

بررسی مقایسه‌ای خاصیت ضد باکتریای دو ماده‌ی جدید پرکننده‌ی انتهایی ریشه‌ی دندان و MTA بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس

۱. نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات مواد دندان، گروه اندودنتیکس، پژوهشکده‌ی تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
Email: akhavan@dnt.mui.ac.ir
۲. مرکز تحقیقات مواد دندان، پژوهشکده‌ی تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳. دندان پزشک، اصفهان، ایران.

علی اخوان^۱
فریبا حیدری^۲
زهره سلیمی^۳

چکیده

مقدمه: جهت جراحی اندودنتیک، نیازمند موادی با فعالیت ضد باکتریایی هستیم. هدف از این مطالعه، بررسی مقایسه‌ای فعالیت ضد باکتریایی دو سمان جدید پرکننده‌ی انتهایی ریشه‌ی دندان و MTA (Mineral trioxide aggregate) بر انتروکوکوس فکالیس بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه‌ی تجربی-آزمایشگاهی، به روش تست تماس مستقیم DCT (Direct contact test) صورت گرفت. ترکیبات مورد مطالعه سمانی با بیس کلسیم آلومینات (Calcium aluminate α -aluminate cement) و CAAC و سمانی با بیس کلسیم سیلیکات که مخلوطی از WOLCA (Wollastonite and CAAC) با MTA بود. هر یک از سمان‌ها بلافاصله پس از مخلوط شدن (ست نشده)، ۳ روز و ۱ هفته پس از زمان ست شدن‌شان، تهیه شده و در کف ۴ حفره از پلیت ۹۶ حفره‌ای قرار داده شدند (گروه a). ۱۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون باکتری انتروکوکوس فکالیس به غلظت ۵/۰ مک فارلند و ۲۴۵ میکرو لیتر BHI به آنها اضافه شد و در حفرات گروه a و حفرات گروه b (حفرات خالی) اضافه گردید. در نهایت میزان رشد باکتری در هر یک از حفرات گروه b هر نیم ساعت به مدت ۷ ساعت و یک بار ۲۴ ساعت بعد، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مشاهده و ثبت شد. داده‌های به دست آمده با روش‌های آماری آنالیز واریانس برای داده‌های مکرر و آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون توکی تحلیل آماری شدند ($\alpha = 0/05$).

یافته‌ها: نتایج آزمون توکی، نشان داد که بین MTA تازه مخلوط شده و MTA یک هفته پس از ست شدن، تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p \text{ value} = 0/033$). همچنین بین MTA یک هفته پس از ست شدن و CAAC یک هفته پس از ست شدن و بین MTA یک هفته پس از ست شدن و WOLCA سه روز پس از ست شدن نیز تفاوت معنی‌دار وجود داشت (به ترتیب $p \text{ value} = 0/039$ و $p \text{ value} = 0/043$). اما سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: به دلیل شباهت فعالیت ضد باکتریایی دو سمان مورد آزمایش، با MTA و حتی بیشتر بودن فعالیت ضد باکتریایی CAAC یک هفته پس از ست شدن و WOLCA سه روز پس از ست شدن، نسبت به MTA تهیه شده یک هفته پس از ست شدن، می‌توان این سمان‌ها را جهت بررسی‌های آزمایشگاهی و کلینیکی بیشتر در آینده مورد توجه قرار داد.

کلید واژه‌ها: انتروکوکوس فکالیس، فعالیت ضد باکتریایی، مینرال تری اکسید اگریگیت، تست تماس مستقیم.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۷

تاریخ اصلاح: ۱۳۹۸/۲/۲۵

تاریخ ارسال: ۱۳۹۷/۱۱/۱۶

استناد به مقاله: اخوان علی، حیدری فریبا، سلیمی زهره. بررسی مقایسه‌ای خاصیت ضد باکتریای دو ماده‌ی جدید پرکننده‌ی انتهایی ریشه‌ی دندان و MTA بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان. ۱۳۹۸؛ ۱۵(۳): ۳۳۰ - ۳۳۹.

مقدمه

هدف از درمان ریشه، تمیز کردن، شکل‌دهی، پر کردن کامل (۱) و حذف میکروارگانیسم‌ها از سیستم کانال ریشه و متعاقب آن ایجاد یک سد مؤثر در مقابل ورود میکروارگانیسم‌ها یا فرآورده‌های آنها به بافت‌های پری اپیکال می‌باشد (۲). شکست درمان ریشه به خاطر وجود باکتری‌ها یا عفونت ثانویه، مخصوصاً به باکتری انتروکوکوس فکاليس در درمان‌های ضعیف یا خوب اتفاق می‌افتد (۳). همچنین شکست درمان ریشه در نتیجه‌ی وجود میکروارگانیسم‌ها در ساختمان‌های اپیکال سیستم کانال ریشه به خاطر انشعابات آناتومیکی بسیاری از کانال‌ها مانند توبول‌های عاجی، رامیفیکیشن‌ها و دلتاها حتی بعد از پروسه‌های مکانیکال خوب و در دندان‌هایی که به خوبی درمان شده‌اند، مشاهده می‌شود (۴).

