بررسی آزمایشگاهی خاصیت ضد قارچی پنج نوع سیلر مورد استفاده در درمان ریشه

دکتر حمید رضویان[1]، رضا جاوری شهنی[2]، دکتر سید محسن‌هاشمی‌نیا[*]
فریبا حیدری[3]

چکیده

مقدمه: از ویژگی‌های مهم سیلرها در درمان ریشه، فعالیت ضد قارچی آن‌ها می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه فعالیت ضد قارچی سیلرهای MTA Fillapex، Multi-،tg-sealer Cal، AH-Plus و Roeko Seal در برابر قارچ CA (*Candida Albicans*) به دو روش مستقیم و غیر مستقیم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی از روش انتشار در محیط آگار (روش غیر مستقیم) برای مقایسه‌ی فعالیت ضد قارچی سیلرهای تازه تهیه شده، در برابر سوش استاندارد قارچ CA استفاده شد. هر یک از سیلرها در چاهک‌های ایجاد شده در وسط محیط کشت حاوی قارچ، قرار گرفتند. پس از انکوباسیون، قطرهاله‌های عدم رشد میکروبی به کمک کولیس اندازه‌گیری شد. در روش تماس مستقیم، جهت ارزیابی فعالیت ضد قارچی سیلرهای ست شده، سوسپانسیون‌های حاوی سیلر پودر شده و قارچ CA پس از گذشت زمان‌های ۶، ۱۵ و ۶۰ دقیقه کشت داده و انکوبه شدند. تعداد کلونی‌های تشکیل شده برحسب میلی‌لیتر، محاسبه گردید. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و با آنالیزهای آماری واریانس یک‌طرفه، واریانس برای داده‌های مکرر و t زوج بررسی شد ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: در روش انتشار آگار (روش غیر مستقیم) برای سیلرهای تازه تهیه شده خاصیت ضد قارچی سیلر Multi-Cal به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر سیلرها بود ($p < ۰/۰۵$ value) ولی در روش تماس مستقیم برای سیلرهای ست شده، حداکثر فعالیت ضد قارچی را سیلر MTA Fillapex داشت ($p \text{ value} < ۰/۰۵$). در هر دو روش سیلر سیلیکونی RoekoSeal حداقل فعالیت ضد قارچی را نشان داد ($p \text{ value} < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: حداکثر فعالیت ضد قارچی با روش انتشار آگار (ADT) مربوط به سیلر Multi-Cal و حداکثر خاصیت ضد قارچی با روش تماس مستقیم (DCT) را سیلر MTA Fillapex نشان داد. در هر دو روش سیلر Roeko Seal حداقل فعالیت ضد قارچی را از خود نمایان ساخت.

کلید واژه‌ها: درمان ریشه، کاندیدا آلبیکانس، سیلر

* استاد، مرکز تحقیقات مواد دندانی، گروه اندودونتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران (مؤلف مسؤول)
hasheminia@dnt.mui.ac.ir

۱: استادیار، مرکز تحقیقات مواد دندانی، گروه اندودونتیکس، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲: دانشجوی دندان‌پزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳: کارشناس میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات پروفسور ترابی‌نژاد، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره ۳۹۳۱۱ می‌باشد.

این مقاله در تاریخ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ اصلاح شده و در تاریخ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۳؛ ۱۰(۴)؛ ۲۶۶ تا ۲۷۴

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

علت عفونی شدن سیستم کانال ریشه وجود میکروارگانیسم‌های مختلفی از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و احتمالا ویروس‌ها می باشد[۱]. هدف نهایی پروسه درمان ریشه دندان در راستای حذف و یا کاهش این میکروارگانیسم‌ها، به منظور بهبود بیماری پالپ و پری اپیکال و به‌دست آمدن سلامت مجدد و ترمیم بافت پری رادیکولر آسیب دیده است[۱]. به‌منظور افزایش موفقیت در درمان ریشه علاوه بر پاک‌سازی مکانیکی، محلول‌های شستشو دهنده و داروهای داخل کانال نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما علی‌رغم تمامی اقدامات درمانی، در قسمت‌هایی از دیواره کانال ریشه همانند توبول‌های عاجی، میکروارگانیسم‌ها باقی می‌مانند. این میکروب‌های باقی‌مانده ممکن است به بافت‌های پری رادیکولر دسترسی پیدا کرده و در نهایت سبب شکست در پروسه درمان ریشه گردند[۲، ۱]. میکروارگانیسم‌هایی که به‌طور شایع، از دندان‌هایی که درمان ریشه‌ی آن‌ها شکست خورده در شرایط ایزوله برداشت می‌شوند شامل *Enterococcus faecalis* قارچ *Candida albicans* و *Actinomycesisraelii* می‌باشند[۳].

