

# Antimikrobno djelovanje biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala zuba

---

Šimundić Munitić, Marija

Doctoral thesis / Disertacija

2021

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:964884>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-10**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**MARIJA ŠIMUNDIĆ MUNITIĆ**

**ANTIMIKROBNO DJELOVANJE BIOKERAMIČKIH  
MATERIJALA ZA PUNJENJE KORIJENSKIH KANALA ZUBA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Mentorica:**

**doc. dr. sc. Ivona Bago, dr. med. dent.**

**Split, siječanj 2021.**

Doktorska disertacija je napravljena na Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb te na Katedri za medicinsku kemiju i biokemiju Medicinskog fakultetu Sveučilišta u Splitu

## ZAHVALA

*Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Ivona Bago na svakom prijateljskom i stručnom savjetu pri izradi doktorske disertacije.*

*Od srca hvala prof. dr.sc. Livii Puljak na nesebičnoj pomoći, stalnoj motivaciji, stručnim i prijateljskim savjetima.*

*Hvala prof. dr.sc. Damiru Sapunaru na svakom savjetu kojim je utjecao na moj istraživački put.*

*Zahvaljujem svim suradnicima, bez kojih izrada ovog doktorata nebi bila moguća: prof.dr.sc. Ani Budimir, doc.dr.sc. Tini Poklepović Peričić, prof. . Ani Utrobičić, prof. dr. sc. Ivici Aniću, Sandri Marijan, mag. for.kem. mol.biol i doc.dr.sc. Darku Keri.*

*Hvala prof. dr. sc. Mariji Tonkić i djelatnicima Zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju KBC-a Split na pripremi agar ploča za istraživanje.*

*Hvala stručnom povjerenstvu na konstruktivnim savjetima u izradi disertacije.*

*Hvala i Službi za poslijediplomske studije, gospođama Ines Matutinović i Juliji Pušić na tehničkoj podršci tijekom studija.*

*Mojima Mihi, Angeli i Riti Maruški najveća hvala na ljubavi kojom me obasipaju svaki dan. Bez vas život nebi imao smisla.*

*Roditeljima hvala na bezuvjetnoj podršci i neizmjerioj ljubavi tijekom svih godina.*

*Hvala svim prijateljima i dragim kolegama koji su se našli na mom životnom putu.*

*Hvala dragom Bogu, početku i kraju svega, što me čuva i prati u životu.*

# SADRŽAJ

## POPIS OZNAKA I KRATICA

1. UVOD	2
1.1. Endodontska infekcija	2
1.1.1. Primarna endodontska infekcija	3
1.1.2. Sekundarna endodontska infekcija	6
1.1.3. Perzistirajuća endodontska infekcija	6
1.1.4. Endodontski biofilmovi	8
1.1.4.1. Mehanizam nastanka endodontskih biofilmova	8
1.1.4.2. Intrakanalni biofilmovi	10
1.1.4.3. Ekstraradikalni biofilmovi	11
1.1.4.4. Periapiakalni biofilmovi	11
1.1.4.5. Biofilmovi vezani uz strana tijela	11
1.2. Kontrola endodontske infekcije	13
1.2.1. Kemomehanička obrada korijenskih kanala	13
1.2.2. Punjenje korijenskih kanala	15
1.2.3. Materijali za punjenje korijenskih kanala	16
1.2.4. Kriteriji uspješnosti endodontskog liječenja	17
1.3. Biokeramički materijali u endodonciji	19
1.3.1. Povijesni razvoj biokeramičkih materijala u endodonciji	19
1.3.2. Vrste biokeramičkih materijala u endodonciji	21
1.3.3. Stvrdnjavanje biokeramičkih materijala u korijenskom kanalu	23
2. CILJEVI I HIPOTEZE	24
3. MATERIJALI I METODE	26
3.1. Sustavni pregled literature o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala	26
3.1.1. Analiza podataka dobivenih u istraživanjima	30
3.2. In vitro istraživanje antibakterijskog učinka biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanice <i>E. faecalis</i>	31
3.2.1. Priprema materijala za punjenje korijenskih kanala	31
3.2.2. Mikrobiološki postupci ispitivanja antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala	31
3.2.2.1. Priprema bakterijske suspenzije	31

3.2.2.2.	Testiranje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala	31
3.2.2.3.	Postupak razrjeđivanja i brojanje bakterija nakon perioda inkubacije	33
3.2.3.	Statistička analiza	35
3.3.	In vitro istraživanje antibakterijskog djelovanja biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na biofilmovima <i>E. faecalis</i> uzgojenim na filter papirima	36
3.3.1.	Kreiranje biofilma <i>E. faecalis</i>	36
3.3.2.	Kolonizacija i uzgoj bakterija za ispitivanje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala	36
3.3.3.	Priprema uzoraka za analizu pretražnim elektronskim mikroskopom	38
3.3.4.	Ispitivanje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala	38
3.3.5.	Mikrobiološka analiza antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala	38
3.3.6.	Statistička analiza	39
4.	REZULTATI	40
4.1.	Rezultati sustavnog pregleda literature o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala	40
4.1.1.	Isključena istraživanja	42
4.1.2.	Uključena istraživanja	42
4.1.3.	Rezultati istraživanja antimikrobne učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala	48
4.1.3.1.	MTA Fillapex	48
4.1.3.2.	Endosequence BC Sealer, IRoot SP i TotalFill BC Sealer	55
4.1.3.3.	BioRoot RCS	59
4.1.3.4.	CPM Sealer	60
4.1.3.5.	Smartpaste Bio	61
4.1.4.	Kvaliteta izvještavanja literature	61
4.2.	Rezultati in vitro istraživanja antibakterijske učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanice <i>E. faecalis</i>	62
4.3.	Rezultati in vitro istraživanja antibakterijske učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na mlade biofilmove <i>E. faecalis</i>	69
5.	RASPRAVA	72

5.1.	Sustavni pregled literature o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala	72
5.2.	In vitro istraživanje antibakterijske učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanice <i>E. faecalis</i>	75
5.3.	In vitro istraživanje antibakterijske učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na mlade biofilmove <i>E. faecalis</i>	77
6.	ZAKLJUČCI	79
7.	SAŽETAK	80
8.	SUMMARY	82
9.	LITERATURA	84
10.	ŽIVOTOPIS	100

## **POPIS OZNAKA I KRATICA**

*E. faecalis*- *Enterococcus faecalis*

*C. albicans*- *Candida albicans*

SEM- pretražni elektronski mikroskop (*eng.* scanning electronic microscopy)

NaOCl- natrijev hipoklorit

CHX- klorheksidin

EDTA- etilendiaminotetraoctena kiselina

MTA- mineral trioksid agregat (*eng.* mineral trioxide aggregate)

CFUs- colony forming units

TSB- triptaza soja bujon (*eng.* Tryptic Soy broth)

BHI- moždano srčani bujon (*eng.* Brain Heart broth)

CLSM-konfokalna laserska pretražna mikroskopija (*eng.* confocal laser scanning microscopy)

ADT- agar difuzijski test (*eng.* agar diffusion test)

DCT- test izravnog dodira (*eng.* direct contact test)

MRT- membranom ograničeni test (*eng.* membrane restricted test)

mDCT- modificirani test izravnog dodira (*eng.* modified direct contact test)

WMTA- bijeli mineral trioksid agregat (*eng.* white mineral trioxide aggregate)

OD- optička gustoća (*eng.* optical density)

PBS- fosfatom puferirana fiziološka otopina (*eng.* phosphate buffered saline)



# 1. UVOD

## 1.1. Endodontska infekcija

Prisutnost bakterija u korijenskom kanalu zuba opisana je prvi put u 17. stoljeću kada je Antonie van Leeuwenhoek ispod mikroskopa uočio da su korijenski kanali karijesno destruiranog zuba ispunjeni „mekanim sadržajem koji izgleda živo“. Nazvao je te mikroorganizme animakulima. Willoughby Dayton Miller, američki stomatolog, koji je radio u Kochovom laboratoriju u Berlinu, prvi je 1894. godine pokazao vezu između bakterija i nastanka apikalnog parodontitisa. Identificirao je tri osnovne morfološke vrste bakterija (koke, bacile, spirile ili spirohete) koji su poznati i dan danas. Uočio je i razliku u morfologiji bakterija u koronarnoj, srednjoj i apikalnoj trećini zuba. Millerovu teoriju povezanosti bakterija i apikalnog parodontitisa, potvrdili su 70 godina kasnije Kakehashi i suradnici (1) koji su izložili pulpe zuba štakora usnoj šupljini (2).

Danas znamo da se u usnoj šupljini čovjeka može pronaći do 700 bakterijskih vrsta, najčešće 100- 200 vrsta kod svakog pojedinca (3). Pulpo- dentinski kompleks je u normalnim uvjetima sterilan te je od prodora mikroorganizama zaštićen caklinom i cementom (4). Jednom kada infekcija zahvati koronarni dio korijenskog kanala, mikroorganizmi nastavljaju progresiju apikalno te dovode do nastanka apikalnog parodontitisa (5).

