

Comparative evaluation of antibacterial effect and compressive strength of resin-modified glass-ionomer containing different antibiotics

Abdolrahim Davari¹, Hengameh Zandi², Farnaz Faraahat³, Zahra Haddadi^{4,*}

1- Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran; Member of Social Determinant of Oral Health Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Assistant Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

4* - Dental Student, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Article Info

Article type:
Original Article

Article History:
Received: 22 Sep 2020
Accepted: 24 May 2021
Published: 1 Jul 2021

Corresponding Author:
Zahra Haddadi

School of Dentistry, Shahid
Sadoughi University of Medical
Sciences, Yazd, Iran

(Email: z.hadadi1994@gmail.com)

Abstract

Background and Aims: Nowadays, new techniques are used to control dental caries that have the ability to kill cariogenic bacteria. Recently, the addition of antibiotics to glass ionomers has been proposed to reduce the overall number of saliva bacteria. The aim of this study was to compare the antimicrobial effect and compressive strength of resin-modified glass ionomer (RMGI) containing different antibiotics on *Streptococcus mutans*.

Materials and Methods: A total of 120 specimens were prepared in 3 groups (n=40) including RMGI containing doxycycline with a concentration of 1.5%, RMGI containing a combination of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline with a concentration of 1.5%, and RMGI without antibiotics as control group. To measure the antibacterial effect, the disk diffusion method and counting of *Streptococcus mutans* bacterial colonies were used and then the compressive strength test was performed. Data were collected into SPSS25 and analyzed by ANOVA and Kruskal-Wallis tests and the significance level was considered $\alpha=0.05$.

Results: The mean number of bacterial colonies in the RMGI group containing doxycycline in all three time intervals 1, 24 hours and 7 days was significantly lower than the specimens in the RMGI group containing the triple antibiotic ($P<0.001$). The mean compressive strength of the two experimental groups was lower than the control group but was not statistically significant ($P=0.326$).

Conclusion: The addition of antibiotics at a concentration of 1.5% to RMGI resulted in a favorable antibacterial property with no significant change in the compressive strength.

Keywords: Resin-modified glass-ionomer, *Streptococcus mutans*, Antibiotic, Compressive strength

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2021;34:9

Cite this article as: Davari A, Zandi H, Faraahat F, Haddadi Z. Comparative evaluation of antibacterial effect and compressive strength of resin-modified glass-ionomer containing different antibiotics. J Dent Med-TUMS. 2021;34:9.



ارزیابی مقایسه اثر ضد میکروبی و استحکام فشاری گلاس آینومر رزین مدیفاید (RMGI) حاوی آنتی بیوتیک‌های مختلف

عبدالرحیم داوری^۱، هنگامه زندی^۲، فرناز فراغت^۳، زهرا حدادی^{۴*}

- ۱- استاد گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت دهان و دندان، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
 ۲- استادیار گروه آموزشی میکروپ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی صدوقی، یزد، ایران
 ۳- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
 ۴- دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله پژوهشی</p>	<p>زمینه و هدف: امروزه برای کنترل پوسیدگی دندان‌های نوینی که قابلیت از بین بردن باکتری‌های پوسیدگی را دارند استفاده می‌شود. اخیراً افزودن آنتی بیوتیک‌ها به گلاس آینومر با هدف کاهش تعداد کلی باکتری‌های زنده بزاق پیشنهاد شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای اثر ضد میکروبی و استحکام فشاری گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی آنتی بیوتیک‌های مختلف بر روی گونه streptococcus mutans بود.</p> <p>روش بررسی: مجموعاً ۱۲۰ نمونه در ۳ گروه با تعداد برابر، شامل گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی داکسی سایکلین با غلظت ۱/۵٪، گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی ترکیب سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین با غلظت ۱/۵٪ و گلاس آینومر رزین مدیفاید بدون آنتی بیوتیک تهیه شد. جهت سنجش اثر آنتی باکتریال از روش دیسک دیفیوژن و شمارش کلونی‌های باکتری استرپتوکوکس موتانس استفاده شد. در ادامه آزمون استحکام فشاری انجام شد. داده‌ها پس از جمع آوری وارد SPSS25 شده و به وسیله آزمون‌های کرویسکال-والیس و ANOVA جهت بررسی اختلاف بین دو گروه آزمایش و گروه کنترل با سطح معنی‌داری $\alpha=0/05$ مورد مقایسه آماری قرار گرفت.</p> <p>یافته‌ها: میانگین تعداد کلونی‌های باکتری استرپتوکوک موتانس در گروه گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی داکسی سایکلین در سه زمان ۱ و ۲۴ ساعت و ۷ روز، به طور معنی‌داری از نمونه‌های گروه گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی آنتی بیوتیک سه گانه کمتر بود ($P<0/001$). میانگین استحکام فشاری دو گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کمتر بود اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P=0/326$).</p> <p>نتیجه‌گیری: افزودن آنتی بیوتیک‌ها در غلظت ۱/۵٪ به رزین مدیفاید گلاس آینومر موجب ایجاد خاصیت آنتی باکتریال مطلوبی می‌شود، بدون اینکه خاصیت استحکام فشاری آن به طور چشمگیری تغییر کند.</p> <p>کلید واژه‌ها: گلاس آینومر رزین مدیفاید، استرپتوکوکس موتانس، آنتی بیوتیک، استحکام فشاری</p>
<p>وصول: ۹۹/۰۷/۰۱ اصلاح نهایی: ۴۰۰/۰۳/۰۳ تأیید چاپ: ۴۰۰/۰۴/۱۰</p> <p>نویسنده مسوول: زهرا حدادی</p> <p>دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران (Email: z.hadadi1994@gmail.com)</p>	<p>مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران دوره ۳۴، مقاله ۹، ۱۴۰۰</p>

