

بررسی اثر ضد میکروبی مینرال تری اکساید اگریگیت (MTA) مخلوط شده با غلظت‌های مختلف یداین پتاسیم دیدید با استفاده از باکتری‌های مختلف در روش مستقیم و غیر مستقیم

۱: دستیار تخصصی دندان پزشکی کودکان، کمیته‌ی پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.
۲: استاد، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، گروه اندودنتیکس، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳: نویسنده مسؤو: استادیار، مرکز تحقیقات مواد دندان، گروه اندودنتیکس، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. Email: razavian@dnt.mui.ac.ir

لیاسادات طباطبائی راد^۱
مسعود ساعتچی^۲
سیدحمید رضویان^۳

چکیده

مقدمه: MTA (mineral trioxide aggregate) یکی از مواد پرکاربرد در درمان ریشه می‌باشد. یکی از مهمترین ویژگی‌ها در مواد پرکننده‌ی انتهای ریشه، اثر ضد میکروبی آن می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر ضد میکروبی MTA در ترکیب با غلظت‌های ۱/۲ و ۴ درصد یداین پتاسیم (iodine potassium iodide) به دو روش مستقیم و غیر مستقیم بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، روش آزمایش تماس مستقیم (direct contact test) DCT، جهت ارزیابی اثر ضد میکروبی ترکیب ست شده‌ی MTA، مخلوط با غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر در برابر باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کاندیدا آلبیکانس در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه و ۲۴ ساعت انجام شد. تعداد کلونی‌های تشکیل شده، بر میلی‌لیتر محاسبه گردید. در روش غیر مستقیم، تست انتشار آگار (agar diffusion test) ADT، برای ارزیابی اثر ضد میکروبی مخلوط تازه تهیه شده‌ی MTA در ترکیب با غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد IKI و آب مقطر در برابر میکروارگانیسم‌های ذکر شده، انجام گردید. قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی به کمک کولیس اندازه‌گیری شد. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۷، آنالیز شدند. از آنالیزهای آماری Kruskal-Wallis، واریانس یک‌طرفه، Mann-Whitney و Tukey جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد ($\alpha = 0/05$).

یافته‌ها: روش مستقیم، نشان داد که اثر ضد میکروبی MTA در ترکیب با IKI ۲ و ۴ درصد در برابر هر سه نوع میکروارگانیسم در زمان ۲۴ ساعت به‌صورت معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود ($p \text{ value} = 0/021$). اثر ضد میکروبی ترکیب MTA با IKI ۱ درصد و آب مقطر مشابه یکدیگر بود و افزایش معنی‌داری نشان نداد ($p \text{ value} = 0/951$). در روش غیر مستقیم اثر ضد میکروبی MTA ترکیب شده با IKI ۴ درصد در برابر کاندیدا آلبیکانس ($p \text{ value} = 0/038$) و استافیلوکوکوس اورئوس ($p \text{ value} = 0/042$) بطور معنی‌داری بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. غلظت‌های مختلف IKI نسبت به آب مقطر در ترکیب با MTA در برابر انتروکوکوس فکالیس اثر ضد میکروبی معنی‌داری نداشتند ($p \text{ value} = 0/864$).

نتیجه‌گیری: IKI ۲ و ۴ درصد در روش مستقیم و IKI ۴ درصد در روش غیر مستقیم، نسبت به سایر غلظت‌ها بیشترین اثر ضد میکروبی را به خود اختصاص دادند.

کلید واژه‌ها: مینرال تری اکساید اگریگیت، یداین پتاسیم دیدید، اثر ضد باکتریایی.

تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۷

تاریخ اصلاح: ۹۶/۱/۱۵

تاریخ ارسال: ۹۵/۱۰/۳

استناد به مقاله: طباطبائی راد لیاسادات، ساعتچی مسعود، رضویان سیدحمید. بررسی اثر ضد میکروبی مینرال تری اکساید اگریگیت (MTA) مخلوط شده با غلظت‌های مختلف یداین پتاسیم دیدید با استفاده از باکتری‌های مختلف در روش مستقیم و غیر مستقیم. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان. ۱۳۹۶؛ ۱۳(۴): ۳۶۵-۳۷۴.