Mikroorganizmi u pulpnu komoricu dospjevaju različitim putevima:

1. kroz dentinske tubuluse (napredovanjem karijesnog procesa ili tijekom stomatološkog zahvata) (6)
2. kroz otvorenu pulpu (posljedica koronarne traume ili iatrogeno otvorene pulpe)
3. putem parodontnih tkiva (kroz lateralne kanale ili apikalni otvor)
4. iz krvotoka, tzv. anahoreza (najčešće kao posljedica traume zuba dolazi do naseljavanja bakterija iz krvotoka)
5. kroz loše koronarne restauracije (5).

Endodontske infekcije se dijele ovisno o anatomskom smještaju (intradikularne i ekstradikularne) te ovisno o vremenu prodora mikroorganizama u korijenske kanale (primarne, sekundarne ili perzistirajuće) (7).

### 1.1.1. Primarna endodontska infekcija

Patološki proces naseljavanja pulpe mikroorganizmima počinje kada pulpa postane nekrotična, najčešće kao posljedica karijesnog procesa. U tom trenutku dolazi do prodora mikroorganizama koji su normalni stanovnici usne šupljine te nastanka primarne endodontske infekcije. Nekrotični sadržaj korijenskih kanala omogućava mikroorganizmima vlažnu, toplu, nutritivno bogatu i anaerobnu sredinu u kojoj su zaštićeni od obrane domaćina. Takvi uvjeti pogoduju brzom kolonizaciji i daljnjem umnažanju bakterijskih vrsta (8, 9). Glavni izvori hranjivih tvari za bakterije koje koloniziraju korijenske kanale su:

1. nekrotične stanice pulpe
2. proteini i glikoproteini iz tkivnih tekućina i eksudata koji dopijeva u korijenski kanal preko apikalnog otvora ili lateralnih kanala
3. komponente sline koja koronarno ulazi u korijenski kanal
4. produkti metabolizma bakterija (2).

U korijenskim kanalima s primarnom endodontskom infekcijom izolirano je najčešće 3-6 bakterijskih vrsta (10-15), a ponekad broj doseže čak do 12 vrsta (10). Budući da dostupne mikrobiološke metode nisu u mogućnosti izolirati sve vrste bakterija, pretpostavka je da broj bakterijskih vrsta unutar korijenskog kanala s primarnom infekcijom doseže 10-30, a neka istraživanja navode čak i do 50 vrsta (7). Broj bakterija kod takvih infekcija najčešće se kreće u rasponu od  $10^2$  do  $10^7$  po kanalu (16). U ranoj fazi naseljavanja bakterija unutar kanala dominiraju fakultativni anaerobi, a nakon nekoliko tjedana, nastankom anaerobnih uvjeta naseljavaju se striktno anaerobne vrste (17).

Najčešći uzročnici primarnih endodontskih infekcija su:

1. Tamno pigmentirani Gram negativni anaerobni štapići, uključujući *Bacteroides melaninogenicus*. Takve bakterije dijelimo u 2 podvrste:
  - a) saharolitičke vrste npr. *Prevotella*
  - b) asaharolitičke vrste npr. *Porphyromonas* (18) (Tablica 1).

**Tablica 1.** Bakterijske vrste roda *Prevotella* i *Porphyromonas* koji sudjeluju u nastanku primarne endodontske infekcije (5).

Rod	Vrste
<i>Prevotella</i>	<i>Prevotella intermedia</i> <i>Prevotella nigrescens</i> <i>Prevotella tannarae</i> <i>Prevotella multissacharivorax</i> <i>Prevotella baroniae</i> <i>Prevotella denticola</i>
<i>Porphyromonas</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Porphyromonas endodontalis</i>

2. *Fusobacterium* (*Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium periodonticum*).
3. Gram pozitivni koki (*Parvimonas micra*; *Streptococcus* spp. koji uključuju *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus mitis* i *Streptococcus sanguinis*; *Enterococcus faecalis*).
4. Gram pozitivni anaerobni štapići (*Pseudoramibacter alactolyticus*, *Filifactor alocis*, *Actinomyces* spp., *Propionibacterium propionicum*, *Olsenella* spp., *Slackia exigua*, *Mogibacterium timidum* i *Eubacterium* spp.).
5. *Tannerella forsythia* (predhodno zvana *Bacteroides forsythus* ili *Tannerella forsythenis*) predstavlja parodontološki patogen koji može uzrokovati endodontske infekcije (19).
6. *Dialister* vrste (*Dialister pneumosintes* i *Dialister invisus*), koje su asaharolitički obligatni Gram negativni kokobacili, često su izolirani endodontski patogeni.
7. *Spirohete*, spiralno oblikovane Gram negativne bakterije s periplazmatskim falgelama. Sve oralne spirohete pripadaju rodu *Treponema* (20). Najčešće vrste izolirane iz endodontskog prostora su: *Treponema denticola*, *Treponema sokranskii*, *Treponema parvum*, *Treponema maltophilum* i *Treponema lecithinolyticum*.
8. Druge bakterijske vrste (Gram negativni mikroaerofilni štapići *Campylobacter rectus* i *Campylobacter gracilis*; *Catonella morbic*, *Veillonella parvula*, *Eikenella corrodens*, *Granulicatella adiacens*, diplokok *Neisseria mucosa*, *Centipeda periodontii*, *Gemella morbillorum*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Corynebacterium matruchotii*, *Bifidobacterium dentium* i anaerobni lactobacilli).

Ulogu u nastanku apikalnog parodontitisa mogu imati i slijedeći mikroorganizmi: *Dialister* oral clone BSO16, *Migasphaera* oral clone BSO16, *Solobacterium*, *Olsenella*, *Eubacterium*, *Cytophaga*, *Lachnospiraceae* oral clone 55A-34, *Veillonella* oral clone BP 1–85, *Bacteroidetes* oral clone XO 83, *Prevotella* oral clone PUS 9.180, *Eubacterium* oral clone BP 1–89 i *Lachnospiraceae* oral clone MCE 7–60 (21).

Endodontski patogeni su često uzročnici i parodontnih bolesti. Izuzetak je *Actinomyces actinomycetemcomitans*, uzročnik juvenilnog parodontitisa, koji se rijetko nalazi unutar korijenskih kanala zuba (22-24).

Osim bakterija, ulogu u nastanku primarne endodontske infekcije mogu imati i kvasci (*Candida* spp., najčešće *Candida albicans*), arhebakterije i virusi (20).

### **1.1.2. Sekundarna endodontska infekcija**

Sekundarne endodontske infekcije uzrokovane su naseljavanjem mikroorganizama koji prvotno nisu bili prisutni u primarnoj infekciji, a u korijenske kanale su dospjeli tijekom endodontskog zahvata, najčešće između dvije posjete ili nakon završetka endodontskog liječenja (25). Glavni razlog invazije mikroorganizama tijekom tretmana su rezidualni biofilmovi, kamenac ili karijes na kruni zuba, nedovoljno izolirano radno polje (rad bez koferdama ili loše postavljen koferdam) te kontaminacija endodontskih instrumenata ili intrakanalnih otopina (2).

Mikroorganizmi koji dopijevaju u sustav korijenskih kanala između dvije posjete najčešće su posljedica curenja kroz privremene koronarne restauracije, puknuća privremenih restauracija i/ ili zuba te ostavljanja zuba otvorenim kako bi se omogućila drenaža sadržaja iz korijenskih kanala (2).

Nakon punjenja korijenskih kanala, mikroorganizmi mogu rekolonizirati korijenske kanale curenjem kroz oštećenu privremenu ili trajnu restauraciju, kroz napuknuća zuba, putem rekurentnog karijesnog procesa koji prodire do punjenja korijenskih kanala ili zbog odgađanja izrade trajne restauracije (2).

U navedenim slučajevima, dolazi do prodora mikroorganizama u dentinske tubuluse i lateralne kanale preko kojih rekoloniziraju korijenski kanal već napunjenog zuba uzrokujući prelazak sekundarne infekcije u pezistirajuću infekciju. Takvi slučajevi za posljedicu imaju neuspjeh endodontskog liječenja (26).

### **1.1.3. Perzistirajuća endodontska infekcija**

Perzistirajuće endodontske infekcije su infekcije koje opstaju i nakon kemomehaničke obrade korijenskih kanala. Razvoju perzistentne periradikularne lezije pogoduje postojanje intraradikularne infekcije, ekstraradikularne infekcije, stranog tijela ili ciste u području periapeksa zuba (27).