براساس مطالعه صورت گرفته توسط Baumgartner و همکاران[۴] قارچ‌ها نیز با بیماری‌های ریشه‌ی دندان مرتبط می‌باشند.

قارچ‌ها مانند ویروس‌ها قدرت تطبیق با شرایط محیطی گوناگون، چسبندگی به سطوح مختلف، تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک، تغییر شکل مورفولوژیک، تشکیل بیوفیلم، حمله و تداخل در سیستم دفاعی میزبان را دارند که می‌تواند نقش مهمی در پاتوژنز بیماری‌های اطراف ریشه دارا باشد. قارچ‌ها گهگاه در عفونت‌های اولیه ریشه مشاهده می‌شوند ولی به‌طور شایع در دندان‌های پرشده‌ای که درمان آن‌ها دچار شکست گردیده یافت می‌شوند[۹-۵].

قارچ *C.Albicans* شایع‌ترین نمونه‌ی قارچی است که در کانال‌های عفونی یافت می‌شود و این گونه‌ی قارچی به‌عنوان یک میکروارگانیسم عاج دوست شناخته شده است که این به‌علت تمایل هجوم آن به توبول‌های عاجی است. *C.Albicans* به بعضی داروهای درون کانال مقاوم است از جمله می‌توان به هیدروکسید کلسیم اشاره کرد. توانایی این گونه در تهاجم به توبول‌های عاجی و مقاومت به داروهایی که بیش‌ترین استفاده را در درمان ریشه دارند، می‌تواند این مطلب را که چرا *C.Albicans* با عفونت‌های مقاوم به درمان ریشه همراه بوده است، به خوبی روشن سازد[۹-۵].

لذا اثر ضد قارچی سیلرها، به‌عنوان یک فاکتور مکمل و مؤثر در حذف و یا کاهش میکروارگانیسم‌های باقی‌مانده در کانال و جلوگیری از رشد دوباره آن‌ها بعد از درمان ریشه اهمیت می‌یابد[۱۰]. مشهورترین سیلرها، ترکیباتی بر پایه اکسید روی- اوژنول (مانند tg-sealer)، سیلرهای هیدروکساید کلسیم (Multi-Cal)، گلاس آینومرها (Ketac-endo)، رزین‌ها (AH-Plus)، سیلرهای سیلیکونی(RoekoSeal) می‌باشند[۱۱، ۱۰، ۱].

در سال‌های اخیر سیلرهای حاوی MTA (MTA Fillapex) نیز در عرصه دندان‌پزشکی معرفی شده‌اند[۷]. با توجه به تنوعات مختلف سیلرها و لزوم وجود خاصیت ضد قارچی در یک سیلر جهت موفقیت درمان ریشه، مطالعات متعددی در این زمینه توسط محققین در مورد سیلرهای متفاوت و به روش‌های مختلفی صورت گرفته است[۱۴-۱۲].

با توجه به اهمیت وجود خاصیت ضد قارچی سیلرها و با توجه به این که با این وجود، در حال حاضر اطلاعات بسیار اندکی در زمینه خواص ضد قارچی سیلر جدید MTA Fillapex موجود می‌باشد[۱۱] و به نظر می‌رسد، مطالعه‌ای در مورد فعالیت ضد قارچی tg-sealer صورت نگرفته است، لذا مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه فعالیت ضدقارچی سیلرهای MTA Fillapex، tg-sealer، AH-Plus، RoekoSeal و Multi-Cal در برابر قارچ کاندیدا آلبیکانس، به دو روش مستقیم و غیر مستقیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی که در زمستان ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات پروفسور ترابی‌نژاد در دانشکده دندان‌پزشکی دانشگاه اصفهان انجام پذیرفت، خاصیت ضد قارچی ۵ نوع سیلر مورد استفاده در درمان ریشه قبل و بعد از ست شدن، در برابر *Candida Albicans* به دو روش مستقیم و غیر مستقیم مورد ارزیابی گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

سیلرهای مورد استفاده در این مطالعه عبارت بودند از: AH-Plus (Dentsply,Germany)، (Coltene,Germany) RoekoSeal، Multi-Cal (Pulpdent, USA)، tg-sealer (Technical & General Ltd., England)، MTA Fillapex (Angelus I.P.O, Brazil).

قارچ مورد مطالعه، سوش استاندارد ایرانی قارچ Candida Albicans (PTCC1393) بود.

