

## АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ ЗАШТИТНИХ ПОДЛОГА ЗА ПРЕКРИВАЊЕ ПУЛПЕ И ДЕНТИНА (НА МИКРООРГАНИЗМЕ НОРМАЛНЕ ФЛОРЕ УСНЕ ДУПЉЕ У *IN VITRO* УСЛОВИМА)

Живковић Д., Јовановић Р., Живковић М., Матвијенко В., Шубарић Љ., Перић Д.

Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

## ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROTECTIVE PANELS FOR PULP AND DENTINS COVERING (ON MICROORGANISMS OF ORAL CAVITY NORMAL FLORA IN *IN VITRO* CONDITIONS)

Живковић Д., Јовановић Р., Живковић М., Матвијенко В., Шубарић Љ., Перић Д.

Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

### SUMMARY

Materials which use like base, and those used for direct and indirect capping should be, except certain physical-chemical and biological performance have an antibacterial effect, to act after the application on residual microorganisms. The aim of this study is that *in vitro* display antimicrobial activity of some selected resources that are used to protect the dentin below the permanent restoration, and some of this as medication in treating deep surface carious lesions and to directly cover any caries, either artificially open pulp. Antimicrobial activity was tested against microorganisms. On agar plates into the grooves 4 mm in diameter was inserted freshly prepared paste or base. After inserting the material into the surface of blood agar, was performed by incubation under aerobic conditions for 24 h in a thermostat at 37°C. Negative effect on the microorganisms, tested materials, it was estimated by the size of growth inhibition zone.

**Key words:** protection base; antibacterial effect

### САЖЕТАК

Материјали који се користе као подлоге, и они који се употребљавају као средства за индиректно и директно прекривање пулпе требало би да, осим одређених физико-хемијских и биолошких својстава, поседују и антимикробно дејство, како би после апликације могли деловати на евентуално заостале микроорганлизме. Циљ овог рада је да, у условима *in vitro*, прикаже антимикробни ефекат неколико одабраних средстава која се употребљавају за заштиту дентина испод сталних испуна, а нека од њих као медикаментозне подлоге код третирања дубоких кариозних лезија, као и за директно прекривање било каријесом, било артефицијелно отворене пулпе. Антимикробна активност је тестирана на микроорганизмима. На агар плочама, у удубљења пречника 4 мм је убачена свеже замешана паста или цемент. По улагању материјала у подлогу од крвнoг агара вршена је инкубација под аеробним условима током 24 часа у термостату на температури од 37°C. Негативно дејство испитиваних материјала на микроорганлизме, оцењено је величином зоне инхибиције раста микроорганизама.

**Кључне речи:** заштитне подлоге; антимикробни ефекат

### УВОД

Калцијум хидроксид, традиционално познат као гашени креч је хемијско једињење са хемијском формулом  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . То је кристал или прах без боје који се добија када се калцијум оксид помеша са водом. Такође може бити преципитиран мешањем воденог раствора калцијум хлорида са воденим раствором натријум хидроксида. Загревањем на 512°C, парцијални притисак воде у еквилибријуму са калцијум хидроксидом достиже 101 kPa и разлаже се на калцијум оксид и воду.(1)

Данас је калцијум хидроксид најчешће коришћен медикамент у стоматологији. Калцијум хидроксид испуњава многе критеријуме које прекривање пулпе и адекватно пуњење канала корена захтевају. Он има антибактеријски ефекат, подстиче формирање тврдих зуб-

них ткива, доводи до интраканалне оклузије и регенерације ткива.(2) Право зацељење пулног ткива, подразумева формирање тубулног дентинског моста који представља секреторни производ новостворених одонтобластних ћелија.(3) Постоје размисљања која указују да калцијум хидроксид можда има посредан хемијски ефекат на околни циркумпулпарни дентин из кога се ослобађају растворени фактори раста.(4)

