مقاله اصیل پژوهشی

مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان
۱۳۹۹: ۱۶(۳): ۲۵۴ تا ۲۶۳

Archive of SID

ارزیابی اثر آنتی‌میکروبیال مخلوط زینک اکساید اوژنول و نانو سیلوردر برابر باکتری‌های شایع در کانال دندان‌های شیری با پالپ نکروز

سکینه شیرعلی[۱]
شهرزاد جوادی‌نژاد[۲]
آرزو طهمورث‌پور[۳]

۱. دستیار تخصصی گروه کودکان، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
۲. **نویسنده مسؤول:** گروه دندان‌پزشکی کودکان، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)،اصفهان، ایران.
Email: sharzad1618@yahoo.com
۳. گروه میکروب‌شناسی، گروه علوم پایه‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.

چکیده

مقدمه: خاصیت ضد عفونی کننده‌ی مواد پرکننده‌ی کانال ریشه در روش پالپکتومی، جهت حذف عوامل بیماری‌زای باقی‌مانده از کانال، بسیار مهم به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر آنتی‌میکروبیال مخلوط زینک‌اکساید اوژنول و درصدهای مختلف نانوسیلور در برابر باکتری‌های شایع در کانال دندان‌های شیری با پالپ نکروز بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی، خاصیت ضد میکروبی ترکیب نانوسیلور با غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ درصد) و ZOE با روش تست تماس مستقیم بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای مورد بررسی قرار گرفت. نانوسیلور با درصدهای مختلف در ترکیب با ZOE آماده شد، سپس در میکروپلیت قرار گرفت. سوسپانسیون استاندارد باکتری انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای در مجاورت نمونه‌ها قرار داده و محیط کشت بی‌اچ‌آی‌براث بر روی گروه‌ها افزوده شد. پس از ۱ ساعت، ۱ روز، ۲ روز و ۷ روز از هر چاهک، محیط کشت برداشته و به نرمال‌سالین افزوده گردید و رقت‌های مورد نظر به دست آمد و بر روی محیط کشت بی‌اچ‌آی آگار کشت داده شد. در نهایت تعداد کلنی‌های رشد یافته شمارش و داده‌های مطالعه با استفاده از آزمون‌های آماری واریانس دوطرفه و سه طرفه در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی۲۲ تحلیل شد ($\alpha = ۰/۰۵$).

یافته‌ها: میانگین تعداد کلنی‌ها در تمام غلظت‌های مخلوط زینک‌اکساید اوژنول و نانوسیلور در برابر باکتری‌ها کاهش پیدا کرده و اختلاف معنی‌داری بود ($p\ value < ۰/۰۵$). میانگین تعداد کلنی‌ها در تمام غلظت‌ها با گذشت زمان نیز کاهش معنی‌داری داشت ($p\ value < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که افزودن نانوسیلور تا ۵ درصد به زینک‌اکساید اوژنول، باعث افزایش اثر ضد باکتریایی این ماده در برابر انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای می‌شود و این خاصیت آنتی‌باکتریال در طول زمان حفظ می‌گردد.

کلید واژه‌ها: زینک اکسایداوژنول سمان، عامل آنتی‌باکتریال، ذرات نانو، پالپکتومی

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱/۷ تاریخ اصلاح: ۱۳۹۹/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۷

استناد به مقاله: شیرعلی سکینه، جوادی‌نژاد شهرزاد، طهمورث‌پور آرزو. ارزیابی اثر آنتی‌میکروبیال مخلوط زینک اکساید اوژنول و نانو سیلوردر برابر باکتری‌های شایع در کانال دندان‌های شیری با پالپ نکروز. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۳۹۹؛ ۱۶(۳): ۲۵۴ - ۲۶۳.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پالپکتومی دندان‌های شیری، روش مناسبی برای نجات دندان‌های عفونی است، درصد موفقیت بالای این روش تا حد زیادی به میزان پاک‌سازی کانال، شستشوی کافی و نوع ماده‌ی استفاده شده در پر کردن کانال وابسته است (۲).

عفونت کانال ریشه‌ی دندان‌های شیری، طبیعت پلی‌میکروبیال داشته و باکتری‌های بی‌هوازی و استرپتوکوکوس گونه‌ی غالب آن می‌باشند (۳). در این میان، استرپتوکوکوس موتانس، اشرشیاکولای و انتروکوکوس فکالیس جزء شایع‌ترین باکتری‌هایی است که از کانال دندان‌های شیری عفونی جدا می‌شوند (۴).

به رغم آماده‌سازی مکانیکی و شستشوی کافی کانال، شانس شکست درمان پالپ در دندان شیری به علت وجود میکروارگانیسم‌های پنهان در فضای کانال به دلیل ماهیت پیچیده‌ی سیستم کانال ریشه وجود دارد (۵، ۶).