مقدمه

MTA (mineral trioxide aggregate) یکی از مواد پر کاربرد در درمان ریشه محسوب می‌گردد که از جمله‌ی این کاربردها، پوشش پالپ (۱) ترمیم پرفوریشن‌های ریشه (۲)، پرکردن انتهای ریشه در جراحی‌های اپیکال (۳)، تشکیل سد در مدخل کانال (۴)، پالپوتومی دندان‌های شیری (۵)، آپکسوزنز و آپکسیفیکاسیون در دندان‌های با آپکس باز (۶) می‌باشد. ویژگی‌های مطلوب MTA که باعث این موفقیت شده است شامل سازگاری با بدن، خاصیت تشکیل استخوان، قابلیت سیل کنندگی بالا (۷-۹) و خاصیت ضد میکروبی آن (۱۰-۱۴) می‌باشد. البته در کنار این مزایا، معایبی از جمله زمان سخت شدن طولانی، دشواری کارکرد، گران بودن و نداشتن حلالی شناخته شده (۱۵) برای این ماده بیان شده است. خاصیت ضد میکروبی این ماده از این نظر حائز اهمیت است که در مجاورت پرفوریشن‌ها و انتهای ریشه که معمولاً عفونی و آلوده به باکتری می‌باشد، قرار داده می‌شود و از آنجایی که این ماده کاربرد گسترده‌ای دارد، لذا هدف از این پژوهش، افزایش اثر ضد میکروبی آن در ترکیب با غلظت‌های مختلف IKI می‌باشد. بدین منظور مطالعات مختلفی جهت افزایش خاصیت، استفاده از مواد ضد میکروبی به جای آب مقطر را در ترکیب با MTA پیشنهاد کردند (۲۳-۱۶). مطالعات مختلفی برای MTA خواص ضد میکروبی بیان نموده‌اند و نشان دادند نوع MTA در اثر ضد میکروبی آن مؤثر است (۱۰، ۱۲، ۲۰-۱۴).

بیدار و همکاران (۲۱) در مطالعه‌ی خود به روش مستقیم نشان دادند که MTA خاکستری در ترکیب با غلظت‌های ۰/۱۲، ۰/۲ و ۲ درصد کلرهگزیدین در برابر کاندیدا آلیکانس، استرپتوکوک موتانس، اکتینومیس، اشرشیا کولی، اثر ضد میکروبی دارد، اما در برابر انتروکوک فکالیس این اثر یافت نشد. میتاگ و همکاران (۱۶) با استفاده از روش غیر مستقیم (تست انتشار آگار) بر روی انتروکوکوس فکالیس دریافتند که MTA سفید به صورت خالص، اثر ضد میکروبی نداشت اما MTA خاکستری به

صورت خالص در برابر انتروکوکوس فکالیس، خاصیت ضد میکروبی کمی داشت و اضافه کردن غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد کلرهگزیدین به MTA سفید، باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی آن گردید که این اثر با MTA خاکستری کمتر بود. استو و همکاران (۱۹) خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیب MTA سفید با کلرهگزیدین ۰/۱۲ درصد و آب مقطر را علیه میکروارگانیسم‌های مختلفی ارزیابی نمودند. بدون در نظر گرفتن نوع مایع مخلوطی، تمام نمونه‌های ProRoot MTA هم‌رنگ دندان از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کردند و ترکیب MTA و کلرهگزیدین، علیه تمام گونه‌های باکتریایی به جز سودوموناس آئروژینوزا مؤثرتر از ترکیب MTA و آب بود. هلت و همکاران (۲۰) MTA را با کلرهگزیدین ۲ درصد مخلوط کردند و افزایش قابل توجهی در خاصیت ضد میکروبی MTA سفید و MTA خاکستری گزارش نمودند. افزودن کلرهگزیدین به MTA اگرچه باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی MTA می‌شود، ولی معایبی از جمله افزایش زمان سخت شدن MTA را به همراه دارد (۱۹).

یداین پتاسیم یدید (iodine potassium iodide) IKI، از جمله شستشو دهنده‌های کانال ریشه می‌باشد که اثر ضد میکروبی بالایی دارد. این ماده در درمان ریشه با غلظت‌های ۲ تا ۵ درصد مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات صورت گرفته در این زمینه، بیانگر خاصیت ضد میکروبی این ماده علیه باکتری‌ها و قارچ‌های یافت شده در موارد شکست درمان ریشه می‌باشد. از آنجایی که IKI توسط بافت‌های انسان به خوبی قابل تحمل است و سایتوتوکسیتی پایینی دارد، بنابراین مخلوط IKI با MTA در صورتی که باعث افزایش اثر ضد میکروبی آن گردد می‌تواند جایگزین آب مقطر باشد (۲۲، ۲۳). در این خصوص مطالعه‌ای توسط ساعتچی و همکاران (۲۳) در زمینه‌ی ترکیب IKI با MTA به روش غیرمستقیم (تست انتشار آگار) در برابر *Escherichia coli*-*Entrococcus faecalis*، *Staphylococcus aureus*-*Pseudomonas aeruginosa*، *Candida albicans* صورت گرفت که نشان داد،

غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد IKI خاصیت ضد میکروبی MTA را به طور معنی‌داری افزایش نمی‌دهد. البته این مطالعه به روش غیر مستقیم بوده و عیوبی دارد که از جمله آنها ۱- وابسته بودن انتشار ماده به غلظت آگار در محیط کشت؛ ۲- عدم تماس مستقیم ماده با میکروارگانیسم‌ها؛ ۳- تأثیر قدرت نفوذ و جریان‌پذیری ماده بر خاصیت ضد میکروبی آن می‌باشد. بنابراین به دلیل خطاهای وارده به آن، روش مستقیم معرفی شده است که در این روش ماده در تماس مستقیم با میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرد (۲۴) بنابراین ممکن است اثر متفاوتی با این روش وجود داشته باشد. لذا در این پژوهش جهت یکسان بودن تمام شرایط آزمایش از هر دو روش مستقیم و غیر مستقیم به منظور بررسی خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی غلظت‌های مختلف IKI مخلوط شده با MTA استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی-آزمایشگاهی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. مواد مورد استفاده شامل:

MTA (MTA Anglus Brazil)

IKI (IKI Merck, Germany)

محیط‌های کشت استریل آگاری، Luria Berthin Broth

برای باکتری‌ها و Sabouraud Dextrose agar برای قارچ کاندیدا آلیکانس.

میکروارگانیسم‌ها:

Staphylococcus aureus (ATCC 25923) (ATCC)

Enterococcus faecalis (29212) و قارچ Candida

albicans (ATCC 10231) این میکروارگانیسم‌ها از سازمان

پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

ابتدا میکروارگانیسم‌ها که به صورت پودر فریز شده

(Lyophilize) بودند که قبل از انجام آزمایش کشت داده

شدند. گونه‌های باکتریایی به ۵ ml محیط کشت LB Broth

(Luria Berthin Broth) افزوده شدند و جهت رشد

تهیه‌ی مواد آزمایش:

IKI ۴ درصد با اختلاط ۴ گرم ید با ۸ گرم پتاسیم یدید (KI (IKI Merck, Germany) و رساندن حجم آن به وسیله‌ی آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر تهیه گردید. IKI ۱ درصد و IKI ۲ درصد نیز با رقیق کردن IKI ۴ درصد به ۱/۲ و ۱/۴ تهیه گردید. مخلوط MTA با ترکیب ۷۰ میلی‌گرم پودر MTA (MTA, Anglus, Brazil) با ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر تهیه شد.

در روش مستقیم DCT غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر به سه گروه تقسیم شد. در هر گروه ۱۸ نمونه وجود داشت. گروه اول شامل ترکیب MTA با غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر در مجاورت با قارچ کاندیدا آلیکانس و گروه دوم و سوم در مجاورت با باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس اورئوس بود. هر گروه نیز به سه زیرگروه (زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه و ۲۴ ساعت) تقسیم شد، بدین صورت که در هر زیرگروه (هر کدام از غلظت‌ها در برابر هر کدام از میکروارگانیسم‌ها در هر زمان) ۶ نمونه وجود داشت.

در روش غیر مستقیم (agar diffusion test) ADT نیز پودر MTA به چهار گروه تقسیم شد. در هر گروه ۹ نمونه وجود داشت و هر گروه به سه زیرگروه (میکروارگانیسم‌های کاندیدا آلیکانس، انتروکوکوس فکالیس و استافیلوکوکوس اورئوس) تقسیم شد. گروه اول شامل ترکیب MTA با IKI (۱ درصد)، گروه دوم شامل MTA با IKI (۲ درصد)، گروه سوم MTA با IKI (۴ درصد)، گروه چهارم MTA با آب مقطر بود. بدین صورت که در هر زیرگروه (هر کدام از غلظت‌های IKI در برابر هر کدام از میکروارگانیسم‌ها) ۳ نمونه وجود داشت (آزمایش هر غلظت در برابر هر میکروارگانیسم سه بار تکرار شد).

ارزیابی ضد میکروبی:

روش مستقیم: ابتدا MTA مخلوط شده با غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر با رطوبت ۱۰۰ درصد در انکوباتور جهت سخت شدن کامل، قرار داده شد. سپس با استفاده از هاون سرامیکی، پودر آنها تهیه و پس از استریل کردن آنها با گاز اتیلن اکساید در مجاورت سوسپانسیون باکتریایی و قارچی با غلظت ۰/۵ مک فارلند و جهت اختلاط کامل، بر روی دستگاه ویراتور قرار گرفت. پس از گذشت زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه و ۲۴ ساعت از مجاورت مستقیم با سوسپانسیون جهت شمارش تعداد کلونی (CFU/ml) موجود در آنها، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی باکتری‌ها را در محیط کشت بلاد آگار و ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی قارچ کاندیدا در محیط Sabouraud dextrose agar کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه و تعداد کلونی تشکیل شده توسط یک فرد کور نسبت به آزمایش شمارش گردید. گروه شاهد در این روش شامل غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد IKI و آب مقطر (بدون ترکیب با MTA) جهت بررسی اثر ضد میکروبی این مواد به صورت خالص بودند. بدین صورت که از هر کدام از این غلظت‌ها در برابر هر کدام از میکروارگانیسم‌های مورد نظر، سوسپانسیون تهیه شد و پس از گذشت زمان‌های مذکور جهت شمارش تعداد کلونی‌ها در محیط کشت مربوط به خود، کشت داده شدند.