Materijali za punjenje korijenskih kanala trebali bi imati toksični učinak na preostale mikroorganizme i sprečavati prodor hranjivih tvari do njih (28) te na taj način održavati njihov broj na subkritičnoj razini na kojoj ne mogu uzrokovati infekciju (29). Međutim, mikroorganizmi koji uzrokuju perzistirajuće lezije, već su najčešće prethodno prisutni u primarnoj ili sekundarnoj infekciji korijenskih kanala te preživljavaju i nakon punjenja korijenskih kanala (30). Imaju sposobnost brzo se prilagoditi drastično promjenjenim uvjetima u korijenskom kanalu (31). Također, što je veća virulencija takvih mikroorganizama,

manji broj je potreban za ponovni razvoj infekcije. Imunološki odgovor domaćina također ima utjecaj na razvoj infekcije (31). Strategije preživljavanja bakterija u izmijenjenim uvjetima unutar korijenskog kanala su formiranje organiziranih biofilmova (32) te duboki prodor unutar dentinskih tubulusa i nepristupačnih dijelova korijenskog kanala unutar kojih bivaju zaštićeni od kemomehaničke obrade (33). Također, bakterije su sposobne izmijeniti genski materijal (34) ili sintetizirati specifične proteine (tzv. proteine stresa) (35) kako bi preživjele u okolišu u kojem im nedostaju hranjive tvari.

Najčešće izolirani mikroorganizmi iz zuba s perzistirajućim infekcijama su *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) i *Candida albicans* (*C. albicans*) (36, 37).

*E. faecalis* je gram pozitivni, fakultativno aerobni kok (38). Normalni je stanovnik gastrointestinalnog sustava te nastanjuje usnu šupljinu i gingivni sulkus. Pronađen je u 30-90% punjenih zuba s perzistirajućim periapikalnim parodontitisom (29, 39, 40). Može perzistirati kao planktonska stanica, u parovima ili u obliku kratkih lanaca bakterija. Ima sposobnost preživljavanja u uvjetima bez kisika, u ekstremno alkalnom pH, uvjetima visokih koncentracija soli, te u temperaturnom rangu 10-45° C. Temperaturno 60° C može preživjeti kroz 30 minuta. Sposoban je suprimirati djelovanje limfocita te na taj način uzrokovati nepovoljan rezultat endodontskog liječenja (41). Također, sposoban je odolijevati intrakanalnom ulošku kalcijeva hidroksida do 10 dana ukoliko pH nije konstantno visok, formirajući biofilme 1000 puta otpornije na fagocitozu, antitijela i antimikrobna sredstva u odnosu na mikroorganizme koji nemaju sposobnost formiranja biofilmova. Jedino u slučajevima konstantnog povišenja pH iznad 11,5 nije u mogućnosti preživjeti (41).

*C. albicans* pronađena je u 3-18% slučajeva perzistirajućih periapikalnih parodontitisa (39, 40, 42).

Osim *E. faecalis* i *C. albicans*, perzistirajuće infekcije uzrokuju i slijedeći Gram negativni mikroorganizmi: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella* spp. and *Campylobacter rectus*. Gram pozitivne bakterije izolirane iz endodontskih lezija su: streptokoki (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus oralis*), *Lactobacilli* (*Lactobacillus paracasei* i *Lactobacillus acidophilus*), *Staphylococci*, *Olsenella uli*, *Parvimonas micra*, *Pseudoramibacter alactolyticus*, *Propionibacterium* spp., *Actinomyces* spp., *Bifidobacterium* spp. i *Eubacterium* spp.

#### **1.1.4. Endodontski biofilmovi**

Biofilmovi su kompleksna udruženja mikroorganizama čvrsto vezanih na tvrdoj podlozi. Smješteni su unutar matriksa građenog od polisaharida i proteina, koji čini 85% volumena biofilma i stanica koje čine 15% volumena (43-45). Kako biofilm sazrijeva, mijenja mu se sastav i struktura ovisno o okolišnim uvjetima (46). Mikroorganizmi biofilma imaju različite prehrambene potrebe i patološki potencijal (27). Njihova sposobnost da stvaraju biofilmove opisuje se kao faktor virulencije (47).

Kako bi biofilm nastao, ključne su tri komponente: bakterijske stanice, čvrsta podloga i hranjivi medij (48). Vezanje mikroorganizama na čvrstu podlogu ovisi o nekoliko faktora: površinskoj energiji podloge na koju se vežu, temperaturi, pH, brzini protoka tekućine preko podloge, duljini vremena koje mikroorganizam provede u kontaktu s podlogom, hidrofobnosti površine i dostupnosti hranjivih tvari

Klasični primjer bakterijskog biofilma je dentalni plak (49).

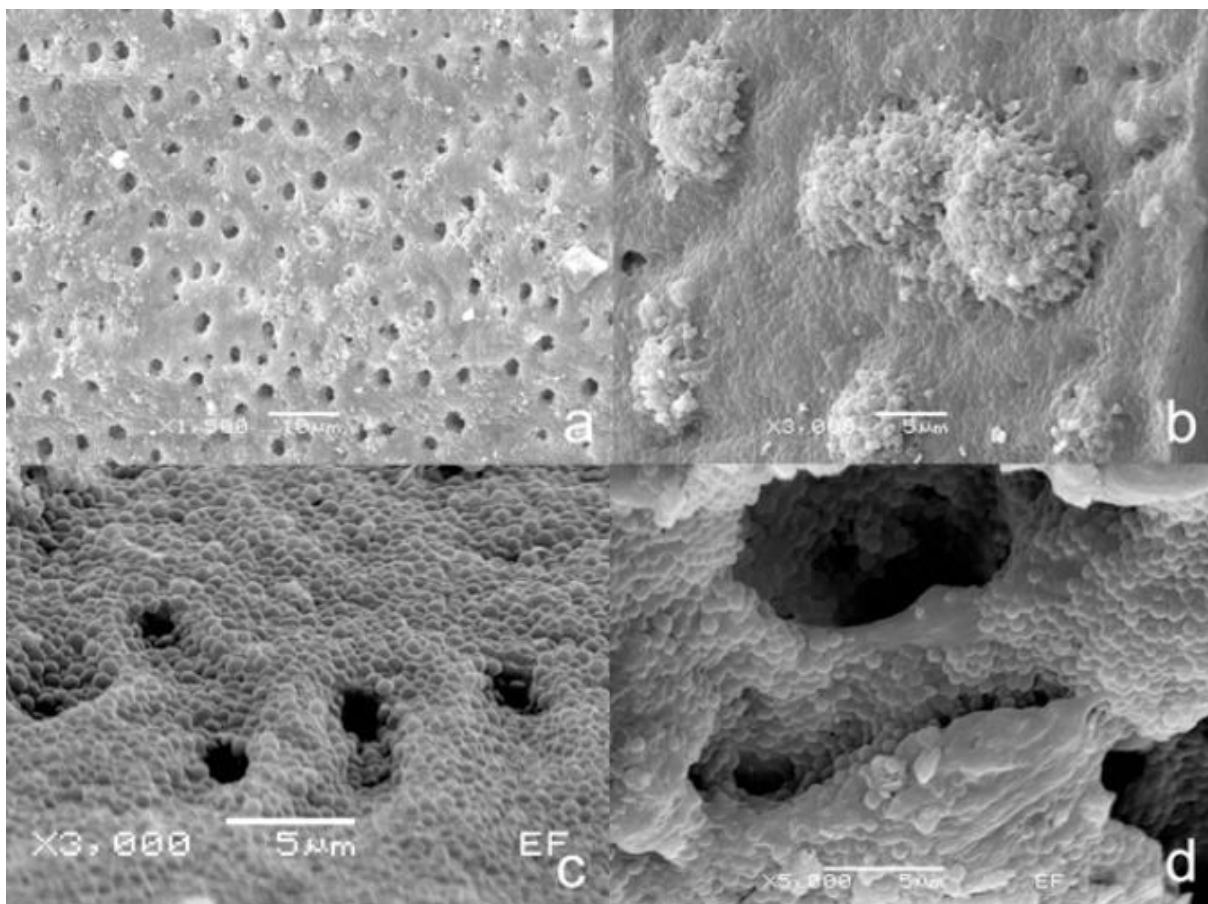
Biofilmovi imaju ključnu ulogu u nastanku infekcije pulpnog prostora i periapikalnih tkiva (47). Miller (50) je davne 1894. godine objavio rezultate bakteriološkog ispitivanje pulpe. Pronašao je nakupine različitih mikroorganizama koje su se razlikovale u koronarnoj, srednjoj i apikalnoj trećini korijenskog kanala.

##### **1.1.4.1. Mehanizam nastanka endodontskih biofilmova**

Stvaranje biofilma prolazi kroz tri osnovne faze:

1. stvaranje prijanjajućeg sloja (pelikule)- adsorpcija anorganskih i organskih molekula na tvrdu površinu
2. vezanje bakterija na pelikulu
3. bakterijski rast i ekspanzija biofilma.