Калцијум хидроксид није специфичан фактор за иницијацију нове дентиногенезе, међутим довољан је контакт пулпне ране са овим материјалом само десет минута да пулпа створи баријеру од чврстог ткива.(5) То значи да ефикасност третмана прекривања зависи од снаге материјала за прекривање да утиче на некрозу околне пулпе и од способности пулпе да издржи овај некротични напад.(6)

Материјали који се користе за заштиту пулпо-дентинског комплекса требало би да осим одређених физико-хемијских и биолошких својстава поседују и антимикробно дејство. Својим продуженим антимикробним дејством заштитне подлоге спречавају раст и развој микроорганизама. Тиме се спречава реинфекција и омогућава репарација пулпе и дентина што значајно утиче на повољан исход терапије дубоког каријеса.

Обзиром на значај овог проблема бројни аутори и студије су проучавали антимикробни ефекат материјала за заштиту пулпо-дентинског комплекса.

Лечење експониране пулпе код методе директног прекривања пулпе основни је услов очувања њеног виталитета. Према новим схватањима патолошке промене на пулпи које се могу видети испод клинички задовољавајућих сталних испуна могу бити, између осталог и последица присуства заосталих бактерија у микропукотини која постоји између испуна и зуба.

## ЦИЉ РАДА

Циљ овог рада је да се провери антимикробна активност различитих материјала који се користе за индиректно и директно прекривање пулпе зуба као и материјала која се користе за заштиту дентина испод сталних испуна.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Испитивањем су обухваћене пасте за заштиту пулпо-дентинског комплекса:

- Пасте на бази калцијум хидроксида
- Алкани цементи
- Лајнери
- GJC
- Segal N (Табела 1.)

Испитивано је дејство наведених материјала и понаособ компонента од којих се они састоје на мешовиту аеробну микрофлору усне дупље, изоловану култивисањем саливе у бујону.

На припремљених 10 агар плоча, густо је засејана бујонска култура нормалне флоре усне дупље, а затим су у крвном агару врхом стерилног стакленог штапића прављена удубљења пречника 4 мм у које је убачена свежа паста или цемент за прекривање пулпе и дентина по шеми:

*А. Компоненте од којих су поједини препарати састављени, изузимајући компоненте фосфатног цемента и Алфагал бејз чије је дејство на оралну микрофлору познато.*

1. Алфагал - бејз-прах и течност
2. Life-Ker-Base и Catalyst паста
3. Ионосеал - једна компонента -суспензија
4. Kalcipast - паста
5. Segal-N

*Б. Припремљени материјали улагани су следећим редом:*

- а) Одмах по припремању (невезани)
- б) Након 24 часа стајања на ваздуху и у физиолошком раствору на 37°C.

в) Након 7 дана стајања на ваздуху и у физиолошком раствору на 37°C.

г) Након 21 дан стајања на ваздуху и у физиолошком раствору на 37°C.

По улагању материјала у подлогу од крвног агара вршена је инкубација под аеробним условима током 24 часа у термостату на температури од 37 °C. Негативно дејство испитиваних материјала на микроорганизме, коришћене у тесту, оцењено је величином зоне инхибиције раста микроорганизама.

Антибактеријски ефекат је процењен на основу величине пречника зоне инхибиције раста микроорганизама око испитиваних материјала. Урађена су по 4 мерења за сваки материјал, а вредности су изражене у милиметрима.

## РЕЗУЛТАТИ

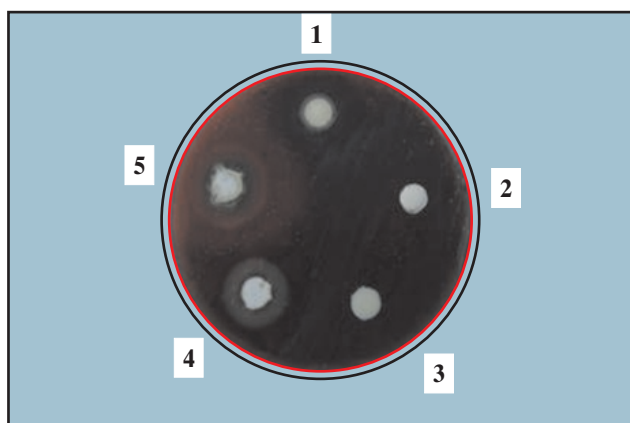
**Табела 1.** Дејство компонента од којих су састављени поједини препарати на микроорганизме, изражено пречником зоне инхибиције раста у милиметрима.