باکتری انتروکوکوس فکاليس، یک باکتری گرم مثبت بی‌هوازی (۵) و کاندیدی سرسخت در بین عوامل شکست درمان ریشه است (۴). این باکتری، توانایی نفوذ به داخل توبول‌های عاجی (۵)، باند شدن به کلاژن توبول‌های عاجی و زیستن داخل توبول‌ها و رشد در محیط‌های ضعیف تغذیه‌ای و در امان ماندن داخل کانال به عنوان Mono infection (تنها عامل عفونی) را دارد (۶).

عفونت باکتریال، به طور عمده عامل اصلی پریدونتیت اپیکال شناخته شده است، میزان میکروارگانیسم‌های موجود در مناطق عفونی، فاکتور کلیدی تعیین کننده‌ی بهبودی یا باقی ماندن ضایعه‌ی اپیکال است (۷). در بسیاری از موارد، درمان مجدد ریشه‌ی دندان، به خاطر عدم توانایی در حذف باکتری‌ها از ساختارهای اپیکال (۸)، آناتومی پیچیده‌ی ریشه یا حوادث حین کار به روش معمول، امکان‌پذیر نیست و دندان نیاز به درمان جراحی دارد که در نهایت قسمت اپیکال باقی مانده‌ی کانال ریشه با مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه مهر و موم می‌شود (۲).

ثبات ابعادی، عدم انحلال در مایع بافتی و سیل اپیکالی، از ویژگی‌های ایده‌آل یک ماده‌ی پرکننده‌ی انتهای ریشه

است (۹). همچنین این ماده باید علاوه بر خصوصیات بیولوژیکی و فیزیکی خوب، دارای خواص آنتی‌باکتریال نیز باشد (۱۰). در بین مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه‌ی در دسترس، MTA (Mineral trioxide aggregate) ماده‌ی انتخابی است و بیش‌ترین استفاده را دارد. MTA یک سمان با بیس کلسیم سلیکات است که موفقیت کلینیکی بلندمدت، خواص بیولوژیکی عالی و ساختار فیزیکی شیمیایی قابل رضایتی را نشان داده است. هر چند تعدادی از مطالعات نیز بیانگر این موضوع است که MTA فاقد تأثیر یا دارای اثر تأخیری روی رشد باکتری انتروکوکوس فکاليس می‌باشد (۱۱).

تست انتشار مواد در محیط آگار، رایج‌ترین روش برای ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی سیلرها است، اما این روش، محدودیت‌هایی همچون وابستگی به میزان انتشار و خصوصیات فیزیکی مواد را داشته و در تشخیص ویژگی باکتریسیidal از توقف رشد باکتریایی ناتوان است و بنابراین استفاده از آن توصیه نمی‌گردد (۱۲، ۱۳). تست تماس مستقیم (Direct contact test) که بر مشکلات تست انتشار در محیط آگار غلبه دارد، برای اندازه‌گیری فعالیت ضد باکتریایی سیلرهای اندودانتیک و مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه توسط ویس و همکاران (۱۳) معرفی شد. این تست نتایج قابل قبول، قابل تکرار و با کیفیتی را نشان داده است که میزان فعالیت ضد باکتریایی مواد را به صورت محلول نشان می‌دهد و در مطالعات استاندارد مربوط به پیری (Standardized aging studies) قابل استفاده است (۱۴).

از آنجایی که هیچ ماده‌ی پرکننده‌ی انتهای ریشه، ایده آل نیست و با توجه به گسترش دانش و مهارت در زمینه‌ی ساخت انواع سمان‌ها و مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه، در سطح دنیا تاکنون تحقیقات مختلفی جهت بررسی انواع این مواد طراحی و اجرا شده است. ما نیز در مطالعه‌ی حاضر به بررسی ضد باکتریایی دو نوع سمان مختلف طراحی شده در مرکز تحقیقات مواد دندان‌ی اصفهان و مقایسه‌ی آنها با MTA به عنوان استاندارد طلایی با روش تست تماس مستقیم پرداختیم.

جداسازی و در BHI تازه مخلوط شدند (به منظور تولید غلظت ۵/۰ در MC Farland scale ۵/۱×۱۰۸) (۱۱، ۲۰) جهت اطمینان از غلظت ۵/۰ مک فارلند جذب نوری (Optical density) محلول با دستگاه اسپکتروفوتومتر (UNICO, S2100-vis, Newjersy, USA) خوانده شد که باید در محدوده‌ی ۰/۸-۱۳/۰ باشد (۱۱).

$$OD = ۰/۰۸-۰/۱۳$$

آماده‌سازی نمونه‌ها

جهت ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی سمان‌ها قبل از ست شدن، میزان ۰/۳ گرم پودر هر یک از سمان‌های مورد نظر را توسط ترازوی دیجیتالی (Aras Co.Ltd, BL1, Iran Industrial scale, وزن نموده و در پک‌های مخصوص استریل، بسته‌بندی شدند (گروه اول).

