

Comparative Assessment of Fluoride Released and Antimicrobial Effects of Three Types of Glass Ionomer Cements on Cariogenic Dental Bacteria: An In-vitro Study

Zhila Fahim¹,
Mohsen Arzanlou²,
Hamed Imani Rad³,
Somayeh Hekmatfar⁴

¹ Resident in Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

² Professor, Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

³ MSc in Microbiology, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

(Received September 29, 2020 ; Accepted August 23, 2021)

Abstract

Background and purpose: Secondary caries is one of the main causes for replacement of dental restorations. Glass ionomer cement (GIC) has cariostatic properties and antibacterial effect due to the ability to release fluoride. The aim of this study was to compare the antibacterial activity and fluoride release between three different formulations of GIC.

Materials and methods: This experimental study was conducted in Ardabil Dental School, Iran 2020. We evaluated fluoride release (n=15) and antibacterial activity (n=24) of three GICs including Fuji IX GP Extra, Fuji II LC, and Equia Forte against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. Microtubes containing each bacterium and no glass ionomer were considered as positive controls. Antibacterial activity was studied using well diffusion test and time-kill curve was measured. The amount of released fluoride was measured at days 1, 2, 3, 4, 7, 14, and 21 by specific fluoride electrode. Data were analyzed applying ANOVA, post hoc Sidak, and Tukey test.

Results: Fuji IX GP Extra and Equia Forte showed significantly higher and lower antibacterial activity against both strains, respectively ($P<0.001$). The least fluoride release was associated with Equia Forte ($P<0.001$), but Fuji IX GP Extra and Fuji II LC did not show any significant difference ($P>0.05$).

Conclusion: Fuji IX GP Extra had the greatest growth-inhibitory effect on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* due to the highest fluoride release.

Keywords: fluorides, glass ionomer cements, *Streptococcus Mutans*, *Lactobacillus acidophilus*

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (202): 126-135 (Persian).

* Corresponding Author: Somayeh Hekmatfar- Faculty of Dentistry, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
(E-mail: hekmatfar@arums.ac.ir)

مقایسه آزمایشگاهی میزان آزادسازی فلوراید و خاصیت آنتی میکروبیال سه نوع سمان گلاس آینومر بر روی باکتری های پوسیدگی زای دندانی

ژیلا فهیم¹
محسن ارزنلو²
حامد ایمانی راد³
سمیه حکمت فر⁴

چکیده

سابقه و هدف: پوسیدگی ثانویه دندان، یکی از علل اصلی جایگزینی ترمیم ها می باشد. سمان گلاس آینومر با قابلیت آزادسازی فلوراید می تواند تاثیرات ضدپوسیدگی و ضدباکتریایی داشته باشد. هدف از این مطالعه، مقایسه خواص آنتی میکروبیال (ضدباکتریایی) و میزان آزادسازی فلوراید سه فرمولاسیون مختلف سمان گلاس آینومر بود.

مواد و روش ها: این مطالعه آزمایشگاهی در دانشکده دندانپزشکی اردبیل در سال 1399 انجام شد. 39 دیسک کامپوزیتی از سه نوع سمان گلاس آینومر شامل Fuji IX GP Extra، Fuji II LC، و Equia Forte تهیه شد. میزان آزادسازی فلوراید از سه نوع سمان گلاس آینومر (n=15)، به همراه فعالیت ضدباکتریایی (n=24) آن ها در برابر باکتری های استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ارزیابی شد. میکروتیوب هایی حاوی هر باکتری و فاقد نمونه گلاس آینومر به عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شد. تست انتشار چاهک و رسم منحنی کشته شدن باکتری برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی مواد استفاده شد. میزان فلوراید آزاد شده توسط الکتروود ویژه یون فلوراید در روزهای 1، 3، 7، 14 و 21 اندازه گیری شد. داده ها با آزمون ANOVA و تست تعقیبی Tukey، Sidak بررسی آماری شدند.

یافته ها: در ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی، گروه Fuji IX GP Extra با تفاوت آماری معنی دار بیشترین و گروه Equia Forte کمترین تاثیر را علیه هر دو باکتری نشان دادند (P<0/001). کمترین میانگین متغیر میزان آزادسازی فلوراید در سمان Equia Forte مشاهده شد (P<0/001). بین میانگین متغیر میزان آزادسازی فلوراید در سمان Fuji IX با میانگین آن در سمان Fuji II تفاوت معنی دار آماری وجود نداشت (P>0/05).

استنتاج: گروه Fuji IX GP Extra حداکثر بازدارندگی رشد باکتری های استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در نتیجه میزان بالای آزادسازی یون فلوراید دارد.