	Alfagal-Bejz	Life-Ker	Cegal N	Ionosil	Kalcipast
Компоненте	Праш Течност	Base 0mm Catalyst 10mm	Праш Течност	Liner	Паста

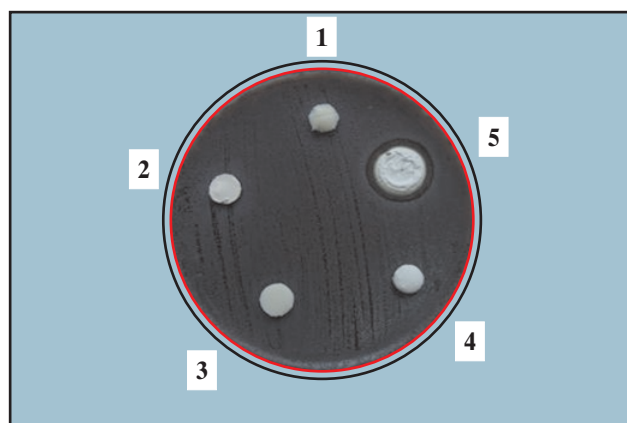
Уочено је да све компоненте испитиваних материјала, изузимајући Base пасту Life-ker, делују инхибиторно на раст микроорганизама.

**Табела 2.** Дејство појединих препарата на тестиране микроорганизме, у функцији времена и средине, изражено величином пречника зоне инхибиције раста у милиметрима

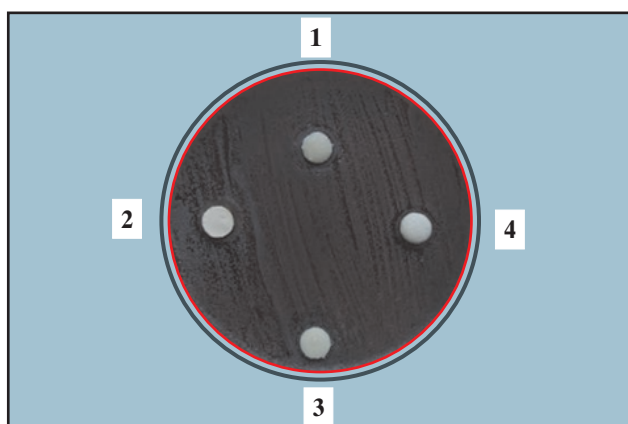
Време по припреми. Средина и температура	Препарати				
	Cegal N	Alfagal-Bejz	Life-Ker	Ionosil	Kalcipulpe
Непосредно по припреми (невезани)	8мм	2мм	1мм	-	10мм
24 часа на ваздуху на 37°C	-	1мм	-	1мм	4мм
24 часа у Ф.Р. на 37°C	3мм	3мм	2мм	-	-
7 дана на ваздуху на 37°C	1мм	1мм	-	-	3мм
7 дана у Ф.Р. на 37°C	-	1мм	1мм	-	-
21 дан на ваздуху на 37°C	-	-	1мм	-	3мм
21 дан у Ф.Р. на 37°C	-	1мм	1мм	-	-