پلیت‌های استریل با چاهک‌های یکنواخت بدون هرگونه آلودگی در محیط‌های کشت تازه تهیه شده که فقط حاوی قارچ کاندیدا آلبیکانس بودند و سیلرهای استریل ورود مطالعه شدند. نمونه‌هایی که استریل نبوده، محیط کشت‌هایی که از تهیه آن‌ها مدتی گذشته و یا آلوده به هرگونه میکروارگانیسم غیر از قارچ *Candida Albicans* بودند، از مطالعه حذف شدند.

سپس از روش انتشار در محیط آگار (Agar diffusion test) و روش تماس مستقیم (Direct contact) جهت بررسی اثر ضد قارچی ۵ نوع سیلر استفاده گردید.

در روش انتشار در محیط آگار، پس از تهیه سوش استاندارد ایزوله از قارچ *C.Albicans* (سوش ایرانی، PTCC 1393)، سوسپانسیون قارچی با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند که حاوی ۱/۵ × $۱۰^{۸}$ بر میلی‌لیتر قارچ بود، تهیه شد. در ۱۰ پلیت یک‌بار مصرف محیط کشت سابور دکستروز (Sabouraud Dextrose Agar,Himedia,India) آگار آماده گردید. در این پلیت‌ها حجم مشخصی از سوسپانسیون قارچی توسط سمپلر (۰/۱ میلی‌لیتر) اضافه و در تمامی محیط کشت به طور یکنواخت به‌وسیله لوپ آزمایشگاهی (loop) پخش شد. در وسط پلیت حاوی محیط کشت و سوسپانسیون قارچی *Candida Albicans*، ۵ حفره‌ی استوانه‌ای شکل (چاهک) به قطر ۶ میلی‌متر و عمق ۵ میلی‌متر با استفاده از پیپت‌های استریل برای هر نمونه از سیلرهای مورد آزمایش با فاصله‌های حداقل ۱/۵ سانتی‌متر از دیواره پلیت و ۲/۵ سانتی‌متر از یک‌دیگر، ایجاد گردید. به‌منظور جلوگیری از نفوذ سیلر در فضای بین پلیت و محیط کشت، ته چاهک‌ها توسط محلول آگار سیل شد. مخلوط تازه تهیه شده طبق دستور کارخانه سازنده از هر کدام از سیلرها، داخل حفره‌ها قرار داده شد. محیط کشت حاوی *Candida Albicans*، که در چاهک‌های آن یک نوع سیلر قرار داشت، جهت انتشار بهتر سیلرها، به‌مدت ۲ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه (زمان پری‌دیفوژن) نگهداری شد و در نهایت نمونه‌ها در دستگاه انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط هوازی قرارگرفت. پس از گذشت ۴۸ساعت از زمان انکوباسیون قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی در اطراف هر کدام از سیلرها در چهار جهت مختلف توسط کولیس (با دقت ۰/۵ میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. به‌منظور تهیه گروه کنترل مثبت در یک پلیت حاوی آگار بدون اضافه نمودن سوسپانسیون قارچی، فقط سیلرها در چاهک‌ها قرار داده شدند تا وضعیت استریل بودن سیلرها بررسی شود. در گروه کنترل منفی نیز جهت اطمینان از استریل بودن محیط آگاری، پلیت‌های حاوی محیط کشت بدون اضافه نمودن سیلر یا سوسپانسیون قارچی در انکوباتور قرار داده شد. تمامی این آزمایشات برای سیلرها و گروه‌های کنترل (مثبت و منفی) در سه مرتبه تکرار شدند[۱۴].

در روش تماس مستقیم (DCT) هر کدام از سیلرها پس از مخلوط کردن طبق دستور کارخانه سازنده جهت سفت شدن در بلوک‌های پلاستیکی استوانه‌ای شکل استریل به قطر ۵ میلی‌متر و عمق ۵ میلی‌متر قرارگرفت. سپس به سیلرها اجازه داده شد تا در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۱۰۰ درصد در دستگاه انکوباتور به مدت ۷ روز سفت شوند. بلوک‌های سیلری به‌دست آمده خرد شده و با استفاده از هاون سرامیکی استریل (CoorsTek, Golden Co, USA) به‌صورت پودر درآورده شدند. پودرهای به‌دست آمده از سیلرها در پک‌های مخصوص استریل بسته‌بندی و سپس توسط نور ماورا بنفش استریل شدند. میزان ۵۰ میلی‌گرم از پودر هر سیلر توسط ترازوی دیجیتالی Bel Italy (Scaletech Instruments, Surat, India) وزن شده و به هر کدام از سیلرهای پودر شده استریل، محلول سالین استریل به کمک پیپت‌های استریل به میزان یک میلی‌لیتر اضافه گردید تا سوسپانسیونی به غلظت ۵۰ گرم بر میلی‌لیتر از سیلرها به‌دست آید. سوسپانسیون قارچی با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند (۱/۵ × $۱۰^{۸}$ بر میلی‌لیتر) آماده گردید. حجم‌های مساوی از این سوسپانسیون قارچی و سوسپانسیون سیلری (یک میلی‌لیتر) با هم کاملاً مخلوط شدند. مخلوط سوسپانسیون قارچی و سیلری به‌طور متوالی توسط