برای ارزیابی خاصیت ضد باکتریایی سمان‌ها پس از ست شدن، میزان ۰/۳ گرم پودر هر یک از سمان‌های مورد نظر و مایع آنها طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده، روی یک اسلب شیشه‌ای استریل با یک اسپاتول استریل، مخلوط شده و به مدت سه روز در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰۰ درصد در دستگاه انکوباتور نگهداری شدند (گروه دوم: سه روز پس از ست شدن) (۱۰) همچنین انکوباسیون مطابق مرحله‌ی قبلی برای مدت یک هفته تکرار گردید (گروه سوم: یک هفته پس از ست شدن) (۲۱). سپس سمان‌های ست شده را توسط هاون سرامیکی پودر کرده و در پک‌های مخصوص استریل، بسته‌بندی شدند (۲۲).

در نهایت نه گروه سمان تهیه شده، داشتیم که شامل MTA، CAAC و WOLCA که هر کدام در سه گروه ست نشده، سه روز پس از ست شدن و یک هفته پس از ست شدن قرار می‌گرفتند.

ترکیبات مورد مطالعه‌ی سمانی با بیس کلسیم آلومینات CAAC و سمان سیلیکات (با ترکیب پایه‌ی کلسیم سیلیکات و افزودنی‌های مختلف) و WOLCA (مرکز تحقیقات مواد دندان‌ی، اصفهان، ایران)، بود. در مطالعات قبلی رادیاپاسیتی (۱۵)، زیست سازگاری (۱۶)، سمیت ژنی (۱۷)، سمیت سلولی (۱۸) و خاصیت سیل‌کنندگی (۱۹) مواد مورد مطالعه تحت بررسی قرار گرفته و به صورت اولیه تأیید شده‌اند. لذا با توجه به هدف معرفی و بومی‌سازی این سمان‌ها، در این مطالعه به بررسی خاصیت ضد باکتریایی آنها علیه باکتری انتروکوکوس فکالیز پرداختیم. فرضیه‌ی صفر، شباهت خاصیت ضد باکتریایی این سمان‌ها با MTA، به دلیل شباهت ترکیبات شیمیایی آنها بود.

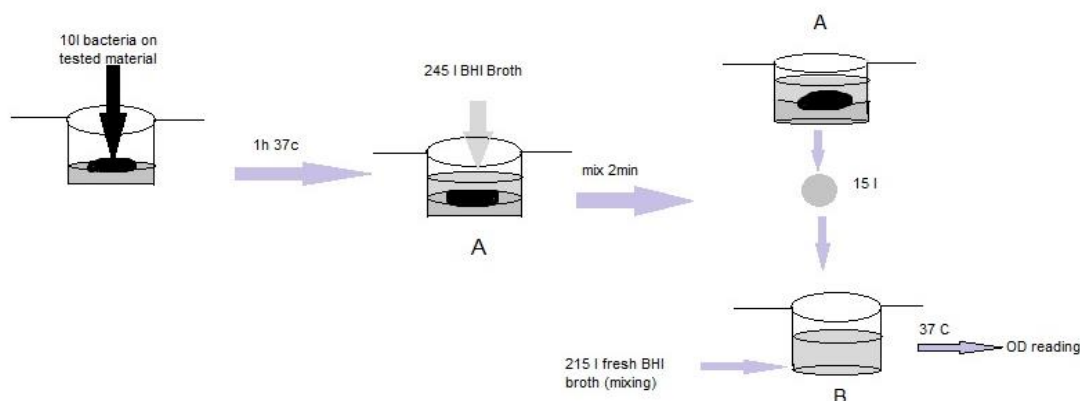
مواد و روش‌ها

سه نوع سمان مورد مطالعه در این آزمایش به عنوان ماده‌ی پرکننده انتهای ریشه‌ی دندان، طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

روش تهیه‌ی سوپانسیون استاندارد باکتری E.faecalis
خاصیت ضد باکتریایی مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه‌ی دندان مورد استفاده در این آزمایش، علیه گونه‌ی استاندارد باکتری انتروکوکوس فکالیز (PTCC 1393) انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران) سنجیده شد. سوش استاندارد ایزوله میکروبی تهیه شده پس از خارج شدن از محیط کشت ذخیره‌ای Frozen stock culture (مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی ترابی‌نژاد، اصفهان، ایران) به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت آگار خون‌دار BHI (Brain heart infusion)، در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و در شرایط هوازی کشت داده شد (۲۰). باکتری‌ها با سانتریفیوژ،

جدول ۱: سمان‌های اندودنتیک و محل تولید

سمان	تولید کننده
MTA	Angelus, Londrina, Brazil
CAAC	Isfahan Dental Material Research Center, Iran
WOLCA	Isfahan Dental Material Research Center, Iran



(DCT)