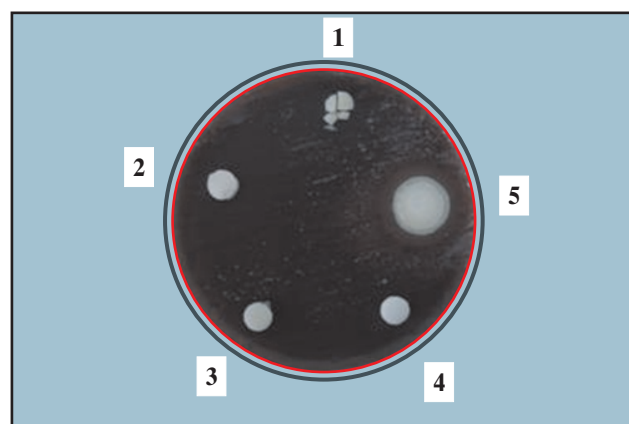
**Слика 1.** Антимикробна активност испитиваних материјала одмах након припремања



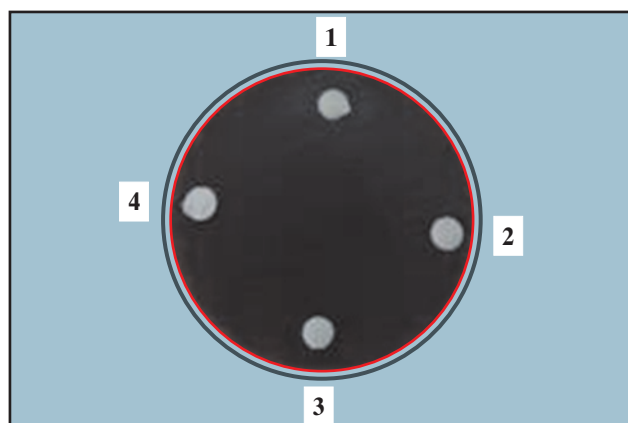
**Слика 2.** Антимикробна активност испитиваних материјала након 24h стајања на ваздуху



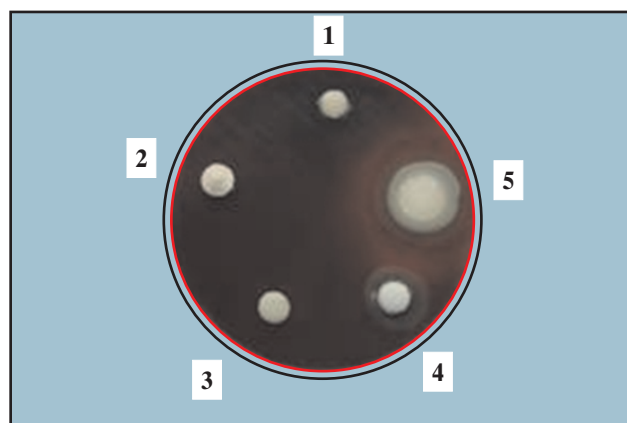
**Слика 3.** Антимикробна активност испитиваних материјала након 24h стајања у физиолошком раствору



**Слика 4.** Антимикробна активност испитиваних материјала након 7 дана стајања на ваздуху



**Слика 5.** Антимикробна активност испитиваних материјала након 7 дана стајања у физиолошком раствору

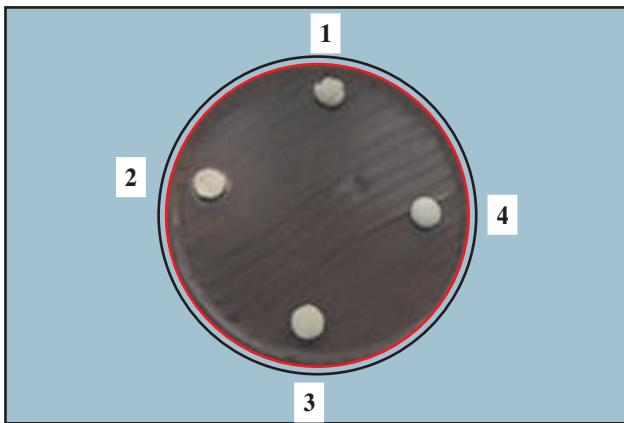


**Слика 6.** Антимикробна активност испитиваних материјала након 21 дан стајања на ваздуху

Сви свеже припремљени материјали у независном стању, изузев Ioposeal-а дају изразиту зону инхибиције. Свеже припремљени Ioposeal не испољава никакво дејство на микроорганизме.