Archive of SID
www.SID.ir

دستگاه همزن (Janke & Kunkel GmbH, Stufen, Germany) IkaVibro- Fix کاملاً ادغام شدند. محلول سالین بدون سیلر به عنوان گروه کنترل (مثبت) در نظر گرفته شد. پس از گذشت مدت زمان‌های ۶، ۱۵ و ۶۰ دقیقه بعد از مخلوط شدن سوسپانسیون‌ها در دمای محیط آزمایشگاه، مقدار مشخص ۰/۰۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون به‌وسیله دستگاه سمپلر، بر روی محیط کشت‌های آگاری سابور دکستروز از پیش تهیه شده کشت داده شد. بعد از انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت، کلونی‌های تشکیل شده روی پلیت‌های آگاری شمرده شدند. سپس تعداد کلونی‌های تشکیل شده در واحد حجم (CFU بر میلی‌لیتر) برای هر کدام از سیلرها در زمان‌های مختلف آزمایش محاسبه گردید[۷]. این آزمایشات شش مرتبه تکرار شدند. از آنالیزهای آماری کروسکال والیس و mann-whitney، جهت مقایسه یافته‌های آزمایش به روش ADT (Agar diffusion test) و از آنالیزهای کروسکال والیس، ویلکاکسون و من ویتنی جهت مقایسه‌ی یافته‌های آزمایش به روش DCT (Direct contact test) در سطح معنی‌داری $\alpha = ۰/۰۵$ استفاده شد.

یافته‌ها

روش انتشار آگار: یافته‌های آزمون انتشار در آگار (میانگین قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی) در جدول ۱ گزارش شده است.

آزمون کروسکال والیس در آزمایش انتشار در محیط آگار، میان میانگین قطر هاله‌های عدم رشد قارچ سیلرهای تازه تهیه شده AH-Plus، RoekoSeal، Multi-Cal، tg-sealer و MTA Fillapex با یک‌دیگر تفاوت معنی‌داری نشان داد (در تمامی موارد p value = ۰/۰۴۸).

نتایج آزمون انتشار آگار نشان داد که خاصیت ضد قارچی سیلر Multi-Cal در برابر کاندیدا آلبیکانس از همه سیلرها بیش‌تر (۱۲/۶۰ ± ۰/۳۶) و سیلرهای RoekoSeal از همه کم‌تر است (۲/۱۷ ± ۴/۸۸) اما تفاوت سیلر RoekoSeal جز با Multi-Cal در سایر موارد معنی‌دار نشد (جدول ۲).

روش تماس مستقیم: یافته‌های آزمایش در مورد روش تماس مستقیم که در جدول ۳ گزارش شده است.

جدول ۱. میانگین میزان قطر هاله‌های عدم رشد قارچی (بر حسب میلی‌متر) در گروه‌های مختلف

سیلر	میانگین(میلی‌متر)*	انحراف معیار
Multi-Cal	۱۲/۶۰	۰/۳۶
AH-Plus	۷/۶۶	۰/۹۱
tg-sealer	۷/۱۰	۰/۸۶
MTA Fillapex	۷/۲۹	۰/۳۲
RoekoSeal	۴/۸۸	۲/۱۷

* قطر چاهک‌های ایجاد شده در محیط کشت برابر ۶ میلی‌متر بود.

جدول ۲. مقایسه خاصیت ضد قارچی سیلرها براساس آزمون Mann-Whitney

سیلرهای مورد مطالعه	p value
tg-sealer – AH-Plus	۰/۲۷۵
MTA Fillapex – AH-Plus	۰/۵۱۳
RoekoSeal – AH-Plus	۰/۱۲۷
MTA Fillapex – tg-sealer	۰/۸۲۷
RoekoSeal – tg-sealer	۰/۱۲۷
RoekoSeal – MTA Fillapex	۰/۱۲۷
Multi-Cal – AH-Plus	۰/۰۵
tg-sealer – Multi-Cal	۰/۰۵
MTA Fillapex – Multi-Cal	۰/۰۵
RoekoSeal – Multi-Cal	۰/۰۵

