

Altı farklı kök kanal dolgu maddesinin *Enterococcus faecalis* üzerine antimikrobiyal aktivitesinin in-vitro araştırılması

In-vitro evaluation of antimicrobial activity of six root canal sealers on Enterococcus faecalis

Nimet Yiğit¹, K.Meltem Çolak², Ahmet Ayyıldız³

Atatürk Üniversitesi ¹Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü, ²Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı, ³Tip Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

İletişim / Correspondence: Nimet Yiğit Adres / Address: Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü Aziziye Araştırma Hastanesi Binası Erzurum Tel: 0 442 3166333 / 2430 Fax: 04423156044 Gsm: 0533 4678717
E-mail: nmimyigit@e-kolay.net - nimyigit@hotmail.com

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, yaygın olarak kullanılan iki epoksi-resin esaslı (AH 26, AH plus), bir çinko-oksit öjenol esaslı (N2), bir kalsiyum hidroksit esaslı (sealapex), bir silikon esaslı (RSA Reoko-seal) ve bir poliketon esaslı (Diaket) kök kanal dolgu maddelerinin *Enterococcus faecalis* izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesidir. Bakteri izolatlarının triptik soy buyyon (TSB) besiyerinde 12 saatlik kültüründen Mc Farland standart bulanıklık 1 eşeline denk süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlardan triptik soy agar (TSA) besiyerlerine ekim yapılmıştır. Taze hazırlanan dolgu maddeleri besiyerlerinde açılan çukurlara doldurulmuştur. İnkübasyon süresinden sonra inhibisyon zonları ölçülmüş ve değerlendirilmiştir. Dolgu maddeleri tiplerine bağlı olarak değişik aktiviteler göstermiştir. RSA dolgu maddesi *E.faecalis* üzerinde antimikrobiyel etki göstermemiştir.

Anahtar kelimeler: Kök kanal dolgu maddeleri, antimikrobiyal aktivite, *Enterococcus faecalis*

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial properties of six commonly used endodontic sealers: two epoxy-resin based sealers (AH 26, AH plus), one zinc-oxide eugenol based sealer (N2), one calcium hydroxide based sealer (sealapex), one silicone based sealer (RSA roekoseal) and one polycetone based sealer (Diaket) against the isolates of *E.faecalis*. The inocula of bacteria were prepared from 12 h broth cultures (tryptone soy broth TSB) and suspensions were adjusted to 1 Mc. Farland standard turbidity. The inoculum was spread on tryptone soy agar (TSA). The freshly mixed sealers were placed into the prepared wells of agar plates. After periods of incubation the zone of growth inhibition were observed and measured. The sealers showed different inhibitory effects depending on the types. The RSA sealer was no effect on *E.faecalis*.

Key words: root canal sealers, antimicrobial activity, *Enterococcus faecalis*

GİRİŞ

Başarılı bir endodontik tedavinin en önemli hedefi kök kanal sisteminden mikroorganizmaların elemine edilmesi ve burada yeniden kolonizasyonlarının önlenmesidir. Kanal duvarlarının temizlenmesi ve şekillendirilmesi ve kök kanalının üç boyutlu doldurulması endodontik tedavinin basamaklarıdır. Bu tedavi aşamalarının gerçekleştirilmesine rağmen kök yan kanalları ve dentin tubullerinde mikroorganizmaların kalması ve bu

mikroorganizmaların yeniden kolonize olması sözkonusu olabilir. Endodontik tedavinin son basamağı olan kanal dolgusunun eksik veya yetersiz olması durumunda tedavide başarısızlıklar ortaya çıkacaktır. Bu yüzden dolgu işleminde kullanılacak materyallerin antimikrobiyal özelliğe sahip olması istenmektedir. İdeal kök kanal dolgu maddeleri apikalde kök kanal duvarlarını en iyi şekilde kaplamalı, periapikal dokular tarafından tolere edilebilir olmalı, rezorbe olmamalı, hacimsel stabiliteye sahip olmalıdır. Aynı şekilde kök ka-

nal tedavisinden sonra periapikal doku iyileşmesi için mikroorganizmaların kanal içinde bulunmaması, dolayısı ile kullanılacak dolgu materyallerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip olması gerekmektedir (1-5).

Diş kanallarının infekte olmasında değişik türde mikroorganizmaların rolü vardır. Pulpal ve periapikal doku hastalıkları tanısı konulan hastaların infekte kök kanallarından izole edilen bakteriler içinde *E.faecalis* en sıklıkla izole edilen enterik bakteridir. Yaklaşık %33-38 oranında izole edilmektedir. *E.faecalis* antimikrobiyal tedaviye de direnç gösterdiğinden dolayı kök kanallarının bu bakteri tarafından infekte edilmesi endodontik tedavinin başarısını önemli ölçüde azaltacaktır (6-9).