مقدمه

پوسیدگی دندان‌های یک بیماری میکروبی عفونی است که منجر به تجزیه و تخریب بافت‌های کلاسیفیه دندان می‌شود. این فرایند تخریب در نتیجه فعالیت باکتری‌های تخمیر کننده کربوهیدرات‌ها، تولید اسید و متعاقب آن دمیترالیزه شدن بافت‌های دندان‌های صورت می‌پذیرد (۱). عقیده بر این است که پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی با منشأ میکروبی می‌باشد که به وسیله چندین نوع باکتری در دهان بوجود می‌آید و یکی از مهم‌ترین باکتری‌ها که مسئول ایجاد این پوسیدگی دندان‌های است باکتری استرپتوکوکس موتانس می‌باشد (۲،۳). منطقی است برای جلوگیری و کنترل این بیماری از مواد و تکنیک‌های نوینی که قابلیت از بین بردن یا نابود کردن این گونه از باکتری‌های پوسیدگی را دارند استفاده شود. تولید و گسترش مواد دندان‌های با خاصیت ضد میکروبی سال‌هاست که یکی از مهم‌ترین و بزرگ‌ترین اهداف علوم مواد دندان‌های و دندان پزشکی بوده است و در همین راستا، مطالعات و آزمایشات زیادی به منظور ادغام اثر ضد میکروبی بر روی مواد دندان‌های از جمله گلاس آینومر انجام شده است (۴،۵).

گلاس آینومر ماده‌ای است که از سال ۱۹۷۰ وارد دندانپزشکی شده و از آن تاریخ به عنوان یکی از مواد هم‌رنگ دندان در دندانپزشکی ترمیمی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). غیر از توانایی باند شیمیایی به دندان مزایای دیگر این ماده همچون آزاد سازی فلوراید، ضریب انبساط حرارتی و ضریب انتقال حرارتی مشابه دندان، عدم وجود انقباض در زمان پلیمریزاسیون (برخلاف کامپوزیت‌ها) سبب شده گلاس آینومر همچنان به عنوان یکی از مواد ترمیمی مهم در دندانپزشکی مطرح باشد (۷،۸). گلاس آینومر اصلاح شده با رزین (RMGI) حاوی اجزای اصلی گلاس آینومر می‌باشد که با اضافه کردن مقادیر کمی رزین اصلاح شده‌اند (۷). ترکیب هیدروکسی اتیل متاکریلات (HEMA) یا بیس فنول آ-گلیسیدیل متاکریلات (Bis-GMA) با گلاس آینومر، ویژگی‌های استحکام فشاری، سختی، ضریب الاستیسیته، مقاومت به حلالیت و مقاومت به چسبندگی باکتریال را بهبود می‌بخشد (۹). همچنین افزودن رزین به مایع گلاس آینومر باعث افزایش قدرت باندینگ، بهبود زیبایی و پرداخت پذیری آن شده است (۱۰). مواد گلاس آینومری ابتدا برای ترمیم ضایعات سرویکالی غیرپوسیده Non carious cervical lesion (NCCL) و ضایعات پوسیده ریشه به عنوان ماده ترمیمی

ساخته شده سپس در طول زمان با مواد RMGI جایگزین شدند که حساسیت تکنیکی کمتر، خصوصیات فیزیکی بهتر و زیبایی پیشرفته‌تری داشته و خصوصیات کارکردی آن‌ها بشدت بهبود یافته بود. RMGI به علت چسبندگی خوب به ساختار دندان و آزاد سازی فلوراید جهت ضایعات پوسیده سطح ریشه استفاده می‌شود. این مواد همچنین جهت ترمیم پوسیدگی راجعه اطراف رستوریشن‌های غیر مستقیم موجود توصیه می‌شوند (۸).

باید توجه داشت که فلوراید آزاد شده از گلاس آینومر به اندازه کافی قدرتمند نیست تا با اثرات تخریبی باکتری‌ها در مدت زمان طولانی مبارزه کند (۱۱). مطالعات بالینی نشان می‌دهند که باکتری‌های باقی مانده جای گرفته در زیر ترمیم گلاس آینومر برای بیشتر از ۲ سال باقی میمانند، همچنین پروسه پوسیدگی ممکن است در طی دوره‌ای از زمان پیشرفت کند و باعث شکست ترمیم شود، این مسئله ممکن است با استفاده از موادی که از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند حل شود (۱۲،۱۳).