Ulaskom u pulpnu komoricu, mikroorganizmi se pričvršćuju na stijenke dentina i napreduju duž korijenskog kanala zuba. Udruživanjem pojedinih mikroorganizama formira se biofilm koji ima sposobnost snažnog razaranja pulpnog tkiva. Nakon određenog vremena dolazi do zastoja tog procesa zbog postizanja ravnoteže u kojem obrambeni mehanizmi domaćina uspijevaju održati stabilno stanje (27). Nadalje, kako infekcija kroz korijenski kanal napreduje, mijenjaju se okolišni i hranidbeni uvjeti unutar kanala. Formiraju se anaerobni uvjeti te se na taj način omogućava preživljavanje otpornijih bakterijskih vrsta. Također, bakterije sve više ulaze u anatomske nepravilna područja poput delti i istmusa, u kojima su sposobne preživjeti usprkos mehaničkoj obradi korijenskih kanala (27) (Slika 1).



**Slika 1.** Prikaz biofilмова *E. faecalis* pod pretražnim elektronskim mikroskopom (eng. scanning electronic microscopy, SEM). a) povećanje x 1500, b) x 3000, c) x 3000, d) x 5000.

Preuzeto iz (32).



Organizacija biofilma omogućava mikroorganizmima učinkovitu zaštitu od obrane domaćine te čini mikroorganizme 1000-1500 puta otpornijima na različita antimikrobna sredstva u usporedbi s planktonskim stanicama (32, 51). Kako bi postigle otpornost, bakterije u biofilmovima međusobno komuniciraju i izmjenjuju hranjive tvari preko kanala za transport hranjivih i otpadnih tvari i signalnih molekula (52). Komunikacija među bakterijama odvija se preko procesa koadhezije i koagregacije. Koadhezija je vezanje planktonskog mikroorganizma na prethodno vezane mikroorganizme na podlozi, dok koagregacija podrazumijeva prepoznavanje genetski različitih mikroorganizama i njihovo udruživanje u nakupine (53). Takva organizacija omogućava bakterijskim vrstama optimalne razvojne uvjete. Također, izmjenom genetskog materijala, bakterije stvaraju nove osobine koje pogoduju njihovoj otpornosti (54). Polisaharidna matrica biofilma usporava difuziju unutar biofilma, stoga biofilmovi imaju veću otpornost prema djelovanju antibiotika (55).

Caldwell i suradnici (49) su opisali četiri karakteristike biofilмова:

1. autopoeza- sposobnost samoorganizacije
2. hemostaza- sposobnost održavanja ravnoteže u okolišnim neprilikama
3. sinergija- veća učinkovitost u zajednici nego u planktonskom obliku
4. zajedništvo obrambenih mehanizama- odgovaranje na promjene u okolini kao zajednica, a ne kao pojedinačna vrsta.

Jhajharia i suradnici (27) su podijelili endodontske biofilmove u 4 vrste:

1. intrakanalni
2. ekstraradikalni
3. periapikalni biofilmovi i
4. biofilmovi vezani uz strana tijela (biomaterijale)

#### **1.1.4.2. Intrakanalni biofilmovi**

Intrakanalni biofilmovi su biofilmovi na dentinskoj površini zahvaćenog zuba. Nakupine mikroorganizama perzistiraju kao labavo vezane nakupine filamenata, spiroheta, koka i štapića (27). Moguća je i palisadna struktura mikrobnih nakupina (56). Usprkos kemomehaničkoj obradi i punjenju kanala u jednom posjetu, sposobni su preživjeti u glavnom kanalu zuba, akcesornim kanalima i istmusima, što je pokazano u istraživanju Naira i suradnika (57) gdje su biofilmovi bili prisutni u 14 od 16 endodontski tretiranih zuba.

#### **1.1.4.3. Ekstraradikularni biofilmovi**

Ekstraradikularni biofilmovi formiraju se na površini korijena u blizini apeksa endodontski inficiranog zuba (58). Prisutni su kod zuba s asimptomatskim apikalnim parodontitisom kao i kod zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom s postojanjem sinus trakta (59). Tronstad i suradnici (60) su pod SEM-om ustanovili da takvi biofilmovi imaju glatku strukturu i građeni su od različitih bakterijskih vrsta. Bakterijske vrste kod ekstraradikularnih biofilmova su: *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* i *Tannerella forsyhensis* (19). Ekstraradikularni biofilmovi su uočeni i kod lakunarnih resorpcijskih zona zuba s kroničnim apikalnim parodontitisom (61). Zbog lokalizacije ih nije moguće ukloniti klasičnom kemomehaničkom obradom ili primjenom sistemskih antibiotika (47).

#### **1.1.4.4. Periapikalni biofilmovi**

Periapikalni biofilmovi nalaze se u periapikalnom području zaraženog zuba, a mogu biti vidljivi i u slučajevima kada ne postoji infekcija korijenskih kanala. Periapikalne lezije su često povezane s *Actinomyces* i *Propionibacterium propionicum* vrstama te se javljaju kada je nadjačana obrana domaćina (62, 63). Aktinomicete imaju fimbrije koje igraju ključnu ulogu u njihovom preživljavanju u ekosustavu. One omogućavaju vezanje na stijenke kanala zuba i na dentinski debris koji često bude proguran kroz apikalni otvor tijekom zahvata, te su u mogućnosti vezati se na druge bakterijske vrste ili na stanice domaćina u periapikalnom tkivu (64). Niska patogenost aktinomiceta rezultira minimalnim odgovorom domaćina, međutim česti su razlog perzistencije kroničnog apikalnog parodontitisa (47).

#### **1.1.4.5. Biofilmovi vezani uz strana tijela**

Biofilmovi vezani uz strana tijela nastaju adherencijom bakterija na površinu stranog tijela (65). Najčešće vezani uz protetske strukture ili strukture na implantatima (27). Takemura i suradnici (66) su opisali vezanje gram pozitivnih fakultativnih anaeroba i formiranje ekstracelularnog polimernog matriksa oko gutaperke te ulogu seruma u formiranju biofilma.

Bakterijska adherencija na površinu stranog tijela odvija se u 3 faze:

1. transport bakterija na površinu stranog tijela
2. inicijalna nespecifična adhezijska faza i
3. specifična adhezijska faza (38).

*E. faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus pyogenes* i *Staphylococcus aureus* imaju sposobnost formiranja biofilmova na gutaperka štapićima, dok *Fusobacterium nucleatum*, *Propionibacterium acnes*, *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia* nemaju tu sposobnost (27).

Brojna istraživanja (27, 67-70) su pokazala da je jedan od najčešćih tvoraca otpornih biofilmova *E. faecalis*, koji je sposoban prilagoditi se i preživjeti različite okolišne i hranidbene uvjete (aerobne, anaerobne, hranidbeno bogate i hranidbeno siromašne). Njegovi biofilmovi su često kalcificirani jer dolazi do bakterijski posredovanog otapanja mineralnog dijela dentinskog supstrata što dovodi do lokalnog povećanja kalcijevih i fosfatnih iona i uzrokuje mineralizaciju (kalcifikaciju) biofilmova (32, 71, 72). Također, sposoban je ulaziti u interakcije s *Fusobacterium nucleatum* kako bi stvorio biofilmove (27).

Osim bakterija, kvasci imaju sposobnost tvorbe gusto nabijenih kolonija unutar korijenskih kanala (47).

## 1.2. Kontrola endodontske infekcije

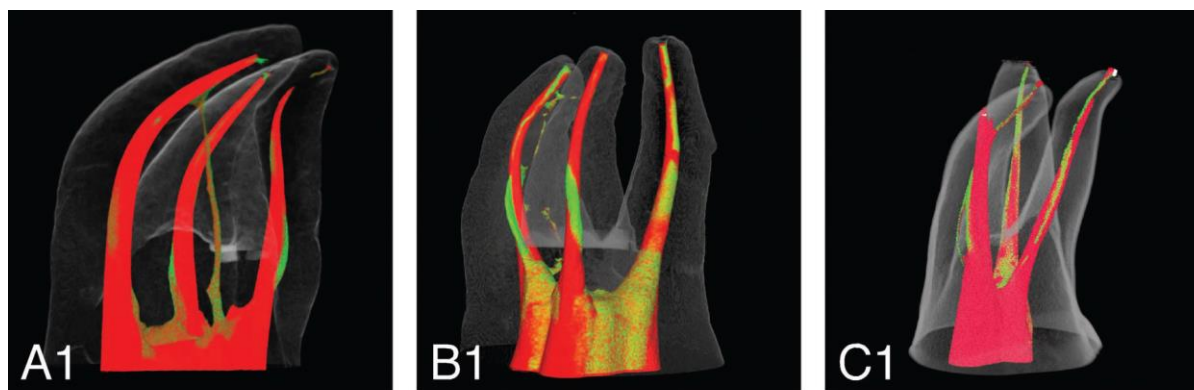
Svrha endodontskog liječenja je ukloniti infekciju te ostatke vitalnog i nekrotičnog tkiva iz sustava korijenskih kanala te spriječiti reinfekciju kanala odnosno infekciju periradikularnog područja (73). To se postiže mehaničkom instrumentacijom, dezinfekcijom i punjenjem korijenskih kanala.