Yaygın olarak kullanılan ve tanımlanmaları yapısal özelliklerine göre veya içeriğindeki esas madde dikkate alınarak yapılmış olan değişik kök kanal dolgu maddeleri mevcuttur. Genellikle öjenollü, öjenolsüz, paraformaldehitli, kalsiyum hidroksit esaslı, iyot esaslı ve resin esaslı olmak üzere etken madde varlığına göre sınıflandırılmaktadırlar (5,10).

Bu çalışmada yaygın olarak kullanılan ikisi epoksi-resin esaslı (AH 26, AH plus), biri çinko-oksit öjenol esaslı (N2), biri kalsiyum hidroksit esaslı (sealapex), biri silikon esaslı (RSA Reoko-seal) ve biri poliketon esaslı (Diaket) kök kanal dolgu maddelerinin *E.faecalis* izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kök kanal dolgu maddesi olarak altı farklı dolgu maddesi kullanılmıştır; Sealapex (kerr,USA), AH26 (Dentsply De Trey, konstanztan, Germany), AH plus (Dentsply De Trey, konstanztan, Germany), N2 (Indrag AGSA, Switzerland), Diaket (Espe, GmGH), RSA (Roeko, Langenau, Germany)

Çalışmada *E.faecalis* türüne ait toplam 40 klinik izolat kullanılmıştır. Bu suşlar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik

Mikrobiyoloji rutin laboratuvarına gelen idrar örneklerinden izole edilmiş ve klasik mikrobiyolojik yöntemler ile tanımlanmıştır. İzolatların triptik soy buyyon besiyerinde 12 saatlik taze kültürleri hazırlanmış ve bu kültürlerden McFarland standart bulanıklık eşeli 1 e denk gelen süspansiyonları elde edilmiştir. Bu süspansiyonlardan triptik soy agar besiyerlerine ekim yapılmış ve besiyerlerinde eşit uzaklıkta 4 mm derinlik ve 6 mm çaplı çukurlar açılmıştır. Kanal dolgu maddeleri kullanım şekline göre taze olarak hazırlanmış ve donmalarını engellemek için hızlıca çukurlara doldurulmuştur. Bu işlemi takiben besiyerleri 37°C de 24 ve 48 saat bekletilmiş ve süre sonunda çukurlar etrafında oluşan zon çapları ölçülerek sonuçlar kaydedilmiş ve ortalamaları alınmıştır. Dolgu maddelerinin antimikrobiyal aktivitesi açısından aralarında istatistiksel olarak fark olup olmadığının belirlenmesi için one-way ANOVA testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan toplam 40 *E. faecalis* suşu üzerinde altı farklı kök kanal dolgu maddesinin antimikrobiyal aktivitesi Tablo I de gösterilmiştir. Kırksekiz saatlik inkübasyon süresi sonucu zon çaplarında değişiklik kaydedilmemiştir.

Tablo 1. *E. faecalis* suşları üzerinde altı farklı kök kanal dolgu maddesinin antimikrobiyal aktivitesi (ortalama zon çapı mm).

	Kök Kanal Dolgu Maddeleri					
	AH26	AH plus	Sealapex	Diaket	N2	RSA
<i>E. faecalis</i>	0,78	0,075	0,32	1,25	0,53	0

Çalışmada kullanılan kök kanal dolgu maddelerinden diaket, AH 26, N2, Sealapex ve AH plus *E. faecalis* suşları üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermiş RSA ise herhangi bir aktivite göstermemiştir. Diaket dolgu maddesi en yüksek inhibisyon zonu meydana getirmiştir. Bu altı dolgu maddesinin aralarında istatistiki olarak anlamlı sayılabilecek bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