طیف وسیعی از مواد جهت انجام درمان پالپکتومی پیشنهاد شده است. در میان مواد استفاده شده در درمان پالپکتومی، ماده‌ی زینک‌اکساید اوژنول (ZOE) دارای سابقه‌ی طولانی به عنوان ماده‌ی پرکننده‌ی کانال ریشه می‌باشد. با اینکه تا حدودی این ماده برای بافت پری‌اپیکال محرک است، با این حال خواصی از جمله ثبات ابعادی مناسب، اتصال به بافت دندانی، محلولیت مناسب و خاصیت ضد میکروبی، این ماده را به گزینه‌ی مناسبی جهت درمان پالپکتومی تبدیل نموده است. اثر ZOE بر باکتری‌های موجود در ریشه‌ی دندان‌های شیری به اثبات رسیده است (۷). مواد محتوی زینک‌اکساید اوژنول به دلیل حضور اوژنول، دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. مطالعات آزمایشگاهی انجام شده، نشان دهنده‌ی برتری محسوس خاصیت ضد میکروبی مواد محتوی زینک‌اکساید اوژنول نسبت به سیلرهای رزینی و سیلرهای محتوی کلسیم هیدروکساید است (۸).

از طرفی خواص ضد میکروبی نانو ذرات نقره در سال‌های اخیر به خوبی شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفته است. این نانو ذرات در حوزه‌ی پزشکی و دندان‌پزشکی کاربرد گسترده‌ای داشته و موارد مصرفی ازجمله ترکیب با مواد دندانی، کاتاترهای قلبی، محلول‌های ضد عفونی، پانسمان‌های حاوی نانو ذرات و غیره دارد؛ کاهش اندازه‌ی ذرات نقره در حد نانو، ضمن افزایش اثرات ضد میکروبی این ماده باعث افزایش سازگاری زیستی و همچنین افزایش سطح مؤثر ماده‌ی نانوسیلور شده است (۹). این پارتیکل‌ها دارای اثر باکتریوسید و باکتریواستاتیک بر روی میکروارگانسیم‌ها و ویروس‌ها هستند (۱۰). مکانیسم عمل نانوذرات نقره نسبت به انواع دیگر ترکیبات نقره با توجه با اندازه‌ی کوچک و سطح بسیار وسیع این ذرات، مؤثرتر است. نانو ذرات نقره از طریق ترکیب با پروتئین‌های حاوی گوگرد در غشاء باکتری و همچنین ترکیبات حاوی فسفر از جمله DNA در داخل باکتری، باعث تداخل در عملکرد چرخه‌های تنفسی، تقسیم سلولی و در نهایت مرگ باکتری می‌شود (۱۱).

در چندین مطالعه، اثرات ترکیب ذرات نانوسیلور را با سایر مواد دارای خواص ضد میکروبی از جمله سمان گلاس آیونومر، سیلانت و فلوراید بررسی کرده‌اند. در این مطالعات مشخص شد که افزودن نانوسیلور به این مواد، باعث بهبود خواص آنتی‌میکروبیال نهایی ماده می‌شود. همچنین اثربخشی ذرات نانوسیلور از سایر ذرات همچون نانو ذرات روی یا طلا بر استرپتوکوکوس‌های دهانی که عامل اصلی بروز پوسیدگی‌های دندانی هستند، نیز بیشتر می‌باشد (۱۶-۱۲).

به نظر می‌رسد که اضافه کردن ماده‌ای با خصوصیات ضد میکروبی مانند نانوسیلور به ماده‌ی زینک‌اکساید اوژنول، باعث بهبود خواص آنتی‌میکروبیال این ماده می‌گردد، ولی مطالعات محدود و متناقض در این زمینه وجود دارد و استفاده‌ی بالینی از آن منوط به تحقیقات بیشتری می‌باشد.

با توجه به مطالب گفته شده، هدف از این پژوهش آزمایشگاهی، بررسی میزان خواص ضد میکروبی ترکیب درصدهای (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵) از ذرات نانوسیلور با سیلر زینک‌اکساید اوژنول در برابر انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای به روش تست تماس مستقیم (دی سی تی) بود. با این فرض که با افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت نانوسیلور و گذشت زمان خاصیت آنتی‌باکتریال زینک‌اکساید اوژنول افزایش پیدا نمی‌کند.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی (Experimental) و روش اجرای آن از نوع آزمایشگاهی (in vitro) بود و در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان اصفهان در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

تهیه‌ی سیلر حاوی نانوسیلور

برای تهیه‌ی ترکیب سیلر، ذرات نانوسیلور (Ag nano powder; Nanoshel LLC, Deleware, USA) با اندازه‌ی ذرات متوسط ۲۰ نانومتر و سیلر زینک اکساید اوژنول (Golchai, Alborz, Iran) استفاده شد. پودر زینک‌اکساید، بدون هیچ افزودنی به عنوان صفر درصد گرفته شد. سپس برای هر کدام از درصدهای مورد نیاز پودر زینک‌اکساید با ترازوی دیجیتال (Sartorius,Germany) وزن و بر اساس محاسبه به روش درصد وزنی- وزنی پودر نقره به آن اضافه شد.

ارزیابی آنتی‌باکتریال به روش تست تماس مستقیم (DCT) به معنی تست تماس مستقیم است که در این آزمون تأثیر ضد میکروبی ماده‌ی مورد نظر در هنگام تماس مستقیم با میکروارگانیسم هدف سنجیده می‌شود. یکی از مزایای این تکنیک، اندازه‌گیری تأثیر ضد میکروبی، بدون توجه به حلالیت و انتشار اجزای تشکیل‌دهنده‌ی سیلر می‌باشد. در ضمن تست تماس مستقیم برای ترکیباتی که حلالیت کمتری در آب دارند، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد.