اخیراً افزودن آنتی بیوتیک‌ها به گلاس آینومر‌ها با هدف کاهش تعداد کلی باکتری‌های زنده پیشنهاد شده است، از منابع دندانپزشکی به نظر می‌رسد که کلرهگزیدین و آنتی بیوتیک‌هایی مثل داکسی‌سایکلین، مترونیدازول، سیپروفلوکساسین و ماینوسایکلین مکرراً به گلاس آینومر اضافه شده‌اند و همه مطالعات نتایج دلگرم کننده‌ای در مورد اثرات ضد میکروبی گلاس آینومر اصلاح شده نشان داده‌اند (۱۱،۱۴،۱۵). ترکیب سه نوع آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین در عفونت‌های پوسیدگی‌ها، پالپ نکروزه و عاج عفونی مؤثر گزارش شده است و گلاس آینومر حاوی این سه آنتی بیوتیک در مهار رشد باکتری‌ها مؤثر واقع بوده است (۱۳). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که ترکیب این سه آنتی بیوتیک بر روی طیف وسیعی از باکتری‌ها اثرات آنتی باکتریال ویژه‌ای داشته که هیچ آنتی بیوتیکی به تنهایی این اثر وسیع را ندارد (۱۶،۱۷).

با این حال افزودن مواد آنتی باکتریال می‌تواند باعث به خطر افتادن خواص فیزیکی و مکانیک پایه‌ای مواد شود. در حالی که در چندین مطالعه، افزودن آنتی بیوتیک در غلظت پایین (۱/۵٪) به گلاس آینومر برای ایجاد خواص آنتی باکتریال و خواص فیزیکی مناسب، مطلوب گزارش شده است (۱۳،۱۸،۱۹). همچنین در مطالعه‌ای با افزودن

EJ303 ساخت ژاپن با سه رقم اعشار به منظور تهیه رزین مدیفاید گلاس آینومر حاوی آنتی بیوتیک با غلظت ۱/۵٪ وزنی اندازه گیری شد. سپس مقدار مورد نیاز از آنتی بیوتیک با جزء پودری رزین مدیفاید گلاس آینومر مخلوط شد. سپس جزء مایع و پودر روی پد کاغذی Zhermack کد محصول: ۳۲۱۴۱۰۳ ساخت (Germany) به و سیله اسپاتول پلاستیکی در محیط نیمه تاریک و استریل ترکیب و داخل مولد پلاستیکی با قطر ۴ میلی متر و ضخامت ۲ میلی متر برای ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال و مولد دیگری با قطر ۲ میلی متر و ضخامت ۴ میلی متر برای ارزیابی استحکام فشاری قرار داده شد. ابتدا یک عدد نوار میلار و سپس یک قطعه شیشه، بر روی آن قرار گرفت و سپس از دو جهت هر بار به مدت ۲۰ ثانیه با شدت 800 mW/cm^2 بوسیله دستگاه لایت (LED light cure DEMI, Kerr, USA) کیور شد.

ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال

باکتری مورد آزمایش: سویه استاندارد استرپتوکوک موتانس (PTCC:1683) با شماره (ATCC:35668) که از شرکت انستیتو پاستور ایران تهیه شد.

مرحله اول: سنجش حساسیت ضد میکروبی به روش دیسک

دیفیوژن

از کشت خالص و تازه باکتریایی (کشت ۲۴ ساعته) در لوله آزمایش حاوی ۳ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک، سوسپانسیون با کدورت معادل لوله نیم مک فارلند ($1 \times 10^8 \text{ CFU/ml}$) تهیه شد. سپس از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده توسط سوآپ بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (Liofilcam- Italy) غنی شده با ۵٪ خون گوسفندی تلقیح و به صورت چمنی کشت داده شد. محیط کشت blood agar محیطی جامد و مغذی با ۵٪ خون گوسفند است و برای شناسایی باکتری‌هایی به کار می‌رود که به واسطه آنزیم‌هایی که تولید می‌کنند باعث لیز شدن گلبول‌های قرمز می‌شود و این فرایند همولیز نامیده می‌شود. محیط بلاد آگار محیطی غنی شده برای رشد باکتری‌های سخت رشد مانند streptococcus mutans می‌باشد که بر روی محیط‌های کشت روتین رشد نمی‌کنند.

سپس دیسک‌های گلاس آینومر حاوی آنتی بیوتیک گروه‌های

آنتی بیوتیک داکسی سایکلین به RMGIC فعالیت آنتی باکتریال به طور چشمگیری افزایش یافت در حالی که در خواص مکانیکی آن تغییری یافت نشد (۱۹). با توجه به وجود نتایج متناقض در مورد تأثیر گذاری آنتی بیوتیک‌ها بر روی استحکام فشاری گلاس آینومرها، هدف از این مطالعه ارزیابی مقادیر سه‌ای اثر ضد میکروبی و استحکام فشاری گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی آنتی بیوتیک‌های مختلف بر روی گونه streptococcus mutans می‌باشد.