روش غیر مستقیم (تست انتشار آگار): ابتدا برای هر میکروارگانیسم، سه پلیت آزمایش و یک پلیت کنترل تهیه گردید، سپس باکتری‌ها در محیط بلاد آگار با ضخامت ۵ میلی‌متر و قارچ کاندیدا در محیط Sabouraud dextrose agar کشت داده شد (غلظت باکتری‌ها و قارچ ۰/۵ مک فارلند). در هر پلیت، ۴ چاهک به قطر ۶ و عمق ۲ میلی‌متر به‌وسیله‌ی پیست پاستور استریل ایجاد شد. سپس MTA با IKI ۱، ۲ و ۴ درصد و آب مقطر مخلوط و در چاهک‌های پلیت‌های آزمایش به صورت جداگانه قرار گرفتند. در پلیت کنترل نیز غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد IKI و آب مقطر

(بدون ترکیب با MTA) در هر کدام از چاهک‌ها به صورت جداگانه قرار گرفتند. همه پلیت‌ها پس از گذشت ۲ ساعت در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس قطر هاله‌های عدم رشد توسط فردی بی‌اطلاع، به‌وسیله‌ی کولیس اندازه‌گیری شد.

داده‌ها به‌وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۷ (version 17, SPSS Inc., Chicago, IL) آنالیز گردید. آنالیز Kruskal-Wallis و Mann-Whitney در روش DCT و آنالیز واریانس یک‌طرفه و Tukey در روش ADT جهت تعیین تفاوتی معنی‌دار میان CFU/ml و ZOI در ترکیب MTA با غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر استفاده شد ($\alpha = 0.05$).

یافته‌ها

در روش DCT، اثر ضد میکروبی غلظت‌های ذکر شده IKI در ترکیب با MTA در برابر هر سه میکروارگانیسم مورد مطالعه، به صورت جداگانه مورد آنالیز آماری قرار گرفتند، که این اثر ضد میکروبی فقط در برابر قارچ کاندیدا آلیکانس تفاوت معنی‌داری نشان داد ($p \text{ value} = 0.003$) و این تفاوت میان ترکیب ۴ درصد MTA/IKI و ۲ درصد MTA/IKI با ترکیب آب مقطر ($p \text{ value} = 0.008$) بود، یعنی IKI ۲ و ۴ درصد در برابر قارچ کاندیدا آلیکانس اثر ضد میکروبی معنی‌داری داشت. ترکیب MTA با IKI ۴ و ۲ درصد بعد از ۲۴ ساعت در برابر تمام میکروارگانیسم‌ها مؤثر بود، ولی غلظت IKI ۱ درصد و آب مقطر در ترکیب با MTA پس از ۲۴ ساعت تنها بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس، خاصیت ضد میکروبی از خود نشان داد، اما به علت کمبود تعداد نمونه‌ها از لحاظ آماری، این اثرات معنی‌دار نشد. MTA در ترکیب با IKI ۲ و ۴ درصد در زمان ۲۴ ساعت اثر ضد میکروبی و ضد قارچی قوی‌تری نسبت به ترکیب MTA با آب مقطر و IKI ۱ درصد دارد. MTA در ترکیب با غلظت‌های ذکر شده IKI

قطر هاله‌های عدم رشد میکروارگانیسم‌ها در اثر غلظت‌های بالاتر IKI بزرگتر از غلظت‌های پایین‌تر آن بود.

جدول ۲: میانگین میزان قطر هاله‌های عدم رشد میکروبی (میلی‌متر) در گروه‌های آزمایش (MTA ترکیب با IKI و آب مقطر)

میکروارگانیسم	آب مقطر	۱ درصد IKI	۲ درصد IKI	۴ درصد IKI
انتروکوکوس فکالیس	۱۴/۰۰	۱۴/۳۳	۱۴/۰۰	۱۳/۶۶
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰/۳۳	۱۰/۸۳	۱۱/۱۶	۱۲/۰۰
کاندیدا آلیکانس	۱۰/۸۳	۱۱/۰۰	۱۱/۵۰	۱۲/۳۳