شکل ۱: نمایش شماتیک تست تماس مستقیم

۱۵۱μ از سوسپانسیون حاصله به حفرات استریل خالی دیگری منتقل شد (گروه b) و ۲۱۵μl BHI به آنها اضافه گردید و مجدداً به مدت ۲ دقیقه مخلوط شدند (۲۱). سپس به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفوتومتر نمره‌ی کدورت سوسپانسیون‌های گروه b به طور متوالی هر نیم ساعت یک‌بار و به مدت ۷ ساعت و یک‌بار ۲۴ ساعت بعد از آن خوانده شد (۲۰). قبل از هر خواندن، نمونه‌ها به مدت ۵ ثانیه مخلوط شدند (۲۳). نمونه‌ها بین زمان‌های خوانده شدن داخل انکوباتور قرار می‌گرفتند (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت محیط) هر یک از سمان‌های مورد نظر به تعداد ۴ مرتبه آزمایش شدند. سوسپانسیون باکتریایی به همراه BHI به عنوان کنترل مثبت و سوسپانسیون هر یک از سمان‌ها بدون حضور باکتری، به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد (۲۴).

یافته‌ها

برای هر نمونه در گروه‌های مختلف، داده‌ها به صورت جذب نوری (OD) گزارش شد، که به طور متوالی هر نیم ساعت یک‌بار، به مدت ۷ ساعت و یک مرتبه ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد.

گروه کنترل منفی، هیچ رشدی را در جذب نوری در هیچ زمانی مشاهده نشد، در حالی که گروه کنترل مثبت، رشد باکتری‌ها را نشان داد.

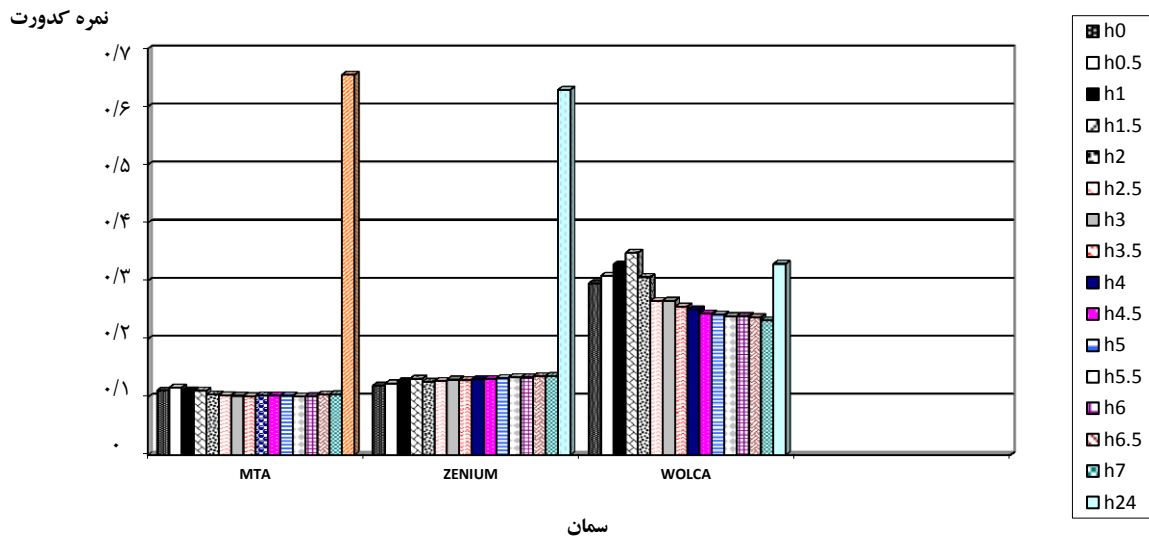
آزمایش تماس مستقیم به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفوتومتري

جزئیات آزمایش تماس مستقیم Direct contact test توسط ویس و همکاران (۱۳) شرح داده شده است (شکل ۱). در این روش آزمایشگاهی اختصاصی سیلرهای اندودنتیک، ابتدا هر یک از سیلرها طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده مخلوط شده و به دیواره‌های طرفی پلیت ۹۶ حفره‌ای زده شدند (۲۳). در صورتی که برای مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه‌ی دندان، مواد پس از آماده‌سازی به ارتفاع ۲ میلی‌متر در کف حفرات پلیت ۹۶ حفره‌ای قرار داده می‌شدند (۲۱). در این آزمایش نه گروه سمان‌های ست شده و تازه مخلوط شده هر یک به صورت جداگانه در شرایط استریل، طبق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده مخلوط شدند و در کف حفرات پلیت ۹۶ حفره قرار گرفتند، سپس میزان ۱۰μl از سوسپانسیون باکتریایی (حدود 10^7 باکتری) تهیه شده روی هر یک از نمونه‌های ۱ هفته ست شده، ۳ روز ست شده و تازه مخلوط شده قرار داده شد.