واژه های کلیدی: فلوراید، سمان گلاس آینومر، استرپتوکوکوس موتانس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مقدمه

مواد ترمیمی به طور گسترده جهت درمان پوسیدگی های دندانی استفاده می شوند. با این وجود نیمی از ترمیم ها در طی 10 سال با شکست مواجه می شوند، که علت عمده آن پوسیدگی ثانویه است (1،2). موفقیت ترمیم های

E-mail: hekmatfar@arums.ac.ir

مؤلف مسئول: سمیه حکمت فر - اردبیل: دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده دندانپزشکی

1. رزیدنت دندانپزشکی ترمیمی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

2. استاد، گروه میکروپزشکی، دانشکده علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

3. کارشناس ارشد میکروپزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

4. دانشیار، گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: 1399/7/8 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/7/12 تاریخ تصویب: 1400/6/1

دندانی به فاکتورهای مختلفی از جمله نوع دندان و موقعیت آن در قوس فک، طرح و اندازه ترمیم (3،4)، تعداد سطوح دندانی ترمیم شده، بهداشت بیمار (2) و سن بیمار (5) بستگی دارد. شکست در یک ترمیم زمانی رخ می‌دهد که ترمیم به درجه‌ای از تخریب برسد که زیبایی، عملکرد یا توانایی ترمیم در پیشگیری از پوسیدگی جدید به مخاطره بیفتد (3). توانایی در ممانعت از ایجاد پوسیدگی‌های راجعه از ویژگی مهم مواد ترمیمی محسوب می‌شود. با توجه به این که باکتری‌هایی مانند *استرپتوکوک* ها و *لاکتوباسیل* ها در ایجاد ضایعات پوسیدگی نقش دارند، انتظار می‌رود با کاهش تعداد باکتری در سطح تماس بین دندان و مواد ترمیمی، بروز پوسیدگی ثانویه کاهش پیدا کند (6). سطوح مناسب فلوراید در هر فرمی، به دلیل اثرات رمینرالیزاسیون و آنتی باکتریال می‌تواند پوسیدگی‌های دندانی را کاهش می‌دهد (7-9). به طوری که در موارد ترمیم دندان با مواد ترمیمی فلوراید دار، شواهد اندکی از پوسیدگی ثانویه مشهود است (10). گلاس آینومرها ترکیباتی با سازگاری نسبی و ضریب انبساط حرارتی مشابه دندان هستند که چسبندگی شیمیایی به ساختار دندان و توانایی آزادسازی فلوراید را دارند. همچنین آن‌ها قابلیت گرفتن و آزادسازی دوباره یون‌های فلوراید را از منابع اگزوزن مانند خمیر دندان‌های حاوی فلوراید دارند (11،12).

Bansal و همکاران (2015) در مطالعه‌ای به روش *in vitro* میزان آزادسازی اولیه و پس از *recharging* فلوراید را از مواد ترمیمی زیبایی ارزیابی کردند. بیشترین میزان آزادسازی مربوط به سمان گلاس آینومر کانوشنال و پس از آن به ترتیب مربوط به رزین مدیفاید گلاس آینومر، جیومر و کامپومر بود. پس از کاربرد موضعی فلوراید آزادسازی دوباره فلوراید از مواد به همان ترتیب قبل بود (13). در مطالعه Gaybaro (2016) فعالیت آنتیمیکروبیال (ضدباکتریایی) و میزان آزادسازی سمان‌های گلاس آینومر مختلف بر روی باکتری‌های پوسیدگی‌زا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد

که گلاس آینومر D-tech عملکرد بهتری هم از نظر میزان آزادسازی یون فلوراید و هم خاصیت آنتی میکروبیال بر روی باکتری‌های *استرپتوکوکوس موتانس* (*Streptococcus mutans*) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*) در مقایسه با گلاس آینومرهای نوع Fuji IX و Ketac Molar داشت (14). Morales-Valenzuela و همکاران (2020) در مطالعه‌ای به بررسی تاثیر روش تهیه گلاس آینومر به صورت دستی و مکانیکی بر میزان آزادسازی فلوراید پرداختند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد اختلاط مکانیکی گلاس آینومر سبب آزادسازی مقادیر ثابتی از فلوراید می‌شود و در صورت شارژ مجدد این نوع گلاس آینومر، سطوح فلوراید آزاد شده بالاتر از گلاس آینومر با اختلاط دستی است (15).

Paschoal و همکاران (2011) به بررسی الگوی آزادسازی روزانه و تراکمی فلوراید در چهار نوع ماده ترمیمی شامل رزین کامپوزیت (Filtek Supreme)، گلاس آینومر کانوشنال (Ketac Molar Easymix KM)، رزین مدیفاید گلاس آینومر (Vitremer-V) و نانو فیلد رزین مدیفاید گلاس آینومر (Ketac N100) پرداختند. نتایج مطالعه رابطه ضعیفی را بین آزادسازی فلوراید و زمان در رزین کامپوزیت و گلاس آینومر کانوشنال نشان داد. این رابطه در رزین مدیفاید گلاس آینومر و نانو فیلد رزین مدیفاید گلاس آینومر از الگوی قوی‌تری تبعیت کرد (16). فاکتورهای داخلی و خارجی مختلفی بر میزان آزادسازی فلوراید از گلاس آینومر موثر است. فاکتورهای داخلی مانند فرمولاسیون، نسبت پودر به مایع، زمان آماده‌سازی، حلالیت و میزان تخلخل موجود در ماده می‌باشد و فاکتورهای خارجی که به‌ویژه در مطالعات تاثیر دارد شامل pH محیط، دما، طراحی مطالعه، روش آنالیز، کاربرد روش استاندارد در تهیه مواد است (17،18). با در نظر گرفتن کاربرد وسیع این ماده در درمان‌های دندانپزشکی شرکت‌های سازنده مواد دندانپزشکی به عرضه انواع مختلف گلاس آینومر با