میکروپلیت (Padtan Teb, Iran) به طور عمودی قرار گرفت و در دیواره‌ی هر چاهک میکروپلیت یک لایه‌ی نازک مساوی از مخلوط زینک‌اکساید اوژنول- نانوسیلور قرار داده شد. ۷ گروه شامل ۵ گروه مخلوط زینک‌اکساید اوژنول- نانوسیلور با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵) و ۱ گروه شاهد مثبت (باکتری انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولا) و ۱ گروه شاهد منفی (محیط کشت خالص) بود.

باکتری‌ها از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران با شماره‌ی ATCC۲۹۲۱۲ برای باکتری انتروکوکوس فکالیس و شماره‌ی ATCC۲۵۹۲۲ برای اشرشیاکولی و شماره‌ی ATCC۳۵۶۶۸ برای استرپتوکوکوس موتانس تهیه شد.

سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول باکتری انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای (استاندارد شده با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند) بر روی همه‌ی نمونه‌ها به جز گروه شاهد منفی قرار گرفت. پس از یک ساعت خشک شدن در انکوباتور (Memmert, Germany) (۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد)، ۲۵۰ میکرولیتر محیط کشت بی‌اچ‌آی براث (Biolife, Italy) بر روی هر ۷ گروه افزوده شد.

روش رقیق‌سازی

نمونه‌ها به مدت یک هفته در درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه قرار گرفته و در بازه‌های ۱ ساعت، ۱ روز، ۲ روز و ۷ روز (محیط کشت را به مدت ۱ دقیقه با سمپلر مخلوط کرده) و از هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر محیط کشت برداشته و به ۹۵۰ میکرولیتر نرمال‌سالین افزوده و رقت‌های مورد نظر را به دست آورده (10^{-1}-10^{-8}) و با روش قطره پلیت (۵ قطره، هر قطره ۱۰ میکرولیتر) بر روی محیط کشت بی‌اچ‌آی آگار (Biolife, Italy)، کشت داده شد.

روش محاسبه‌ی تعداد کلنی باکتری‌ها

تعداد کلنی‌های رشد یافته در هر رقت، شمارش گردید و شمارش کلنی در هر میلی‌لیتر (CFU/ml) (Mile liter, Colony-forming units) بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{CFU/ml} = \left(\frac{1}{\text{حجم مورد استفاده}}\right)\left(\frac{1}{\text{رقت مورد استفاده}}\right)(\text{تعداد کلنی})$$

یافته‌ها

در مخلوط زینک‌اکساید و نانوسیلور (باکتری موتانس) در همه‌ی زمان‌ها با افزایش غلظت، تعداد کلنی‌ها کاهش یافته و این تفاوت معنی‌دار بوده است ($p\ value < ۰/۰۵$ غلظت).

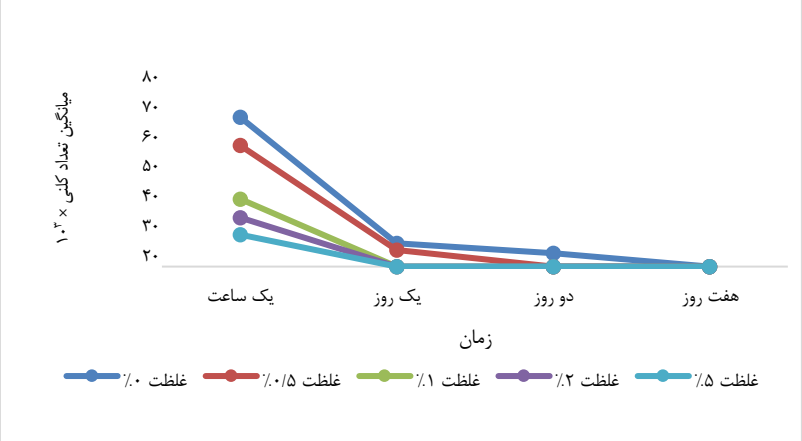
www.SID.ir

Archive of SID

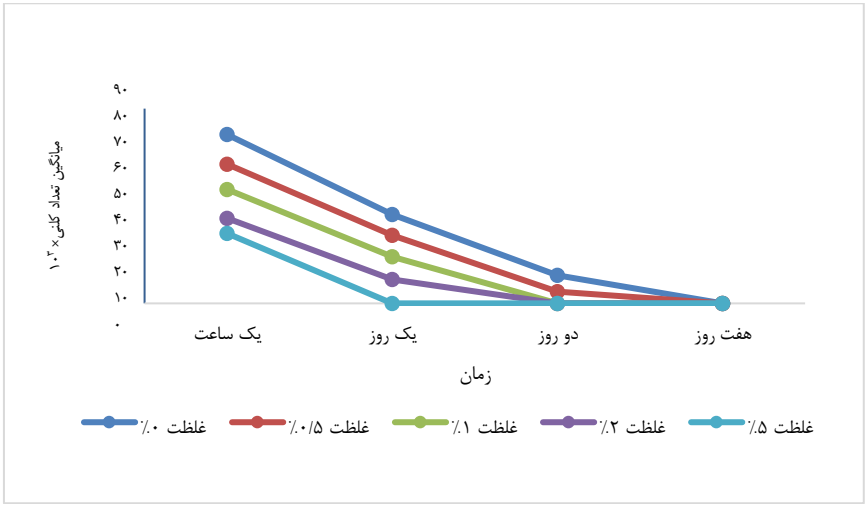
همچنین با گذر زمان، تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه، کاهش یافته و این تفاوت معنی‌دار بوده است (p value زمان < ۰/۰۵). همچنین نشان داده شد که در مخلوط زینک‌اکساید و نانوسیلور، حداکثر خاصیت آنتی‌باکتریال در (۱ روز بعد) با غلظت ۵ درصد دیده شد و این خاصیت با گذر زمان تا ۷ روز حفظ شده است (نمودار ۱).