بحث

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل باکتری‌های انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کاندیدا آلیکانس بودند. انتخاب آنها بدین علت بود که این میکروارگانیسم‌ها شایع‌ترین موارد یافت شده در درمان‌های ناموفق ریشه هستند (۱۹، ۲۲، ۲۳، ۲۵، ۲۶). یکی از مواد پرکاربرد در درمان ریشه، MTA می‌باشد که از جمله کاربردهای آن، آپکسیفیکیشن دندان نکروتیک نابالغ (۶) و استفاده از آن جهت سیل پرفوریشن‌ها (۲) می‌باشد. از آنجا که ممکن است در محل پرفوریشن‌ها، آلودگی میکروبی وجود داشته باشد، MTA باید دارای خاصیت ضد میکروبی مناسب باشد. بنابراین محققین پیشنهاد نمودند برای افزایش اثر ضد میکروبی MTA از شستشو دهنده‌هایی با خاصیت ضد میکروبی بالا جهت اختلاط با MTA به جای آب مقطر استفاده گردد. در این مطالعه جهت ارزیابی اثر ضد میکروبی MTA در ترکیب با غلظت‌های مختلف IKI از روش DCT و ADT استفاده گردید. در زمینه‌ی اختلاط MTA با IKI تنها یک مطالعه توسط ساعتچی و همکاران انجام گرفته است (۲۳). از آنجایی که روش ADT دارای محدودیت‌هایی از جمله وابسته بودن انتشار ماده به غلظت آگار محیط کشت، عدم تماس مستقیم تمام اجزای مخلوط ترکیب شده با

پس از گذشت زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه مجاورت با میکروارگانیسم‌های ذکر شده، هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی نشان ندادند (جدول ۱).

جدول ۱: مقدار عدد p value (اثر ضد میکروبی MTA ترکیب شده با غلظت‌های مختلف IKI نسبت به آب مقطر در مقابل میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش در زمان‌های مختلف)

زمان	IKI ۱ درصد	IKI ۲ درصد	IKI ۴ درصد
۳۰ دقیقه	≤ 1	≤ 1	≤ 1
۶۰ دقیقه	≤ 1	≤ 1	≤ 1
۲۴ ساعت	۰/۹۵۱	* < ۰/۰۲۱	* < ۰/۰۱۹

*: تفاوت معنی‌دار (با آزمون آماری Mann-Kruskal-Wallis و Whitney)

در روش ADT، مقایسه‌ی قطر هاله‌های عدم رشد میان غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر در ترکیب با MTA برابر قارچ کاندیدا آلیکانس ($p \text{ value} = ۰/۰۳۶$) و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ($p \text{ value} = ۰/۰۵$) تفاوت معنی‌داری نشان داد، اما در برابر انتروکوکوس فکالیس هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این تفاوت معنی‌دار بدین شرح می‌باشد: مقایسه‌ی ترکیب MTA با IKI ۴ درصد و MTA با آب مقطر در برابر کاندیدا آلیکانس ($p = ۰/۰۳۸$ value)، مقایسه‌ی ترکیب MTA با IKI ۴ درصد و MTA با آب مقطر در برابر استافیلوکوکوس اورئوس ($p = ۰/۰۴۲$ value). غلظت‌های IKI ۱ و ۲ درصد و آب مقطر در برابر این سه میکروارگانیسم هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی معنی‌داری نداشتند. جدول ۲ نشان می‌دهد که اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی در غلظت‌های مختلف IKI متفاوت است. بدین صورت که در گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس و قارچ کاندیدا آلیکانس، حداکثر خاصیت ضد میکروبی، مربوط به IKI ۴ درصد در ترکیب با MTA بود، اما برای گونه‌ی انتروکوکوس فکالیس خاصیت ضد میکروبی در IKI ۱ درصد بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. تمام غلظت‌های IKI مورد آزمایش (۱، ۲ و ۴ درصد) به عنوان گروه‌های شاهد از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کردند.

میکروارگانسیم‌ها جلوگیری کردند و ترکیب MTA و کلرهگزیدین علیه تمام گونه‌های باکتریایی به جز سودوموناس آئروژینوزا مؤثرتر از ترکیب MTA و آب بود. هولت و همکاران (۲۰) MTA را با کلرهگزیدین ۲ درصد مخلوط کردند و افزایش قابل توجهی در خاصیت ضد میکروبی MTA سفید و MTA خاکستری گزارش کردند. افزودن کلرهگزیدین به MTA اگرچه باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی MTA می‌شود، ولی معایبی از جمله افزایش زمان سخت شدن MTA را به همراه دارد (۱۹).

نتایج مطالعه‌ی کنونی نشان داد، در روش مستقیم IKI ۲ و ۴ درصد پس از گذشت ۲۴ ساعت در مقابل هر سه نوع میکروارگانسیم مورد استفاده در این پژوهش، اثر ضد میکروبی دارد، اما در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی در مقابل میکروارگانسیم‌ها در هیچ‌کدام از غلظت‌ها مشاهده نگردید. یافته‌های پژوهش حاضر در خصوص غلظت ۱ درصد و آب مقطر نتایج مشابهی داشت، بدین صورت که در زمان‌های ۳۰ و ۶۰ دقیقه هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی یافت نشد اما در زمان ۲۴ ساعت، IKI ۱ درصد و آب مقطر در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس اثر ضد میکروبی از خود نشان دادند، ولی در مقابل انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلیکانس این اثر وجود نداشت. پس می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت IKI می‌تواند در افزایش اثر ضد میکروبی در مقابل میکروارگانسیم‌های انتروکوکوس فکالیس و کاندیدا آلیکانس مؤثر باشد. این یافته با نتایج مطالعات قبلی که نشان دادند غلظت‌های بالاتر کلرهگزیدین، اثر ضد میکروبی بیشتری دارد، مشابه است (۱۶، ۱۹-۲۱). اما در مورد استافیلوکوکوس اورئوس هیچ‌گونه تفاوتی میان غلظت‌های مختلف IKI و آب مقطر مشاهده نشد، زیرا همه‌ی آنها اثر ضد میکروبی یکسانی در مقابل این باکتری از خود نشان دادند که بیان می‌کند، MTA به تنهایی خاصیت ضد میکروبی دارد (۱۰، ۱۲، ۱۹، ۲۰، ۲۸). علت آن می‌تواند pH بالای این ماده بعد از مخلوط کردن با آب