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار لگاریتم CFU بر میلی‌لیتر گروه‌های سیلری مختلف و گروه کنترل در زمان‌های ۶، ۱۵، ۶۰ دقیقه مجاورت با کاندیدا آلبیکانس

سیلر		لگاریتم CFU/ml در ۶ دقیقه	لگاریتم CFU /ml در ۱۵دقیقه	لگاریتم CFU /mlدر ۶۰ دقیقه
Multi-Cal	میانگین	۰	۱۵	۱۱۵
	انحراف معیار	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
AH-Plus	میانگین	۰	۳۲	۱۶۰
	انحراف معیار	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
tg-sealer	میانگین	۳۵	۲	۲۳
	انحراف معیار	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
MTA Fillapex	میانگین	۲	۵۲	۱۲
	انحراف معیار	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
RoekoSeal	میانگین	۱۱	۶۶	۱۶۸
	انحراف معیار	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

سیلر MTA Fillapex در زمان ۶۰ دقیقه، کم‌ترین میزان تعداد کلونی‌های باقی‌مانده در میلی‌لیتر پس از مجاورت مستقیم با کاندیدا آلبیکانس را، به‌خود اختصاص داد. اما در زمان ۶ دقیقه سیلرهای Multi-Cal و AH-Plus و در زمان ۱۵ دقیقه سیلر tg-sealer کم‌ترین تعداد کلونی را تشکیل دادند. آزمون آماری کروسکال والیس بین میانگین‌های لگاریتم CFU بر میلی‌لیتر سیلرها با یک‌دیگر در سه دوره‌ی زمانی این مطالعه، اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد ($p\ value_{6,15}$ = ۰/۲۲۵ و $p\ value_{6,60}$ = ۰/۱۳۸ و $p\ value_{15,60}$ = ۰/۱۳۸).

سیلر RoekoSeal به‌جز در زمان ۶ دقیقه، کم‌ترین اثر ضد قارچی را نسبت به گروه‌های دیگر سیلری مورد مطالعه با اختلاف آماری معنی‌دار از خود نشان داد (در همه موارد ۰/۰۰۱ > p value).

بحث

مطالعات نشان داده‌اند که میکروارگانیسم‌ها بعد از پاک‌سازی مکانیکی و شیمیایی در نواحی غیر قابل دسترس کانال باقی می‌مانند[۱۱، ۲، ۱]. از جمله میکروارگانیسم‌های مقاوم به درمان که شیوع بالایی در موارد شکست خورده درمان ریشه دارند، قارچ کاندیدا آلبیکانس است. این قارچ به‌علت مهارت در چسبندگی به عاج و توانایی باقی ماندن در کانال دندان می‌تواند منجر به بروز یک عفونت ثانویه بعد از انجام پروسه درمان ریشه گردد. لذا اثر ضد قارچی سیلرها، به‌عنوان یک فاکتور مکمل و مؤثر در حذف و یا کاهش میکروارگانیسم‌های باقی‌مانده در کانال و جلوگیری از رشد دوباره آن‌ها بعد از درمان ریشه اهمیت دارد[۱۵].

هدف از پر کردن سه بعدی کانال این است که ماده پرکننده بتواند از ورود و یا خروج میکروارگانیسم‌ها از کانال ریشه جلوگیری نموده[۸]، از طرفی باکتری‌های باقی‌مانده در کانال را هم از بین ببرد و یا حداقل مانع تکثیر آن‌ها شود[۱۶]. لذا حضور اجزای ضد میکروبی در ترکیب سیلر یک فاکتور مهم جهت رسیدن به این هدف می‌باشد[۱۶]. اثر ضد میکروبی سیلرها بیش‌تر توسط دو روش انتشار در محیط آگار (ADT) و تماس مستقیم (DCT) ارزیابی می‌گردد[۱۸، ۱۷، ۱۲]. روش ADT از رایج‌ترین و ساده‌ترین روش‌هاست که برای ارزیابی سیلرهای تازه تهیه شده به‌کار می‌رود که دارای معایبی نیز هست. از جمله این معایب وابسته بودن خاصیت ضد قارچی به قدرت انتشار سیلر در محیط آگار و عدم تماس مستقیم تمام نواحی سیلر با میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. بنابراین روش DCT برای حل مشکلات موجود در روش ADT پیشنهاد شده است[۱۷]. نتایج این پژوهش به روش ADT نشان داد که سیلر Multi-Cal نسبت به سایر سیلرها، اثر ضد قارچی بیش‌تری را در برابر کاندیدا آلبیکانس دارد. علت این یافته را احتمالاً می‌توان به حضور اجزاء ضد قارچی موجود در ساختار آن نسبت داد. سیلر AH-Plus در رتبه دوم و MTA Fillapex در رتبه سوم اثر ضد قارچی قرار داشتند.