روش بررسی

روش تعیین حجم نمونه

در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی بر اساس مطالعات مشابه (۱۱) و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و توان ۸۰٪ و در نظر گرفتن انحراف معیار ۰/۱۲۵ برای تعداد کلونی‌ها و در نظر گرفتن اختلاف میانگین ۱/۵ واحد تعداد کلونی بین ۳ گروه اصلی و با توجه به اینکه تعداد کلونی‌ها در ۳ زمان ۱ و ۲۴ ساعت و هفت روز اندازه گیری شدند نیاز به حداقل ۵ نمونه در هر زمان اندازه گیری بود. همچنین با توجه به اینکه متغیر قطر هاله عدم رشد جدا از شمارش تعداد کلونی‌ها اندازه گیری شد، تعداد ۵ نمونه برای این زیر گروه در نظر گرفته شد. بنابراین در این مطالعه برای ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال، ۳ گروه اصلی آزمایش وجود داشت که در هر گروه اصلی ۲۰ نمونه و جمعاً ۶۰ نمونه دیسک استفاده شد. همچنین برای ارزیابی استحکام فشاری نیز به صورت جداگانه در هر گروه اصلی ۲۰ نمونه و جمعاً ۶۰ نمونه تهیه شد.

$$n = \frac{(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta})^2 \times 2S^2}{d^2}$$

تهیه گلاس آینومر رزین مدیفاید حاوی آنتی بیوتیک

وزن مخلوط سه آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین و آنتی بیوتیک داکسی سایکلین (Sigma-Aldrich, Germany) و جزء مایع و پودر رزین مدیفاید گلاس آینومر (light cure, reinforced glass ionomer GC gold label II, Tokyo Japan) به وسیله یک ترازوی دیجیتالی (AND) مدل

عمودی بر روی پایه دستگاه و تحت نیروی فشاری قرار گرفتند تا لحظه‌ای که نمونه دچار شکست شد.

داده‌ها پس از جمع آوری، وارد SPSS25 شده و با استفاده از آزمون K-S نرمالیتی داده‌ها بررسی شد. سپس و در صورت نرمال بودن، از آزمون Two-way ANOVA برای بررسی مداخله‌های مورد آزمایش، استفاده شد. برای مقایسه متغیر پاسخ در گروه‌های مورد بررسی که دارای توزیع نرمال بود از آزمون One-way ANOVA و در غیر این صورت از آزمون Kruskal Wallis استفاده شد.

یافته‌ها

طبق جدول ۱، با توجه به بالا بودن میزان تعداد کلونی‌ها در زمان‌های ۱ و ۲۴ ساعت و ۷ روز، از تمام داده‌ها لگاریتم بر پایه ۱۰ گرفته شد و اعداد به دست آمده در آزمون Two-way ANOVA و با در نظر گرفتن اثر متقابل گروه‌ها و زمان، آنالیز شدند. نتایج نشان داد که میانگین تعداد کلونی‌های باکتری استرپتوکوک موتانس در هر دو گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/001$) و همچنین میانگین تعداد کلونی‌های باکتری استرپتوکوک موتانس در نمونه‌های گروه RMGI حاوی داکسی‌سایکلین به طور معنی‌داری از نمونه‌های گروه RMGI حاوی مخلوط آنتی‌بیوتیک سه گانه (سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین) کمتر بود ($P < 0/001$). میانگین تعداد کلونی‌های باکتری استرپتوکوک موتانس در هر دو گروه آزمایش پس از ۷ روز نسبت به زمان‌های ۱ و ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری کاهش یافته بود ($P < 0/001$).

طبق جدول ۲، هیچ ناحیه مهار رشدی در اطراف نمونه‌های گروه کنترل مشاهده نشد در حالی که ناحیه مهار رشدی در اطراف نمونه‌های هر دو گروه آزمایش دیده شد. باتوجه به نتایج به دست آمده از آزمون Kruskal-Wallis، اختلاف معنی‌داری بین میانگین ناحیه مهار رشدی دو گروه آزمایش با گروه کنترل وجود داشت ($P = 0/01$). همچنین از آزمون Mann-Whitney برای بررسی میزان معنی‌داری اختلاف بین دو گروه آزمایش استفاده شد، نتایج نشان داد حتی با بالاتر بودن میانگین ناحیه مهار رشدی گروه آنتی‌بیوتیک سه گانه ($3/80 \pm 3/49$) نسبت به گروه داکسی‌سایکلین ($3/40 \pm 2/88$)، این اختلاف به دلیل وجود میانه برابر ($\text{median} = 2$) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P = 0/67$).

آزمایش و گروه کنترل بطور جداگانه توسط پنس استریل بر روی محیط کشت قرار داده شد. بعد از انکوباسیون پلیت‌ها در کندل جار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، قطرهای عدم رشد میکروبی در اطراف دیسک‌ها به وسیله خط کش با مقیاس میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