TARTIRŞMA

Endodontik tedavinin ilk basamağı olan enstrümantasyon ve irrigasyon sonrası kompleks kanal sisteminin tamamen steril olamayacağı infekte dentin kanallarında hala mikroorganizma kalacağı, bu yüzden kök kanallarında yeniden mikroorganizmaların ürememesi için gerek kök kanal pansuman maddeleri, gerekse de kök kanalı dolgu maddelerinin antimikrobiyal etkili olma zorunluluğu vardır (1-5). Kök kanal dolgu maddeleri üzerinde yapılan antimikrobiyal etki çalışmaları önemlidir. İn-vitro aktivite araştırılmasında kullanılan yöntem de çok önemlidir. Dolgu maddelerinin hazırlandıktan sonra hızla donmaları ve mikroorganizmalar ile besiyerinde bu maddelerin temasının sağlanması açısından agar diffüzyon yöntemi kullanılabilir (1-10). Kanal dolgu maddelerinin aktivitesi belirlenirken yöntemle ilgili bazı standardizasyonların yapılması gerekmektedir. İnokulum yoğunluğunun ayarlanması, yeterli kültür ortamı, agarın vizkozitesi, Petri'lerin büyüklüğü, inkübasyon süreleri ve inkübasyon sıcaklığı gibi. İn-vitro çalışmalarda bu koşulların standardize edilmesi sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir (1,11,12). İnhibisyon zon çapı değerlendirmelerinde oluşan zon çaplarının materyalin sadece toksisitesine değil agarda iyi diffüze olabilmesine bağlı olduğu da bildirilmektedir (7).

Kalsiyum hidroksit esaslı dolgu maddeleri (sealapex) hidroksil iyonlarının serbestleştirilmesi yani iyonizasyona bağlı olarak pH oranında yükselmesiyle (pH >9) mikroorganizma membran enzimlerinin geri dönüşümsüz olarak inaktive olmasına ve biyolojik aktivitenin kaybolmasına sebep olarak mikroorganizmaların ölmesini sağlamaktadır. Sealapex kalsiyum hidroksit salınımı ile hücre sitotoksitesine de sebep olmaktadır. AH 26 ve AH plus dolgu maddeleri de benzer etkiye sahiptir. AH26 ve AH plus resin esaslı maddelerdir ve bu maddeler mutajenik etkilidir. Yine bu maddeler polimerizasyon sırasında formaldehit serbest bırakarak etkili olmaktadır. N2 çinko oksit öjenol esaslıdır ve vejatatif mikroorganizma hücrelerinin bölünmesini durdurucu etkiye sahiptir (1,11-15).

E. faecalis endodontik infeksiyonlara sebep olan en önemli patojenlerden biridir. Özellikle kök kanal infeksiyonlarından sıklıkla izole edilmektedir. *E. faecalis* kök kanallarından tamamı ile yok edilemeyen ve tedaviye direnç gösteren bakterilerdir. Kanal dolgusu yapılsa bile sınırlı yaşam koşullarında canlı kalabilmekte ve yeniden kolonize olmaktadır (6-9).

Konu ile ilgili yapılan çalışmaların karşılaştırılması yapılırken öncelikle maddelerin hangi mikroorganizmalar üzerine etkilerinin değerlendirildiği, kullanılan dolgu maddelerinin kimyasal türevi ve miktarına dikkat edilmelidir. Çalışmalar incelendiğinde yaygın olarak kullanılan değişik türevli kök kanal dolgu malzemeleri farklı türe ait bakteriler karşı aktivite açısından değerlendirildiği ve sonuçların bakteri türüne ve kök kanal dolgu maddesine göre oldukça değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (1-18)

Kayaoğlu ve ark. (6) çalışmalarında *E. faecalis* A197A suşu üzerinde AH plus ve N2 dolgu maddelerinin güçlü antibakteriyel etkili olduğunu, sealapex dolgu maddesinin ise diğerlerine göre etkili olmadığını, Mickel ve ark. (7) çalışmalarında kullandıkları dört farklı dolgu maddesinden *E. faecalis* üzerine sealapex dolgu maddesinin aktivite gösterdiğini (0,8 mm zon çapı) AH plus maddesinin etkili olmadığını belirtmişlerdir. Kaplan ve ark.(16) yaygın olarak kullanılan dolgu maddelerinden öjenol ve formaldehit esaslı olanların daha iyi antimikrobiyal etkili olduklarını, AH plus maddesinin ise genel olarak daha etkisiz olduğunu belirtmişlerdir. Gomes ve ark. (2) ise çalışmalarında kullandıkları bakteriler içerisinde kök dolgu maddelerine karşı *E. faecalis*, in dirençli olduğunu bildirmişlerdir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan belirli kök kanal dolgu maddeleri mevcuttur. Mineralizasyon ve apikal kapanmayı indüklediği, travma sonucu oluşan kök rezorpsiyonunu inhibe ettiği, alkali pH ile osteoklastik aktiviteyi inhibe ettiği belirtilen kalsiyum hidroksit endodontide çok geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Kök kanalı pansuman ve dolgu maddesi olarak yoğun olarak kul-