ترکیبات و ویژگی‌های متفاوت اقدام نموده‌اند. با توجه به کمبود مطالعات علمی کافی در ارتباط با ترکیبات جدیدتر که با روش متفاوتی تهیه می‌شوند و می‌توانند خواص کلینیکی و بالینی مهم گلاس آینومرها را تغییر دهند، هدف از مطالعه حاضر ارزیابی فعالیت آنتی میکروبیال سه نوع سمان گلاس آینومر در برابر باکتری‌های استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و میزان آزادسازی فلوراید از گلاس آینومر در فواصل زمانی مختلف بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه آزمایشگاهی با کد 1397,172. IR.ARUMS.REC توسط کمیته اخلاق و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی اردبیل پذیرفته شد و در دانشکده دندانپزشکی در سال 1399 انجام شد. 39 دیسک کامپوزیتی از سه نوع سمان گلاس آینومر مورد بررسی در این مطالعه شامل موارد زیر تهیه شد:

1. Fuji II LC (Resin-modified GIC). GC Corporation, Tokyo, Japan
2. Fuji IX GP Extra (conventional GIC). GC Corporation Tokyo, Japan
3. Equia Forte (bulk fill hybrid GIC). GC Corporation Tokyo, Japan

برای تهیه نمونه‌ها طبق دستورالعمل شرکت سازنده در گروه Fuji II LC و Fuji IX پودر و مایع به صورت دستی و در گروه Equia forte به مدت 10 ثانیه با سرعت 4000rpm در امالگاماتور مخلوط شدند. دیسک‌های گلاس آینومر با استفاده از تمپلیت تفلونی در ابعاد 2×5 میلی‌متر آماده شد. برای صاف و یکنواخت بودن سطح نمونه‌ها اسلپ شیشه‌ای در زیر و نوار پلی استر بر روی آن‌ها قرار داده شد. پس از پک نمونه‌ها داخل مولد، سطح نمونه‌های Fuji II LC به مدت 20 ثانیه کیور شدند. به سایر نمونه‌ها پس از قرارگیری در حفره‌های تمپلیت اجازه داده شد تا در دمای 37 درجه

سانتی‌گراد در اتاق ست شوند. پس از ست شدن نمونه‌های Equia forte، که دو و نیم دقیقه پس از اختلاط اولیه روی می‌دهد، پوشش رزینی توسط یک میکروبراش بر روی تمامی سطوح نمونه قرار گرفته و کیور شد. جهت انجام این مطالعه آزمایشگاهی، باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (ATCC-4356) و استرپتوکوکوس موتانس (ATCC-31341) به صورت ویال‌های لیوفلیزه از مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. در این مطالعه جهت ارزیابی اثر ضد باکتریایی از روش‌های انتشار چاهک و رسم منحنی کشته‌شدن باکتری استفاده شد.

Well Diffusion test

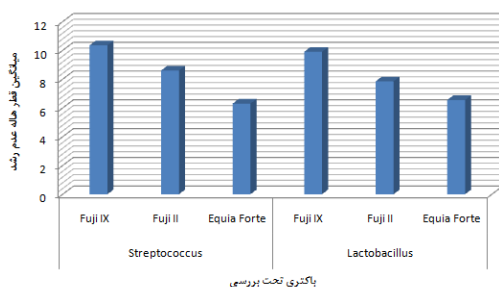
پس از تهیه سوسپانسیون باکتریایی مطابق با کدورت استاندارد نیم مک فارلند، یک سواب استریل را آغشته به سوسپانسیون نموده و سواب مرطوب حاوی محیط کشت مولر هیتون، به‌طور یکنواخت در سطح پلیت تلقیح شد. سپس به تعداد نمونه‌های مورد آزمایش (n=24) حفراتی در شرایط استریل در سطح آگار ایجاد شد و مواد مورد آزمایش در داخل چاهک قرار داده شد. پلیت‌ها در حالت معکوس به مدت 24 ساعت در دمای 35-37 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از 24 ساعت پلیت در زیر چراغ بررسی شد و قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد.

