اندودنتیک شامل یک سیلر با بیس رزینی (AH plus) و یک سیلر با بیس MTA (Endoseal MTA) در مقایسه با ورنیش فلوراید (Fluoro Dose) با کاربرد متد آگار دیفیوژن مورد آزمایش قرار گرفت.

۴ چاهک با برداشت آگار در چهار نقطه با فاصله یکسان در پلیت ازم ایجاد شد و با مواد مورد آزمایش تازه مخلوط شده پر شد و دو باکتری مختلف استرپتوکوک موتانس و انتروکوک فکالیس به آن تلقیح شدند. هر ۳ پلیت برای مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷°C تحت شرایط هوازی انکوبه شدند. قطر نواحی مهاری در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت اندازه گیری شد. داده‌ها با نرم افزار SPSS 23 و تست کروسکال والیس آنالیز آماری شدند.

نتیجه گیری: همه مواد مورد آزمایش مهار رشد باکتریهای E.faecalis و S.mutans را نشان دادند.

کارایی اثر آنتی باکتریال علیه انتروکوک فکالیس به ترتیب AH plus > Endo seal MTA > Fluorodose

و کارایی اثر آنتی میکروبیال علیه استرپتوکوک موتانس شامل AH plus > Fluorodose > Endo seal MTA بود، گرچه تفاوت های معنی داری از نظر مقادیر قطر هاله عدم رشد بر علیه هر دو گونه انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس در مقایسه دو به دو مواد مشاهده نشد. با گذشت زمان کارایی سیلرها علیه هر دو گونه باکتریایی کاهش معنی داری نشان داد.

کلمات کلیدی: AH plus ، Endo seal MTA ، fluoride varnish، اثر ضد میکروبی، سیلر اندودنتیک، انتروکوک فکالیس، استرپتوکوک موتانس

نویسنده مسئول:

استادیار بخش اندودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

۰۲۶۳۳۵۳۱۶۱۴

Email: zakiyeh_donyavi@yahoo.com

مقدمه

هدف اصلی درمان ریشه پاکسازی، شکل دهی و پرکردن سیستم

کانال ریشه می باشد^۱. میکروارگانیسم‌ها و محصولات آن‌ها نقش مهمی را در ایجاد، پیشرفت و بقای بیماری های پالپ و پری اپیکال بازی می کنند^۲. اگر چه کاهش بار میکروبی به وسیله پاکسازی

و Sealapex بر روی انتروکک فکالیس پرداختند و دریافتند سیلاپکس بیشترین و فیلاپکس کمترین میزان اثر ضد میکروبی را داشتند.^{۱۸}

Morgental و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی اثر ضد میکروبی Endo CPM و MTA Fillapex، با رفرنس قرار دادن MTA سفید و Endofill جهت مقایسه، پرداختند و دریافتند که MTA Fillapex و Endofill فقط قبل از سفت شدن سیلر اثر ضد میکروبی دارند.^{۱۹}

محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۲ به مقایسه اثر آنتی باکتریال سیلرهای AH26, WMTA و سیلر CPM در مقابل استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوک موتانس در ۲۴ ساعت و یک هفته پرداختند. در هر دو زمان مورد بررسی، اثر AH26 بشکل معنی داری از سایر سیلرها بیشتر بود. سیلر CPM بر روی استرپتوکوک موتانس اثر بیشتری نسبت به WMTA داشت در حالی که این دو ماده نسبت به استافیلوکوک اورئوس تفاوت معنی داری نداشتند.^{۲۰}

محمدی و همکاران در سال ۲۰۰۷ اثر آنتی باکتریال سیلرهای AH26, Real seal و Gutta flow بر استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوک موتانس را در ۲۴ ساعت و یک هفته بررسی کردند. در هر دو زمان مورد بررسی اثر آنتی میکروبیال AH26 بیشتر از دوماه دیگر مورد آزمایش بود. RS و Gutta flow از لحاظ اثربخشی بر روی استافیلوکوک اورئوس اختلاف معنی داری نداشتند در حالیکه RS اثربخشی بیشتری بر استرپتوکوک موتانس داشت.^{۲۱}

تبریزی زاده و همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی اثر سیلرهای AH26 و Dorfill و Pure ZOE علیه استرپتوکوک اورئوس و استرپتوکوک موتانس پرداختند و دریافتند در ۲۴ ساعت بیشترین اثر ضد میکروبی مربوط به AH26 بود و در یک هفته سیلر با بیس ZOE (Dorfill) کمترین فعالیت ضد میکروبی را نسبت به دو سیلر دیگر داشت.^{۲۲}

وارنیش فلوراید به عنوان یک ترکیب پیشگیری از پوسیدگی دندانی،^{۲۳} ماده پوشش دهنده برای دندان هایی که از دهان بیرون افتاده^{۲۴} و با تاخیر دوباره در جای خود قرار گرفته اند و درمان

بیومکانیکی، شست و شو و داروهای داخل کانال به دست می آید. با این حال مطالعات زیادی حضور باکتری ها را در توبول های عاجی و سمان بعد از درمان نشان داده اند^{۲۵}. به همین علت انتخاب یک سیلر با فعالیت آنتی باکتریال به ویژه در حضور پالپ نکروتیک و پریدنتیت اپیکال ممکن است به کاهش یا پیشگیری از رشد میکروارگانیسم های باقی مانده کمک کند.^۵

اغلب سیلرهای اندودانتیک حاوی اجزای ضد میکروبی هستند که برای تأثیرگذاری، لازم است از ماتریکس سیلر آزاد شوند. ترکیبات اصلی ضد میکروبی سیلرهای مختلف شامل اوژنول و اکسید روی در سیلر ZOE، نقره در سیلر Kerr، کلسیم هیدروکساید در سیلر CRCS، اجزای اپوکسی رزین در AH plus، فرمالدهید و اجزای اپوکسی رزین در سیلر AH26 می باشد.^۶ اثر ضد میکروبی سیلرها بیشتر به مخلوط تازه آنها محدود بوده، با سفت شدن سیلر به میزان زیادی کاهش می یابد، بنابراین اثرات ضد میکروبی می توانند موقت و کوتاه مدت باشند. با توجه به این مسأله در اغلب مطالعات، سیلرهای مورد بررسی بصورت تازه مخلوط شده و پس از گذشت چند روز مقایسه می شوند.