مرحله دوم: تعیین تعداد باکتری‌های Streptococcus mutans

روی سطوح رزین مدیفاید گلاس آینومر دیسک‌های گلاس آینومر حاوی آنتی‌بیوتیک گروه‌های آزمایش و گروه کنترل به طور جداگانه داخل لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت مایع BHI broth (Brain Heart Infusion Broth) و استرپتوکوکوس موتانس با غلظت معادل لوله نیم مک فارلند ریخته و در کندل جار در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد. جهت بررسی اثر ضد میکروبی در زمان‌های ۱ ساعت، ۲۴ ساعت و ۷ روز، دیسک‌ها را از لوله‌های حاوی محیط کشت خارج کرده و به طور جداگانه در لوله حاوی یک میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک و گوی شیشه‌ای استریل قرار داده شد و به منظور جدا شدن باکتری‌ها از دیسک‌ها، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با دستگاه Vortex با دور ۱۰۰۰ rpm مخلوط شد. در این مرحله دیسک‌ها از لوله‌های حاوی سرم فیزیولوژیک (نرمال سالین تزریقی) خارج شدند و برای شمارش کلنی‌ها، یک میلی‌لیتر از سرم فیزیولوژیک حاوی باکتری تهیه شده از ورتکس بر روی محیط Blood agar حاوی ۵٪ خون گوسفندی تلقیح و در سطح محیط کشت داده شد. بعد از انکوباسیون پلیت‌های حاوی محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، تعداد کلنی‌ها توسط کلنی‌کانت شمارش شده (Colony count) و تعداد باکتری متصل به هر دیسک به دست آمد.

ارزیابی استحکام فشاری

دیسک‌های رزین مدیفاید گلاس آینومر هر سه گروه به روشی که قبلاً گفته شد تهیه و سپس در ظرف حاوی آب مقطر با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز نگهداری شدند. سپس تست استحکام فشاری نمونه‌ها توسط ماشین یونیورسال (SANTAM Co. LTD-500 serial No: 818408) ساخت ایران با سرعت 1mm/min انجام شد، بدین صورت که نمونه‌ها به صورت

جدول ۳ میانگین استحکام فشاری در ۳ گروه مورد بررسی را نشان می‌دهد. طبق آزمون One-way ANOVA میانگین استحکام فشاری در هر دو گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل کمتر بود اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P=0/326$). همچنین اختلاف میانگین بین دو گروه آزمایش نیز از لحاظ آماری معنی‌داری نبود ($P=0/326$).

جدول ۱- تعیین و مقایسه میانگین لگاریتم تعداد کلونی‌های باکتری استریتوکوک موتانس در گروه‌های مختلف مورد بررسی در زمان‌های ۱ و ۲۴ ساعت و ۷ روز

متغیر	میانگین	انحراف معیار	P-value
اثر گروه	کنترل	۵	۰/۰۰
	آنتی بیوتیک سه گانه	۴/۸۵	۰/۱۳
	داکسی سایکلین	۴/۵۷	۰/۳۱
اثر زمان	۱ ساعت	۴/۷۹	۰/۲۳
	۲۴ ساعت	۴/۹۸	۰/۰۳
	۷ روز	۴/۶۵	۰/۳۲
اثر متقابل گروه و زمان	کنترل	۵	۰/۰۰
	کنترل	۵	۰/۰۰
	کنترل	۵	۰/۰۰
	آنتی بیوتیک سه گانه	۴/۸۷	۰/۱۰
	آنتی بیوتیک سه گانه	۴/۹۹	۰/۰۲
	آنتی بیوتیک سه گانه	۴/۷۱	۰/۰۶
	آنتی بیوتیک سه گانه	۴/۵۱	۰/۱۴
	داکسی سایکلین	۴/۹۵	۰/۰۵
	داکسی سایکلین	۴/۲۵	۰/۱۵
	داکسی سایکلین	۴/۹۵	۰/۰۵

جدول ۲- تعیین و مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد جهت ارزیابی خاصیت آنتی باکتریال به روش دیسک دیفیوژن (برحسب میلی متر)

متغیر	تعداد	میانگین	انحراف معیار	میانگین
گروه کنترل	۵	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
گروه آنتی بیوتیک سه گانه	۵	۳/۸۰	۳/۴۹	۲/۰۰
گروه داکسی سایکلین	۵	۳/۴۰	۲/۸۸	۲/۰۰
مجموع	۱۵	۲/۴۰	۲/۹۹	۱/۰۰

جدول ۳- تعیین و مقایسه میانگین استحکام فشاری در گروه‌های مورد بررسی (برحسب مگاپاسکال)

متغیر	تعداد	میانگین	انحراف معیار	کمترین داده	بیشترین داده	P-value
گروه کنترل	۲۰	۱۹۵/۲۷	۲۰/۳۷	۱۶۱/۸۹	۲۳۶/۲۶	۰/۳۲۶
گروه آنتی بیوتیک سه گانه	۲۰	۱۸۴/۳۳	۴۶/۸۲	۱۲۷/۵۲	۲۷۹/۶۲	
گروه داکسی سایکلین	۲۰	۱۷۶/۶۷	۴۴/۴۶	۹۴/۴۹	۲۶۷/۸۹	
مجموع	۶۰	۱۸۵/۴۲	۳۹/۱۸	۹۴/۴۹	۲۷۹/۶۲	