رسم منحنی کشته شدن باکتری‌ها در حضور مواد مورد آزمایش

در این روش ابتدا از هر کدام از دیسک‌های گلاس آینومر در داخل میکروتیوب‌ها قرار داده شد. محیط کشت مایع Tryptic Soy Agar به مقدار 2 میلی‌لیتر و سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند (1 به 10 رقیق کرده) به مقدار 50 میکرولیتر به میکروتیوب‌ها اضافه شد. برای هر دو باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوکوس موتانس دو میکروتیوب به‌عنوان گروه کنترل مثبت در نظر گرفته شد که فاقد نمونه گلاس

یافته ها

براساس نتایج آزمون کولموگروف اسمیرنف توزیع داده‌ها در حالت نرمال بود ($P>0/05$). در بررسی تاثیر نوع سمان بر میانگین قطر هاله عدم رشد در حضور باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوکوس موتانس تفاوت معنی‌دار آماری بین سه گلاس آینومر مشاهده شد ($P<0/001$) (نمودار شماره 1). میانگین متغیر قطر هاله عدم رشد در سمان Fuji IX به صورت معنی‌دار بیش‌تر از میانگین آن در سمان Fuji II بود ($P<0/001$) میانگین متغیر قطر هاله عدم رشد در سمان Equia Forte به صورت معنی‌دار کم‌تر از میانگین آن در هر دو سمان دیگر تحت بررسی بود ($P<0/001$).



نمودار شماره 1: نمودار ستونی متغیر قطر هاله عدم رشد باکتری‌های استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر اساس نوع سمان گلاس آینومر

میانگین متغیر جذب نوری در سمان‌های تحت بررسی به ترتیب زیر بود:

Fuji IX < Fuji II < Equia Forte < Control +

در کلیه زمان‌های مورد آزمایش با افزایش زمان میانگین متغیر جذب نوری دو باکتری استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (نمودار شماره 2 و 3) بر اساس نوع سمان به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/001$).

آینومر بودند. سپس در ساعت‌های 0، 2، 4، 8، 12 و 24 نمونه‌برداری (100 میکرولیتر) صورت گرفت. نمونه‌ها به میکروپلیت 96 خانه منتقل و جذب نوری در طول موج 570 نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر (BioTek, Winooski, Vermont, US) قرائت گردید.

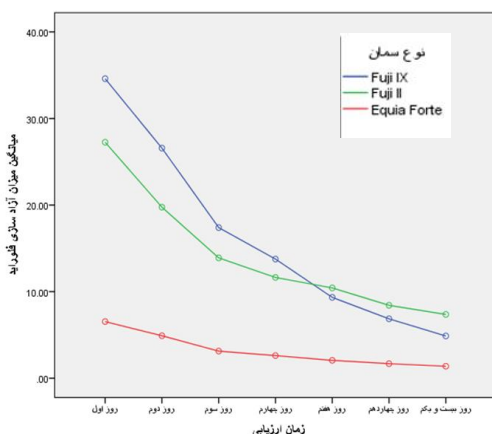
میزان آزادسازی فلوراید

برای تعیین میزان آزادسازی فلوراید 5 نمونه از هر گروه گلاس آینومر ($n=15$) در یک ظرف پلاستیکی حاوی 5 میلی‌لیتر آب مقطر و دمای 37 درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. اندازه‌گیری میزان یون فلوراید آزاد شده در روزهای 1، 3، 7، 14، 21 انجام شد. جهت اندازه‌گیری میزان فلوراید، نمونه‌های مورد نظر از ظرف خارج شد و با 1 میلی‌لیتر آب مقطر شسته شدند. این آب به محلول قبلی اضافه شد و 6 میلی‌لیتر آب مربوط به هر نمونه پس از اضافه نمودن محلول بافر TISAB II جهت اندازه‌گیری میزان فلوراید آزاد شده مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری فلوراید محلول توسط دستگاه پتانسیومتر pH/ion و با استفاده از الکتروود ویژه یون فلوراید (Mettler Toledo, United States) انجام گرفت. دستگاه توسط محلول‌های استاندارد فلوراید 5 و 15 و 30 و 45 ppm کالیبره شد.

آنالیز داده‌ها

جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنف استفاده شد. جهت بررسی وجود تفاوت معنی‌دار آماری بین متغیر مورد نظر در زمان‌های مختلف ارزیابی از آزمون آنالیز واریانس مکرر (Repeated Measures ANOVA) و جهت بررسی تاثیر نوع سمان بر میانگین متغیر در هریک از زمان‌های تحت بررسی از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده گردید. برای مقایسه تفاوت میانگین متغیر مورد نظر در هر دو گروه از سمان‌ها، از آزمون Tukey، Sidak استفاده شد.