### 1.2.1. Kemomehanička obrada korijenskih kanala

Cilj mehaničke instrumentacije je oblikovanje prostora potrebnog za postavljanje antimikrobnih lijekova te konačnog punjenja korijenskih kanala (74). Provodi se ručnim ili strojnim instrumentima, a predstavlja postupak čišćenja, širenja i oblikovanja korijenskog kanala. Kriteriji uspješno izvedene instrumentacije su:

- izrada kanalnog sustava stalnog koniciteta
- zadržavanje izvornog oblika kanala i položaja apikalnog otvora
- glatke stijenke kanala te
- oblikovanje apikalnog stopa (73).

Zbog složene anatomije endodontskog prostora (istmusa, lateralni i akcesorni kanali i ramifikacije) nije moguće potpuno uklanjanje mikroorganizama (75, 76). Ingle i suradnici (77) su pokazali da nakon mehaničke instrumentacije 80% korijenskih kanala ostaje pozitivno na prisutnost mikroorganizama dok su Peters i suradnici (78) pokazali da nakon instrumentacije, otprilike polovica površine korijenskog kanala ostaje neobrađena (Slika 2).



**Slika 2.** Neobrađena područja kanala (zeleno) nakon instrumentacije instrumentima različitog koniciteta. Preuzeto iz (78).

Budući mehanička obrada kanala nije dovoljna za uklanjanje infekcije, kao nadopuna instrumentaciji koriste se kemijska sredstva za ispiranje korijenskih kanala. Instrumentacija i ispiranje predstavljaju faze endodontskog zahvata koje se međusobno nadopunjavaju te se za njih koristi zajednički entitet kemomehanička obrada kanala.

Idealno sredstvo za ispiranje trebalo bi zadovoljavati slijedeće kriterije:

- imati široki spektar djelovanja i visoku učinkovitost protiv obligatnih i fakultativnih anaeroba organiziranih unutar biofilmova
- otapati nekrotične ostatke pulpnog tkiva
- inaktivirati mikrobne endotoksine
- prevenirati stvaranje zaostatnog sloja tijekom instrumentacije ili otapati ga jednom kada je stvoren
- netoksičnost, nekaustičnost prema parodontnim tkivima
- nemati potencijal uzrokovati anafilaktičke reakcije (79).

Danas najčešće korištena sredstva su: natrijev hipoklorit (NaOCl), klorheksidin (CHX), kelatori i kombinirani preparati (79).

Zlatni standard u ispiranju korijenskih kanala je NaOCl. Ima dobru antimikrobnu učinkovitost i sposobnost otapanja ostataka nekrotičnog tkiva (80-82). Koristi se u koncentraciji 0,5- 5,25%. Učinkovit je protiv vegetativnih bakterijskih oblika, spora, kvasaca, protozoa i virusa (83). Nedostatak mu je toksično, odnosno kaustično djelovanje na vitalna tkiva (84).

Osim hipoklorita, često se koristi i CHX, potentni antiseptik koji pripada skupini polibisgvanida (79). Za ispiranje korijenskih kanala koristi se u koncentraciji 2% (85). Iako se preporučuje za završno ispiranje kanala, CHX ne može zamijeniti NaOCl jer nema sposobnost otapanja ostataka nekrotičnog tkiva te slabije djeluje na Gram negativne mikroorganizme (86-88).

Iako se tijekom endodontskog zahvata najčešće NaOCl koristi kao glavno sredstvo za ispiranje, on nije u mogućnosti otopiti anorganske ostatke dentina koji formiraju zaostatni sloj tijekom instrumentacije. U tu svrhu koriste se demineralizirajući agensi tj. kelatori koji ne pokazuju značajan antimikrobni učinak (89). Najčešće korišteni kelatori su etilendiaminotetraoctena kiselina (EDTA) i limunska kiselina (90).

Od kombiniranih preparata na tržištu nalazimo MTAD (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, SAD) i QMiX (Dentsply Tulsa Dental Specialities, Tulsa, OK, SAD). MTAD predstavlja kombinaciju tetraciklina, limunske kiseline i detergenta. Ima dobro antimikrobno djelovanje,

a koristi se za otapanje zaostatnog sloja na kraju instrumentacije (91). QMiX je kombinirani preparat koji sadržava EDTA-u, kloheksidin i detergent te se također koristi u završnom ispiranju kanala (92).

Kemomehaničkom obradom se uspješno uklanjaju obligatni anaerobi iz prostora korijenskog kanala, dok fakultativne bakterije poput ne-mutans streptokoka, enterokoka i laktobacila pokazuju otpornost i sposobne su preživjeti kemomehaničku obradu i intrakanalne medikamente (93).

### **1.2.2. Punjenje korijenskih kanala**

Nakon kemomehaničke obrade korijenskih kanala potrebno je osigurati kvalitetno punjenje korijenskog kanala od koronarnog ulaza u kanal do apikalnog foramena na cementno- dentinskom spoju. Cilj punjenja je osigurati barijeru koja će štiti periradikularna tkiva od prodora mikroorganizama iz usne šupljine (94).

Idealno punjenje korijenskih kanala trebalo bi zadovoljavati slijedeće kriterije:

- prevenirati koronarno curenje mikroorganizama i hranjivih tvari do mikroorganizama zarobljenih unutar kanala,
- prevenirati periapikalnu ili parodontalnu perkolaciju te zarobiti mikroorganizme unutar kanala kako bi se prevenirala njihova proliferacija i daljnje patogeno djelovanje (94).

Grossman (95) je definirao svojstva koja bi idealan materijal za punjenje trebao zadovoljavati:

1. mogućnost laganog unošenja u korijenski kanal
2. postizanje lateralnog i apikalnog brtvljenja
3. dimenzijska stabilnost
4. antimikrobno djelovanje
5. netopljivost u tkivnim tekućinama
6. radiokontrastnost
7. ne uzrokovati iritaciju periradikularnih tkiva
8. ne bojiti zubne strukture
9. mogućnost uklanjanja iz korijenskih kanala.

Osim intrakanalnog brtvljenja potrebno je osigurati koronarno brtvljenje postavljanjem odgovarajuće koronarne restauracije (96).

### 1.2.3. Materijali za punjenje korijenskih kanala

Materijali za punjenje dijele se s obzirom na konzistenciju na:

- mekana punila koja trajno ostaju mekana (paste)
- meka punila koja se stvrdnjavaju u korijenskom kanalu
- polutvrda punila
- tvrda punila te
- materijali za retrogradno punjenje (97).

Mekana punila koja trajno ostaju mekana (paste) se koriste kao međuposjetni medikamenti. Najčešće korišteni takav materijal je kalcij hidroksid koji ima visoki pH te razara staničnu stijenku bakterija (97).

Materijali koji se najčešće koriste za punjenje korijenskih kanala su kombinacija polutvdih štapića i punila koja stvrdnjavaju tijekom vremena (94).

Najčešće korišteni polutvrđi štapićasti materijal za punjenje kanala je gutaperka. Dobiva se iz mliječnog soka drveta *Isonandra guttae* (97). Dolazi u dva kristalna oblika: alfa i beta. Gutaperka koja se koristi u endodonciji dolazi u beta fazi. Zagrijavanjem na 42-49°C prelazi u alfa fazu, a daljnjim zagrijavanjem preko 50 °C postaje amorfn. Ponovnim hlađenjem vraća se u beta fazu. Alfa faza gutaperke se koristi kod suvremenih termoplastičnih tehnika punjenja (94).

Gutaperka koja se koristi za punjenje korijenskih kanala sastoji se od cink oksida (65%), gutaperke (20%), radiokontrastnog sredstva (10%) i plastifikatora (5%) (1). Proizvodi se u dva oblika, u obliku štapića ili kuglica (*eng. pellet*). Štapići su dostupni u standardiziranom i nestandardiziranom obliku (94).

Kao alternativa gutaperci, proizvedeni su Resilon štapići kao sintetski polimerni materijal. Koriste se uz punilo temeljeno na kompozitnoj smoli te formiraju „monoblok“ unutar kanala (98).

Budući polutvrda punila ne adheriraju uz dentinsku stijenku, potrebno ih je koristiti u kombinaciji s punilom koje adherira na dentinsku stijenku i popunjava prostor između štapića (99).

Postoji više vrsta punila koja stvrdnjavaju u korijenskom kanalu:

- punila temeljena na otapalima
- jodoform punila
- punila temeljena na kalcij hidroksidu
- punila temeljena na cink- oksid eugenolu

- punila temeljena na umjetnim smolama
- punila temeljenja na staklenoionomernim cementima
- punila temeljena na silikonima
- biokeramička punila

Punila temeljena na otapalima su kloroperka i eukaperka, a dobivaju se otapanjem gutaperke u kloroformu, odnosno eukaliptusovom ulju. Budući da je kloroform kancerogen, kloroperka se više ne preporučuje za primjenu u kliničkoj praksi (99).