بحث و نتیجه گیری

باکتری‌های زنده در عاج متاثر از پوسیدگی (Affected) برای بیشتر از ۲ سال زیر ترمیم باقی میمانند و پروسه پوسیدگی ممکن است در طی دوره‌ای از زمان پیشرفت و باعث شکست ترمیم شود (۱۳، ۱۲). از این رو اخیراً افزودن مواد آنتی باکتریال مختلف مثل کلرهگزیدین و آنتی بیوتیک‌ها به مواد ترمیمی در مطالعات مختلف پیشنهاد شده است (۱۵، ۱۴، ۱۱). مواد با بیس گلاس آینومری منحصر به فرد هستند زیرا برخلاف آمالگام و کامپوزیت از یک پلی ژل آبی تشکیل شده‌اند و احتمالاً این امر باعث می‌شود به آنتی بیوتیک‌ها اجازه آزاد سازی راحت‌تری داده شود (۲۰). با افزودن یک ماده به گلاس آینومر همواره بیم آن می‌رود که خواص فیزیومکانیکال پایه‌ای آن به خطر افتد. با این حال در چندین مطالعه، افزودن آنتی بیوتیک‌ها در غلظت پایین به گلاس آینومرها برای ایجاد خواص آنتی باکتریال و خواص فیزیکی مناسب، مطلوب گزارش شده است (۱۹، ۱۸، ۱۳). با توجه به جست و جویهای انجام شده و استفاده اندک مطالعات از گلاس آینومرهای رزین مدیفاید در این زمینه، با وجود خواص مکانیکی بهتر آن نسبت به گلاس آینومر کانونوشنال، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی مقایسه‌ای اثر آنتی باکتریال بر روی گونه استرپتوکوک موتانس و ویژگی استحکام فشاری، از رزین مدیفاید گلاس آینومر حاوی آنتی بیوتیک‌های مختلف استفاده شد. گونه استرپتوکوک موتانس پوسیدگی زاترین پاتوژن حفره دهان است که توانایی ایجاد پاسخ تحمل به اسید (ART) را دارد، به همین دلیل این باکتری در محیط‌های با pH پایین قادر به زنده ماندن و رشد می‌باشد (۲۱). با توجه به تأثیر بسزای این باکتری در آغاز فرایند پوسیدگی‌های دندانی، به عنوان ارگانیسم حاضر در این مطالعه انتخاب گردید. در مطالعات گوناگون، محققین آنتی بیوتیک‌های مختلفی در غلظت‌های متفاوت به گلاس آینومرها افزودند. بیشترین آنتی بیوتیک‌هایی که مورد استفاده قرار گرفته‌اند، سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین بوده است که در مطالعات گوناگون برای ترکیب این آنتی بیوتیک‌ها، طیف عملکرد وسیع و اثر آنتی باکتریال مطلوب در درمان ضایعات پوسیدگی و کاهش تعداد کلی باکتری‌های زنده گزارش شده است (۱۷، ۱۶، ۱۳، ۱۱). در این بین در دو مطالعه، از آنتی بیوتیک داکسی سایکلین در غلظت‌های متفاوت استفاده شده است. استفاده از

داکسی سایکلین به تنهایی به دلیل خاصیت ضد میکروبی وسیع و همچنین تأثیر این آنتی بیوتیک بر ماتریکس متالوپروتئیناز (MMP) مورد توجه قرار گرفته که باعث شده نتایج مطلوبی از آن در غلظت‌های متفاوت گزارش شود (۲۲، ۱۹).

باتوجه به نتایج، همانگونه که انتظار می‌رفت تعداد کلونی‌های استرپتوکوک موتانس در هر دو گروه حاوی داکسی سایکلین و آنتی بیوتیک سه گانه در هر سه زمان ۱ و ۲۴ ساعت و ۷ روز به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. این نتیجه با مطالعات Yesilyurt و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۹، de Castilho و همکاران (۱۹) در سال‌های ۲۰۱۲ و de Castilho و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱۸ نیز همسو بود. همچنین در هر دو گروه حاوی آنتی بیوتیک، تعداد کلونی‌ها پس از گذشت ۷ روز از آزمایش نسبت به زمان ۱ و ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری کاهش یافت. احتمال داده می‌شود بهتر بودن نتایج پس از ۷ روز به علت حل شدن بهتر و آزاد سازی بیشتر آنتی بیوتیک‌ها در طول زمان بوده است. نکته قابل توجه این بود که اثر آنتی باکتریال گروه حاوی داکسی سایکلین به طور معنی‌داری در هر ۳ زمان مورد بررسی نسبت به گروه حاوی آنتی بیوتیک سه گانه بهتر بود که در جستجوهای صورت گرفته در مطالعات قبلی، مقایسه‌ای بین اثر آنتی باکتریال این دو گروه آنتی بیوتیک در غلظت مشابه صورت نگرفته بود. اما احتمال می‌دهیم این نتیجه بدلیل pH پایین تر پودر داکسی سایکلین (2-3 pH) نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها و اسیدی شدن بیشتر محیط بوده که باعث از بین رفتن تعداد بیشتری از باکتری‌های استرپتوکوک موتانس شده است. چرا که در مطالعه‌ای که توسط Welin-Neilands و همکاران (۲۱) با بررسی اثر pH بر روی میزان بقای باکتری استرپتوکوک موتانس انجام شد، نتایج نشان داد که تغییر pH از ۷/۵ به ۳/۵ بر survival rate استرپتوکوک موتانس بطور معنی‌داری بیشتر از تغییر pH از ۵/۵ به ۳/۵ تأثیر گذاشته و آن را کاهش داده بود. همچنین انحلال بیشتر داکسی سایکلین در محیط‌های آبی (برخلاف سیپروفلوکساسین که حلال اصلی آن استیک اسید و مترونیدازول که حلال اصلی آن اتانول است (۲۳، ۲۱)، می‌تواند نتایج به دست آمده در آزمایش ما را توجیه کند. با توجه به جدول ۲ نتیجه آزمایش همانگونه که انتظار می‌رفت بدین صورت بود که پس از گذشت ۲۴ ساعت هیچ ناحیه مهار رشدی در برابر باکتری آزمایش شده در