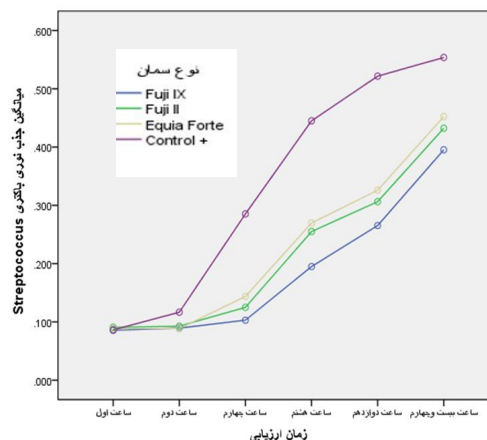
فلوراید در سمان Fuji IX با میانگین آن در سمان Fuji II تفاوت معنی دار آماری وجود نداشت ($P>0/05$).



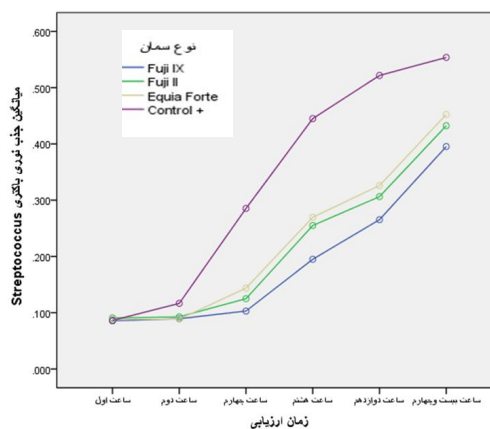
نمودار شماره 4: نمودار خطی میانگین متغیر میزان آزاد سازی فلوراید در زمان های مختلف ارزیابی

بحث

مطالعه حاضر به بررسی دو خصوصیت مهم گلاس آینومرها شامل میزان آزادسازی فلوراید و اثرات آنتی میکروبیال آن ها پرداخت. از روش های مختلفی جهت ارزیابی و مقایسه خاصیت ضد باکتریایی مواد دندانی استفاده می شود که شایع ترین آن ها تست مهاری انتشار در آگار، رسم منحنی کشته شدن باکتری و تست نفوذ در توپول عاجی می باشد (20، 19). البته شرایط آزمایشگاهی حتی در دقیق ترین تست نیز نسبت به شرایط بالینی و وضعیت داخل دهان می تواند نتایج متفاوت داشته باشد. در این مطالعه از تست انتشار در آگار و رسم منحنی کشته شدن باکتری استفاده شد. تست انتشار در آگار محبوب ترین و پرکاربردترین تست جهت ارزیابی و مقایسه خاصیت ضد باکتریایی سمان ها و مواد ترمیمی است. با این وجود تاثیر حلالیت و خواص انتشاری مواد مورد آزمایش و محیط کشت بر نتایج آن از معایب این روش محسوب می شود. در این مطالعه علاوه بر تست انتشار در آگار (روش انتشار چاهک) از رسم منحنی کشته شدن باکتری نیز استفاده شد. روش منحنی کشته شدن



نمودار شماره 2: نمودار خطی میانگین متغیر جذب نوری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در زمان های مختلف



نمودار شماره 3: نمودار خطی میانگین متغیر جذب نوری باکتری استرپتوکوک موتانس در زمان های مختلف

بین میانگین متغیر میزان آزادسازی فلوراید در شش زمان ارزیابی تفاوت معنی دار آماری وجود داشت (نمودار شماره 4). با گذشت زمان از روز اول تا بیست و یکم میزان آزادسازی فلوراید به صورت معنی داری کاهش یافت. بین میانگین متغیر میزان آزادسازی فلوراید در سمان Equia Forte با میانگین آن در سایر سمان های تحت بررسی تفاوت معنی دار آماری وجود داشت و میانگین متغیر میزان آزادسازی فلوراید در سمان Equia Forte کم تر از میانگین آن در سایر سمان های تحت بررسی بود ($P<0/001$). بین میانگین متغیر میزان آزادسازی

باکتری به تماس نزدیک و مستقیم بین باکتری‌ها و مواد مورد آزمایش تکیه دارد از این رو این تست برای ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی سمان‌ها و مواد ترمیمی مناسب‌تر به نظر می‌آید (21). در مطالعه حاضر اگرچه همه سمان‌ها در اندازه‌های یکسان آماده شدند و مقادیر یکسانی از باکتری و محیط کشت استفاده شد، با این وجود تفاوت قابل توجه در خاصیت آنتی‌میکروبیال سه نوع سمان مشاهده شد. گلاس آینومرها یون‌های مختلفی آزاد می‌کنند از جمله یون فلوراید که ویژگی‌های آنتی‌میکروبیال و قدرت مهار پوسیدگی را دارد. فلوراید به عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل در بروز اثرات آنتی‌میکروبیال این سمان‌ها می‌باشد (22) علاوه بر این خاصیت آنتی‌میکروبیال گلاس آینومر با pH پایین حین ستینگ اولیه نیز مرتبط است (14).