در مخلوط زینک‌اکساید و نانوسیلور (باکتری اشرشیاکولای) در همه زمان‌ها با افزایش غلظت، تعداد کلنی‌ها کاهش یافته و این تفاوت معنی‌دار بوده است (۰/۰۵ > p value غلظت). همچنین با گذر زمان، تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه کاهش یافت و این تفاوت معنی‌دار بوده است (p value زمان < ۰/۰۵). از طرفی نشان داده شد که در مخلوط زینک‌اکساید و نانوسیلور، حداکثر خاصیت آنتی‌باکتریال در (۱ روز بعد) با غلظت ۵ درصد دیده شد و این خاصیت با گذر زمان تا ۷ روز حفظ شده است (نمودار ۲).

در مخلوط زینک اکساید و نانوسیلور (باکتری فکالیس) در همه‌ی زمان‌ها با افزایش غلظت، تعداد کلنی‌ها کاهش یافته و این تفاوت معنی‌دار بوده است (p value غلظت < ۰/۰۵). همچنین با گذر زمان، تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر نمونه، کاهش یافته است و این تفاوت معنی‌دار بود (p value زمان < ۰/۰۵). از طرفی نشان داده شد که در مخلوط زینک اکساید و نانوسیلور، حداکثر خاصیت آنتی‌باکتریال در (۲ روز بعد) با غلظت ۱ درصد دیده شد و این خاصیت با گذر زمان تا ۷ روز حفظ شده است (نمودار ۳).



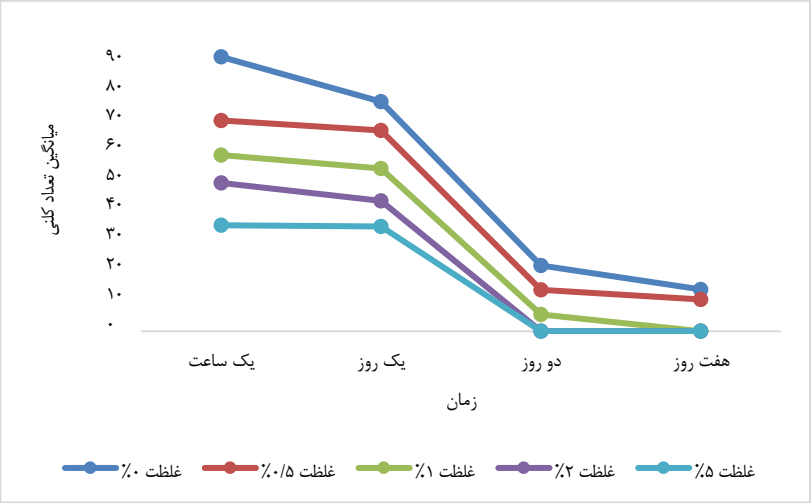
نمودار ۱: تعداد کلنی باکتری استرپتوکوکوس موتانس در برابر زینک‌اکساید در غلظت‌های مختلف نانوسیلور و زمان‌های مختلف



نمودار ۲: تعداد کلنی باکتری اشرشیاکولای در برابر زینک‌اکساید در غلظت‌های مختلف نانوسیلور و زمان‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳: تعداد کلنی باکتری انتروکوکوس فکالیس در برابر زینک‌اکساید در غلظت‌های مختلف نانوسیلور و زمان‌های مختلف

بحث

بر اساس این مطالعه، افزایش غلظت نانوسیلور باعث افزایش خاصیت آنتی‌باکتریال زینک‌اکساید شده است. همچنین با گذر زمان، خاصیت آنتی‌باکتریال ماده‌ی زینک‌اکساید افزایش پیدا می‌کند. در این مطالعه با ترکیب درصدهای (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵) ذرات نانوسیلور به سیلر زینک‌اکساید اوژنول، سعی در بررسی میزان اثربخشی و بهبود خواص ضد میکروبی این ماده‌ی اندودنتیک رایج و پرکاربرد در برابر انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای شده است. بر اساس نتیجه‌ی مطالعه، اثر آنتی‌میکروبیال زینک‌اکساید اوژنول با ترکیب نانوسیلور، بیشتر از ZOE به تنهایی بود. همچنین با افزایش غلظت پارتیکل‌های نانوسیلور، اثر ضد میکروبی افزایش پیدا کرد و بنابراین فرضیه‌ی صفر رد شد.

تست انتشار در آگار (ADT) و تست تماس مستقیم (DCT) دو تکنیک متداول برای ارزیابی اثر آنتی‌باکتریال سیلرها و مواد مختلف است. الگوی آزمایشگاهی مورد استفاده در این بررسی، DCT بود. کارآیی این الگو برای بررسی اثر ضد میکروبی انواع سیلر به خوبی نشان داده شده است (۱۷).