باکتری‌های محیط کشت و تأثیر قدرت نفوذ و جریان‌پذیری ماده بر خاصیت ضد میکروبی آن می‌باشد (۱۰). لذا در این مطالعه از هر دو روش، جهت ارزیابی خاصیت ضد میکروبی MTA در ترکیب با غلظت‌های مختلف IKI استفاده گردید. غلظت‌های IKI ۱، ۲ و ۴ درصد بکار رفته در این مطالعه شایع‌ترین غلظت‌هایی هستند که به عنوان شستشو دهنده‌ی داخل کانال و به صورت دهانشویه پیشنهاد می‌گردند (۲۷). جایگزینی کلرهگزیدین به جای آب مقطر در ترکیب با MTA، نشان داد که در مجموع این مخلوط می‌تواند منجر به افزایش اثر ضد میکروبی آن گردد (۱۶، ۱۹-۲۱، ۲۳).

بیدار و همکاران (۲۱) در مطالعه‌ی خود به روش مستقیم نشان دادند که MTA خاکستری در ترکیب با غلظت‌های ۰/۱۲، ۰/۲ و ۲ درصد کلرهگزیدین در برابر کاندیدا آلیکانس، استرپتوکوک موتانس، اکتینومیس، اشرشیاکولی، اثر ضد میکروبی دارد اما در برابر انتروکوک فکالیس این اثر را ندارد.

میتاگ و همکاران (۱۶) با استفاده از روش ADT بر روی انتروکوکوس فکالیس دریافتند که، MTA سفید به صورت خالص، اثر ضد میکروبی ندارد اما MTA خاکستری به صورت خالص، در برابر انتروکوک اثر ضد میکروبی کمی داشت. اضافه کردن غلظت‌های ۱/۵ و ۲ درصد کلرهگزیدین به MTA سفید، باعث افزایش اثر ضد میکروبی آن گردید، اما با افزودن کلرهگزیدین به MTA خاکستری این اثر ضد میکروبی نسبت به MTA سفید در ترکیب با کلرهگزیدین کمتر بود.

استو و همکاران (۱۹) خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی ترکیب MTA سفید با کلرهگزیدین ۰/۱۲ درصد و آب مقطر را علیه انتروکوکوس فکالیس، اشرشیاکولی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، استرپتوکوکوس سانگوئیس، اکتینومایسس ادنتولیتیکوس، فوزوباکتریوم نوکلئوتوم و کاندیدا آلیکانس ارزیابی کردند. بدون در نظر گرفتن نوع مایع مخلوطی تمام نمونه‌های ProRoot MTA هم‌رنگ دندان از رشد

یکی دیگر از یافته‌های پژوهش فعلی، افزایش زمان سخت شدن و handling دشوار متعاقب افزایش غلظت IKI بود. از محدودیت‌های مطالعه‌ی کنونی، عدم استفاده از باکتری‌های گرم منفی هوازی و بی‌هوازی می‌باشد زیرا ممکن است از این گونه‌ها نتایج متفاوتی یافت شود. پیشنهاد می‌گردد اثر ضد میکروبی IKI با غلظت‌های مختلف به هر دو روش مستقیم و غیر مستقیم با MTA‌های مختلف در بازار مقایسه گردد و همچنین آزمایش‌های تکمیلی به صورت *in vivo* (دندان کشیده شده‌ی انسان که با باکتری‌های متفاوت آلوده می‌گردد) انجام گردد. علاوه بر سایر ویژگی‌های مورد نظر برای MTA نیز باید تحت تأثیر خاصیت ضد میکروبی آن قرار نگیرد، که از جمله‌ی آنها توانایی سیل‌کنندگی MTA است که نقش مهمی در موفقیت کلینیکی آن دارد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر ضد میکروبی MTA در ترکیب با IKI ۴ درصد به روش غیر مستقیم (تست انتشار آگار) و اثر ضد میکروبی MTA در ترکیب با IKI ۲ و ۴ درصد به روش مستقیم، افزایش از خود نشان دادند. پس می‌توان نتیجه گرفت IKI ۲ و ۴ درصد خاصیت ضد میکروبی دارند.