Jodoform punila su pokazala dobar antimikrobni učinak, međutim zbog teškog uklanjanja iz kanala, također nisu preporučljivi u kliničkoj praksi (99). Dobar antimikrobni učinak pokazuju punila temeljena na kalcij hidroksidu, međutim da bi antimikrobni učinak nastao, takva punila moraju disocirati što pogoduje mikrobnj rekolonizaciji endodontskog prostora (100).

Punila temeljena na cink- oksid eugenolu također pokazuju dobar antimikrobni učinak, međutim u kontaktu s vitalnim tkivima pokazuju citotoksičnost (4).

Danas se najčešće, uz gutaperku, koriste punila temeljena na umjetnim smolama i to epoksi smolama. Osim punila temeljenih na epoksi smolama, postoje i punila temeljena na poliketonskim i kompozitnim smolama (59).

Punila temeljena na staklenoionomernim cementima, usprkos biokompatibilnosti, nisu zaživjela u kliničkoj praksi zbog nemogućnosti njihova uklanjanja iz korijenskih kanala (101).

Punila temeljenja na silikonima pokazuju biokompatibilnost te ekspaniraju prilikom stvrdnjavanja što pridonosi postizanju boljeg brtvljenja korijenskih kanala (102).

#### **1.2.4. Kriteriji uspješnosti endodontskog liječenja**

Individualan pristup pacijentu, kao i procjena ishoda liječenja, te upoznavanje pacijenta s istim, osnova su endodontskog liječenja. Brojni su čimbenici uspješnosti liječenja, a dijele se na one biološkog i terapijskog karaktera. Neuspjeh liječenja se pak pripisuje mikrobnim, odnosno nemikrobnim čimbenicima (103, 104). Mikrobne čimbenike predstavljaju mikroorganizmi koji dovode do nastanka perzistirajuće infekcije dok se u nemikrobne čimbenike ubrajaju: nepravilna dijagnoza, neprikladan zub za endodontsko liječenje (zub s lošom prognozom), pogreške pri endodontskom tretmanu ili postendodontskoj opskrbi zuba. Osim navedenih čimbenika, ulogu u uspješnosti endodontskog liječenja imaju i smještaj i vrsta zuba, spol i dob pacijenta (105).

Uspješnost endodontskog liječenja može se promatrati na tri razine: kliničkoj, radiološkoj i histološkoj (106). Klinička procjena uspješnosti liječenja zasniva se na



slijedećim paramaterima: odsutnost bolova, otekline, negativan perkutorni i palpatorni nalaz, odsutnost patološke pomičnosti zuba, izostanak sinus trakta i održana funkcija zuba. Navedeni nalaz nije dovoljan kako bi se liječenje definiralo uspješnim te je potreban dodatni radiološki nalaz.

Radiološki se liječenje procjenjuje kao uspješno, neuspješno ili s upitnim ishodom (106). Ukoliko u razdoblju praćenja od 6 mjeseci do 4 godine ne dolazi do povećanja periapikalne radiolucencije ili ako dođe do njenog cijeljenja, može se smatrati da je postignut uspjeh endodontskog liječenja (107) . Ako se koštano prosvjetljavanje nije smanjilo, a pacijent navodi izostanak simptoma, u obzir se uzima cijeljenje ožiljkastim tkivom (104, 108, 109).

U procjeni cijeljenja periapikalne radiolucencije ožiljkom treba biti oprezan, te nastaviti pratiti potencijalno cijeljenje kontrolnim radiološkim snimkama. Dio autora smatra da izostanak cijeljenja, bez povećanja radiolucencije unutar godinu dana od liječenja se smatra neuspjehom liječenja, te zahtjeva reviziju punjenja korijenskih kanala (106).

Također, treba uzeti u obzir da je radiološka snimka dvodimenzionalni prikaz struktura te je moguće preklapanje anatomskih struktura s periapikalnim područjem zuba (npr. foramen nasopalatinum, foramen mentale) i zbog toga snimka može biti lažno pozitivno ili negativno interpretirana (109). Kako bi dobili detaljni uvid u cijeljenje lezije, danas u obzir dolazi i korištenje „ConeBeam“ kompjutorske tomografije (*eng.* cone beam computered tomography, CBCT) koja daje precizniji uvid u koštana područja čeljusti . Patel i suradnici (110) su proučavali cijeljenje periapikalnih lezija godinu dana nakon tretmana te su uočili da je stopa cijeljenja kod procjene retroalveolarnih snimki bila 87%, dok je kod istih slučajeva kada je korišten CBCT stopa cijeljenja bila 62,5%.

Histološka procjena liječenja kod ljudi nije moguća jer zahtjeva invazivan operacijski pristup periapikalnim tkivima. Primjenjuje se samo na pokusnim životinjama, a uspješno endodontsko liječenje podrazumjeva obnavljanje tkiva periapikalnog područja (cement zuba, alveolarna kost i parodontni ligament).

### 1.3. Biokeramički materijali u endodonciji

Biokeramički materijali su namijenjeni korištenju u medicini i dentalnoj medicini. Temelje se na aluminiju i cirkoniju, staklokeramici, premazima i kompozitima, hidroksilapatitu i kalcij fosfatu (111). Koriste se kao ortopedski nadomjestci ili kao premaz metalnih protetskih nadomjestaka kako bi im se povećala biokompatibilnost. Biokompatibilni su, netoksični, ne skupljaju se te su kemijski stabilni u biološkom okruženju. U dentalnoj medicini primjenjuju se najviše u protetici, a zadnjih godina i u području endodonciji (112). Jasna podjela biokeramičkih materijala za sada nije definirana.

Al Haddad i suradnici (113) su podijelili biokeramičke materijale prema sastavu na:

1. trikalcij fosfatna punila
2. trikalcij silikatna punila
3. punila temeljena na mineral trioksid agregatu (*eng.* mineral trioxide aggregate, MTA).

Jafari i suradnici (114) su podijelili biokeramičke materijale u dvije skupine

1. trikalcij fosfatna punila i
2. trikalcij silikatna punila koja se temelje na MTA i punila koja se ne temelje na MTA-u.

#### 1.3.1. Povijesni razvoj biokeramičkih materijala u endodonciji

Prvo punjenje korijenskih kanala biokeramičkim materijalom opisano je 1984. godine (115), a preteče modernih biokeramičkih punila bili su kalcij fosfatni cementi Sankin apatite (I, II and III) te eksperimentalni materijal Capseal (I and II) (113).

Nova era primjene biokeramičkih materijala u endodonciji počinje 1990-ih godina, uvođenjem materijala temeljenih na MTA-u kao cemenata za zatvaranje perforacija korijena (116). Njihova formulacija proizlazi iz Portland cementa koji se u građevinarstvu koristi za dobivanje betona, a u dentalnoj medicini se prvi put spominje 1878. godine kada je dr. Witte u „prikazu slučaja“ prikazao punjenje korijenskih kanala Portland cementom (4). Prvi MTA cement razvili su 1993. godine Mahmoud Torabinejad i Dean White (117). U njegovom sastavu nalazimo slijedeće komponente: dikalcij silikat, trikalcij silikat, trikalcij aluminat, gips, tetrakalcij aluminij željezo te bizmutov oksid kao radiokontrastno sredstvo (118). Kasnije je bizmutov oksid zamijenjen drugim radiokontrastnim sredstvima (119). Na tržište je 1998. godine prvo uveden sivi MTA cement tvorničkog naziva ProRoot® MTA (Dentsply, Tulsa Dental, Johnson City, TN, SAD), a četiri godine poslije i bijela inačica istog proizvoda (118). Oba cementa imaju sličan sastav, s tim da bijeli ima manje željeza (120) te se, osim za zatvaranje perforacija, mogu koristiti kao materijali za retrogradno punjenje i za indirektno ili

direktno prekrivanje pulpe zuba (117, 121, 122). MTA cementi imaju dobru mogućnost brtvljenja korijenskih kanala, dobru biokompatibilnost i bioaktivnost nakon stvrdnjavanja (123). Svježe zamiješani materijal ima pH 10,5, a vrijednost unutar tri sata od miješanja raste na 12,5 (124). Materijal pokazuje slijedeće nedostatke: dugo vrijeme stvrdnjavanja (tri sata), teško rukovanje, teško uklanjanje iz korijenskih kanala (123) i bojenje zubnih struktura neovisno radi li se o sivom ili bijelom MTA cementu (125). Obojenje kod korištenja sivog MTA cementa nastupa unutar mjesec dana od postavljanja, a kod bijelog unutar tri mjeseca (126). Uzrok obojenja je promjena boje bizmutova oksida u reakciji s NaOCl-om (127), formaldehidom (128) ili kolagenom iz zubne strukture (124). Novi MTA cementi kao radiokontrastno sredstvo koriste cirkonijev oksid ili tantal oksid (126). MTA Angelus (Angelus, Londrina, PR, Brazil) je poboljšana verzija MTA cementa koja stvrdnjava unutar 14 minuta (129). Kraće vrijeme stvrdnjavanja je posljedica eliminacije kalcij sulfatne faze iz materijala (130).