واکنش بین ذرات پودر گلاس و مایع آن را کاهش دهد، همچنین ذرات پودر آنتی بیوتیک اضافه شده به RMGI، ممکن است آب را جذب کرده و این جذب آب نیز میتواند استحکام فشاری ماده را تحت تأثیر قرار دهد. در مقایسه استحکام فشاری دو گروه آزمایش، گروه حاوی داکسی سایکلین میانگین کمتری نسبت به گروه آنتی بیوتیک سه گانه داشت اما این اختلاف معنی دار نبود. احتمال داده می شود که این اختلاف نیز به علت خاصیت انحلال بیشتر داکسی سایکلین نسبت به سایر آنتی بیوتیک های مورد استفاده در آب باشد. با توجه به معنی دار نبودن این اختلاف بین گروه های آزمایش و گروه کنترل، انتظار می رود افزودن این دو گروه آنتی بیوتیک به RMGI در غلظت های پایین (۱/۵٪) مطلوب باشد اما لازم است که اثرات طولانی مدت این ترکیب در آزمایشات بیشتری مورد بررسی قرار گیرد.

نتایج این مطالعه نشان داد، افزودن آنتی بیوتیک ها در غلظت ۱/۵٪ به رزین مدیفاید گلاس آینومر موجب ایجاد خاصیت آنتی باکتریال مطلوبی می شود، بدون اینکه خاصیت استحکام فشاری آن نیز به طور چشمگیری تغییر کند. همچنین نتایج حاصل از مقایسه اثر آنتی باکتریال و ارزیابی خاصیت استحکام فشاری RMGI حاوی آنتی بیوتیک سه گانه (سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین) با RMGI حاوی آنتی بیوتیک داکسی سایکلین، نشان داد که با گذشت زمان آنتی بیوتیک داکسی سایکلین توانایی بیشتری در ایجاد خاصیت آنتی باکتریال دارد و همچنین خاصیت استحکام فشاری در هر دو گروه مطلوب بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دوره دکترای حرفه ای دندانپزشکی، مصوب و دفاع شده در دانشکده دندانپزشکی علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می باشد، به شماره ۱۰۴۱ و کد اخلاق (IR.SSU.REC.1399.081) استخراج شده است. بر خود می دانم مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولان پژوهشی دانشکده که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، اعلام نمایم.

اطراف دیسک های گروه کنترل مشاهده نشد، در حالی که در هر دو گروه حاوی آنتی بیوتیک داکسی سایکلین و آنتی بیوتیک سه گانه، ناحیه مهاری بزرگی در برابر باکتری مورد آزمایش مشاهده شد، که این نتایج با مطالعات Mittal و همکاران (۱۱) در سال ۲۰۱۵، Yesilyurt و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۹ و de Castilho و همکاران (۱۹) در سال ۲۰۱۲، کاملاً همسو بود. اما تفاوت معنی داری در میانگین میزان ناحیه مهاری ایجاد شده در بین دو گروه حاوی آنتی بیوتیک داکسی سایکلین و آنتی بیوتیک سه گانه پس از گذشت ۲۴ ساعت مشاهده نشد. شاید عدم وجود تفاوت معنی دار بین دو گروه برخلاف آزمایش ارزیابی بیوفیلم به علت دوره کوتاه ارزیابی و عدم بررسی نمونه ها در مدت زمان طولانی تر باشد. دیسک دیفیوژن در محیط مولر هینتون آگار انجام شد که یک محیط جامد است. در محیط های جامد تمامی اتفاقات بر اساس قوانین انتشار می باشد. یکی از این قوانین بیان می کند که تنها موادی قابلیت انتشار در محیط پایه آبی را دارند که محلول در آب باشند و ایجاد مناطق مهاری اطراف دیسک های حاوی آنتی بیوتیک بر اساس قابلیت انحلال این آنتی بیوتیک ها و انتشار آن ها در محیط توجیه می شود (۲۴).

نتایج حاصل از این آزمایش به ما نشان داد که استحکام فشاری گروه های حاوی آنتی بیوتیک همان گونه که انتظار می رفت نسبت به گروه کنترل کمتر بود اما این کاهش در مقدار استحکام فشاری بین هیچ کدام از ۳ گروه معنی دار نبود که این نتایج با مطالعات Yesilyurt و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۹، همچنین Chanadana و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۱۳ و de Castilho و همکاران (۱۹) در سال ۲۰۱۲ هم راستا بود. اما در دو مطالعه ای که توسط Mittal و همکاران (۱۱) در سال ۲۰۱۵ و Prabhakar و همکاران (۲۵) در سال ۲۰۱۳ انجام شد، ذکر گردید حتی با افزودن آنتی بیوتیک در غلظت ۱٪ و ۱/۵٪ نیز استحکام فشاری به طور معنی دار کاهش یافت که با نتایج مطالعه ما همسو نبودند.