* این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۳۹۱۴۷۱ بوده و کلیه حقوق این طرح برای دانشکده دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان محفوظ است.

مقطر و حین سخت شدن آن باشد. شاید محلول‌هایی که بتوانند این زمان سخت شدن را طولانی نمایند مانند محلول‌های شستشودهنده صرف‌نظر از نوع آنها، بر این اثر ضد میکروبی مؤثر باشند.

در روش ADT، MTA مخلوط با IKI ۴ درصد بر روی کاندیدا آلیکانس و استافیلوکوکوس اورئوس، اثر ضد میکروبی معنی‌داری داشت اما در مقابل انتروکوکوس فکالیس این اثر ضد میکروبی معنی‌دار نشد و میانگین قطر هاله‌های عدم رشد ترکیب MTA با IKI ۱ درصد نسبت به سایر غلظت‌ها در برابر انتروکوکوس فکالیس بیشتر از سایر غلظت‌ها بود. که این یافته مخالف نتایج پژوهش ساعتچی و همکاران بود (۲۳). به طور کلی تفاوت در نتایج به علت تفاوت در سوش‌های میکروبی آزمایش شده، نوع MTA مصرفی (کارخانه‌ی سازنده)، سفید یا خاکستری رنگ بودن MTA و نوع روش آزمایش می‌باشد (۱۲، ۲۸، ۲۹). غلظت‌های ۱ و ۲ درصد هیچ‌گونه اثر ضد میکروبی در مقابل هیچ یک از میکروارگانیسم نشان ندادند. این اختلاف در غلظت‌های مختلف IKI در روش غیر مستقیم به نظر می‌رسد مربوط به افزایش زمان سخت شدن متعاقب با افزایش غلظت IKI باشد. پس می‌توان به این نتیجه دست یافت که میکروارگانیسم‌های مختلف به غلظت‌های مختلفی از IKI حساس هستند و از آنجایی که نتایج این دو روش با یکدیگر تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند، می‌توان بیان کرد که این دو روش باید به عنوان مکمل یکدیگر بکار برده شوند که از مزایای مطالعه‌ی حاضر، کاربرد هر دوی این روش‌ها می‌باشد.

References

1. Faraco IM Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement. *Dent Traumatol* 2001; 17(4): 163-6.
2. Main C, Mirzayan N, Shabahang S, Torabinejad M. Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: a long-term study. *J Endod*. 2004; 30(2): 80-3.
3. Saunders WP. A prospective clinical study of periradicular surgery using mineral trioxide aggregate as a root-end filling. *J Endod* 2008; 34(6): 660-5.

4. Mah T, Basrani B, Santos JM, Pascon EA, Tjaderhane L, Yared G, et al. Periapical inflammation affecting coronally-inoculated dog teeth with root fillings augmented by white MTA orifice plugs. *J Endod* 2003; 29(7): 442-6.
5. Simon S, Rilliard F, Berdal A, Machtou P. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *Int Endod J* 2007; 40(3): 186-97.
6. Sonmez D, Sari S, Cetinbas T. A comparison of four pulpotomy techniques in primary molars: a long-term follow-up. *J Endod* 2008; 34(8): 950-5.
7. Torabinejad M, Ford TR, Abedi HR, Kariyawasam SP, Tang HM. Tissue reaction to implanted root-end filling materials in the tibia and mandible of guinea pigs. *J Endod* 1998; 24(7): 468-71.
8. Koh ET, Torabinejad M, Pitt Ford TR, Brady K, McDonald F. Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res* 1997; 37(3): 432-9.
9. 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.
10. Eldeniz AU, Hadimli HH, Ataoglu H, Orstavik D. Antibacterial effect of selected root-end filling materials. *J Endod* 2006; 32(4): 345-9.
11. Torabinejad M, Smith PW, Kettering JD, Pitt Ford TR. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod* 1995; 21(6): 295-9.
12. Al-Hezaimi K, Al-Shalan TA, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus sanguis* in vitro. *J Endod* 2006; 32(4): 1053-6.
13. 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.
14. 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.
15. Torabinejad M, Hong CU, Pitt Ford TR, Kettering JD. Antibacterial effects of some root end filling materials. *J Endod* 1995; 21(8): 403-6.
16. Mittag SG, Eissner C, Zabel L, Wrbas KT, Kielbassa AM. The influence of chlorhexidine on the antibacterial effects of MTA. *Quintessence Int* 2012; 43(10): 901-6.
17. Neelakantan P, Rao CV, Indramohan J. Bacteriology of deep carious lesions underneath amalgam restorations with different pulp-capping materials-an in vivo analysis. *J Appl Oral Sci* 2012; 20(2): 139-45.
18. Lovato KF, Sedgley CM. Antibacterial activity of endosequence root repair material and proRoot MTA against clinical isolates of *enterococcus faecalis*. *J Endod* 2011; 37(11): 1542-6.
19. 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.
20. Holt DM, Watts JD, Beeson TJ, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. The anti-microbial effect against *enterococcus faecalis* and the compressive strength of two types of mineral trioxide aggregate mixed with sterile water or 2% chlorhexidine liquid. *J Endod* 2007; 33(7): 844-7.
21. Bidar M, Naderinasab M, Talati A, Ghazvini K, Asgari S, Hadizadeh B, et al. The effects of different concentrations of chlorhexidine gluconate on the antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate and calcium enrich mixture. *Dent Res J (Isfahan)* 2012; 9(4): 466-71.
22. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. *Int Endod J* 2001; 34(6): 429-4.
23. Saatchi M, Hosseini HS, Farhad AR, Narimany T. The effect of various concentrations of iodine potassium iodide on the antimicrobial properties of mineral trioxide aggregate—a pilot study. *Dental Traumatology* 2012; 28(6): 474-7.
24. Morgental R, Vier Pelisser F, Oliveira S, Antunes F, Cogo D, Kopper P. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *International Int Endod J* 2011; 44(12): 1128-33.
25. Molander A, Reit C, Dahlen G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide in root canals pretreated with 5% iodine potassium iodide. *Endod Dent Traumatol* 1999; 15(5): 205-9.
26. Cardoso CL, Redmerski R, Bittencourt NLR, Kotaka CR. Effectiveness of different chemical agents in rapid decontamination of gutta-percha cones. *Braz J Microbiol* 2000; 31(4): 67-71.