Испитивани материјали након везивања у функцији времена показују различито дејство на ми-

кроорганизме. Segal N даје умерену зону инхибиције у току првих 24 часа. Алфагал-бејз за све време испитивања даје умерену зону инхибиције. Life-Ker такође за сво време испитивања показује умерену зону инхибиције, док Calcipulp даје изразиту зону инхибиције, за све време колико је и трајао експеримент.



Слика 7. Антимикробна активност испитиваних материјала након 21 дан стајања у физиолошком раствору

Утицај везаних материјала на микрофлору за-вистан је од средине у коју је чуван (ваздух или физиолошки раствор).

## ДИСКУСИЈА

На добијене резултате овом методом утиче контакт материјала са агаром, вискозност агара, инкубација, температура, токсичност материјала, растварање у воденом мљеу агара, као и могућности дифузије која зависи како од растворљивости материјала тако и од времена стврдњавања. Материјал који лакше дифундује може имати већи пречник зоне инхибиције раста микроорганизама. Бројни аутори су се ипак сложили да ова метода омогућава поређење више врста материјала и указује који од њих има већи антимикробни ефекат у кавитету.

Из резултата произилази да се дејство Алфагал бејза на аеробну оралну микрофлору у кавитету може очекивати у првих 24 часа (Сл.1, Сл.2, Сл.3). Након тог времена проценат полиакрилне киселине није довољан да проузрокује инхибицију раста микроорганизама. Према мишљењу великог броја аутора код разблажења полиакрилне киселине губи се њено антисептично дејство. Овим би се могао објаснити губитак антимикробног дејства Алфагал цемента, већ у првих 24 часа у влажној средини. Наиме, физиолошки раствор где је стајала пастила од Алфагал цемента раствара и разблажује полиакрилну киселину. Shalhav и сар. налазе јако и краткотрајно антимикробно дејство GLS јономер цемента.(8) Сматра се да флуор из GJC-а има антимикробни ефекат, јер се његовим ослобађањем редукује кисела средина коју стварају бактерије. Полиакрилна киселина је такође одговорна за антимикробни ефекат ових материјала.(9)

Код Ionoseal појава зоне инхибиције раста микроорганизама запажена је само након стајања у физиолошком раствору током седам дана (Сл.5). Могуће је да свеже припремљен материјал на самом почетку није показивао антибактеријско својство због полимеризације и каснијег одложеног ослобађања ОН јона. То је вероватно разлог слабе антимикробне активности. Ово је у сагласности са налазима Ostavika и сар. 1988. који не на-

лазе дезинфекциону улогу у кавитету, вероватно због полимеризације. Услови релативне влажности зидова дентина могли би погодовати његовом антимикробном дејству.

Лифе-кер након спајања основе и катализатор пасте, показује умерено дејство на микроорганизме. Како ове две компоненте одвојене иначе показују инхибиторно дејство на раст микроорганизама, могло би се претпоставити да се након њиховог спајања хемијски инактивише калцијум хидроксид.

Calciulp показује током читавог експеримента, односно 21 (Сл.1-7) дан знатну зону инхибиције у свој средини. Материјал се знатно дужи везује, па је и могућност дифузије у агар већа што може да има последицу и ширу зону инхибиције раста.(10) Бројна испитивања указују на изузетно добро антимикробно дејство ових материјала.(11)

Подаци из литературе такође потврђују слаб антибактеријску ефекат материјала на бази калцијум хидроксида објашњавајући то слабом растворљивошћу калцијум хидроксида и неутралним рН. Ово може бити разлог каснијег ослобађања ОН јона што условљава одложено антимикробно дејство.(11, 12)

