Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

Antibacterial Effect of Lactobacillus casei Supernatant and AH Plus Sealer on Enterococcus faecalis

H. Karkehabadi (DDS, MS)[1], A. Rajabnia (DDS)[1], A. Pournajaf (PhD)[2], E. Khoshbin (DDS, MS)[*1]

1.Department of Endodontics, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Science, Hamadan, I.R.Iran.
2.Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

***Corresponding Author: E. Khoshbin (DDS, MS)**
Address: Department of Endodontics, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Science, Hamadan, I.R.Iran.
Tel: +98 (81) 38381059. **E-mail:** Elham.khoshbin@gmail.com

Article Type
Research Paper

Received:
Sep 2nd 2024
Revised:
Sep 29th 2024
Accepted:
Oct 12nd 2024

ABSTRACT

Background and Objective: The growth of residual bacteria within dental root canals is one of the main causes of root canal treatment failure. As a probiotic with antimicrobial properties, Lactobacillus casei has the ability to inhibit pathogenic microorganisms. The aim of this study is to investigate the antibacterial and anti-biofilm effect of Lactobacillus casei probiotic supernatant alone and in combination with AH Plus sealer on Enterococcus faecalis.

Methods: Enterococcus faecalis strain ATCC 29212 and Lactobacillus casei strain ATCC 7469 were used in this experimental laboratory study. Enterococcus faecalis strain was revived in Brain Heart Infusion Broth (BHI BROTH) and Lactobacillus casei strain in De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Broth under anaerobic conditions. Then, Lactobacillus casei supernatant was prepared. Agar diffusion method was used to investigate the antibacterial properties of the supernatant of Lactobacillus casei and sealer separately and in combination with each other. Furthermore, the anti-biofilm effect of these materials was evaluated using the microtiter plate assay.

Findings: According to the results of this study, the mean non-growth halo diameter of Enterococcus faecalis in the presence of Lactobacillus casei supernatant, AH Plus sealer and their combination was 14.66±0.57, 17.16±1.04 and 27.33±1.25 in 24 hours, 14.16±1.04, 15.75±1.08 and 24.66±1.15 in 48 hours and 13.66±1.52, 14.5±1.32 and 24.33±0.76 mm in 72 hours, respectively. The inhibition percentage of Enterococcus faecalis biofilm formation after treatment with AH Plus sealer, Lactobacillus casei supernatant and their combination was 23%, 17% and 33%, respectively.

Conclusion: The results of this study showed that Lactobacillus casei supernatant and AH Plus sealer have antibacterial and anti-biofilm effects on Enterococcus faecalis. Moreover, the combination of Lactobacillus casei supernatant with AH Plus sealer strengthens these effects.

Keywords: *Probiotic, Lactobacillus casei, Enterococcus faecalis.*

Cite this article: Karkehabadi H, Rajabnia A, Pournajaf A, Khoshbin E. Antibacterial Effect of Lactobacillus casei Supernatant and AH Plus Sealer on Enterococcus faecalis. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2024; 26: e60.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

Copyright © 2024 Babol University of Medical Sciences. Published by Babol University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

Journal of
Babol University of Medical Sciences
مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل
e-ISSN: 2251-7170 p-ISSN: 1561-4107

اثر ضد باکتریایی سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH Plus بر انتروکوکوس فکالیس

حامد کرکه آبادی (DDS, MS)[۱]، امیرحسین رجب نیا (DDS)[۱]، اباذر پورنجف (PhD)[۲]،
الهام خوشبین (DDS, MS)[۱*]

۱. گروه اندودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۲. مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