Cavalcanti و همکاران[۱۹] به بررسی اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی سیلرهای Fill Canal®، Sealer 26®، Hydro

Archive of SID
www.SID.ir

®C و CH paste به روش ADT پرداختند. روش مورد استفاده در این مطالعه از شایع‌ترین روش‌های اندازه‌گیری فعالیت ضد میکروبی سیلرها به‌شمار می‌آید. از اشکالات بزرگ این روش آن است که قطر هاله عدم رشد با خاصیت ضدمیکروبی سیلر ارتباط مشخصی ندارد، بلکه اندازه‌ی این هاله به شدت تحت تأثیر میزان انتشار مواد در محیط کشت است. نتایج به‌دست آمده توسط آن‌ها نشان داد که تمام مواد توانایی ایجاد هاله عدم رشد را دارا می‌باشند. اما در این میان Fill Canal بیش‌ترین قطر هاله عدم رشد را در برابر قارچ کاندیدا از خود نمایان ساخت. هیچ‌کدام از سیلرها قطر هاله عدم رشد بزرگ‌تری از CH Paste در برابر *streptococcal species* از خود نشان ندادند[۱۹].

نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعه Cavalcanti و همکاران[۱۹] همخوانی دارد و تمامی سیلرهای مورد بررسی در مطالعه‌ی حاضر از خود فعالیت ضد قارچی نشان داده و هاله عدم رشد قارچی در اطراف آن‌ها تشکیل گردید، اما با توجه به نقایص این روش از تست تماس مستقیم (DCT) نیز استفاده شد.

جهت بررسی مقایسه اثر ضد قارچی سیلرها به روش تماس مستقیم، زمان ۶۰ دقیقه بعد از مجاورت در نظر گرفته شد، زیرا در زمان‌های ۶ و ۱۵ دقیقه احتمالاً سیلرها، هنوز فرصت کافی جهت تأثیر بر قارچ مقاوم کاندیدا آلبیکانس را ندارد. از آن‌جا که دینامیک فعالیت ضد قارچی هر کدام از سیلرها به‌طور جداگانه در طول مدت آزمایش نیز دارای اهمیت بود، این مطالعه در سه دوره زمانی متوالی ۶ ، ۱۵ و ۶۰ دقیقه صورت پذیرفت. بر خلاف آزمون انتشار در آگار بعد از ۶۰ دقیقه از تماس مستقیم سیلرها با قارچ، سیلر MTA Fillapex بیش‌ترین اثر ضدقارچی را نسبت به سایر سیلرها از خود نشان داد و پس از آن tg-sealer قرار داشت. بنابراین می‌توان گفت در روش تماس مستقیم، سیلر MTA Fillapex قابلیت ضد قارچی بالاتری نسبت به سایر سیلرها پس از ۶۰ دقیقه در مقابل قارچ کاندیدا آلبیکانس داشت، در حالی‌که سیلرهای AH-Plus، Multi-Cal و RoekoSeal پس از گذشت این زمان تعداد بسیار بیش‌تری کلونی را تشکیل دادند. هم‌چنین نکته قابل ذکر و مهم دیگر فعالیت ضد قارچی ضعیف سیلر RoekoSeal بود که در هر دو روش آزمون فعالیت ضد قارچی این سیلر در بین سیلرهای مورد مطالعه در رتبه آخر قرار گرفت.

Ozcan و همکاران[۲۰] در سال ۲۰۱۳ مطالعه آزمایشگاهی بر روی اثر ضد قارچی سیلرهای MTA Fillapex، GuttaFlow، iRoot SP و AH-Plus در برابر قارچ *Candida Albicans* به انجام رساندند. روش مورد استفاده آن‌ها روش تماس مستقیم سیلر و قارچ در دو حالت تازه مخلوط شده و ست شده به مدت یک تا هفت روز بود. پس از آن‌که محیط‌های کشت به‌مدت ۴۸ ساعت در دستگاه Incubator قرار گرفتند تعداد واحدهای کلونی تشکیل شده شمرده شد. GuttaFlow از بین سیلرهای مورد بررسی هیچ‌گونه فعالیت ضد قارچی از خود نشان نداد در حالی‌که AH-Plus تازه مخلوط گردیده بالاترین فعالیت ضد قارچی را داشت. سیلرهای تازه مخلوط گردیده iRoot SP و MTA نیز از خود فعالیت ضد قارچی نشان دادند. نکته قابل توجه دیده شدن اختلاف معنی‌دار میان حالت تازه مخلوط شده و ست شده‌ی آن‌ها بود. در حالت ست شده‌ی سیلرها تفاوت معنی‌داری بین سیلرهایی که یک روز از زمان ست شدن و ۷ روز از زمان ست شدن آن‌ها گذشته بود مشاهده نگردید[۲۰].

نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعه Ozcan و همکاران[۲۰] در خصوص فعالیت ضد قارچی MTA Fillapex همخوانی دارد و در مطالعه‌ی حاضر MTA Fillapex بیش‌ترین اثر ضد قارچی را در بین سیلرهای مورد بررسی در آزمون تماس مستقیم نشان داد، اما نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعه Ozcan و همکاران[۲۰] در خصوص اثر ضد قارچی AH-Plus متفاوت بود. علت این تفاوت‌ها می‌تواند به تفاوت در محتوای سیلرهای مورد بررسی در بازارهای مختلف جهانی، خطای کارخانه‌ای و تفاوت در زمان‌های مورد بررسی اثر ضد قارچی مربوط باشد. زیرا در مطالعه‌ی حاضر AH-Plus در زمان‌های ۶ و ۱۵ دقیقه اثر ضدقارچی بیش‌تری نسبت به MTA Fillapex نشان داد، اما در زمان ۶۰ دقیقه خاصیت ضد قارچی آن به شکل محسوسی کاهش یافت. از این رو تفاوت در زمان اندازه‌گیری خاصیت ضد قارچی سیلرها دلیلی برای تفاوت نتایج دو مطالعه با یک‌دیگر است. بنابراین می‌توان گفت AH-Plus خاصیت ضد قارچی مطلوبی در اوایل استفاده در کانال از خود نشان

Archive of SID
www.SID.ir

می‌دهد و مانع تشکیل کلونی‌های قارچ می‌گردد، در حالی‌که MTA Fillapex در ابتدا فعالیت ضد قارچی اندکی دارد و در طولانی مدت فعالیت آن بهتر می‌شود.

در پایان باید به این نکته اشاره نمود که یک سیلر ممکن است در حالت تازه تهیه شده و حالت ست شده به‌طور قابل ملاحظه‌ای فعالیت ضد قارچی متفاوتی را از خود نشان دهد، بنابراین پیشنهاد می‌شود اثر ضد قارچی هر سیلر در هر دو حالت تازه تهیه شده و ست شده مورد ارزیابی قرار گیرد. هم‌چنین در مورد ارزیابی خواص سیلرهای جدید، بنا به پیشنهاد محققین بهتر است به بیش از یک روش آزمایشی متوسل شد[۱۰]. از مزایای این مطالعه، بررسی اثر ضد قارچی ۵ نوع از سیلرهای جدید موجود در بازار ایران به‌صورت هم‌زمان با دو روش مستقیم و غیرمستقیم و مقایسه اثرات آن‌ها با یک‌دیگر بود. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به آزمایشگاهی بودن آن و فقدان مطالعات مشابه داخلی و خارجی بر روی اثر ضد قارچی برخی از سیلرهای بررسی شده در این پژوهش اشاره کرد. از این رو پیشنهاد می‌گردد مطالعات مشابهی بر روی اثر ضد قارچی دیگر سیلرهای موجود در بازار انجام و نتایج آن‌ها با مطالعه حاضر مقایسه گردد.

نتیجه‌گیری

در روش انتشار آگار (ADT) برای سیلرهای تازه تهیه شده حداکثر فعالیت ضد قارچی مربوط به سیلر Multi-Cal و در روش تماس مستقیم (DCT) برای سیلرهای ست شده حداکثر خاصیت ضد قارچی را سیلر MTA Fillapex نشان داد. در هر دو روش سیلر RoekoSeal حداقل فعالیت ضد قارچی را از خود نمایان ساخت.