در دو دهه اخیر مطالعات فراوانی در زمینه اثرات ضد میکروبی سیلرهای مختلف بر میکروارگانیسم ها از جمله Shalhav و همکاران در سال ۱۹۹۷،^۷ Mickel و همکاران در سال ۲۰۰۳،^۸ kreth J و همکاران در سال ۲۰۰۸،^۹ Cavalcanti و همکاران در سال ۲۰۱۰،^{۱۰} Morgental و همکاران در سال ۲۰۱۱،^{۱۱} Anumula Lavanya و همکاران در سال ۲۰۱۲،^{۱۲} Shakya و همکاران در سال ۲۰۱۶،^{۱۳} Poggio و همکاران در سال ۲۰۱۷،^{۱۴} هاشمیان و همکاران در سال ۲۰۱۷،^{۱۵} حقگو و همکاران در سال ۲۰۱۷،^{۱۶} Arora و همکاران در سال ۲۰۱۸^{۱۷} صورت گرفته است.

این مطالعات با توجه به اختلاف مواد و روشهای بکار رفته از قبیل نوع محیط کشت، میکروبیهای مورد استفاده و نوع و زمان کاربرد مواد مورد بررسی، نتایج مختلفی را نشان داده اند.

Swati Dalmia و همکاران در سال ۲۰۱۸ به بررسی اثر ضد میکروبی چهارنوع سیلر MTA-fillapex و AH-plus و Tubliseal

افزایش حساسیت عاجی مورد استفاده قرار می‌گیرد.^{۲۵، ۲۶، ۲۷} وارنیش فلوراید اخیراً^{۲۸} به عنوان ماده پرکننده کانال ریشه دندان های شیری در ترکیب با زینک اکساید اوژنول و کلسیم هیدروکساید مورد استفاده قرار گرفته است.^{۲۸} از مزایای کاربرد آن می‌توان به جلوگیری از رشد انتروکوک فکالیس حتی بهتر از کلسیم هیدروکساید و یا ترکیب کلسیم هیدروکساید و وارنیش فلوراید میباشد و بعنوان داروی داخل کانال بین جلسات توصیه شده است.^{۲۹} نتایج مطالعات نشان داده شده است که وارنیش فلوراید قابلیت سیل بهتر^{۳۰} و سمیت سلولی کمتری^{۳۱} از AH26 دارد. بنابراین تصور میشود که وارنیش سدیم فلوراید ماده مناسبی به عنوان سیلر کانال ریشه باشد. برای اینکه این ماده به عنوان سیلر تایید شود ضروری است از نظر خواص مختلفی بررسی شود و چون بر روی سمیت سلولی^{۳۱}، سیل، میزان بدرنگی (discoloration) و قابلیت انجام درمان مجدد^{۳۲} آن مطالعاتی انجام شده است در این مطالعه اثر ضد میکروبی آن را در مقایسه با سیلرهای رزینی و MTA-Base بررسی خواهیم کرد.

در این مطالعه به دلایل انتخاب هریک از مواد مورد آزمایش، دلیل انتخاب باکتری مورد استفاده در تحقیق و مدت بکاررفته در تعیین اثر ضد میکروبی مواد اشاره میشود.

گو تا پرکا به همراه سیلرهای گوناگونی برای پرکردن کانال ریشه استفاده می‌شوند. AH plus با بیس اپوکسی رزین یکی از رایج ترین سیلرهای مورد استفاده در دندان پزشکی است. این سیلر قابلیت بالایی برای سیل کانال ریشه دارد.^{۳۸} Mario Roberto معتقد است سیلرهای اندومتازون و AH26 فرمالدهید آزاد می‌کنند در حالی که سیلرهای AHplus و Top seal کمترین میزان فرمالدهید آزاد می‌کنند.^{۳۹، ۴۰} این سیلرها در ترکیب شیمیایی خود حاوی فرمالدهید نیستند، اما واکنش شیمیایی بین اجزای سازنده آنها در حین سخت شدن، منجر به تولید و آزادسازی فرمالدهید می‌شود که یک ماده موثر برای محدود کردن باکتری است.^{۴۱} کخ معتقد است که میزان فرمالدهید آزاد شده و فعالیت ضد میکروبی سیلر به نسبت اجزای سازنده سیلر، زمان سپری شده بعد از ترکیب کردن سیلر و نسبت

سطح به وزن سیلر بستگی دارد.^{۴۲}

MTA ماده ای است که ابتدا برای درمان پرفوراسیون ریشه و ماده پرکننده انتهای کانال معرفی شد.^{۴۳، ۴۴} اخیراً این ماده برای درمان محافظه کارانه پالپ، تحلیل ریشه و اپکسیفیکاسیون نیز به کار برده می‌شود.^{۳۰-۲۸} MTA به طور گسترده ای به خاطر زیست سازگاری و قابلیت سیل کنندگی عالی آن پذیرفته شده است.^{۳۱، ۳۲} با وجود ویژگی های مطلوب، MTA ویژگی های فیزیکی نامناسبی دارد که از کاربرد آن به عنوان ماده پرکننده کانال ممانعت می‌کند.^{۳۳} Endo Seal MTA یک سیلر جدید است که اخیراً به بازار ارائه شده است.^{۴۴} فلسفه تولید این سیلر حضور MTA در ساختار شیمیایی آن می‌باشد.^{۳۵} یکی از ویژگی های MTA که ادعا می‌شود در Endo Seal MTA وجود دارد، PH قلیایی و فعالیت ضد میکروبی متعاقب آن است.^{۳۶}