احتمال می رود که کاهش استحکام در گروه های آزمایش نسبت به گروه کنترل به این علت باشد که ذرات پودر آنتی بیوتیک ممکن است

References

- 1- Pereira-Cenci T, Cenci MS, Fedorowicz Z, Azevedo M. Antibacterial agents in composite restorations for the prevention of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;12: CD007819.
- 2- Cummins D. Zinc citrate/Triclosan: a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies. *J Clin Periodontol.* 1991;18(6):455-61.
- 3- Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res.* 1994;3(3):672-81.
- 4- Kim S, Song M, Roh BD, Park SH, Park JW. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation on composite resins containing ursolic acid. *Restor Dent Endod.* 2013;38(2):65-72.
- 5- Davari AR, Mossadegh A, Danesh Kazemi AR, Mortazavi Saniji M. Comparison of Antibacterial Effect of Composite Resins Incorporating Copper with Zinc Oxide Nanoparticles on *Streptococcus Mutans*. *J Mash Dent Sch.* 2019;43(4):344-51.
- 6- Lohbauer U. Dental glass ionomer cements as permanent filling materials? properties, limitations and future trends. *Dent Mater.* 2010;3(1):76-96.
- 7- Powers JM, Sakaguchi RL, Craig RG. *Craig's restorative dental materials.* Philadelphia, PA: Elsevier/Mosby; 2019.
- 8- Ritter AV. *Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry.* 7th ed, Elsevier; 2019.
- 9- Garcia-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Sakagami H, Morales-Luckie RA, Nakajima H. Mechanical, antibacterial and bond strength properties of nano-titanium-enriched glass ionomer cement. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3): 321-8.
- 10- Haghgoo R, Rezvani MB, Kameli S. Effect of various amounts of nanosilver incorporation on the mechanical properties of resin modified glass-ionomer cement. *J Dent Med-TUMS.* 2013;26(3):211-7.
- 11- Mittal S, Soni H, Sharma DK, Mittal K, Pathania V, Sharma S. Comparative evaluation of the antibacterial and physical properties of conventional glass ionomer cement containing chlorhexidine and antibiotics. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015;5(4):268-75.
- 12- Weerheijm K, Kreulen C, De Soet J, Groen H, Van Amerongen W. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. *Caries Res.* 1999;33(2): 130-4.
- 13- Yesilyurt C, Er K, Tasdemir T, Buruk K, Celik D. Antibacterial activity and physical properties of glass-ionomer cements containing antibiotics. *Oper Dent.* 2009;34(1):18-23.
- 14- Mishra A, Pandey RK, Manickam N. Antibacterial effect and physical properties of chitosan and chlorhexidine-cetrimide-modified glass ionomer cements. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2017;35(1):28-33.
- 15- Takahashi Y, Imazato S, Kaneshiro AV, Ebisu S, Frencken JE, Tay FR. Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach. *Dent Mater.* 2006;22(7):647-52.
- 16- Hwang D, Fong H, Johnson JD, Paranjpe A. Efficacy of different carriers for the triple antibiotic powder during regenerative endodontic procedures. *Austr Endod J.* 2018;44(3):208-14.
- 17- Parhizkar A, Nojehdehian H, Asgary S. Triple antibiotic paste: momentous roles and applications in endodontics: a review. *Restor Dent Endod.* 2018;43(3):e28.
- 18- Chandana PS, Munaga S, Reddy MN, Devabhaktuni D, Swathi CL. Evaluation of compressive strength for a combination of glass ionomer cement and antibiotics. *J Orofacial Res.* 2013;3(4):245-8.
- 19- de Castilho AR, Duque C, Negrini TdC, Sacono NT, de Paula AB, Sacramento PA, et al. Mechanical and biological characterization of resin-modified glass-ionomer cement containing doxycycline hyclate. *Arch Oral Biol.* 2012;57(2):131-8.
- 20- Yap A, Khor E, Foo S. Fluoride release and antibacterial properties of new-generation tooth-colored restoratives. *Oper Dent.* 1999;24(5):297-305.
- 21- Welin-Neilands J, Svensäter G. Acid tolerance of biofilm cells of *Streptococcus mutans*. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(17):5633-8.
- 22- de Castilho AR, Duque C, Kreling PF, Pereira JA, Paula ABd, Sinhoreti MAC, et al. Doxycycline-containing glass ionomer cement for arresting residual caries: an in vitro study and a pilot trial. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170116.
- 23- Sharma PC, Jain A, Jain S, Pahwa R, Yar MS. Ciprofloxacin: review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2010; 25(4):577-89.
- 24- Sigma-Aldrich. Doxycycline hyclate USA: Sigma-Aldrich Co. LLC; 2019 [Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/doxycyclinehyclate512942439014511?lang=en®ion=US>]
- 25- Prabhakar A, Prahlad D, Kumar SR. Antibacterial activity, fluoride release, and physical properties of an antibiotic-modified glass ionomer cement. *Pediatr Dent.* 2013;35(5):411-5.