27. Shurrab MY. Antimicrobial efficiency of some antiseptic products on endodontic microflora isolated from gangrenous pulp tissue. *J Contemp Dent Pract* 2006; 7(4): 53-62.
28. Al- Hezaimi K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I. Effect of white-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on candida albicans in vitro. *J Endod* 2005; 31(9): 648-6.
29. Al- Hezaimi K, Al- Shalan TA, Naghshbandi J, Simon JH, Rotstein I. MTA Preparations from different origins may vary in their antimicrobial activity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107 (5): e85-8.

Evaluation of Antimicrobial Effect of MTA Mixed with Various Concentrations of Iodine Potassium Iodide on Different Microorganisms with Direct and Indirect Methods

Leilasadat Tabatabaee Rad¹

Masoud Saatchi²

Hamid Razavian³

1. Postgraduate Student, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Islamic Azad University of Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran.

2. Professor, Dental Research Center, department of endodontics, School of Dentistry, Isfahan University of medical science, Isfahan, Iran.

3. **Corresponding Author:** Assistant Professor, Torabinejad Dental Research Center, Department of Endodontics, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. **Email:** razavian@dnt.mui.ac.ir

Abstract

Introduction: MTA is one of the most commonly used materials in endodontics. Antimicrobial effect is one of the ideal properties of a root-end filing material. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of MTA mixed with 1%, 2% and 4% IKI with the use of direct and indirect methods.

Materials & Methods: In this experimental study, direct contact test (DCT) was used to evaluate the antimicrobial effect of set MTA, mixed with different concentrations of IKI and distilled water against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, in 30-minute, 1-hour and 24-hour intervals. Colony forming units (CFU/mL) were determined. The agar diffusion test (ADT) (the indirect technique) was used to assess the antimicrobial activity of fresh MTA mixed with 1%, 2% and 4% IKI and distilled water against the microorganisms above. The diameter of the zone of inhibition was measured by calipers. Data were analyzed with SPSS 17, using one-way ANOVA and Kruskal-Wallis, Mann-Whitney and Tukey tests ($\alpha = 0.05$).

Results: DCT method showed that the antimicrobial activity of MTA mixed with 2% and 4% IKI against *E. faecalis*, *S. aureus* and *C. albicans* at 24-hour interval was significantly higher than other concentrations (p value = 0.021). Antimicrobial activity of MTA mixed with 1% IKI was the same as that of MTA mixed with distilled water, with no significant difference (p value = 951). In the indirect method, the antimicrobial effects of MTA mixed with 4% IKI against *C. albicans* (p value = 0.038) and *S. aureus* (p value = 0.042) were significantly higher than other concentrations. Various concentrations of IKI mixed with MTA did not exhibit significant antimicrobial properties against *E. faecalis* compared to mixing with distilled water (p value = 0.864).

Conclusion: IKI at 1% and 4% concentrations in the direct method and 4% IKI in the indirect method exhibited higher antimicrobial activity than other concentrations.

Key words: Mineral trioxide aggregate, Iodine potassium iodide, Antibacterial effect.

Received: 23.12.2016

Revised: 4.4.2017

Accepted: 7.5.2017

How to cite: Tabatabaee Rad L, Saatchi M, Razavian H. Evaluation of Antimicrobial Effect of MTA Mixed with Various Concentrations of Iodine Potassium Iodide on Different Microorganisms with Direct and Indirect Methods. *J Isfahan Dent Sch* 2018; 13(4): 365-374.