وارنیش فلوراید به عنوان ترکیب پیشگیری کننده از پوسیدگی دندان^{۳۷}، ماده پوشش دهنده برای دندان هایی که از دهان بیرون افتاده و با تاخیر در جای خود قرار گرفته اند^{۳۸}، درمان افزایش حساسیت عاجی^{۴۱-۳۹} و به عنوان یک ماده پرکننده کانال ریشه در ترکیب با ZOE و CH در دندان های شیری توصیه شده است.^{۴۲} در یک مطالعه آزمایشگاهی، Mickel et al و همکاران نشان دادند که سدیم فلوراید رشد انتروکوک فکالیس را بهتر از کلسیم هیدروکساید مهار می‌کند. آنها پیشنهاد کردند که استانوس فلوراید ممکن است یک ماده خوب برای پانسمان دارویی کانال ریشه بین جلسات درمانی باشد.^{۴۳}

معمولاً^{۴۴} در مطالعات از انتروکوک فکالیس برای ارزیابی اثر ضد میکروبی مواد اندودانتیک استفاده می‌شود. به نظر می‌رسد که این باکتری نقش بارزی را در اتیولوژی ضایعات پری رادیکولار ایفا می‌کند.^{۴۴} انتروکوک فکالیس فاکتورهای ویروانس گوناگونی دارد که منجر به زنده ماندن آن در برابر درمان های معمول کانال ریشه میشود.^{۴۵} به علاوه این باکتری گرم مثبت بی هوازی اختیاری، قادر است به داخل توبول های عاجی نفوذ کرده و با رشته های کلاژن باند شود.^{۴۶} اگرچه میکروارگانیزم های هوازی و facultative

داده شده بودند استفاده شد. درون این پلیتها چاهک هایی ایجاد شده و این چاهکها با استفاده از ماده مورد آزمایش پر شدند. نتایج کشت نیز به صورت اثرات آنتی باکتریال این مواد روی پلیتها تعیین و با یکدیگر مقایسه گردید. برای این منظور قطر هاله عدم رشد (inhibition zone) در مواد مختلف با یکدیگر مقایسه شده و ماده ای که (inhibition zone) بزرگتری داشت بعنوان ماده با فعالیت آنتی باکتریال بیشتر لحاظ گردید. این روش تحقیقاتی در بسیاری از مطالعات به کار گرفته شده است.^{۱۶،۱۵}

در ابتدای آزمایشات سوش استاندارد استریپتوکوک موتانس و انتروکوک فکالیس از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی البرز تهیه شد. محیط های مولر هیتون آگار در ابتدای آزمایشات تهیه شده از هر باکتری در سرم فیزیولوژی با کدورت استاندارد نیم مک فارلند (معادل $1/5 \times 10^8$) درست کرده و روی محیط های مولر هیتون آگار کشت داده شده و ۴ چاهک با استفاده از پانچر مسی با قطری معادل ۶ میلیمتر روی ژلوز ایجاد گردید. سپس $0/2$ گرم از مواد (شکل ۱) که طبق دستور شرکت آماده شدند در چاهکها ریخته شده و بعد از آن پلیتها در انکوباتور با دمای 35 درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شده و قطر هاله عدم رشد باکتری با استفاده از خط کش با دقت اندازه گیری دهم میلیمتر در 24 ، 48 و 72 ساعت اندازه گیری گردید. این آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین دادهها برای آنالیز آماری بکار برده شد. (شکل ۲ و ۳)



معمولاً سهم کمی در حد عفونت های اندو اولیه دارند آنها اغلب در کیسه های با فلیر آپ و شکست درمان یافت میشوند.^{۴۷} انتروکوک فکالیس مقاومترین باکتری به دارو است که توانایی بقا در کانال تا بیش از ۱۲ ماه در شرایط کمبود مواد مغذی را دارد.^{۴۸} بنابراین در این مطالعه هم از انتروکوک فکالیس که شایعترین میکروارگانیسم مورد استفاده در مطالعات مرتبط با عفونت های پایدار اندودنتیک میباشد استفاده شده است.

در صورتی که نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده موثرتر بودن وارنیش سدیم فلوراید (Fluoro Dose) علیه انتروکوک فکالیس در مقایسه با دو سیلر دیگر باشد، می توان از آن به عنوان جایگزین دو سیلر دیگر در درمان های اندودانتیک استفاده کرده و از مزایای آن در برابر معایب سایر مواد با منافع خاص درمانی استفاده کرد.

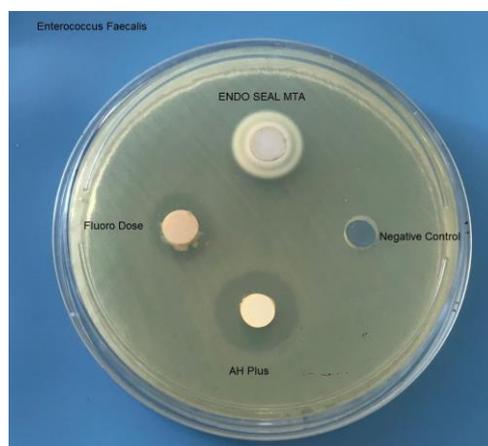
مواد و روشها

تحقیق حاضر با همکاری بخش میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی البرز انجام شد. در این تحقیق آزمایشگاهی، با توجه به هدف مقایسه اثرات آنتی باکتریال مواد (AH plus, Endo Seal (MTA, FluoroDose) با یکدیگر و نیز لزوم انجام مقایسه های جداگانه مواد بصورت تک تک بر روی هریک از ارگانیسمها اثر داده شدند از طرف دیگر با توجه به لزوم بررسی اثر مواد روی میکروارگانیسمها باکتریها هم بصورت جداگانه بررسی شدند.