از طرفی الشامی (۱۸) در مطالعه‌ای برای روش آزمایشگاهی ADT، محدودیت‌های زیر را بیان داشت: ۱- برای داشتن شرایط یکسان، نیاز به کنترل درجه حرارت پلیت‌های آزمایشی است، ۲- احتمال کاهش یا عدم حلالیت مواد مورد آزمایش در پلیت آگار وجود دارد، ۳- میزان ضخامت آگار در نتایج آزمون تأثیرگذار است، ۴- نیاز به شکل و سایز کوچک مواد مورد آزمون می‌باشد، که این مسائل بر روی نتایج واقعی آزمایش تأثیرگذار خواهد بود و از طرفی در شرایط واقعی بدن، هدف از قرار دادن مواد ضد میکروبی داخل کانال، تأثیر مستقیم ماده بر روی میکروب‌های موجود در کانال ریشه می‌باشد، پس از روش DCT استفاده شد. DCT به معنی آزمون تماس مستقیم است که در این آزمون، تأثیر ضد میکروبی ماده‌ی مورد نظر در هنگام تماس مستقیم با میکروارگانیسم هدف سنجیده می‌شود. از مزایای این تکنیک، اندازه‌گیری تأثیر ضد میکروبی، بدون توجه به حلالیت و انتشار اجزای تشکیل‌دهنده‌ی سیلر می‌باشد. تست تماس مستقیم برای ترکیباتی که حلالیت کمتری در آب دارند بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد، در ضمن محدودیت‌های روش ADT را ندارد.

دلیل انتخاب روش آزمایشگاهی، بررسی دقیق‌تر تأثیر زینک‌اکساید اوژنول در ترکیب با غلظت‌های مختلف نانوسیلور بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای بود و دلیل کاربرد روی محیط کشت (نه دندان کشیده) این بود که باکتری‌های دیگر بر روی هم همپوشانی نکرده، احتمال خطا و برجای

www.SID.ir

Archive of SID

گذاشتن فضاهای مرده در کانال ریشه‌ی دندان وجود ندارد و دید و دسترسی آسان‌تر می‌شود. در کل در این مطالعه سعی بر آن شد که حداکثر شرایط آزمایش در همه‌ی گروه‌ها، یکسان باشد تا عوامل مخدوشگر به حداقل ممکن کاهش یابد.

در این مطالعه از غلظت‌های نانوسیلور (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ درصد) استفاده شده است، زیرا در مطالعات مختلف این غلظت‌ها لحاظ شده بودند (۱۹، ۲۰).

سیلرهای کانال ریشه باید بلافاصله بعد از مخلوط کردن و همچنین پس از یک دوره‌ی زمانی آزمایش شود، با این فرض که با گذشت زمان به ساختار شیمیایی نهایی خود رسیده‌اند. این قضیه وضعیت بالینی را شبیه‌سازی می‌کند، زیرا سیلر پس از مخلوط شدن در مرحله‌ی ناقص، وارد دهان می‌شود. پس از دوره‌ی ستینگ، مواد تشکیل‌دهنده‌ی آن ممکن است از سیلر آزاد شوند (۲۱). بنابراین زمان‌های ۱ ساعت و ۱، ۲ و ۷ روز بعد، در نظر گرفته شد، تا اثرات ضد باکتری مواد پس از ستینگ را ثبت کنیم.

در مطالعه‌ی حاضر، از سه نوع باکتری انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای استفاده شد. باکتری انتروکوکوس فکالیس، استرپتوکوکوس موتانس، جزء باکتری‌های گرم مثبت و باکتری اشرشیاکولای جزء باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. این باکتری‌ها جزء شایع‌ترین باکتری‌های هستند که از کانال ریشه‌ی عفونی دندان‌های شیری جدا می‌شود. از طرفی میکروارگانیسم‌های مانند انتروکوکوس فکالیس، اشرشیاکولای، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس به عنوان رفرنسی در تست‌های حساسیت آنتی‌باکتریال استفاده می‌شوند (۴).

ZOE بدون مخلوط نانوسیلور (۰ درصد) باعث کاهش تعداد کلنی هر سه باکتری شد، که در این میان، اثر آنتی‌باکتریال بیشتر بر روی موتانس سپس اشرشیاکولای و در آخر فکالیس بود. به عبارت دیگر، ZOE خالص، دارای اثر آنتی‌باکتریال می‌باشد. این یافته موافق با دیگر تحقیقات انجام گرفته بود، که بیان داشتند ZOE دارای عامل مؤثر آنتی‌باکتریال بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌باشد (۲، ۲۴).

کاکس و همکاران (۲۳) نیز نشان دادند، باکتری‌های گرم مثبت به ZOE حساس‌ترند و گرم منفی‌ها این حساسیت را ندارند، همچنین آن‌ها بیان کردند که ZOE بر روی اشرشیاکولای، اثر آنتی‌باکتریال ندارد. هر چند مطالعه‌ی ما نشان داد که ZOE بر روی اشرشیاکولای نیز خاصیت آنتی‌باکتریال دارد.

مطالعات مختلف این اثر مهاری ZOE را به خاطر وجود اوژنول دانسته و بیان کردند که مواد با بیس اوژنول در مقایسه با موادی که اوژنول ندارند، فعالیت آنتی‌میکروبیال بیشتری دارند (۲۳، ۲۴).