در مطالعه آزمایشگاهی Shashibhushan و همکاران (2008) (23) که به مقایسه خاصیت آنتی‌میکروبیال سه نوع سمان گلاس آینومر آزادکننده زینک و فلوراید شامل Fuji IX، Fuji II LC، Fuji II Conventional و Fuji IX بر روی گونه‌های استرپتوکوک موتانس پرداختند، انواع Fuji II LC در مقایسه با انواع کانونشنال خاصیت آنتی‌میکروبیال بیش‌تر و میزان آزادسازی یون‌های زینک و فلوراید بالاتری نشان دادند، که با مطالعه حاضر همخوانی نداشت. این تفاوت می‌تواند ناشی از سه علت باشد. محیط کشت مورد استفاده در مطالعه Shashibhushan علاوه بر سوسپانسون باکتریایی شامل تلقیح نمونه‌هایی از بزاق انسان نیز بود. در حالی که در مطالعه حاضر از نمونه بزاق جهت تلقیح در محیط کشت باکتریایی استفاده نشده است. البته برخی مطالعات پیشنهاد می‌کنند کاربرد بزاق یا تکرار چرخه pH، می‌تواند محیط دهان را بهتر بازسازی کرده و بر ثبات یون فلوراید مفید باشند (20). علاوه بر این در مطالعه Shashibhushan اندازه‌گیری میزان آزادسازی یون‌های زینک و فلوراید پس از انکوباسیون به مدت 8 روز در دمای 37 درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. در مطالعه حاضر اولین اندازه‌گیری میزان آزادسازی فلوراید، 24

ساعت پس از آماده‌سازی نمونه‌ها انجام شد که ماکزیم مقدار را داشت. در روزهای بعدی گلاس آینومر کانونشنال افت نزولی قابل توجهی در میزان آزادسازی فلوراید نشان داد. ضمن این که ترکیبات مورد استفاده از گروه‌های رزین مدیفاید گلاس آینومر و گلاس آینومر کانونشنال در دو مطالعه کاملاً متفاوت بود.

در این مطالعه هر سه نوع گلاس آینومر مورد آزمایش به‌طور مداوم در تمامی روزها فلوراید آزاد کردند. آزادسازی فلوراید از GIC با سه مکانیسم رخ می‌دهد: از دست دادن از لایه سطحی، انتشار از طریق منافذ و ترک‌ها و انتشار از ماتریکس ماده (24). آزادسازی فلوراید همه سمان‌ها در روز اول ماکزیم مقدار خود را داشت و به تدریج کاهش پیدا کرد تا به یک سطح کاهش یافته تقریباً ثابتی رسید. این یک ویژگی نرمال گلاس آینومر است که اثر burst effect نام دارد (12). اثر burst effect احتمالاً مرتبط با آزادسازی فلورایدی است که به‌طور سست در سمان گلاس آینومر اتصال یافته است و از واکنش اسید-باز اولیه بین گلاس و پلی‌آلکونئیک اسید ناشی می‌شود (25). آزادسازی تدریجی بعدی احتمالاً ناشی از یک تعادل بین شستشوی فرسایشی (Erosive leaching) ذرات گلاس در توده سمان و انتشار فلوراید‌های شسته شده از ماتریکس سمان بوده است (26). این تاثیر ماندگاری و قابلیت زیست باکتری‌ها را کاهش داده و می‌تواند بر عاج پوسیده داخلی اثر کرده و رمینرالیزاسیون مینا و عاج را بهبود ببخشد (17). همین موضوع می‌تواند دلیل بر فعالیت آنتی‌میکروبیال بیش‌تر سمان Fuji IX GP Extra در 48 ساعت اول باشد. مکانیسم‌های متنوعی در ایجاد اثرات ضدپوسیدگی فلوراید بر روی دندان دخیل هستند. فلوراید تولید اسیدهای باکتری و گلوکان‌های تولید شده توسط باکتری را مهار می‌کند که فاکتور اتیلوژیک اولیه برای ایجاد ضایعات پوسیده است. بنابراین یکی از روش‌های معمول در بررسی میزان فعالیت آنتی‌میکروبیال مواد ترمیمی ارزیابی میزان آزادسازی یون فلوراید بیان شده است (27).

در مطالعه حاضر، بالاترین میزان آزادسازی یون فلوراید طی هفته اول مربوط به سمان Fuji IX بود که البته تفاوت چندانی از لحاظ آماری با میزان آزادسازی یون فلوراید در سمان Fuji II LC نداشت. با این وجود میزان آزادسازی یون فلوراید برای سمان Fuji IX در روزهای بعد بیشترین افت را داشت به طوری که از روز هفتم به بعد میزان آزادسازی یون فلوراید در سمان Fuji II LC بیش تر از Fuji IX اندازه گیری شد و در روز بیست و یکم این دو سمان دارای تفاوت معنی دار آماری در آزادسازی فلوراید بودند. مقدار بالای آزادسازی فلوراید از سمان های Fuji II LC و Fuji IX GP Extra بایستی به ترکیب شیمیایی، ویژگی های فیزیکی و غلظت مخلوط نسبت داده شود. همچنین تفاوت در آزادسازی فلوراید در بین گلاس اینومرها می تواند ناشی از این حقیقت باشد که پس از ستینگ و قبل از تماس با آب موجود در مایع، فلوراید آزاد نیست و در اجزای فیلر باند شده است (28). این موضوع، ضمن توجه به زمان اختلاط سمان ها و نسبت پودر به مایع در آن ها می تواند دلیلی بر آزادسازی بیش تر یون فلوراید از سمان Fuji IX GP Extra و سمان Fuji II LC در طول مدت آزمایش باشد.