Osim ProRoot® MTA (Dentsply) i MTA Angelus (Angelus) cemenata, na tržištu je dostupan i MTA Plus (Prevest-Denpro, Jammu City, Indija). Taj materijal sadrži manje čestice (50% čestica manjih od 1 $\mu$ m) od prethodno spomenutih inačica MTA cemenata (131). Druga generacija biokeramičkih materijala započela je uvođenjem Biodentina (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Francuska). Sastoji se od praha (trikalcij silikat, kalcij karbonat, cirkonij oksid kao radiokontrastno sredstvo) i tekućine koja sadrži kalcijev klorid kao akcelerator (118). Koristi se u iste svrhe kao i MTA, a prednosti su mu kraće vrijeme stvrdnjavanja (10-12 min) i tlačna čvrstoća slična dentinu (123). Ovaj materijal je bijele boje te za razliku od klasičnog MTA-a ne uzrokuje obojenja zuba (118). Vrijednost pH mu iznosi 11.7 (132). Inkorporiranjem vodenastih polimera (133) i propilen glikola (134) u sastav Biodentina (Septodont), omogućeno je lakše rukovanje materijalom. Glavni nedostatak ovog materijala je trituracija koja traje 30 sekundi u već pripremljenim kapsulama što rezultira velikim gubitkom materijala budući se najčešće koristi mala količina (135).

Biodentin (Septodont) je materijal, koji zbog svoje konzistencije, nije namjenjen za punjenje korijenskih kanala. (136).

Zbog toga su razvijena punila čija konzistencija omogućava lakše rukovanje (137, 138).

### 1.3.2. Vrste biokeramičkih materijala u endodonciji

Na tržištu postoje dvokomponentni i jednokomponentni, već prethodno pripremljeni (*eng.* premixing), biokeramički materijali za punjenje.

Predstavnik punila temeljenih na MTA-u je MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brazil) koji je na tržište uveden 2010. godine. MTA Fillapex (Angelus) predstavlja dvokomponentni hibridni materijal koji u svom većinskom sastavu sadržava salicilatnu smolu, a manjim dijelom MTA. Prilikom stvrdnjavanja materijala ne dolazi do hidratacijske reakcije kao kod ostalih biokeramičkih materijala te stoga nema otpuštanja kalcij hidroksida u okolna tkiva (139). Iako u svom sastavu posjeduje MTA, ovaj materijal je pokazao iritirajuće djelovanje na potkožna (140) i koštana tkiva (141) te ga zbog toga ne možemo svrstati među materijale s biološkim prednostima.

Ostali dvokomponentna biokeramička punila su: BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fosses, Francuska) i CPM Sealer (EGEO, Buenos Aires, Argentina).

Osim dvokomponentnih materijala, na tržištu postoje jednokomponentni materijali poput TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD, Savannah, GA, SAD), Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD, Savannah, GA, SAD), iRoot SP-a (Innovative BioCeramix Inc., Vancouver, Kanada) i Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd, Stamford, Engleska). Oni dolaze u tvornički pripremljenom, homogenom obliku, veličine čestica do 2 mikrometra, pohranjeni unutar šprica s kanilom što olakšava njihovu upotrebu. TotalFill BC Sealer (Brasseler), Endosequence BC Sealer (Brasseler) i iRoot SP (Innovative BioCeramix Inc.) su materijali istog sastava, međutim zbog različitih država proizvodnje se pojavljuju pod različitim nazivima (124, 142)

Biokeramički materijali se najčešće koriste u kombinaciji s gutaperka štapićima impregniranim nano česticama biokeramike kako bi se izbjeglo formiranje praznina između punila i gutaperka štapića (143). Takva kombinacija materijala uzrokuje stvaranje monobloka kojim se povećava otpornost korijena na frakturu (144).

Sastav biokeramičkih punila prikazan je u Tablici 2.

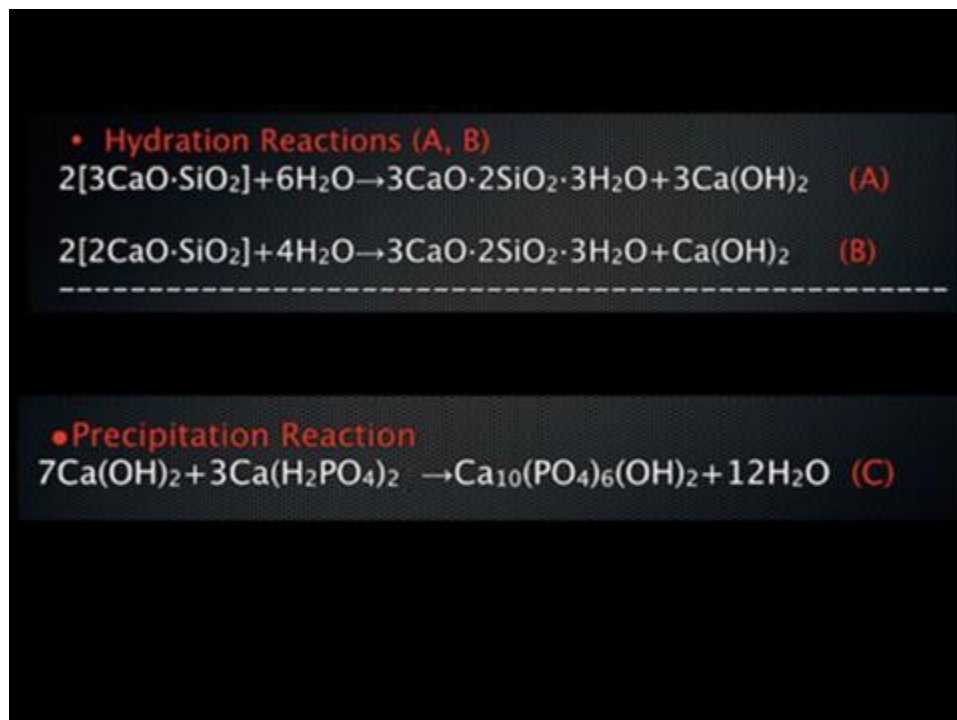
**Tablica 2.** Sastav biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala

<b>Materijal</b>	<b>Sastav</b>
BioRoot RSC (Septodont)	Prašak: trikalcij silikat, cirkonij oksid i povidon Tekućina: vodena otopina kalcij klorida i polikarboksilata
MTA Fillapex (Angelus)	Salicilatna smola, prirodna smola, bizmutov trioksid, nanočestice silicija, MTA, pigmenti
Endosequence BC Sealer (Brasseler), iRoot SP (Innovative BioCeramix Inc.) i TotalFill BC Sealer (Brasseler)	Cirkon oksid, trikalcij silikat, dikalcij silikat, koloidni silicij, kalcij fosfat, kalcij hidroksid
CPM Sealer (EGEO)	MTA, silikon dioksid, kalcij karbonat, bizmut trioksid, barij sulfat, propilenglikol alginat., natrij citrat, kalcij klorid
SmartPaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd)	Cirkonij oksid, kalcij silikat, monobazični kalcij fosfat, kalcij trioksid

Prednosti biokeramičkih materijala su: biokompatibilnost, dobra fizikalno kemijska svojstva: visoki pH, odgovarajuću radioopaktnost i tečnost te otpuštanje ione kalcija u visokim koncentracijama što rezultira formiranjem hidroksilapatita (138, 145, 146). Dimenzijski su stabilni i lagano ekspaniraju prilikom stvrdnjavanja (147-149). Netoksični su i kemijski stabilni u biološkom okruženju (147, 150). U slučaju prepunjenja korijenskog kanala i kontakta s periradikalnim tkivima, izostati će upalni odgovor što se smatra jednim od važnijih svojstava biokeramičkih materijala (112).

### 1.3.3. Stvrdnjavanje biokeramičkih materijala u korijenskom kanalu

Za proces stvrdnjavanja biokeramičkih materijala potrebna je vlaga (118). U kontaktu s vlagom iz dentinskih tubulusa započinje hidratacijska reakcija kalcij silikata te se formiraju kalcij silikatni hidrogel i kalcij hidroksid (151). Kalcij hidroksid reagira dalje s fosfatom i nastaje hidroksilapatit i voda (152). Voda dalje nastavlja reakcijski krug i ponovno reagira s kalcij silikatom te se ponovno stvara kalcij silikatni hidrogel i kalcij hidroksid. Zbog tog svojstva biokeramički materijali nazivaju se i bioaktivnim materijalima (153) (Slika 3).