در این مطالعه برای بررسی فعالیت ضد میکروبی مواد از روش (Agar diffusion test) ADT استفاده شده که شایعترین روش بکار رفته جهت ارزیابی کارایی آنتی میکروبیال سیلرهاست^{۴۹-۵۱} روشی استاندارد برای بررسی *in vitro* خاصیت آنتی باکتریال مواد می باشد. این روش بطور وسیعی برای ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال مواد در *in vitro* بکار برده شده است و از طریق آن می توان یک مقایسه مستقیم و دقیق بین اثر آنتی باکتریال مواد مختلف انجام داد.^{۵۰-۵۱}

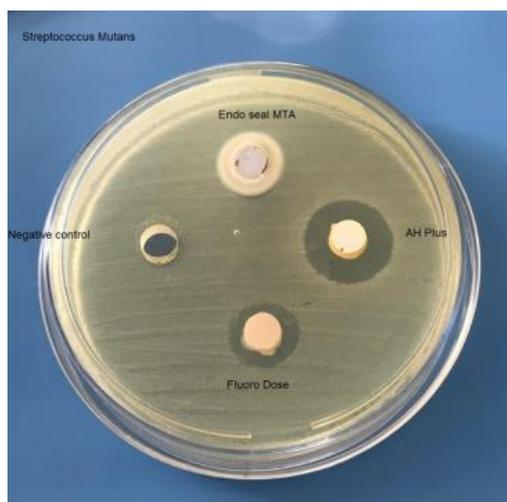
در این روش از پلیتهایی که باکتری های مورد نظر در آن کشت

شکل ۱: مواد بکار رفته در مطالعه



شکل ۲: هاله عدم رشد باکتری انتروکوک فکالیس در مجاورت

مواد مورد آزمایش



شکل ۳: هاله عدم رشد باکتری استرپتوکوک موتانس در مجاورت

مواد مورد آزمایش

یافته‌ها

مقایسه‌ها و آنالیزهای آماری تحقیق با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد. برای این کار میانگین و انحراف معیار قطر هاله عدم رشد در مواد مختلف و در هر یک از میکروارگانیسم‌ها تعیین و گزارش شد. با توجه اینکه توزیع متغیر قطر هاله عدم رشد طبق نتایج آزمون kolmogorov-smirnov از وضعیت نرمال تبعیت نمیکرد)

($p > 0.05$) برای مقایسه مقادیر قطر قطر هاله عدم رشد در گروه های مواد و میکروارگانیسم‌ها از آزمون kruskal-wallis استفاده شد. میزان خطای نوع اول (α) در تحقیق حاضر برابر ۰/۰۵ بوده است.

طبق نتایج تحقیق حاضر میانگین قطر هاله عدم رشد (Inhibition zone) باکتری انتروکوک فکالیس در مجاورت مواد مورد آزمایش Endo seal MTA, fluoro Dose و AH Plus در ۲۴ ساعت به ترتیب برابر با ۱۲/۰۳، ۱۴/۱۶ و ۱۷/۱۳ میلی‌متر، در ۴۸ ساعت برابر با ۸/۹۶، ۱۰/۰۶ و ۱۴ میلی‌متر و در ۷۲ ساعت برابر با ۴/۷۳، ۶/۷۳ و ۸/۰۳ میلی‌متر بوده است.

کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به Fluoro Dose و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به AH Plus می‌باشد. طبق نتایج آزمون kruskal-wallis تفاوت معنی داری از نظر میانگین قطر هاله عدم رشد روی باکتری انتروکوک فکالیس در زمانهای مختلف ۲۴ ساعت ($p = 0.27$) و ۴۸ و ۷۲ ساعت ($p = 0.39$) مشاهده شد.

براساس نتایج تحقیق حاضر میانگین قطر هاله عدم رشد (Inhibition zone) باکتری استرپتوکوک موتانس در مجاورت مواد مورد آزمایش Endo seal MTA, fluoro Dose و AH Plus در ۲۴ ساعت به ترتیب برابر با ۱۲/۱۰، ۹/۹۶، ۱۷/۰۳ میلی‌متر در ۴۸ ساعت برابر با ۷/۴۶، ۵/۸۳ و ۱۳/۷۳ میلی‌متر و در ۷۲ ساعت ۲/۶۶، ۹/۹۳ و ۲/۶۶ بوده است.

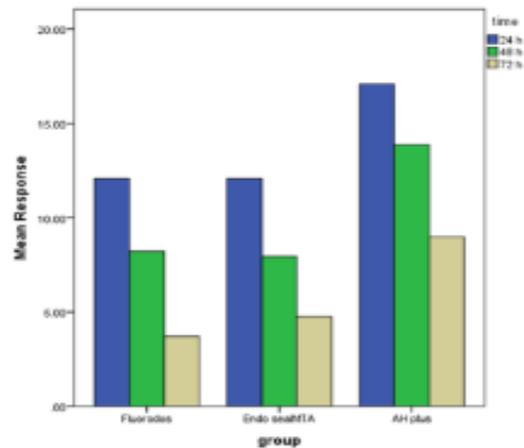
کمترین قطر هاله عدم رشد مربوط به Endo Seal MTA و Fluoro Dose بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به AH Plus میباشد. طبق نتایج آزمون kruskal-wallis تفاوت معنی داری از نظر میانگین قطر هاله عدم رشد روی باکتری استرپتوکوک موتانس در ۲۴ ساعت ($p = 0.027$) و ۴۸ ($p = 0.27$) مشاهده شد.