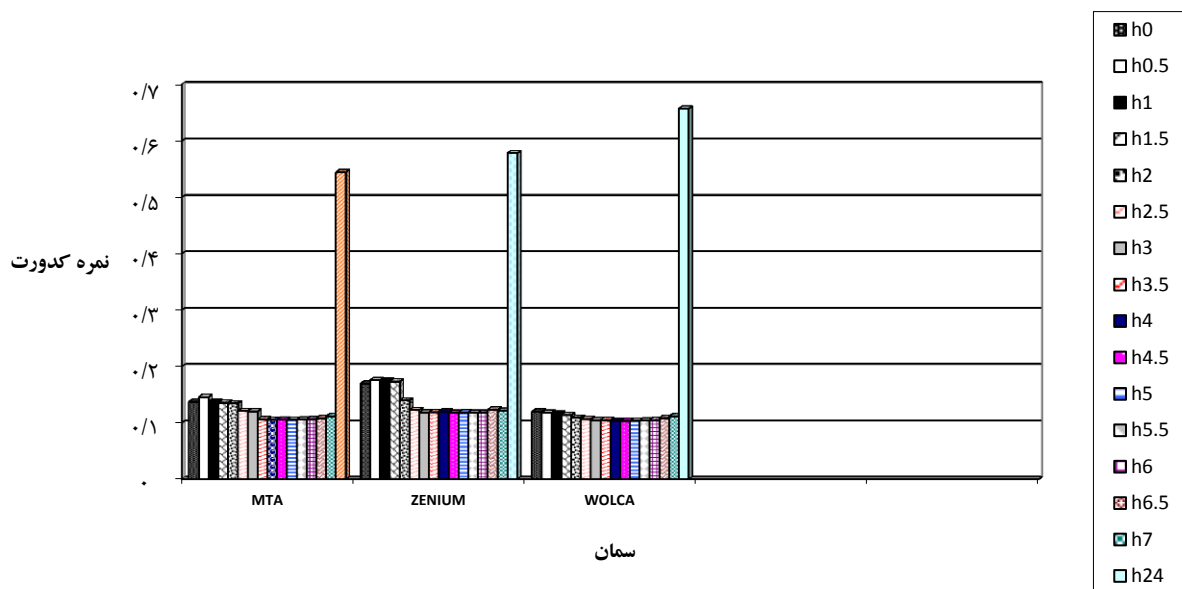
پس از انکوباسیون، نمونه‌ها در رطوبت محیط و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت، مایع سوسپانسیون باکتریایی تبخیر شد (برای اطمینان از تماس مستقیم بین باکتری‌ها و هر یک از سمان‌ها) (۲۳). سپس ۲۴۵μl BHI به هر یک از حفرات اضافه گردید و نمونه‌ها به آرامی به مدت ۲ دقیقه با دستگاه میکسر ورتکس (Pavazeh VM4, Iran) (Vortex mixer 4, Laboratory, گروه a).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس برای داده‌های مکرر دوطرفه نشان داد که بین سمان‌ها و زمان ست شدن آنها (Setting time) اثر متقابل وجود دارد ($p \text{ value} < 0/001$). بنابراین آزمون آنالیز واریانس برای داده‌های مکرر بین ۹ گروه انجام شد و نشان داد که معنی‌داری بین ۹ گروه، تفاوت وجود دارد ($p \text{ value} = 0/039$). در تکمیل آنالیز واریانس، آزمون توکی نشان داد که بین

MTA تازه مخلوط شده و MTA یک هفته پس از ست شدن، تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p \text{ value} = 0/033$). بین MTA و CAAC یک هفته پس از ست شدن و همچنین بین MTA و WOLCA سه روز پس از ست شدن، تفاوت معنی‌داری نشان داده شد (به ترتیب $p \text{ value} = 0/039$ و $p \text{ value} = 0/043$). اما سایر گروه‌ها با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند.