Equia Forte از گروه گلاس های هیبرید است که نوآوری جدیدی از گلاس اینومر و تکنولوژی رزین بوده و ترکیبی از گلاس اینومر قابل پک کردن و یک پوشش نانوفیلد self-adhesive است. این پوشش رزینی می تواند ویژگی های فیزیکی آن را بهبود ببخشد. در ارزیابی کلینیکال Equia Forte طی 12، 24 و 36 ماهه، ویژگی های مشابه رزین کامپوزیت ها یافت شده است (29). طبق نتایج مطالعه حاضر مشاهده شد که گلاس اینومر Equia Forte کمترین میزان آزادسازی فلوراید را در طول مدت مطالعه داشت. با این وجود الگوی آزادسازی یکنواخت تری را در مقایسه با انواع Fuji II LC نشان داد. به طور کلی، یک رابطه مستقیم بین میزان فلوراید موجود در سمان و میزان فلوراید آزاد

شده وجود دارد (18). فلوراید ترانسلوسنسی ماده را کاهش می دهد و بنابراین تولیدکننده ممکن است مقدار اولیه فلوراید را جهت بهبود ویژگی های زیبایی ماده به خطر بیندازد. این امر می تواند یک علت برای کاهش مقدار فلوراید در انواع نانو باشد. علاوه بر این یکی از علل مهم مقادیر پایین آزادسازی یون فلوراید در این سمان را می توان به پوشش رزینی (Resin coating) آن نسبت داد که به کاهش تخلخل ماده (از فاکتورهای داخلی آزادسازی یون فلوراید) منجر می شود.

در مطالعه ما بیشترین افت ناگهانی میزان یون فلوراید مربوط به نوع Fuji IX GP Extra بود، اما انواع Equia Forte و Fuji II LC الگوی آزادسازی یکنواخت تری داشتند که با نتایج مطالعه Paschoal (2011) همسو می باشد (16). این بدان معنی است که این مواد قادر به نگهداری الگوی آزادسازی فلوراید در یک حد ثابتی می باشند. مشابه مطالعه حاضر، Paschoal (2011) نیز آزادسازی فلوراید برای گلاس اینومرها را در روز اول ماکزیمم مقدار خود مشاهده کرد، همچنین وی مشاهده کرد کمترین میزان آزادسازی مربوط به انواع نانوپار تیکل است که الگوی آزادسازی ثابتی نیز دارد که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (16).

مطالعه حاضر در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است و بنابراین خاصیت آنتی باکتریال واقعی را در حفره دهان منعکس نمی کند و مطالعات بیش تر in vivo در این مورد توصیه می شود.

گروه Fuji IX GP Extra حداکثر بازدارندگی رشد باکتری استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در نتیجه میزان بالای آزادسازی یون فلوراید دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل جهت تأمین هزینه های این پایان نامه تقدیر و تشکر می شود.