در آزمون Mann-whitney با تعدیل بونفرونی که در مقایسه دو به دو مواد با یکدیگر مورد استفاده قرار گرفت نتایج این آزمون نشان داد تفاوت‌های معنی داری از نظر مقادیر قطر هاله عدم رشد بر علیه هر دو گونه انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس در مقایسه دو به دو مواد مشاهده نمی شود.

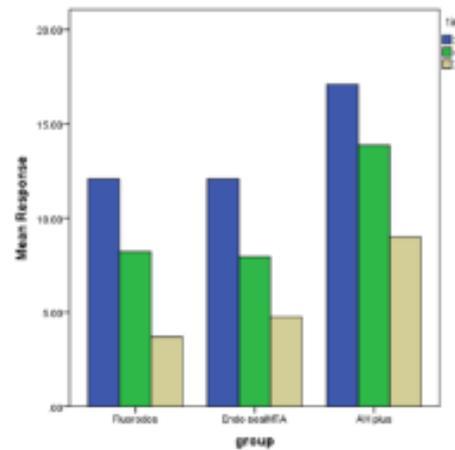
علاوه بر این چون مواد ضد میکروبی باید از طریق محیط آگار مایع انتشار یابند، تنها مواد محلول در آب امکان بررسی دارند. بنابر این نتایج حاصل از این روش تنها به اثر سمی مواد بر روی یک میکروارگانیسم خاص وابسته نبوده بلکه به میزان زیادی تحت تاثیر قابلیت انتشار آن ماده در محیط نیز قرار می گیرد، گرچه در صورتی که این متغیرها به خوبی کنترل شوند نتایج معتبر و تکرارپذیری از این آزمون قابل انتظار خواهد بود. یکی دیگر از مشکلات این روش عدم تشخیص بین خاصیت باکتريوسیدی و باکتريواستاتیک مواد می باشد.^{۵۳}

یکی از مسائل مهم در مطالعات مربوط به فعالیت ضد میکروبی مواد، نوع میکروب های مورد بررسی می باشند. همانطور که مطالعات قبلی نشان داده اند میکروب های غالب در ضایعات اندودنتیک در دندان های درمان نشده میکروب های بیهوازی اجباری هستند. میکرو ارگانیسم های هوازی هرچند که اجزای فرعی در عفونت ها می باشند اما می توانند در حین معالجه ریشه وارد کانال شده، حتی پس از پرکردن ریشه نیز به حیات خود ادامه دهند و از این طریق با استفاده از شرایط جدید محیط کانال که در آن اجزای میکروبی ایجاد کننده عفونت اولیه حذف شده اند تکثیر شده، عفونت ثانویه ایجاد کنند. علاوه بر این میکروارگانیسم های هوازی با ایجاد تغییر در مواد غذایی کانال و همچنین تغییر فشار اکسیژن کانال با میکروب های بیهوازی اجباری تداخل داشته و وجود آنها برای حیات میکروب های دیگر ضروری است.^{۵۴}

میکروارگانیسمی نظیر انتروکوک فکالیس از عوامل مهم شکست درمان کانال ریشه می باشد که به دلیل مقاومت بالا در برابر عوامل ضد میکروبی در اکثر تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته است.^{۵۴} احتمال حضور این میکروارگانیسم در شکست های درمان اندو ۹ برابر بیشتر از سایر گونه ها بوده و در مواردی که PH داروی داخل کانال ریشه هیدروکسید کلسیم کم است مقاومت آن در برابر دارو به صورت آشکاری افزایش می یابد. همچنین گونه های مختلف انتروکوک فکالیس می توانند به مدت طولانی درون توبولهای عاجی باقی بمانند. انتروکوک فکالیس همزمان می تواند به عنوان



شکل ۴: قطر هاله عدم رشد باکتری بر روی باکتری انتروکوک فکالیس در زمان های مختلف



شکل ۵: قطر هاله عدم رشد باکتری بر روی باکتری استرپتوکوک موتانس در زمان های مختلف

بحث

در تحقیق حاضر از روش آگار دیفیوژن برای بررسی اثرات ضد میکروبی مواد استفاده شد که شایعترین روش تحقیقاتی برای بررسی فعالیت ضد میکروبی مواد در شرایط آزمایشگاهی می باشد. البته باید توجه داشت که نتایج بدست آمده از این روش تا حد زیادی به عواملی از قبیل اندازه، شکل، وزن مولکولی، قابلیت انتشار اجزای ضد میکروبی، حجم و غلظت ماده مورد استفاده، زمان انکوباسیون و میزان تماس آن با محیط کشت وابسته می باشد.^{۵۴}

میکروارگانسیم واحد بدون اینکه تحت حمایت گونه های دیگر قرار بگیرد در داخل کانال ریشه زنده بماند. این میکروارگانسیم به صورت زنده در داخل توبولهای عاجی قرار گرفته و ضمن تهاجم به توبولها در حضور سرم انسانی به کلاژن متصل می شود. علاوه بر این برداشت لایه اسمیر نیز می تواند منجر به نفوذ انتروکوک فکالیس در اعماق توبول های عاجی گردد. با وجود اینکه در درمان های اندودنتیکس با استفاده از روش های مکانیکی و شیمیایی تعداد میکروارگانسیمها تا حد امکان کاهش می شود، به دلیل آناتومی پیچیده ناحیه ممکن است تعدادی از آنها در داخل کانال باقی بماند به همین دلیل در راستای پاکسازی شیمیایی کاربرد داروهای مختلف در داخل کانال بین جلسات درمانی و استفاده از سیلرهای با خاصیت ضد میکروبی پیشنهاد شده است.^{۵۵}