در مطالعه‌ی حاضر از مخلوط ZOE در ترکیب با درصدهای مختلف نانوسیلور استفاده گردید و نشان داده شد که میانگین شمارش تعداد کلنی‌ها با افزایش غلظت نانوسیلور در برابر هر سه باکتری کاهش می‌یابد. به عبارتی این مطالعه بیان داشت، تمامی غلظت‌های (۰/۵، ۱، ۲ و ۵) در کاهش رشد باکتری‌ها مؤثر بوده‌اند و با افزایش غلظت نانوسیلور، خاصیت آنتی‌باکتریال به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

الزیدی و همکاران (۲۰)، اثر آنتی‌میکروبیال سیلر کانال ریشه را بعد از اضافه کردن نانوسیلور در درصدهای مختلف در مقابل انتروکوکوس فکالیس به روش انتشار در آگار بررسی کردند. آن‌ها از سیلر Sultan که بر پایه‌ی زینک‌اکساید است استفاده کرده و نتیجه گرفتند که با افزایش غلظت نانوسیلور، خاصیت آنتی‌میکروبیال سیلر به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. این مطالعه همسو با مطالعه‌ی حاضر بود که نشان داد افزایش غلظت نانوسیلور، خاصیت آنتی‌باکتریال سیلر را افزایش می‌دهد.

هیراشی و همکاران (۱۱) اثر آنتی‌میکروبیال سیلوردیامین فلوراید ۳/۸ درصد در مقابل انتروکوکوس فکالیس و توانایی نفوذ آن در توبول‌های عاجی برای تشکیل نمک‌های نقره را بررسی کردند و نتیجه گرفتند، این ماده، پتانسیل آنتی‌باکتریال زمانی که به عنوان شستشودهنده و یا پانسمان استفاده می‌شود را دارد به ویژه در مکان‌های که تغییر رنگ سیاه و قهوه‌ای نگران‌کننده نیست. هر چند ماده‌ی اولیه‌ی این پژوهش با

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه‌ی ما متفاوت بود، ولی هر دو مطاله نشان دادند که نانوسیلور باعث بهبود خواص ضد میکروبی می‌شود.

مگالیس و همکاران (۹) نانوسیلور را به Sealpex به عنوان سمان اندودنتیک اضافه کرده و خاصیت آنتی‌باکتریال آن را بعد از ۴۸ ساعت بررسی کردند. آن‌ها از روش انتشار در آگار استفاده کرده و نتیجه گرفتند که این ماده حتی با اضافه کردن نانوسیلور خاصیت آنتی‌باکتریال ندارد.

حقگو و همکاران (۱۹) نیز در مطالعه‌ی خود نشان دادند، افزودن تا ۵ درصد نانوذرات نقره به زینک‌اکساید اوژنول، باعث افزایش معنی‌داری در اثر ضد باکتریایی این سیلر در برابر انتروکوکوس فکالیس، باکتری گرم مثبت بی‌هوازی نمی‌شود. نتایج این دو مطالعه با مطالعه‌ی حاضر همخوانی نداشت، این دو مطالعه از روش انتشار در آگار استفاده کردند. با توجه به تفاوت نتیجه بین مطالعه‌ی حاضر و مطالعات بیان شده، به نظر می‌رسد روش کار آزمایشگاهی (آزمون تماس مستقیم و روش انتشار دیسک) بر روی نتایج کار و الگوی آزادسازی عوامل آنتی‌باکتریال موجود در ماده اثرگذار است. تماس بالاتر بین باکتری‌ها و عوامل ضد باکتری در محیط کشت به خاصیت آنتی‌میکروبیال ماده کمک می‌کند.

سیلر اندودونتیک، باید یک اثر ضد میکروبی قوی و طولانی‌مدت برای از بین بردن میکروارگانیسم‌هایی که از وسایل کمومکانیکال جان سالم به در برده‌اند، داشته و میزان موفقیت درمان اندودنتیک را بهبود بخشند. در مطالعه‌ی حاضر در تمام گروه‌های باکتری (استرپتوکوکوس موتانس، اشرشیاکولای، انتروکوکوس فکالیس)، آزمون آماری نشان داد، میانگین شمارش کلنی در تمام غلظت‌های مخلوط زینک‌اکساید و نانوسیلور در گذر زمان کاهش معنی‌داری پیدا کرده و با گذشت زمان خاصیت آنتی‌باکتریال ماده حفظ می‌شود.

صمدی و همکاران (۲۵) و آنمولا و همکاران (۲۶)، در مطالعات خود بیان کردند، بیشتر سیلرها فعالیت ضد میکروبی خود را وقتی تازه مخلوط شده‌اند به نمایش می‌گذارند و میزان خاصیت ضد میکروبی سیلرها در گذر زمان افت می‌کند. اما ما در مطالعه‌ی خود متوجه افزایش چشمگیر خاصیت ضد میکروبی این سیلر در گذر زمان شدیم. تفاوت بین نتایج مطالعات می‌تواند به علت تکنیک، زمان و اجزاء مواد باشد که بر روی نتایج مطالعات میکروبیولوژی اثرگذار می‌باشد.