نوع مقاله
مقاله پژوهشی

دریافت:
۱۴۰۳/۶/۱۲
اصلاح:
۱۴۰۳/۷/۸
پذیرش:
۱۴۰۳/۷/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: رشد باکتری‌های باقی‌مانده در کانال ریشه از علل اصلی شکست درمان ریشه است. لاکتوباسیلوس کازئی، به عنوان یک پروبیوتیک با خواص ضد میکروبی، توانایی مهار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را دارد. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی سوپرناتانت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی به تنهایی و در ترکیب با سیلر AH Plus بر انتروکوکوس فکالیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، از سویه انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212 و سویه لاکتوباسیلوس کازئی ATCC 7469 استفاده شد. سویه انتروکوکوس فکالیس در محیط BHI (Brain Heart Infusion Broth) براث و سویه لاکتوباسیلوس کازئی در محیط MRS (Man, Rogosa and Sharpe) براث در شرایط بی هوازی احیا شد. سپس سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی تهیه شد. برای بررسی خاصیت ضد باکتریایی سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر به صورت مجزا و در ترکیب با یکدیگر، از روش آگار دیفیوژن استفاده شد. همچنین، اثر ضد بیوفیلمی این مواد با استفاده از تست میکروتیتر پلیت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه میانگین قطر هاله عدم رشد انتروکوکوس فکالیس در حضور سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، سیلر AH Plus و ترکیب آن‌ها در ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۴/۶۶±۰/۵۷، ۱۷/۱۶±۱/۰۴ و ۲۷/۳۳±۱/۲۵، در ۴۸ ساعت برابر با ۱۴/۱۶±۱/۰۴، ۱۵/۷۵±۱/۰۸و ۲۴/۶۶±۱/۱۵ و در ۷۲ ساعت برابر با ۱۳/۶۶±۱/۵۲، ۱۴/۵±۱/۳۲ و ۲۴/۳۳±۰/۷۶ میلی‌متر بود. درصد مهار تشکیل بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس پس از تیمار با سیلر AH Plus، سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیب آن‌ها به ترتیب ۲۳٪، ۱۷٪ و ۳۳٪ بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH Plus دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی بر انتروکوکوس فکالیس هستند. همچنین، ترکیب سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی با سیلر AH Plus موجب تقویت این اثرات می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی، انتروکوکوس فکالیس.

استناد: حامد کرکه آبادی، امیرحسین رجب نیا، اباذر پورنجف، الهام خوشبین. اثر ضد باکتریایی سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH Plus بر انتروکوکوس فکالیس. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۳؛ ۲۶: e۶۰.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

▣ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی به شماره ۱۴۰۲۰۸۳۰۷۴۰۳ دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد.

* مسئول مقاله: دکتر الهام خوشبین
آدرس: همدان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده دندانپزشکی، گروه اندودانتیکس. تلفن: ۰۸۱-۳۸۳۸۱۰۵۹
رایانامه: Elham.khoshbin@gmail.com

مقدمه

شکست درمان ریشه می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله باقی‌ماندن باکتری‌ها، عدم تمیزسازی کامل و مهر و موم نشدن مناسب کانال‌های ریشه، مهر و موم ناکافی کرونال و درمان نشدن برخی کانال‌ها رخ دهد (۱). انتروکوکوس فکالیس یک باکتری گرم مثبت و کاتالاز منفی بی هوازی اختیاری است که بخشی از فلور طبیعی دهان است و در کانال‌های ریشه یافت می‌شود (۳و۲). حتی در شرایط بسیار سخت، زمانی که مواد مغذی کمی وجود دارد و pH قلیایی بالا تا حدود ۱۱/۵ وجود دارد، انتروکوکوس فکالیس ممکن است زنده بماند. توانایی انتروکوکوس فکالیس برای رشد در کانال‌های تحت درمان و به عنوان بیوفیلم روی دیواره‌های کانال ریشه بدون کمک سایر باکتری‌ها، این عفونت را در برابر عوامل ضد میکروبی و درمان ریشه بسیار مقاوم می‌کند (۴).

پروبیوتیک‌ها به میکروارگانیسم‌های زنده‌ای اطلاق می‌شود که در صورت مصرف به میزان کافی، تأثیر مثبتی بر سلامت میزبان دارند. اصطلاح "پروبیوتیک‌ها" مجموعه متنوعی از میکروارگانیسم‌ها را در بر می‌گیرد (۵). باکتری‌های لاکتوباسیل (اسید لاکتیک) و بیفیدو باکتری‌ها سویه‌های غالب پروبیوتیک‌ها هستند (۷و۶). خواص آنتاگونیستی قوی لاکتوباسیلوس در برابر طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌های انسانی، آن را به یک گزینه درمانی امیدوار کننده برای مدیریت و پیشگیری از عفونت‌ها تبدیل کرده است (۹و۸). لاکتوباسیلوس کازئی به دلیل خواص ضد میکروبی خود، می‌تواند نقش مهمی در حفظ سلامت انسان ایفا کند. این باکتری به تعادل میکروبیوتای روده کمک کرده و با مهار رشد میکروارگانیسم‌های مضر، باعث بهبود هضم و جذب مواد مغذی می‌شود. همچنین، استفاده از آن در مدیریت عفونت‌ها، به‌ویژه در سیستم گوارشی و دهان، به عنوان یک پروبیوتیک مؤثر شناخته شده است (۱۰).