طبق نتایج تحقیق حاضر بیشترین خصوصیات ضد میکروبی علیه هر دو گونه انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس در AH Plus دیده شد و کمترین آن علیه باکتری استرپتوکوک موتانس و در مواد Endo seal MTA و fluoro dose به ثبت رسیده است. بنابراین به نظر میرسد AH Plus دارای خصوصیات ضد میکروبی بیشتری از سایر مواد مورد بررسی بوده باشد دلایلی همچون وجود مقدار بیشتری از مواد ضد میکروبی فعال در آن مثلاً فرمالدهید یا قابلیت حلالیت و انتشار بیشتر مواد ضد میکروبی تا حدودی افزایش خصوصیات ضد باکتری AH Plus نسبت به Endo seal MTA و Fuoro Dose را در شرایط آزمایشگاهی توجیه می نماید.

قابلیت انتشار ماده ضد میکروبی از لحاظ کلینیکی دارای اهمیت زیادی است بدین ترتیب که یک ماده با انتشار زیاد میتواند در حذف باکتری های موجود در توبولهای عاجی مفید باشد و از طرف دیگری یک ماده با انتشار کم اما دوام طولانی با حذف باکتری هایی که بعداً به داخل کانال نفوذ می کنند موثر خواهد بود.

اغلب سیلرهای اندودنتیک حاوی اجزای ضد میکروبی هستند که برای تاثیرگذاری لازم است از ماتریکس سیلر آزاد شوند. اثر ضد میکروبی سیلرها بیشتر به حالت تازه مخلوط شده محدود بوده و با

سفت شدن سیلر به میزان زیادی کاهش می یابد. با توجه به این مساله در اغلب مطالعات سیلرهای مورد بررسی به صورت تازه مخلوط شده و پس از گذشت چند روز مقایسه می شوند.^{۵۶} در این مطالعه در سه زمان مختلف بررسی اثر ضد میکروبی مواد مختلف انجام شد.

در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری از نظر میانگین قطر هاله عدم رشد روی باکتری انتروکوک فکالیس در زمان های مختلف ۲۴ ساعت و ۴۸ و ۷۲ ساعت مشاهده شد.

علاوه تفاوت معنی داری از نظر میانگین قطر هاله عدم رشد روی باکتری استرپتوکوک موتانس در ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده شد. تغییرات میزان فعالیت ضد میکروبی مواد با مقدار و نحوه آزادسازی اجزای ضد میکروبی آنها با گذشت زمان در ارتباط می باشد. در مطالعه حاضر فعالیت ضد میکروبی AH plus بعد از ۷۲ ساعت به میزان زیاد کاهش یافته بود که علت آن میتواند به کاهش آزادسازی فرمالدهید که جزء سایتوتوکسیک قابل حل اصلی AH plus است، پس از سفت شدن ماده باشد. در مورد اکثر سیلرها نیز طبیعتاً انتظار بر این است که با گذشت زمان و سفت شدن ماده خاصیت ضد میکروبی آنها کاهش یابد.

هر سه ماده مورد بررسی، فعالیت ضد میکروبی مناسب و نسبتاً یکسانی بر علیه گونه های انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس نشان دادند طوری که تفاوت معنی داری بین آنها از نظر قطر هاله عدم رشد میکروبی در برابر این سوشها دیده نشد.

نتایج این آزمون نشان داد تفاوت های معنی داری از نظر مقادیر قطر هاله عدم رشد بر علیه هر دو گونه انتروکوک فکالیس و استرپتوکوک موتانس در مقایسه دو به دو مواد مشاهده نمی شود که میتواند پیشنهاد کننده این مساله باشد که در صورت تایید سایر خواص مطلوب مورد نیاز سیلرها بتوان از وارنیش فلوراید بعنوان جایگزینی برای سیلرهای فعلی که به مراتب گرانتر هستند استفاده کرد.

می‌توان از وارنیش فلوراید در صورت تایید سایر خصوصیات مورد نیاز در شرایط بالینی به جای سیلرهای استاندارد و شایع استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

عملکرد ضدباکتری هر سه ماده مورد بررسی بر علیه گونه های انتروکوک فکاليس و استرپتوکوک موتانس یکسان بوده لذا