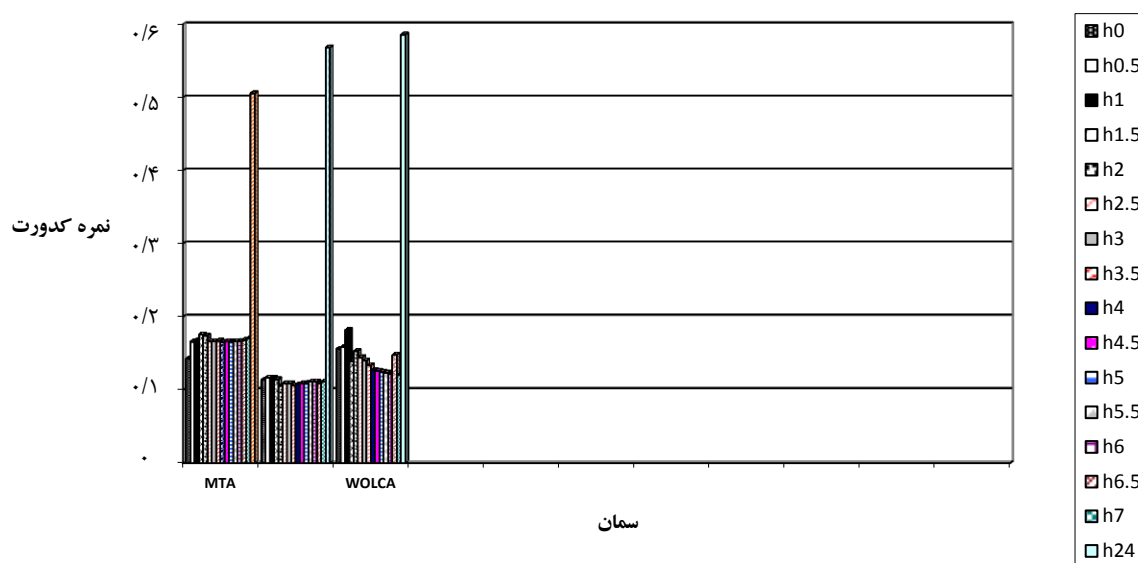


تازه مخلوط شده



سه روز پس از ست شدن

نمودار ۱: میانگین و انحراف معیار نمره‌ی کدورت (بر حسب OD) در گروه‌های مورد آزمایش در زمان‌های مختلف



یک هفته پس از ست شدن

ادامه نمودار ۱

بحث

با توجه به عدم تأثیر هر سه سمان مورد آزمایش روی باکتری انتروکوکوس فکالیس، فرضیه‌ی صفر ما اثبات شد. نشان داده شده است که میزان موفقیت درمان ریشه‌ی دندان، حدوداً ۹۰ درصد می‌باشد (۲). عامل اصلی شکست درمان ریشه، باکتری انتروکوکوس فکالیس است که ۶۷ درصد شکست‌ها در ارتباط با این باکتری بوده‌اند (۴، ۲۵). این باکتری می‌تواند قبل، حین و حتی بعد از درمان، وارد سیستم کانال ریشه شده و موجب عفونت ثانویه گردد (۱۱). امروزه MTA، به دلیل pH بالا و خاصیت ضد باکتریایی ناشی از آن در مطالعات مختلف به عنوان استاندارد طلایی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۶). برای سنجش خاصیت ضد باکتریایی مواد روش‌های مختلفی وجود دارد، اما رایج‌ترین آنها دو روش Agar diffiusion test (ADT) و Direct contact test (DCT) است (۱۲). پژوهش‌های متعددی نشان داده‌اند که Pro-Root MTA فاقد اثر یا دارای اثر تأخیری روی رشد E.faecalis می‌باشد (۱۱، ۲۷). با این وجود نشان داده شده که مخلوط کردن آن با کلرگزیدین گلوکونات ۱۲/۰ درصد، به جای آب می‌تواند باعث تأثیر

ضد باکتریایی آن علیه انتروکوکوس فکالیس گردد (۲۸). ترابی‌نژاد و همکاران (۲۹) دریافتند که MTA روی تعدادی از میکروارگانیسم‌های فرصت طلب مؤثر بوده، اما روی سایر گونه‌های باکتریایی مانند E.faecalis فاقد اثر می‌باشد. در مطالعه‌ی استلا و همکاران (۳۰) نیز مشاهده شد که، MTA هیچ اثر بازدارنده‌ای علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس ندارد. در مطالعه‌ی کیم و همکاران (۱۰)، مقایسه‌ای بین خواص ضد باکتریایی MTA-Angelus, ProRoot MTA و Endocem MTA صورت پذیرفت و اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد در اطراف این سمان‌ها، نشان داد که E.faecalis تنها به Endocem MTA حساس است. استلا و همکاران (۳۰) نیز مشاهده کردند که، MTA هیچ اثر بازدارنده‌ای علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس ندارد، در صورتی که تعدادی از پژوهش‌ها بیان کرده‌اند که MTA اثر تأخیری یا بازدارنده روی E.faecalis دارد و سمان Pro Root MTA به طور کلی، فعالیت ضد باکتریایی بیشتری را نسبت به سایر مواد مورد ارزیابی نشان داد (۳۱). به نظر می‌رسد در مطالعاتی که اثر ضد باکتریایی MTA علیه باکتری انتروکوکوس فکالیس اثبات شده، به دلیل تفاوت

از محدودیت‌های این مطالعه، عدم دسترسی بودن Dentsply (Maillefer, Ballaigues, MTA مارک Switzerland) در زمان انجام مطالعه بود؛ این ماده‌ی استاندارد طلایی در طراحی این گونه مطالعات می‌باشد. پیشنهاد می‌گردد روی خاصیت ضد باکتریایی این مواد در ترکیب با کلر هگزیدین نیز پژوهش‌هایی صورت گیرد تا در صورت مؤثر بودن به جای آب استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

به دلیل شباهت خاصیت ضد باکتریایی سمان‌های مورد آزمایش با MTA و حتی بیشتر بودن خواص آنها در CAAC یک هفته پس از ست شدن و WOLCA سه روز پس از ست شدن از MTA یک هفته پس از ست شدن، می‌توان این سمان‌ها را جهت بررسی‌های آزمایشگاهی و کلینیکی بیشتر در آینده مورد توجه قرار داد.

* این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی با شماره‌ی ۳۹۶۴۱۴ در معاونت پژوهشی دانشکده‌ی دندان پزشکی اصفهان می‌باشد.