درمان ریشه شامل تمیزسازی، شکل‌دهی و پرکردن سه‌بعدی فضای کانال است. برای موفقیت درمان، ضروری است که کانال به طور کامل تمیز و پر شود. غرقاب سازی کامل کانال ریشه پس از پاکسازی و شکل‌دهی، از کلونیزاسیون باکتری‌های دهانی و آلودگی مجدد بافت‌های پری‌آپیکال و فضای داخل ریشه جلوگیری می‌کند (۱۱). سیلرها موادی هستند که به طور مؤثر فضاهای خالی یا شکاف‌های بین gutta-percha و دیواره‌های عاج دندان را پر می‌کنند. این پرکننده‌ها از آن جهت اهمیت دارند که gutta-percha به طور طبیعی به عاج نمی‌چسبد (۱۲). سیلرهای کانال ریشه دارای خواص ضد باکتریایی هستند که می‌توانند به حذف باکتری‌های داخل کانال کمک کنند. تمامی سیلرها در زمان مخلوط شدن حداکثر سمیت و فعالیت ضد باکتریایی خود را دارند، اما با گذشت زمان و فرآیند گیرش، این خواص کاهش می‌یابد (۱۳). سیلر AH Plus، یک سیلر رزین اپوکسی است که دارای خواص مکانیکی عالی، شفافیت رادیویی بالا، انقباض کم در پلیمریزاسیون، حلالیت پایین و دوام بالاست (۱۴). ترکیبات اصلی خمیر A در سیلر AH Plus عمدتاً رزین‌های اپوکسی بیسفنول A هستند. این ترکیب همچنین شامل اکسید زیرکونیوم، سیلیس، رنگدانه‌های اکسید آهن و تنگستات کلسیم است. خمیر B از ترکیبات شیمیایی متعددی مانند تری‌سیکلودکان‌دیامین، دی‌بنزیل‌آمین، آمینوآدامانتان، تنگستات کلسیم، سیلیس، اکسید زیرکونیوم و روغن سیلیکون تشکیل شده است (۱۵).

تست آگار دیفیوژن یک روش رایج و معتبر برای ارزیابی اثر ضد باکتریایی سیلرهای ریشه است. این آزمایش توانایی سیلر را در حذف مؤثر باکتری‌های موجود در محیط مستقیم کانال ریشه نشان می‌دهد (۱۶). البته باید توجه داشت که نتایج به دست آمده از این روش تا حد زیادی به عواملی از قبیل اندازه، شکل، وزن مولکولی، قابلیت انتشار اجزای ضد میکروبی، حجم و غلظت ماده مورد استفاده، زمان انکوباسیون و میزان تماس آن با محیط کشت وابسته می‌باشد (۱۷).

این مطالعه با هدف بررسی فعالیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی سوپرناتانت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، به صورت مستقل و در ترکیب با سیلر AH Plus، بر انتروکوکوس فکالیس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی و تجربی، پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با کد IR.UMSHA.REC.1402.562 انجام شد.

سوش استاندارد انتروکوکوس فکالیس ATCC 29212 از بانک میکروبی دانشگاه علوم پزشکی بابل تهیه شد. انتروکوکوس فکالیس بر روی محیط بلاد آگار (میرمدیا، ایران) احیا شد و در محیط BHI (Brain Heart Infusion Broth) براث (ایبرسکو، ایران) تلقیح شد. محیط به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

سویه لاکتوباسیلوس کازئی ATCC 7469 از بانک میکروبی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران (کرج، ایران) تهیه شد. به منظور احیا، سویه‌ها در محیط MRS (Man, Rogosa and Sharpe) براث (کیولب، انگلستان) و MRS آگار (کیولب، انگلستان)، در شرایط بی هوازی کشت داده شدند. به منظور تهیه مایع رویی کشت سلولی از لاکتوباسیلوس کازئی، ابتدا کشت تازه از آن در محیط MRS براث تهیه شد. سپس محیط کشت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ و برای اطمینان از عدم وجود هر گونه سلول میکروبی از فیلتر ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد (۱۸).