References

- Mohammadi Z. Chemomechanical strategies to manage endodontic infections. *Dentistry today* 2010; 29(2):91-2, 4, 6 passim; quiz 9
- Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory Rats. *Oral surgery, oral medicine, and oral pathology* 1965;20:340-9.
- Nokhostin M, Ghanbariha M. Knowledge and attitudes of mothers about oral health of preschool children in Kermanshah. *Journal of Health System Research* 2012;10:104-11.
- Fallahnejad Qajar M, Malek Afzali B, Inanloo SM. Comparison of Oral Health (OHS) in urban and rural school students Shahryar city. *Iran J Ped dent* 2008;17(9):105-12.
- Esfahani M, Mortazavi MS. Evaluation of DMFT and BMI in patients referred to Qazvin dental university, in second half of 1395[Dissertation]: Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran; 2017:810.
- Cohen S, Burns RC: *Pathways of the pulp*. 8th Ed St.Louis: The C.V Mosby Co. 2002;Chap14:550
- Shalhav M, Fuss Z, Weiss EI. In vitro antibacterial activity of a glass ionomer endodontic sealer. *J Endod* 1997 Oct; 23(10):616-9.
- Mickel AK, Nguyen TH, Chogle S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003 Apr;29(4):257-8.
- Kreth J, Kim D, Nguyen M, Hsiao G, Mito R, Kang MK, Chugal N, Shi W. The Antimicrobial Effect of Silver Ion Impregnation into Endodontic Sealer against *Streptococcus mutans*. *Open Dent J* 2008;2:18-23.
- Cavalcanti AL, Limeira FI, Sales EA, Oliveira AA, Lima DM, Castro RD. In vitro antimicrobial activity of root canal sealers and calcium hydroxide paste. *Contemp Clin Dent* 2010 Jul;1(3):164-7.
- Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PMP. Antibacterial activity of two MTA-based sealers root canal sealers. *Int Endod J* 2011; 44:1128-33.
- Anumula L, Kuma S. An Assessment of Antibacterial Activity of Four Endodontic Sealers on *Enterococcus faecalis* by a Direct Contact Test: An in Vitro Study. *ISRN Dentistry Volume 2012, Article ID 989781, 5 pages*
- Shakya VK, Gupta P. An In vitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy and Flow Characteristics for AHPlus, MTA Fillapex, CRCS and Gutta Flow Root Canal Sealers. *J Clin Diagn Res* 2016 Aug;10(8):ZC104-8.
- Poggio C, Trovati F, Ceci M, Colombo M, Pietrocola G. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *Clin Exp Dent* 2017 Jun 1;9(6):e743-e748.
- Hashemini M, Razavian H, Mosleh H, Shakerian B. In vitro evaluation of the antibacterial activity of five sealers used in root canal therapy. *Dent Res J (Isfahan)* 2017 Jan-Feb;14(1):62-67.
- Haghgoo R, Ahmadvand M, Nyakan M, Jafari M. Antimicrobial Efficacy of Mixtures of Nanosilver and Zinc Oxide Eugenol against *Enterococcus faecalis*. *J Contemp Dent Pract*. 2017 Mar 1;18(3):177-181.
- Arora S, Mir S, Gautam A, Batra R, Soni S, Lata K. Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Comparative Study. *J Contemp Dent Pract*. 2018 Jun 1;19(6):680-683.
- Swati Dalmia, Abhidnya Gaikwad, Roshan Samuel, Gayatri Aher, Meenal Gulve, and Swapnil Kolhe. Antimicrobial Efficacy of Different Endodontic Sealers against *Enterococcus faecalis*: An In vitro Study. *J Int Soc Prev Community Dent* 2018 Mar-Apr;8(2):104-109.
- Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PMP. Antibacterial activity of two MTA-based sealers root canal sealers. *Int Endod J* 2011; 44:1128-33.
- Mohammadi Z(1), Giardino L, Palazzi F, Shalavi S. Antibacterial activity of a new mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *Int Dent J* 2012 Apr;62(2):70-3
- Mohammadi Z, Yazdizadeh M. Evaluation of the antibacterial activity of new root canal sealers. *J Clin Dent*. 2007;18(3):70-2.
- Tabrizizadeh M, Mohammadi Z. In vitro evaluation of antibacterial activities of root canal sealers. *J Clin Dent* 2005;16(4):114-6.
- Fontana M, Gonzalez-Cabezas C, Haider A, Stookey GK. Inhibition of secondary caries lesion progression using fluoride varnish. *Caries Res*. 2002;36(2):129-35.
- Poi WR, Carvalho RM, Panzarini SR, Sonoda CK,