روش‌های آزمایشگاهی بررسی این خاصیت بوده است. برای مثال در مطالعه‌ی سپیرت و همکاران (۳۱) که به روش تست انتشار در محیط آگار انجام گرفت، مشاهده شد که MTA داری اثر ضد باکتریایی روی *E. faecalis* است، که این روش به دلیل استفاده از آگار، توانایی کنترل میزان انتشار و انحلال مواد مختلف در محیط را ندارد و این موضوع باعث تفاوت در نتایج به دست آمده شده است. مطالعه‌ی حاضر خاصیت ضد باکتریایی دو سمان WOLCA و CAAC را با MTA علیه باکتری انتروکوکوس فکالیز را نشان داد. در مطالعات قبلی رادیوپاستیتی (۱۵)، زیست‌سازگاری (۱۶)، سمیت ژنی (۱۷)، سمیت سلولی (۱۸) و توانایی سیل‌کنندگی (۱۹) آنها به صورت اولیه مورد تأیید قرار گرفته است. نتایج به دست آمده نشان داد که MTA تازه مخلوط شده، از نظر فعالیت ضد باکتریایی، تفاوتی با دو سمان تازه مخلوط شده‌ی دیگر ندارد. در دوره‌ی زمانی سه روز پس از ست شدن MTA نیز تأثیری روی *E. faecalis* نداشت، که مشابه پژوهش انجام شده توسط الدینز و همکاران (۱۱) بود.

References

1. Ghatole K, Patil A, Giriappa RH, Singh TV, Jyotsna SV, Rairam S. Evaluation of Antibacterial Efficacy of MTA with and without Additives Like Silver Zeolite and Chlorhexidine. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(6): ZC11-4.
2. Gilheany PA, Figdor D, Tyas MJ. Apical dentin permeability and microleakage associated with root end resection and retrograde filling. *J Endod* 1994; 20(1): 22-6.
3. Binoy D, Sajjan GS, Peddireddi S, Kumar SR, Bhavana V, Raju SR. A comparative evaluation of sealing ability, pH and rheological properties of zinc oxide eugenol sealer combined with different antibiotics: an in vitro study. *J Clin Diagn Res* 2014; 8(11): ZC05-ZC08.
4. Anumula L, Kumar S, Kumar VS, Sekhar C, Krishna M, Pathapati RM, et al. An assessment of antibacterial activity of four endodontic sealers on enterococcus faecalis by a direct contact test: an in vitro study. *ISRN Dent* 2012; 2012: 989781.
5. Camacho-Alonso F, Salmeron-Lozano P, Martinez-Beneyto Y. Effects of photodynamic therapy, 2 % chlorhexidine, triantibiotic mixture, propolis and ozone on root canals experimentally infected with *Enterococcus faecalis*: an in vitro study. *Odontology* 2017; 105(3): 338-46.
6. Haapasalo M, Orstavik D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987; 66(8): 1375-9.
7. Siqueira JF Jr, Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34(11): 1291-1301.e3.

8. Medeiros PL, Bernardineli N, Cavenago BC, Torres SA, Duarte MA, Bramante CM, et al. Sealing ability of MTA, CPM, and MBPc as root-end filling materials: a bacterial leakage study. *J Appl Oral Sci* 2016; 24(2): 148-52.
9. Espir CG, Guerreiro-Tanomaru JM, Spin-Neto R, Chavez-Andrade GM, Berbert FL, Tanomaru-Filho M. Solubility and bacterial sealing ability of MTA and root-end filling materials. *J Appl Oral Sci* 2016; 24(2): 121-5.
10. Kim RJ, Kim MO, Lee KS, Lee DY, Shin JH. An in vitro evaluation of the antibacterial properties of three mineral trioxide aggregate (MTA) against five oral bacteria. *Arch Oral Biol* 2015; 60(10): 1497-502.
11. Eldeniz AU, Hadimli HH, Ataoglu H, Orstavik D. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. *J Endod* 2006; 32(4): 345-9.
12. AlShwaimi E, Bogari D, Ajaj R, Al-Shahrani S, Almas K, Majeed A. In vitro antimicrobial effectiveness of root canal sealers against enterococcus faecalis: a systematic review. *J Endod* 2016; 42(11): 1588-97.
13. Weiss EI, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12(4): 179-84.
14. Nawal RR, Parande M, Sehgal R, Naik A, Rao NR. A comparative evaluation of antimicrobial efficacy and flow properties for Epiphany, Guttaflow and AH-Plus sealer. *Int Endod J* 2011; 44(4): 307-13.
15. Akhavan A, Riahi F, Mehdizadeh M, Shahnasari A. Radiopacity evaluation of calcium aluminate a-aluminate and wollastonite calcium a-aluminate with the use of two types of radiopacifiers in comparison to Pro-root MTA and Portland cement. *J Isfahan Dent Sch* 2012; 8(5): 417-24. [In Persian].
16. Aminoazarbian MG, Barati M, Salehi I, Mousavi SB. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate and three new endodontic cements: An animal study. *Dent Res J (Isfahan)* 2012; 9(1): 54-9.
17. Aminoazarbian MG, Hashemibeni B, Ghazalگوو A, Heidari F. Genotoxicity of mineral trioxide aggregate and three endodontic cements on human gingival fibroblast cells. *Research Journal of Biological Sciences* 2012; 7(3): 123-7.
18. Moaveni G. Comparison of Cytotoxicity of two endodontic cements in iran and mta on human gingival fibroblast. [Thesis]. Isfahan, Iran: School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences; 2014. [In Persian].
19. Mohammadi P. Sealing ability evaluation of two new root end filling materials and mta with fluid filtration system. [Thesis]. Isfahan, Iran: School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences; 2017. [In Persian].
20. Wainstein M, Morgental RD, Waltrick SB, Oliveira SD, Vier-Pelisser FV, Figueiredo JA, et al. In vitro antibacterial activity of a silicone-based endodontic sealer and two conventional sealers. *Braz Oral Res* 2016; 30.
21. Chong BS, Owadally ID, Pitt Ford TR, Wilson RF. Antibacterial activity of potential retrograde root filling materials. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10(2): 66-70.
22. Poggio C, Trovati F, Ceci M, Colombo M, Pietrocola G. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *J Clin Exp Dent* 2017; 9(6): e743-e748.
23. Kesler Shvero D, Abramovitz I, Zaltsman N, Perez Davidi M, Weiss EI, Beyth N. Towards antibacterial endodontic sealers using quaternary ammonium nanoparticles. *Int Endod J* 2013; 46(8): 747-54.
24. Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. *J Dent* 2006; 34(1): 35-40.
25. Rôças IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of enterococcus faecalis with different forms of periradicular diseases. *J Endod* 2004; 30(5): 315-20.
26. McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* 2004; 30(4): 218-9.
27. Shin M, Chen JW, Tsai CY, Aprecio R, Zhang W, Yochim JM, et al. Cytotoxicity and Antimicrobial Effects of a New Fast-Set MTA. *Bio Med Res Int* 2017; 2017:2071247.
28. Stowe TJ, Sedgley CM, Stowe B, Fenno JC. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored proroot mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2004; 30(6): 429-31.

29. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. J Endod 1995; 21(8): 403-6.
30. Estrela C, Bammann LL, Estrela CR, Silva RS, Pecora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. Braz Dent J 2000; 11(1): 3-9.
31. Sipert CR, Hussne RP, Nishiyama CK, Torres SA. In vitro antimicrobial activity of Fill Canal, Sealapex, Mineral Trioxide Aggregate, Portland cement and EndoRez. Int Endod J 2005; 38(8): 539-43.

Comparative evaluation of antibacterial activities of two new root-end filling materials and MTA against *Enterococcus faecalis*

Ali Akhavan¹
Fariba Heidari²
Zohre Salimi³

1. **Corresponding Author:** Dental Materials Research Center, Department of Endodontics, Dental Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: akhavan@dnt.mui.ac.ir
2. Dental Materials Research Center, Dental Research Institute, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
3. Dentist, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: Antibacterial agents are required for endodontic surgery. The aim of this study was to compare the antibacterial activities of two new root-end filling materials and MTA against *Enterococcus faecalis*.

Materials & Methods: This in vitro study was carried out using direct contact test (DCT). The materials studied consisted of a calcium aluminate-based cement (CAAC, calcium aluminate α -aluminate cement) and a calcium silicate-based cement which was a mixture of wollastonite, CAAC (WOLCA) and MTA. Each cement was prepared immediately after mixing (not set), 3 days and 1 week after their setting and placed at the bottom of 4 wells from a 96-well plate (group A). Approximately 10 μ L of *Enterococcus faecalis* suspension at 0.5 McFarland concentration and 245 μ L of BHI were added to the wells in group A and empty wells in group B. Finally, the growth rate of bacteria in the wells in each group was monitored every 30 minutes for 7 hours and once after 24 hours using the spectrophotometry technique. Data were analyzed with ANOVA for repeated data and with one-way ANOVA and post hoc Tukey tests (p value = 0.05).

Results: Tukey tests showed a significant difference between the freshly mixed MTA and the MTA one week after its setting (p value = 0.033). In addition, there were significant differences between MTA one week after its setting and CAAC one week after its setting and between MTA one week after its setting and WOLCA three days after its setting (p value = 0.039 and p value = 0.043, respectively); however, there were no significant differences between the other groups.

Conclusion: Due to the similarity of the antibacterial activities of the tested cements and MTA and even higher antibacterial activities of CAAC one week after its setting, and WOLCA three days after its setting compared to MTA one week after its setting, these cements can be considered for further in vitro and clinical studies in future.

Key words: Antibacterial activity, Direct contact test, *Enterococcus faecalis*, Mineral trioxide aggregate.

Received: 5.2.2019

Revised: 15.5.2019

Accepted: 17.6.2019

How to cite: Akhavan A, Heidari F, Salimi Z. Comparative evaluation of antibacterial activities of two new root-end filling materials and MTA against *Enterococcus faecalis*. J Isfahan Dent Sch 2019; 15(3): 330- 339.