این مطالعه بر روی سه گروه اصلی شامل سیلر AH Plus، سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیب سیلر AH Plus با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، به همراه یک گروه کنترل منفی شامل آب مقطر استریل، انجام شده است.

برای ارزیابی خواص ضد میکروبی مواد از روش آگار دیفیوژن استفاده شد. سوسپانسیونی از انتروکوکوس فکالیس با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و روی محیط مولر هینتون آگار (ایبرسکو، ایران) کشت داده شد. بر روی هر پلیت محیط کشت یک چاهک به قطر ۸ میلی‌متر ایجاد شد. سپس از هر یک از مواد سیلر AH Plus (Dentsply DeTrey)، سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیب آن‌ها در هر یک از چاهک‌ها ریخته شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و قطر ناحیه مهار رشد در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه گیری شد (۱۹). این آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین داده‌ها برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

فعالیت ضد بیوفیلمی سیلر AH Plus به تنهایی و در ترکیب با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی بر انتروکوکوس فکالیس با روش میکروتیتر پلیت ارزیابی شد (۲۰). بیوفیلم توسط انتروکوکوس فکالیس (در مقیاس 1×10^8 CFU/mL) در پلیت ۹۶ چاهکی به مدت ۷۲ ساعت در محیط BHI حاوی ۲٪ گلوکز تشکیل شد. سیلر به صورت مجزا و همچنین در ترکیب با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی در تماس با ۲ میلی‌لیتر سالین قرار گرفتند. پس از تشکیل بیوفیلم محتویات هر چاهک برداشته شد و چاهک‌ها سه بار با PBS شستشو شدند. ۲۰۰ میکرولیتر سیلر AH Plus، سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیب آن‌ها به طور مساوی در چاهک‌ها تقسیم شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس چاهک‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۰/۱٪ در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند. رنگ اضافی با آب مقطر شسته شد. چاهک‌های میکروتیتر پلیت در دمای اتاق خشک شدند و رنگ متصل به سلول‌های چسبنده با ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳٪ حل شد. در مرحله آخر جذب نوری (Optical Density) هر چاهک با استفاده از الایزا ریدر (بیو راد، آمریکا) در طول موج ۵۹۰ نانومتر تعیین و ثبت شد. برای کنترل مثبت از محلول نمکی استفاده شد و کنترل منفی محیط کشت استریل بود. نتایج آزمون به صورت میزان درصد مهار بیوفیلم پس از تیمار با مواد مطابق با فرمول زیر به دست آمد.

$$[(C-B) - (T-B)]/[(C-B)] \times 100$$

C: میانگین جذب (OD) کنترل، B: میانگین جذب (OD) چاهک کنترل منفی، T: میانگین جذب (OD) چاهک تیمار.

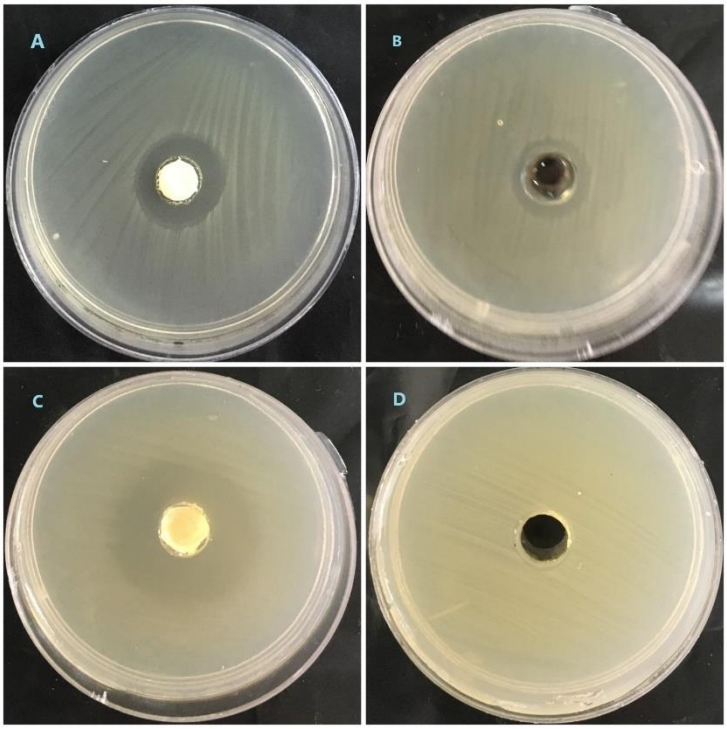
تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۹/۵ انجام شد. برای تعیین تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و $p<۰/۰۵$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