Антимикробна активност калцијум хидроксидних материјала зависи од ослобађања хидроксилних јона који утичу на повећање рН.(13) Тиме се ствара алкална средина неповољна за раст и размножавање микроорганизама. Утицај рН средине (рН>9) може реверзибилно или ирреверзибилно инактивирати ћелијску мембрану ензима и микроорганизама, чиме се губи биолошка активност цитоплазматичне мембране. Може довести до деструкције фосфолипида и незасићених масних киселина што резултира губитком интегритета цитоплазматичне мембране микроорганизама. (12, 13) Сматра се да калцијум из пасте реагује се угљен диоксидом из ткива и спречава респирацију анаеробних бактерија.(10)

Налази испитивања су вероватно последица антимикробних потенцијала наведених материјала који зависе од њиховог састава, брзине стврдњавања и способности дифузије у хранљиви агар.

## ЗАКЉУЧАК

Са микробиолошког становишта од испитиваних препарата који се користе као подлоге као и они који се употребљавају за индиректно и директно прекривање пуле (Cegal N, Alfagal bejz, Ionosit, Life-Ker, Calciulp) могу се препоручити за трајно обескличавање дентина и пуле. Ionoseal иако са ограниченим антимикробним дејством од 7 дана, обзиром да има и својство да блокира дентинске каналиће, може представљати ефикасну заштиту пуле од инвазије заосталих микроорганизама.

Како Cegal N има краткотрајно антимикробно дејство, а истовремено има и патолошки утицај на пулу, то би било пожељно да се примењује тек након заштите дентина лајнерима на бази калцијум хидроксида. На тај начин се повећава антимикробно дејство и ствара хемијска баријера према дејству фосфорне киселине из цемента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Halstead E., Moore A.E.: The Thermal Dissociation Of Calcium Hydrokside. *Journal of the Chemical Society.* 1957; 769: 3873.
2. Nerwich A, Figdor D, Messer HH. pH shanges in root dentin over a 4 week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endodon.* 1993;19:302-306
3. Schoeder U.: Effects of calcium hydrokside containing agent on pulp cell migration, proliferation, and diferentation. *J.Dent Res* 1985;64:541- 48.
4. Lesot H., Begue-Kirin M.D., Mejer J.M., Smith A.J., Cassidy N., Ruch J.V.: Experimental induction of odontoblast differentiation and stimulation during reparative processes. *Cells Mater.*, 3:201-217.1993.
5. Cvek M., Granath I., Cleaton-Jones P., Austin J.: Hard tissue barrier formation in pulpotomized moncey teeth capped with cyanoacrylate or calcium hydroxide for 10 and 60 minutes. *J. Dent. Res.*, 1997; 66:1166-1174.
6. Gašić J, Radićević G, Radenković G.: Molekularni mehanizmi indukcije dentinogeneze pp.9-95 Sven, Niš 2003.
7. Naik S., Hegde A.M.: Mineral trioxide aggregate as a pulpotomy agent in primary molars: An in vivo study.*J Indion Soc Pedo Prev Dent.*2005 ;23.13-16.
8. Shalhav M, Fuss Z, Weiss EI.: In vitro antibacterial activites of root canal sealers againts selected anerobic bacteria.*J of Endod*, 1997;10:616-9
9. Vujašković M.: Biofizičke osobine glas jonomer cementa u poređenju sa standardnim materijalima za opturaciju kanala, doktorska disertacija, 1999, Beograd
10. Siquiera J.F., Favieri A., Gahyva S.M.M., Moraes S.R., Lima K.C., Lopes H.P.: Antimicrobial activity and flow rate of newer and established root canal sealers, *J off Endod*, 2000; 26:5, 274-7
11. Lambjerg H.: Vital pulpectomy annnnnd root filling with N2 or Endomathasone *Int Endod*, J 1987 ; 20:194-204
12. Schwarse T, Leyhausen G, Geurtsen W.:Long term citosopatibility of variosus endodontic sealers using a New Root Canal Model, *J of Endod*, 2002; 28:11, 749-753
13. Vujašković M., Radosavljević B.: Antimikrobna aktivnost materijala za trajnu opturaciju kanala korena zuba, *Stom Glas Srbije*, vol 53, 2006;104-112.