نتایج مطالعه‌ی ما همسو با مطالعه‌ی حقگو و همکاران (۱۹) بود، آن‌ها خاصیت آنتی‌باکتریال مخلوط ZOE و نانوسیلور را ارزیابی کردند و نتیجه گرفتند که قطر هاله‌ی عدم رشد دیسک‌ها بعد از یک هفته به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. که آن‌ها این اثر را به خاطر وجود نانوسیلور بیان نمودند.

الزیدی و همکاران (۲۰) نیز در مطالعه‌ی خود نتیجه گرفتند که سایز هاله‌ی عدم رشد کلاپس یا کاهش پیدا نکرد، حتی بعد از ستینگ کامل، این پیشرفت هاله‌ی عدم رشد، نشان دهنده‌ی خاصیت آنتی‌باکتریال سیلر بود.

این عدم کاهش خاصیت آنتی‌باکتریال، می‌تواند به علت وجود نانوسیلور باشد که از کاهش تدریجی اثر آنتی‌باکتریال این سیلر به مرور زمان جلوگیری می‌کند و موجب افزایش آن می‌شود. همچنین تشکیل رسوب نقره، باعث آزادسازی تدریجی یون نقره در طول زمان می‌شود که باعث بهبود خاصیت آنتی‌باکتریال و ضد قارچی مواد حاوی نقره می‌گردد.

از محدودیت‌های مطالعه این بود که، اندازه‌گیری بسیار دقیق سیلر جهت پخش کردن در میکروپلیت‌ها مشکل بود. همچنین تهیه‌ی پلیت محیط کشت، بدون آلوده شدن توسط باکتری‌های محیط، کاری بس دشوار بود.

برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود حساسیت آنتی‌باکتریال نسبت به ترکیب زینک‌اکساید اوژنول و نانوسیلور بر روی سویه‌های دیگر مؤثر بر عفونت‌های اندودنتیک بررسی شود. به علاوه، اثر سایتوتوکسیسیتی و سمیت نانوسیلور و میزان سازگاری زیستی این ماده جهت استفاده در موارد کلینیکی مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین مخلوط کردن نانوسیلور به سایر مواد پرکننده‌ی کانال ریشه‌ی دندان‌های شیری و بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال آن برای تحقیقات آتی پیشنهاد می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که سیلر زینک‌اکساید اوژنول به تنهای دارای خاصیت آنتی‌باکتریال می‌باشد. از طرفی با افزودن نانوذرات نقره در درصدهای (۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۵ درصد) به زینک‌اکساید اوژنول باعث افزایش اثر ضد باکتریایی آن بر روی انتروکوکوس فکالیس و استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکولای می‌شود، که این افزایش اثر آنتی‌باکتریال، معنی‌دار است. همچنین افزودن نانوذرات نقره از کاهش تدریجی اثر آنتی‌باکتریال زینک‌اکساید اوژنول به مرور زمان جلوگیری می‌کند و خاصیت آنتی‌باکتریال آن در طول زمان حفظ می‌شود.