بر اساس نتایج این تحقیق، بیشترین و کمترین میانگین قطر هاله عدم رشد انتروکوکوس فکالیس به ترتیب در حضور ترکیب سیلر AH Plus و سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی به تنهایی مشاهده شد (شکل ۱ و جدول ۱). با این حال، اختلاف معنی‌داری بین میانگین قطر هاله عدم رشد انتروکوکوس فکالیس در گروه‌های مختلف مشاهده نشد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش زمان انکوباسیون، قطر هاله عدم رشد انتروکوکوس فکالیس کاهش یافت، اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

میزان تشکیل بیوفیلم در انتروکوکوس فکالیس پس از تیمار با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، سیلر AH Plus و ترکیب آن‌ها در مقایسه با چاهک کنترل مثبت، کاهش یافته است (شکل ۲). درصد مهار تشکیل بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس پس از تیمار با سیلر AH Plus، سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، و ترکیب این دو به ترتیب ۲۳٪، ۱۷٪ و ۳۳٪ بود. کاهش تشکیل بیوفیلم در گروه‌های تیمار شده با سیلر AH Plus و ترکیب سوپرناتانت با سیلر AH Plus، در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). با این حال، تفاوت معنی‌داری در کاهش تشکیل بیوفیلم بین گروه کنترل و سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی مشاهده نشد.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

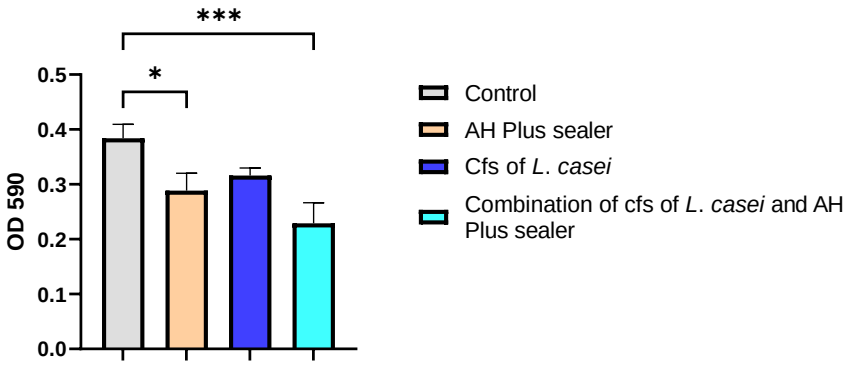


شکل ۱. هاله عدم رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس در مجاورت مواد مورد آزمایش. A. سیلر AH Plus، B. سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، C. ترکیب سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH plus، D. کنترل منفی

جدول ۱. میانگین قطرهای هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر در زمان‌های مختلف

گروه	بعد از ۲٤ ساعت Mean±SD	بعد از ٤٨ ساعت Mean±SD	بعد از ۷۲ ساعت Mean±SD	p-value
سیلر AH Plus	۱۷/۱۶±۱/۰۴[a]	۱۵/۷۵±۱/۰۸[a]	۱۴/۵±۱/۳۲[a]	۰/۰۷۹
سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی	۱۴/۶۶±۰/۵۷[a]	۱۴/۱۶±۱/۰۴[a]	۱۳/۶۶±۱/۵۲[a]	۰/۵۷۸
ترکیب سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH Plus	۲۷/۳۳±۱/۲۵[a]	۲۴/۶۶±۱/۱۵[a]	۲۴/۳۳±۰/۷۶[a]	۰/۰۵۱

a: حروف لاتین مشابه نشان دهنده این است که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد.