- Manfrin TM, Rodrigues Tda S. Influence of enamel matrix derivative (Emdogain) and sodium fluoride on the healing process in delayed tooth replantation: histologic and histometric analysis in rats. *Dent Traumatol*. 2007;23(1):35-41.
25. Schiff T, He T, Sagel L, Baker R. Efficacy and safety of a novel stabilized stannous fluoride and sodium hexametaphosphate dentifrice for dentinal hypersensitivity. *J Contemp Dent Pract*. 2006;7(2):1-8.
26. Ritter AV, de LDW, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ, Jr. Treating cervical dentin hypersensitivity with fluoride varnish: a randomized clinical study. *J Am Dent Assoc* 2006;137(7):1013-20; quiz 29.
27. Merika K, HefitArthur F, Preshaw PM. Comparison of two topical treatments for dentine sensitivity. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 2006;14(1):38-41.
28. Chawla HS, Setia S, Gupta N, Gauba K, Goyal A. Evaluation of a mixture of zinc oxide, calcium hydroxide, and sodium fluoride as a new root canal filling material. *J Indian Soc Pedod Prevent Dent* June 2008; 53-8.
29. Mickel AK, Sharma P, Chogle S. Effectiveness of stannous fluoride and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003;29(4):259-60
30. Parirokh M, Talebizad M, Forghani FR, Haghdoost AA, Asgary S, Eghbal MJ, Goddousi J. Fluoride Varnish as Root Canal Sealer: A Scanning Electron Microscopy and Bacterial Penetration Study. *Iran Endod J* 2015;10(1): 64-68
31. Parirokh M, Forghani FR, Paseban H, Asgary S, Askarifard S, Esmaeeli Mahani S. Cytotoxicity of Two Resin-Based Sealers and a Fluoride Varnish on Human Gingival Fibroblasts. *s. Iran Endod J* 2015;10:89-92
32. Donyavi Z, Shokri A, Pakseresht Z, Tapak L, Falahi A, Abbaspourrokni H. Comparative Evaluation of Retreatability of Endodontically Treated Teeth using AH 26, Fluoride Varnish and Mineral Trioxide Aggregate-based Endodontic Sealers. *The Open Dent J* 2019; 13:183-9.
33. Mohammadi Z. Chemomechanical strategies to manage endodontic infections. *Dent today* 2010 Feb;29(2):91-2, 94, 96 passim; quiz 99.
34. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ free and conventional laboratory rats. *Oral surg oral med oral pathol* 1965;20:340-9.
35. Moller AJ, Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scan J dent res*. 1981;89(6):475-84
36. Sundqvist G. Ecology of the root canal flora. *J endod* 1992;18(9):427-30
37. Spangberg L, Engstrom B, Langeland K. Biologic effects of dental materials. 3. Toxicity and antimicrobial effect of endodontic antiseptics in vitro. *Oral surg oral med oral pathol* 1973;36(6):856-71.
38. De Moor RJ, Hommez GM. The long-term sealing ability of an epoxy resin root canal sealer used with five gutta percha obturation techniques. *Int endod J* 2002;35(3):275-82.
39. Mario Roberto L. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral surg Oral med Oral Pathol Oral radiol endod* 1999;88:221-5.
40. Parirokh M, Forghani FR, Paseban H, Asgary S, Askarifard S, Esmaeeli Mahani S. Cytotoxicity of two resin-based sealers and a fluoride varnish on human gingival fibroblasts. *Iran endod J*. 2015;10(2):89-92
41. Srinivasan V, Patchett CL, Waterhouse PJ. Is there life after Buckley's Formocresol? Part I -- a narrative review of alternative interventions and materials. *International journal of paediatric dentistry*. 2006;16(2):117-27
42. Koch MJ. Formaldehyde release from root-canal sealers: influence of method. *International endodontic journal*. 1999;32(1):10-6
43. Mickel AK, Sharma P, Chogle S. Effectiveness of stannous fluoride and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. *J endod*. 2003;29(4):259-60.
44. Torabinejad M, Watson TF, Pitt Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J endod*. 1993;19(12):591-5.
45. Jacobovitz M, de Lima RK. Treatment of inflammatory internal root resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. *Int endod J*. 2008;41(10):905-12.
46. Jacobovitz M, de Pontes Lima RK. The use of calcium hydroxide and mineral trioxide aggregate on apexification of a replanted tooth: a case report. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*. 2009;25(3):e32-6.
47. Menezes R, Bramante CM, Letra A, Carvalho VG, Garcia RB. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98(3):376-9
48. Scarparo RK, Haddad D, Acasigua GA, Fossati AC, Fachin EV, Grecca FS. Mineral trioxide aggregate-based sealer: analysis of tissue reactions to a new endodontic material. *J Endod* 2010;36(7):1174-8.
49. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999; 25(3):197-205.
50. Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature. *Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials*. 2008;24(2):149-64.

51. Gomes-Filho JE, Watanabe S, Cintra LT, Nery MJ, Queiroz IO, et al. Effect of MTA-based sealer on the healing of periapical lesions. *Journal of applied oral science* 2013; 21(3):235-42.
52. Leonardo MR, Bezerra da Silva LA. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. *J Endod* 2000;26:391-4.
53. Siqueira Jose F, Goncalves JR. Antibacterial activities of root canal sealers against selected anaerobic bacteria. *J Endod* 1996; 22:79-80.
54. Sandqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85:86-93.
55. Perez F, Calas P, de-Faluerolles A, Maurette A. Migration of streptococcus sanguis strain through the root dentinal tubules. *J Endod* 1993 Jun;19(6):297-301.
56. Walton RE, Torabinejad M. Principle and practice of endodontics. 3rd Ed. WB Saunders Co. 2002; chap 14:248-250

Zakīyeh Donyavi^{*1}, Somayyeh Dehghan Banadkooki², Somayyeh Yasliani Fard³,

¹Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

²Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

³Associate Professor, Department of microbiology, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Antimicrobial Efficacy of Fluoride Varnish as Root Canal Sealer against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus Mutans*: An In vitro Study

Received: 23 Jul 2021 ; Accepted: 14 Oct 2021

Abstract

Background: The aim of this in vitro study is to compare the antimicrobial efficacy of fluoride Varnish (flurodose) with two endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* and *streptococcus mutans*.

Materials and Methods: Two different endodontic sealers, namely, resin based (AH Plus), mineral trioxide aggregate (Endoseal-MTA) based and fluoride Varnish (Flurodose) were tested for their antimicrobial efficacy against *E. faecalis* and *S.mutans* using agar diffusion method.

Four wells were made by the removal of agar at equidistant points and filled with freshly mixed respective root canal sealers and were inoculated with *E. faecalis* and *S.mutans*. All the three plates were incubated for a period of 72 h at 37°C under aerobic conditions. The diameter of inhibition zones was measured at 24, 48, and 72 h time intervals. Data obtained were statistically analyzed using SPSS, Kruskal-Wallis and Mann Whitney test.

Results: All the tested sealers showed some bacterial growth inhibition of *E. faecalis* and *S.mutans*. Their efficacy in descending order of antibacterial activity against *E.faecalis* was as follows: AH Plus > Endo seal MTA > Fluoride varnish (fluorosode) and efficacy of antibacterial effect against *S.mutans* was including : AH plus > Fluorodose > Endo seal MTA. However, no significant differences were observed in terms of diameter of growth inhibition zone against both *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus mutans* in pairwise comparison. The efficacy of the root canal sealers decreased marginally with increase in their duration of action.

Conclusion: Antimicrobial efficacy of resin based sealer (AH-plus) was highest followed by fluoride varnish (flurodose) and MTA based sealer (Endo seal MTA).

Keywords: AH plus, Endoseal MTA, Fluoride Varnish, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus Mutans*.

*Corresponding Author:

Assistant Professor, Department of Endodontics, School of Dentistry, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Tell: 02633531614
E-mail: zakīyeh_donyavi@yahoo.com