References

1. Ferracane JL. Resin composite—state of the art. *Dent Mater* 2011; 27(1): 29-38.
2. Opdam N, Van De Sande F, Bronkhorst E, Cenci M, Bottenberg P, Pallesen U, et al. Longevity of posterior composite restorations: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* 2014; 93(10): 943-949.
3. Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, et al. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2007; 138(6): 775-783.
4. Lempel E, Lovász BV, Bihari E, Krajczár K, Jeges S, Tóth Á, et al. Long-term clinical evaluation of direct resin composite restorations in vital vs. endodontically treated posterior teeth—Retrospective study up to 13 years. *Dent Mater* 2019; 35(9): 1308-1318.
5. Wahl Mj, Schmitt Mm, Overton Da, Gordon Mk. Prevalence of cusp fractures in teeth restored with amalgam and with resin-based composite. *J Am Dent Assoc* 2004; 135(8): 1127-1132.
6. Amend S, Frankenberger R, Lücker S, Domann E, Krämer N. Secondary caries formation with a two-species biofilm artificial mouth. *Dent Mater* 2018; 34(5): 786-796.
7. Asmussen E, Peutzfeldt A. Long-term fluoride release from a glass ionomer cement, a compomer, and from experimental resin composites. *Acta Odontol Scand* 2002; 60(2): 93-97.
8. Jafari K, Hekmatfar S, Fereydunzadeh M. In vitro comparison of antimicrobial activity of conventional fluoride varnishes containing xylitol and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Int Soc Prev Community Dent* 2018; 8(4): 309-301.
9. Hahnel S, Ionescu AC, Cazzaniga G, Ottobelli M, Brambilla E. Biofilm formation and release of fluoride from dental restorative materials in relation to their surface properties. *J Dent* 2017; 60: 14-24.
10. Tüzüner T, Dimkov A, Nicholson JW. The effect of antimicrobial additives on the properties of dental glass-ionomer cements: a review. *Acta Biomater Odontol Scand* 2019; 5(1): 9-21.
11. Abudawood S, Donly KJ. Fluoride release and re-release from various esthetic restorative materials. *Am J Dent* 2017; 30(1): 47-51.
12. Jafari K, Hoseini S, Hekmatfar S. Comparative Evaluation of the Fluoride Recharge Ability of Two Glass Ionomers Obtained from Fluoridated Dentifrice and CPP-ACFP Paste: An In-vitro Study *JDMT* 2019; 8(1): 45-51.
13. Bansal R, Bansal T. A comparative evaluation of the amount of fluoride release and re-release after recharging from aesthetic restorative materials: an in vitro study. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(8): ZC11-14.
14. Naik RG, Dodamani AS, Khairnar MR, Jadhav HC, Deshmukh MA. Comparative assessment of antibacterial activity of different glass ionomer cements on cariogenic bacteria. *Restor Dent Endod* 2016; 41(4): 278-282.
15. Morales-Valenzuela AA, Scougall-Vilchish RJ, Lara-Carrilloc E, Garcia-Contreras R, Salmeron-Valdese EN, Aguillón-Solf L. Comparison of Fluoride Release in Conventional Glass-Ionomer Cements with a New Mechanical Mixing Cement. *Oral Health Prev Dent* 2020; 18(1): 319-324.
16. Paschoal MAB, Gurgel CV, Rios D, Magalhães

- AC, Buzalaf MAR, Machado MAdAM. Fluoride release profile of a nanofilled resin-modified glass ionomer cement. *Bra Dent J* 2011; 22(4): 275-279.
17. Upadhyay S, Rao A, Shenoy R. Comparison of the amount of fluoride release from nanofilled resin modified glass ionomer, conventional and resin modified glass ionomer cements. *J Dent* 2013; 10(2): 134-140.
 18. Kucukyilmaz E, Savas S, Kavrik F, Yasa B, Botsali M. Fluoride release/recharging ability and bond strength of glass ionomer cements to sound and caries-affected dentin. *Niger J Clin Pract* 2017; 20(2): 226-234.
 19. Saha S, Samadi F, Jaiswal J, Ghoshal U. Antimicrobial activity of different endodontic sealers: an in vitro evaluation. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2010; 28(4): 251-271.
 20. sida TY, Delbem ACB, Morais LA, Moraes JCS, Duque C, Souza JAS, et al. Ion release, antimicrobial and physio-mechanical properties of glass ionomer cement containing micro or nanosized hexametaphosphate, and their effect on enamel demineralization. *Clin Oral Investig* 2019; 23(5): 2345-2354.
 21. Feroz S, Bhoyar A, Khan S. Comparative Evaluation of Antibacterial Effect of Dental Luting Cements on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An In vitro Study. *J Contemp Dent* 2016; 17(12): 973-977.
 22. Yadiki JV, Jampanapalli SR, Konda S, Inguva HC, Chimata VK. Comparative evaluation of the antimicrobial properties of glass ionomer cements with and without chlorhexidine gluconate. *Int J Clin Pediatr Dent* 2016; 9(2): 99-103.
 23. Shashibhushan K, Basappa N, Reddy VS. Comparison of antibacterial activity of three fluorides-and zinc-releasing commercial glass ionomer cements on strains of mutans streptococci: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2008; 26(6): s56-s61.
 24. Attar N, Turgut MD. Fluoride release and uptake capacities of fluoride-releasing restorative materials. *Oper Dent* 2003; 28(4): 395-402.
 25. Preston AJ, Agalamanyi EA, Higham SM, Mair LH. The recharge of esthetic dental restorative materials with fluoride in vitro—two years' results. *Dent Mater* 2003; 19(1): 32-37.
 26. Forsten L. Fluoride release and uptake by glass-ionomers and related materials and its clinical effect. *Biomaterial* 1998; 19(6): 503-508.
 27. Hotwani K, Thosar N, Baliga S, Bundale S, Sharma K. Antibacterial effects of hybrid tooth colored restorative materials against *Streptococcus mutans*: an in vitro analysis. *J Conserv Dent* 2013; 16(4): 319-322.
 28. Mousavinasab SM, Meyers I. Fluoride release by glass ionomer cements, compomer and giomer. *J Dent Res* 2009; 6(2): 75-81.
 29. Gurgan S, Kutuk Z, Ergin E, Oztas S, Cakir F. Four-year randomized clinical trial to evaluate the clinical performance of a glass ionomer restorative system. *Oper Dent* 2015; 40(2): 134-143.