شکل ۲. اثر سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، سیلر AH Plus و ترکیب سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی و سیلر AH Plus بر تشکیل بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس ($p<۰/۰۰۱^{***}$، $p<۰/۰۵^{*}$)

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ترکیب سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی با سیلر AH Plus اثر ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی بیشتری نسبت به هر یک از آن‌ها به تنهایی بر روی انتروکوکوس فکالیس دارد. استفاده از این ترکیب منجر به افزایش قدرت مهار رشد باکتری و حفظ قطر هاله عدم رشد حتی پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون شد. همچنین، نتایج نشان داد که هر دو ماده به طور مستقل خاصیت ضد بیوفیلمی دارند، اما ترکیب آن‌ها باعث افزایش مهار تشکیل بیوفیلم انتروکوکوس فکالیس گردید.

در مطالعه حاضر میانگین قطر هاله عدم رشد سویه استاندارد انتروکوکوس فکالیس در حضور سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۱۴/۶۶، ۱۴/۱۶ و ۱۳/۶۶ میلی‌متر بود. پژوهش Tajehmiri و همکاران نشان داد قطر هاله عدم رشد شیگلا دیسانتری PTCC 1188، سالمونلا انتریکا PTCC 1231، اشرشیاکلی PTCC 1399 و استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1431 در حضور سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون به ترتیب برابر با ۱۱/۵، ۱۱، ۱۱/۵ و ۸/۵ میلی‌متر بود (۲۱). همچنین مطالعه Rocha-Ramírez و همکاران، قطر هاله عدم رشد ۱۰ تا ۲۰ میلی‌متری را در برابر سویه‌های EAEC و EHEC و سویه اشرشیاکلی ATCC 25922 در حضور سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون نشان داد (۲۲). تفاوت در قطر هاله عدم رشد باکتری در حضور سوپرناتانت تهیه شده در این مطالعه با سایر مطالعات به دلیل تفاوت در نوع باکتری مورد مطالعه و نوع سویه لاکتوباسیلوس کازئی می‌باشد.

در مطالعه حاضر میانگین قطر هاله عدم رشد انتروکوکوس فکالیس در حضور سیلر AH Plus بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۱۷/۱۶، ۱۵/۷۵و ۱۴/۵ میلی‌متر بود. طبق نتایج تحقیق Donyavi و همکاران میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری انتروکوکوس فکالیس در مجاورت سیلر AH Plus بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوباسیون به ترتیب ۱۷/۳، ۱۴ و ۸/۰۳ میلی‌متر بود (۲۳). نتایج پژوهش Rathod و همکاران، میانگین قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس در حضور سیلر AH Plus بعد از ۲۴ انکوباسیون به ترتیب ۱۸/۹۹ و ۲۱/۹۷ میلی‌متر نشان داد (۱۶). این امر به آزاد شدن فرمالدئید از سیلر تا زمانی که کاملاً سفت شود، نسبت داده می‌شود. در مطالعه حاضر، تجزیه و تحلیل داده‌ها با مقایسه زمان‌های مختلف نشان داد که افزایش زمان منجر به کاهش قطر ناحیه مهار سیلر AH Plus شد، اما به دلیل ترکیب سیلر با سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی، قطر ناحیه عدم رشد پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون، مقدار کمتری کاهش یافت. می‌توان نتیجه گرفت که به دلیل آزاد سازی کوتاه مدت فرمالدئید از سیلر، کاهش اثر ضد میکروبی سیلر AH Plus به دلیل اثر سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی با میانگین ۲۳٪ از تشکیل بیوفیلم توسط انترکوکوس فکالیس جلوگیری می‌کند. در مطالعه Jaffar و همکاران، پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، تقریبا ۹۰٪ فعالیت مهار بیوفیلم برای سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی در برابر سویه Aggregatibacter actinomycetemcomitans مشاهده شد (۲۴). در مطالعه دیگری، سوپرناتانت‌های لاکتوباسیل‌های مدفوعی باعث کاهش ۸۵ تا ۹۵ درصدی در تشکیل بیوفیلم ایزوله‌های ویبریو کلرا شد (۲۵). این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در نوع باکتری‌های مورد بررسی، شرایط آزمایشگاهی و قدرت پروبیوتیک‌های استفاده شده باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سیلر AH Plus با میانگین ۱۷٪ از تشکیل بیوفیلم جلوگیری می‌کند. در این زمینه Khot توانایی مهار بیوفیلم سیلر AH Plus را ارزیابی کرد که نتایج نشان دهنده جلوگیری سیلر از ایجاد بیوفیلم توسط انتروکوکوس فکالیس بود (۲۶). Becker و همکاران فعالیت ضد بیوفیلمی سیلر اپوکسی همراه با آمونیوم چهار ظرفیتی علیه انتروکوکوس فکالیس را ارزیابی کردند که نتایج بیانگر کاهش ۲۵ و ۷۵ درصدی تشکیل بیوفیلم در غلظت‌های مختلف آمونیوم بود (۲۷). Zordan-Bronzel و همکاران درصد مهار بیوفیلم انترکوکوس فکالیس پس از ۲۴ ساعت تماس با عصاره سیلر AH Plus را ۱۵/۹٪ گزارش کردند (۲۰). این تفاوت‌ها ممکن است به عوامل مختلفی از جمله شرایط آزمایشگاهی، نوع سیلر و غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعات نسبت داده شود.