References

1. Hargreaves KM, Cohen S, Berman LH. Cohen`s pathways of the pulp. 10th ed. St. Louis: Mosby Elsevier; 2011. p. 260-65,331,358-62,559-65,582.
2. Pinheiro E, Gomes BP, Ferraz CC, Sousa EL, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. Int Endod J 2003; 36(1): 1-11.
3. 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.
4. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of Candida albicans in infections of endodontic origin. J Endod 2000; 26(12): 695-8.
5. Siqueira JF Jr, Sen BH. Fungi in endodontic infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004; 97(5): 632-41.
6. Valera MC, Maekawa LE, de Oliveira LD, Jorge AO, Shygei É, Carvalho CA. In vitro antimicrobial activity of auxiliary chemical substances and natural extracts on Candida albicans and Enterococcus faecalis in root canals. J App Oral Sci 2013; 21(2): 118-23.
7. Dumani A, Yoldas O, Yilmaz S, Koksal F, Kayar B, Akcimen B, et al. Polymerase chain reaction of enterococcus faecalis and candida albicans in apical periodontitis from Turkish patients. J ClinExp Dent 2012; 4(1): e34-9.
8. Endo MS, Ferraz C, Zaia AA, Almeida J, Gomes B. Quantitative and qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection: Monitoring of the endodontic retreatment. Eur J Dent 2013; 7(3):302-9.
9. Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, de Moraes IG, Garcia RB, et al. Antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on intratubular Candida albicans. Int J Oral Sci 2013; 5(1): 32-6.
10. Ingle JI, Baumgartner JC. Ingle's endodontics 6. Lewiston, NY: BC Decker; 2008. p. 1030-40.
11. Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. Int Endod J 2011; 44(12): 1128-33.
12. Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J Endod 2000; 26(7): 391-4.
13. Desai S, Chandler N. Calcium hydroxide-based root canal sealers: a review. J Endod 2009 Apr; 35(4): 475-80.
14. Saha S, Samadi F, Jaiswal JN, Ghoshal U. Antimicrobial activity of different endodontic sealers: an in vitro evaluation. J Indian Soc Pedod Prev Dent 2010; 28(4): 251-7.
15. Ingle JI, Bakland LK, Baumgartenr JC. Ingle`s endodontics. Lewiston, NY: BC Decker; 2008. p. 1019-29.
16. Senges C, Wrbas K-T, Altenburger M, Follo M, Spitzmüller B, Wittmer A, et al. Bacterial and candida albicans adhesion on different root canal filling materials and sealers. J Endod 2011; 37(9): 1247-52.
17. Tabrizizadeh M, Mohammadi Z. In vitro evaluation of antibacterial activities of root canal sealers. J Clin Dent 2005; 16(4): 114-6.

Archive of SID
www.SID.ir

18. Gjorgievska E, Apostolska S, Dimkov A, Nicholson JW, Kaftandzieva A. Incorporation of antimicrobial agents can be used to enhance the antibacterial effect of endodontic sealers. Dent Mater 2013; 29(3): e29-34.
19. 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; 1(3): 164-7.
20. Ozcan E, Yula E, Arslanoglu Z, Inci M. Antifungal activity of several root canal sealers against Candida albicans. Acta Odontol Scand 2013; 71(6): 1481-5.

Archive of SID

www.SID.ir

In vitro evaluation of the antifungal activity of five endodontic sealers

Hamid Razavian, Reza Javari Shehni, Seyed Mohsen Hasheminia*, Fariba Heidari

Abstract

Introduction: *One of the important characteristics of endodontic sealers is their antifungal activity. The purpose of this study was to compare the antifungal activity of following sealers: MTA Fillapex, tg-sealer, Multi-Cal, AH-Plus, RoekoSeal against Candida albicans, by two different direct and indirect methods.*

Materials and Methods: *In this experimental study, the agar diffusion test (ADT) (the indirect method) was used to compare the antifungal activity of freshly mixed sealers against a standard strain of C. albicans. Each sealer was placed in a well prepared in the middle of agar plates, in contact with C. albicans. After incubation, the diameter of the zone of inhibition of fungal growth was measured by caliper. In direct contact test (DCT), to evaluate the antifungal activity of sealers after setting, suspensions containing the powdered sealer and C. albicans were cultivated on agar plates after 6, 15 and 60 minutes and incubated. Colony-forming units (CFU/mL) were calculated after incubation. Data were analyzed with SPSS 20 using one-way ANOVA, repeated-measures ANOVA and t-test (α = 0.05).*

Results: *ADT method for freshly mixed sealers showed that the antibacterial activity of Multi-Cal against C. albicans was significantly higher than the other sealers (p value < 0.001). However, in DCT method for set sealers, MTA Fillapex exhibited the maximum antifungal effect against C. albicans (p value < 0.05). The silicone sealer RoekoSeal had the least antifungal activity in both techniques (p value < 0.05).*

Conclusion: *The sealers Multi-Cal and MTA Fillapex exhibited the highest with ADT and DCT techniques, respectively. RoekoSeal exhibited the least antifungal activity with both techniques.*

Key words: *Candida albicans, Root canal therapy, Sealer*

Received: 11 Apr, 2014 **Accepted:** 6 May, 2014

Address: Professor, Dental Materials Research Center, Department of Endodontics, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Email: hasheminia@dnt.mui.ac.ir

Citation: Razavian H, Javari Shehni R, Hasheminia SM, Heidari F. **In vitro evaluation of the antifungal activity of five endodontic sealers.** J Isfahan Dent Sch 2014; 10(4): 266-74.

Archive of SID

www.SID.ir