lanılmaktadır. Yine Bystrom ve Sundqvist (17) kalsiyum hidroksit esaslı dolgu maddelerinin etkili antimikrobiyel aktiviteye sahip olduğunu AH plus maddesinin ise etkili olmadığını bildirmişlerdir. Kalsiyum hidroksitli dolgu maddelerinin pH12,5' in üzerinde oldukça etkin pH 9,14' ün altında ise etkisiz kalarak hiç zon çapı vermediğini bunun formaldehit salınımının azalmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. *E. faecalis* in pH 11,1 in üstündeki pH larda kalsiyum hidroksite dirençli olduğu fakat pH in düşmesiyle protein sentezinde oluşan stres ve proton pompalarındaki fonksiyon bozukluğu nedeni ile canlı kalma oranı oldukça düşmektedir. *E. faecalis* yüksek alkali ortamlarda proton pompaları ideal sitoplazmik düzeydeki kladar iyi çalıştığı için kalsiyum hidroksite direnç göstermektedir. (18,19) Sealapex dolgu maddesi bir çok çalışmada iyi sonuçlar vermiştir. Bizim çalışmamızda diğer dolgu maddelerinden istatistiki olarak anlamlı derecede olmakla beraber aktivite göstermiştir (0,32 mm zon çapı). Çalışmamızda RSA dolgu maddesi hiç zon oluşturmamış, diaket maddesi ise *E. faecalis* e karşı en yüksek zon çapı oluşturmuş (1,25 mm) ve antibakteriyal etkinlik gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Lai.C.C., Huang F.M., Yang H.W., Chan Y., Huang M.S., Chou M.Y., Chang Y.C. Antimicrobial activity of four root canal sealers against endodontic pathogens. Clin Oral Invest 2001; 5:236-239.
2. Gomes A.F.P.B., Pedrosa J.A., Jacinto C.R., Vionna E.M., Ferraz R.C.C., Zaia A.A., Souza-Filho J.F. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of five root canal sealers. Braz Dent J 2004;15:30-35.
3. Pizzo G., Giammanco G.M., Cumbo E., Nicolosi G., Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic sealers. Journal of Den 2006; 34: 35-40.
4. Takahashi Y., Imazato S., Kaneshiro A.V., Ebisu S., Frencken J.E., Tay R.F. Antibacterial effects and physical properties of glass ionomer cements containing chlorhexidine fort he ART approach. Dent Materi 2006; 22: 647-652.
5. Aydemir H., Baklaya B., Hamzaçebi H : Kök kanal dolgu materyallerinin antimikrobiyal etkileri. G.Ü. Dışhekimliği Fak Der 2003; 20: 1-5.

6. Kayaoğlu G., Erten H., Alaçam T., Arstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. Intern Endo J 2005; 8:483-488.
7. Mickel A.K., Nguyen T.H., Cholge S. Antimicrobial activity of endodontic sealers on *Enterococcus faecalis*. J Endo 2003; 29: 257-258.
8. Lin Y.H., Mickel A.K., Cholge S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis* : part 3 the antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* . J Endo 2003; 29: 565-566.
9. Shabahang S and Torabinejad M. Effect MTAD on *Enterococcus faecalis* contaminated root canals of extracted human teeth: JEndo 2003; 29: 576-579.
10. Caicedo R., Von Fraunhofer A. The properties of endodontic sealer cements: J Endo 1988; 14:527-534
11. Pumarola J., Berastegui E., Brau E., Canalda C., Jimenez de Anta M.T. Antimicrobial activity of seven root canal sealers results of agar diffusion and dilution test. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1992; 74:216-220.
12. Weiss E.L., Shalhav M., Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. Endo Dent Traumatol 1996;12:179-184
13. Estrela C, Sydney G.B., Bammann L.L., Felipe O Jr. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Bras Dent J 1995; 6:85-90.
14. Cohen B.I., Pagnillo M.K., Musikant B.L., Dentsch A.S: Evaluation of the release of formaldehyde for three endodontic filling materials. Oral Health 1998; 88:37-39.
15. Leonardo M.R., Silva L.A.B. da, Filho M.T., Silva R.S. da: Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1999; 88:221-225.
16. Kaplan A.E., Picca M., Gonzalez M.I., Macchi R.L., Molgati S.L. Antimicrobial effect of six endodontic sealers: an in vitro evaluation. Endo Dent Traumatol 1999; 15:42-45.
17. Byström A., Sundqvist G. The antibacterial action of sodium hypochlorite and EDTA in 60 cases of endodontic therapy: Int Endod J 1985; 18:35-40.
18. Byström A., Claesson R., Sundqvist G. The antimicrobial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in treatment of infected root canals. Endo Denta Traumatol 1985; 1:170-175.
19. Evans M, Davies J.K., Sundqvist G., Fidgar D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. Intern Endo J 2002; 35:221.