نتایج این مطالعه نشان داد که سیلر AH Plus به تنهایی دارای خاصیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی است، در حالی که سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی خاصیت ضد بیوفیلمی بهتری داشت. با این حال، ترکیب این دو ماده منجر به افزایش هر دو خاصیت ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی شد. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از سوپرناتانت لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک ترکیب مکمل با سیلرها می‌تواند به بهبود اثرات ضد میکروبی آن‌ها کمک کند. پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات آینده، اثر ضد باکتریایی سایر سیلرها به تنهایی و در ترکیب با پروبیوتیک‌ها بر روی انتروکوکوس فکالیس و سایر پاتوژن‌های دهانی مورد بررسی قرار گیرد.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به خاطر حمایت مالی از تحقیق، همچنین از گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل به خاطر کمک‌های ارزشمندشان در انجام مطالعه قدردانی می‌گردد.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

References

1.Usri K, Prisinda D, Malinda Y. Analysis of Various Factors that Cause the Failure of Root Canal Treatment: Scoping Review. J Int Dent Med Res. 2023;16(1):404-10.

2.Hussein HH, Abood FM, Alhelal AG. Some Virulence Factors of Enterococcus Faecalis Isolated from Root Canal Infections Combined with Effect of Some Irrigation Solution against E.Faecalis. Syst Rev Pharm. 2020;11(6):742-8.

3.Kurian AH, Sethi S, Aneja K, Gupta A, Virmani S, Abraham D. Elimination of Enterococcus faecalis from root canal system using laser-activated nanoparticles: a systematic review. Lasers Med Sci. 2023;38(1):81.

4.Alghamdi F, Shakir M. The Influence of Enterococcus faecalis as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. Cureus. 2020;12(3):e7257.

5.Kim D, Kim E. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment: a literature review - Part II. in vivo studies. Restor Dent Endod. 2015;40(2):97-103.

6.Kerry RG, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. J Food Drug Anal. 2018;26(3):927-39.

7.Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. Adv Nutr. 2019;10(suppl 1):S49-66.

8.Shokryazdan P, Sieo CC, Kalavathy R, Liang JB, Alitheen NB, Faseleh Jahromi M, et al. Probiotic potential of Lactobacillus strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. Biomed Res Int. 2014;2014:927268.

9.Barzegari A, Kheyrolahzadeh K, Hosseiniyan Khatibi SM, Sharifi S, Memar MY, Zununi Vahed S. The Battle of Probiotics and Their Derivatives Against Biofilms. Infect Drug Resist. 2020;13:659-72.

10.Pirker A, Stockenhuber A, Remely M, Harrant A, Hippe B, Kamhuber C, et al. Effects of antibiotic therapy on the gastrointestinal microbiota and the influence of Lactobacillus casei. Food Agr Immunol. 2013;24(3):315-30.

11.Gulabivala K, Ng YL. Factors that affect the outcomes of root canal treatment and retreatment-A reframing of the principles. Int Endod J. 2023;56(Suppl 2):82-115.

12.Shandilya A, Azhar A, Maheswari D, Ratre S, Agrawal N, Siddiqui T. Evaluation of The Sealing Ability of Gutta Percha with Bioroot RCS, MTA Fillapex and Sealapex - An SEM Study. J Pharm Bioallied Sci. 2022;14(Suppl 1):S893-6.