References

1. Reddy S, Ramakrishna Y. Evaluation of antimicrobial efficacy of various root canal filling materials used in primary teeth: a microbiological study. J Clin Pediatr Dent 2007; 31(3): 193-8.
2. Tchaou WS, Turng BF, Minah GE, Coll JA. In vitro inhibition of bacteria from root canals of primary teeth by various dental materials. Pediatr Dent 1995; 17(5): 351-5.
3. Pazelli LC, Freitas AC, Ito IY, Souza-Gugelmin MC, Medeiros AS, Nelson-Filho P. Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. Pesqui Odontol Bras 2003; 17(4): 367-71.
4. Hegde S, Lala PK, Dinesh RB, Shubha AB. An in vitro evaluation of antimicrobial efficacy of primary root canal filling materials. J Clin Pediatr Dent 2012; 37(1): 59-64.
5. American Academy of Pediatric Dentistry. Guideline on pulp therapy for primary and young permanent teeth. Pediatr Dent 2009; 31(6): 179-86.
6. Bodrumlu E, Semiz M. Antibacterial activity of a new endodontic sealer against Enterococcus faecalis. J Can Dent Assoc 2006; 72(7): 637.
7. Gomes BP, Pedroso JA, Jacinto RC, Vianna ME, Ferraz CC, Zaia AA, et al. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. Braz Dent J 2004; 15(1): 30-5.
8. Hoelscher AA, Bahcall JK, Maki JS. In vitro evaluation of the antimicrobial effects of a root canal sealer-antibiotic combination against Enterococcus faecalis. Journal of endodontics 2006; 32(2):145-7.
9. Magalhães AP, Santos LB, Lopes LG, Estrela CR, Estrela C, Torres ÉM, Bakuzis AF, Cardoso PC, Carrião MS. Nanosilver application in dental cements. International Scholarly Research Notices 2012; 2012: 6.
10. Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc 2000; 131(7): 887-99.
11. Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tagami J, Tay FR. Antimicrobial efficacy of 3.8% silver diamine fluoride and its effect on root dentin. J Endod 2010; 36(6): 1026-9.
12. Haghgoo R, Ataie M, Rezvani MB, Labibzadeh A. Evaluation of the effect of conventional varnish and nano-silver containing varnish on microleakage of amalgam restoration. Daneshvar Medicine 2013; 20(1): 85-90. [In Persian].
13. Sadeghi R, Owlia P, Rezvani MB, Taleghani F, Sharif F. An in-vitro comparison between antimicrobial activity of nanosilver and chlorhexidine against Streptococus sanguis and Actinomyces viscosus. Majallah-I-Dandanpizishki 2011; 23(4): 225-31. [In Persian].
14. Niakan M, Abbasi F, Hamedi R, Aliasghar E, Najafi F, Fatemi M. Evaluation of the antimicrobial effects of dental disinfectant solutions with Nano silver on oral current bacteria. J Res Dent Sci 2011; 8(2): 75-81. [In Persian].
15. Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén AD, Tapia-Pérez H, Castañón GM. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2008; 4(3): 237-40.
16. Salas-López EK, Pierdant-Pérez M, Hernández-Sierra JF, Ruíz F, Mandeville P, Pozos-Guillén AJ. Effect of silver nanoparticle-added pit and fissure sealant in the prevention of dental caries in children. Journal of Clinical Pediatric Dentistry 2017; 41(1): 48-52.
17. Heyder M, Kranz S, Völpel A, Pfister W, Watts DC, Jandt KD, et al. Antibacterial effect of different root canal sealers on three bacterial species. Dent Mater 2013; 29(5): 542-9.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Al-Shwaimi E. Evaluation of antimicrobial effect of root canal sealers. Pakistan Oral & Dental Journal 2011; 31(2): 432-5.
19. 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; 18(3): 177-81.
20. Alzaidy FA, Khalifa AK, Emera RM. The antimicrobial efficacy of nanosilver modified root canal sealer. European Journal of Research in Medical Sciences 2018; 6(1): 1-6.
21. Cobankara F, Altinoz H, Erganis O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. Journal of Endodontics 2004; 30(1): 57-60.
22. Wu D, Fan W, Kishen A, Gutmann JL, Fan B. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against Enterococcus faecalis biofilm. J Endod 2014; 40(2): 285-90.
23. Cox ST Jr, Hembree JH Jr, McKnight JP. The bactericidal potential of various endodontic materials for primary teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1978; 45(6): 947-54.
24. Navit S, Jaiswal N, Khan SA, Malhotra S, Sharma A, et al. Antimicrobial efficacy of contemporary Obturating materials used in primary teeth-an in-vitro study. J Clin Diagn Res 2016; 10(9): ZC09-ZC12.
25. Smadi L, Khraisat A, Al-Tarawneh SK, Mahafzah A, Salem A. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of nine root canal sealers: direct contact test. Odontostomatol Trop 2008; 31(124): 11-8.
26. 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.

www.SID.ir

Archive of SID

Antimicrobial Effect of Zinc Oxide Eugenol Mixed with Nanosilver on Commonly Isolated Bacteria from the PrimaryRoot Canals with Necrotic Pulp

Sakineh Shirali[1]
Shahrzad Javadinejad[2]
Arezo Tahmoraspour[3]

1. Post Graduate Student, Department of Pediatric Dentistry, Dental School, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran.
2. **Corresponding Author:** Department of Pediatric Dentistry, Dental School, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran. **Email:** sharzad1618@yahoo.com
3. Department of Basic Medical Sciences, Islamic Azad University, Khorasgan Branch, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: The disinfecting effect of root filling materials used in pulpectomy is imperative for the elimination of residual pathogenic microorganisms from the root canal system. This study aimed to assess the antimicrobial effect of ZOE mixed with different concentrations of nanosilver on bacteria commonly isolated from the primary teeth with necrotic pulp.

Materials & Methods: This in vitro study evaluated the antimicrobial effect of ZOE mixed with 0%, 0.5%, 1%, 2%, and 5% concentrations of nanosilver on Enterococcus faecalis (E. faecalis), Streptococcus mutans (S. mutans), and Escherichia coli (E. coli) using the direct contact test. Nanosilver was mixed at different concentrations with ZOE and applied to microplates. Suspensions of standard strains of E. faecalis, S. mutans, and E. coli were prepared and exposed to the mixtures. Brain heart infusion broth was also added. Samples of the culture medium were taken from the wells after1 hour and 1, 2, and 7 days and added to a saline solution to obtain the respective dilutions and cultured on brain heart infusion agar. Finally, the number of colonies was counted. Data were analyzed with two-way and three-way ANOVA using SPSS 22 ($\alpha = 0.05$).

Results: The mean colony counts significantly decreased following exposure to different concentrations of nanosilver mixed with ZOE, with significant differences between the groups (p value < 0.05). The mean colony counts significantly decreased over time at all the concentrations (p value < 0.05).

Conclusion: The results showed that the incorporation of nanosilver by up to 5% to ZOE enhanced its antibacterial activity against E. faecalis, S. mutans, and E. coli. Moreover, the mixtures retained their antibacterial property over time.

Key words: Antibacterial agents, Nanoparticles, Pulpectomy, Zinc oxide-eugenol cement.

Received: 26.3.2020 **Revised**: 21.6.2020 **Accepted:** 28.7.2020

How to cite: Shirali S, Javadinejad Sh, Tahmoraspour A. Antimicrobial Effect of Zinc Oxide Eugenol Mixed with Nanosilver on Commonly Isolated Bacteria from the PrimaryRoot Canals with Necrotic Pulp. J Isfahan Dent Sch 2020; 16(3): 254-263.

www.SID.ir