13.Ustun Y, Sagsen B, Durmaz S, Percin D. In vitro antimicrobial efficiency of different root canal sealers against Enterecoccus faecalis. European J Gen Dent. 2013;2(2):134-8.

14.Dalmia S, Gaikwad A, Samuel R, Aher G, Gulve M, Kolhe S. Antimicrobial Efficacy of Different Endodontic Sealers against *Enterococcus faecalis*: An *In vitro* Study. J Int Soc Prev Community Dent. 2018;8(2):104-9.

15.Chakraborty T, Taneja S, Malik S. An Antimicrobial Activity Assessment of Three Endodontic Sealers on Enterococcus faecalis, Candida albicans, and Staphylococcus aureus by a Direct Contact Test: An In Vitro Study. Int J Sci Stud. 2020;8(4):35-9.

16.Rathod RK, Taide PD, Dudhale RD. Assessment of Antimicrobial Efficacy of Bioceramic Sealer, Epiphany Self-etch Sealer, and AH-Plus Sealer against *Staphylococcus aureus and Candida albicans*: An *In vitro* Study. Niger J Surg. 2020;26(2):104-9.

17.Leonardo MR, da Silva LA, Tanomaru Filho M, Bonifácio KC, Ito IY. In vitro evaluation of antimicrobial activity of sealers and pastes used in endodontics. J Endod. 2000;26(7):391-4.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]

18.El-Mokhtar MA, Hassanein KM, Ahmed AS, Gad GF, Amin MM, Hassanein OF. Antagonistic Activities of Cell-Free Supernatants of Lactobacilli Against Extended-Spectrum β-Lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. Infect Drug Resist. 2020;13:543-52.

19.Pallavi P, Bansal A, Kukreja N, Kaur N, Chhabra S, Ahuja J. Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of different endodontic sealers against Enterococcus Faecalis: An in-vitro study. Int J Health Sci. 2022;6(S1):9838-45.

20.Zordan-Bronzel CL, Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, Rodrigues EM, Guerreiro-Tanomaru JM. Physicochemical Properties, Cytocompatibility and Antibiofilm Activity of a New Calcium Silicate Sealer. Braz Dent J. 2021;32(4):8-18.

21.Tajehmiri A, Darsanaki RK, Nasiri Moslem M, Lozoumi Z, Hassani Kolavani M, Azizollahi Aliabadi M. Antimicrobial Activity of Lactobacillus spp. Isolated from Commercial Yoghurts against Pathogenic Bacteria. J Pure Appl Microbiol. 2014;8(3):2211-5.

22.Rocha-Ramírez LM, Hernández-Chiñas U, Moreno-Guerrero SS, Ramírez-Pacheco A, Eslava CA. In Vitro Effect of the Cell-Free Supernatant of the *Lactobacillus casei* Strain IMAU60214 against the Different Pathogenic Properties of Diarrheagenic *Escherichia coli*. Microorganisms. 2023;11(5):1324.

23.Donyavi Z, Dehghan Banadkooki S, Yasliani Fard S. Antimicrobial Efficacy of Fluoride Varnish as Root Canal Sealer against *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus Mutans*: An In vitro Study. Alborz Univ Med J. 2021;11(1):110-20. [In Persian]

24.Jaffar N, Ishikawa Y, Mizuno K, Okinaga T, Maeda T. Mature Biofilm Degradation by Potential Probiotics: Aggregatibacter actinomycetemcomitans versus Lactobacillus spp. PLoS One. 2016;11(7):e0159466.

25.Kaur S, Sharma P, Kalia N, Singh J, Kaur S. Anti-biofilm Properties of the Fecal Probiotic Lactobacilli Against *Vibrio* spp. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8:120.

26.Khot J. Efficacy of Three Endodontic Sealers Against *Enterococcus faecalis* Biofilms and Its Genetic Determinants [Master's Theses]. United States: University of Minnesota Twin Cities; 2022.

27.Becker T, Sterer N, Greenstein RBN, Toledano T, Solomonov M. Antibiofilm activity of epoxy sealer incorporated with quaternary ammonium macromolecule. Evid-Based Endod. 2019;4:1.

[DOI: 10.22088/jbums.26.1.60]