**Slika 3.** Kemijska reakcija biokeramike i vode pri čemu nastaje hidroksiapatit. Preuzeto iz (124).

## 2. CILJEVI I HIPOTEZE

Glavni cilj ovog doktorskog rada je istražiti i ispitati antimikrobna svojstva biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala u endodonciji. Kako bi se to postiglo potrebno je ostvariti sljedeće primarne ciljeve:

1. Cilj 1.: Ispitati dosadašnja saznanja iz objavljene znanstvene literature o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala zuba i napraviti detaljnu sintezu dosadašnjih spoznaja o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje.
2. Cilj 2.: Istražiti antibakterijsku učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje kanala na planktonskim stanicama *E. faecalis* u različitim vremenima stvrdnjavanja materijala te različitim vremenima kontakta materijala i bakterijskih stanica.
3. Cilj 3.: Istražiti antibakterijsku učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje kanala na mladim biofilmovima *E. faecalis*, izoliranog iz korijenskog kanala pacijenta s kroničnim periapikalnim parodontitisom.

Sekundarni ciljevi istraživanja su:

1. Cilj 1: Istražiti antibakterijsko djelovanje «zlatnog standarda» (materijala temeljenog na epoksi smoli) u punjenju korijenskih kanala zuba.
2. Cilj 2: Usporediti antibakterijsku učinkovitost biokeramičkih materijala i materijala za punjenje temeljenog na epoksi smoli.

Istraživanje se sastoji od tri dijela: sustavnog pregleda literature, *in vitro* istraživanja o učinku biokeramičkih materijala za punjenje na planktonske stanice *E. faecalis* i *in vitro* istraživanja o antimikrobnom djelovanju na mlade biofilme *E. faecalis*.

1. Hipoteze sustavnog pregleda:
  - a) Više od 50% objavljenih istraživanja ispitivalo je učinak biokeramičkih materijala za punjenje na bakterijskim biofilmovima.
  - b) Više od 30% objavljenih radova ispitivalo je učinak biokeramičkih materijala na kvascima.
  - c) Više od 50% istraživanja ispitivalo je antimikrobni učinak svježe pripremljenih materijala za punjenje.
  - d) Moguće je usporediti rezultate istraživanja.

2. Hipoteze *in vitro* istraživanja o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala na planktonske stanice *E.faecalis*:
  - a) Nul-hipoteza: nema razlike u antimikrobnoj učinkovitosti između biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala u istim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta s bakterijskom suspenzijom.
  - b) Radna hipoteza: postoji razlika u antimikrobnoj učinkovitosti između biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala u istim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta s bakterijskom suspenzijom. Svježe miješani materijali imaju bolje antibakterijsko djelovanje od materijala koji su stvrdnjavali jedan ili tri dana. Duže vrijeme kontakta između bakterijske suspenzije i materijala za punjenje rezultira većim brojem odumrlih bakterijskih stanica.
  
3. Hipoteze *in vitro* istraživanja o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje na mlade biofilmove *E. faecalis*:
  - a) Nul hipoteza: nema razlike u djelovanju ispitivanih materijala za punjenje protiv mladih biofilmova *E. faecalis*.
  - b) Radna hipoteza: postoji razlika u djelovanju ispitivanih materijala za punjenje protiv mladih biofilmova *E. faecalis*. Očekuje se da će TotalFill BC Sealer pokazati najbolji učinak na biofilmove.



### 3.MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Sustavni pregled literature o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala

Sustavni pregled literature napravljen je prema smjericama Centra za sustavne preglede i diseminaciju (*eng.* Centre for Reviews and Dissemination) (154) i PRISMA smjericama (155). Protokol sustavnog pregleda literature prijavljen je i registriran u PROSPERO bazi (broj registracije: CRD42018082375).

Kriteriji za uključivanje istraživanja bili su slijedeći:

1. istraživanja bilo koje vrste koja testiraju antimikrobni učinak biokeramičkih punila;
2. *in vivo* istraživanja na ljudima i životinjama;
3. *in vitro* istraživanja neovisno o vrsti primjenjenih laboratorijskih testova.

Kriteriji isključivanja su bili:

1. Istraživanja koja su ispitivala antimikrobni učinak drugih vrsta materijala za punjenje korijenskih kanala (kalcij- hidroksidna, smolasta punila te punila bazirana na cink eugenolu, silikonu i staklenoionomernim cementima).
2. Istraživanja koja su ispitivala antimikrobni učinak biokeramičkih cementa, npr. MTA cemenata i Biodentina (Septodont, Saint- Maur- des- Fosses, Francuska), zbog ograničenosti njihove upotrebe u korijenskom kanalu (136).
3. Istraživanja koja su ispitivala eksperimentalna punila koja nisu dostupna na tržištu te punila razvijena prije uvođenja MTA.

Pretražene su tri elektroničke baze: MEDLINE, Embase i Web of Science. Strategija pretraživanja dizajnirana je kombiniranjem riječi vezanih uz biokeramička punila s riječima vezanim uz antimikrobnost.

U MEDLINE-u je strategija pretraživanja bila slijedeća:

1. exp "Root Canal Filling Materials"/
2. ((bioactive or bioceramic or endodontic) adj3 (sealer\$ or sealant\$ or filling)).tw.
3. (calcium adj3 (sealer\$ or sealant\$ or filling)).tw.
4. GuttaFlow Bioseal.tw.
5. TotalFill BC Sealer.tw.
6. Total BC Sealer.tw.
7. Bioactive mono-dispersed nanospheres.tw.
8. Sure Seal Root.tw.
9. EndoSequence Bioceramic Sealer.tw.
10. MTA Fillapex.tw.
11. iRoot SP.tw.
12. Endo CPM sealer.tw.
13. Sankin Apatite Root Sealer.tw.
14. Capseal.tw.
15. MTA Plus.tw.
16. Neo MTA Plus.tw.
17. NeoMTA Plus.tw.
18. MTA sealer.tw.
19. Smartpaste bio.tw.
20. EndoSeal MTA.tw.
21. or/1-20
22. exp Anti-Infective Agents/
23. (antimicrobial or anti-microbial or antibacterial or anti-bacterial or antiinfective or anti-infective or antibiotic or bakteriocid\$ or antimycobacterial or anti-mycobacterial or antifungal or fungicid\$).tw.
24. 22 or 23
25. 21 and 24.

U Embaseu je strategija glasila:

- 1 exp "root canal filling material"/
- 2 ((bioactive or bioceramic or endodontic) adj3 (sealer\$ or sealant\$ or filling)).tw.
- 3 (calcium adj3 (sealer\$ or sealant\$ or filling)).tw.
- 4 GuttaFlow Bioseal.tw.
- 5 TotalFill BC Sealer.tw.
- 6 Total BC Sealer.tw.
- 7 Bioactive mono-dispersed nanospheres.tw.
- 8 Sure Seal Root.tw.
- 9 EndoSequence Bioceramic Sealer.tw.
- 10 MTA Fillapex.tw.
- 11 iRoot SP.tw.
- 12 Endo CPM sealer.tw.
- 13 Sankin Apatite Root Sealer.tw.
- 14 Capseal.tw.
- 15 MTA Plus.tw.
- 16 Neo MTA Plus.tw.
- 17 NeoMTA Plus.tw.
- 18 MTA sealer.tw.
- 19 Smartpaste bio.tw.
- 20 EndoSeal MTA.tw.
- 21 or/1-20
- 22 exp antiinfective agent/
- 23 exp antifungal agent/
- 24 (antimicrobial or anti-microbial or antibacterial or anti-bacterial or antiinfective or anti-infective or antibiotic or bakteriocid\$ or antimycobacterial or anti-mycobacterial or antifungal or fungicid\$).tw.
- 25 or/22-24
- 26 21 and 25

Zaključno, u Web of Science, strategija pretraživanja bila je slijedeća:

- # 7 #6 AND #5
- # 6 TS=(antimicrobial OR anti-microbial OR antibacterial OR anti-bacterial OR antiinfective OR anti-infective OR antibiotic OR bakteriocid\* OR antimycobacterial OR anti-mycobacterial OR antifungal OR fungicid\*)
- # 5 #4 OR #3 OR #2 OR #1
- # 4 TS=("GuttaFlow Bioseal" OR "TotalFill BC Sealer" OR "Total BC Sealer" OR "Bioactive mono-dispersed nanospheres" OR "Sure Seal Root" OR "EndoSequence Bioceramic Sealer" OR "MTA Fillapex" OR "iRoot SP" OR "Endo CPM sealer" OR "Sankin Apatite Root Sealer" OR "Capseal" OR "MTA Plus" OR "Neo MTA Plus" OR "NeoMTA Plus" OR "MTA sealer" OR "Smartpaste bio" OR "EndoSeal MTA")
- # 3 TS=((calcium) NEAR/3 (sealer\* or sealant\* or filling))
- # 2 TS=((bioactive or bioceramic or endodontic) NEAR/3 (sealer\* or sealant\* or filling))
- # 1 TS=("Root Canal Filling Materials")

Indexes=SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, BKCI-S, BKCI-SSH, ESCI, CCR-EXPANDED, IC Timespan=All years

Pretraženi su članci na svim jezicima. Dva autora su, neovisno jedan o drugom, napravila pretraživanje te su dobiveni rezultati unešeni u EndNote X5 program (Clarivate Analytics, Boston, SAD). Uklonjeni su duplikati, prvo pomoću funkcije unutar EndNotea za uklanjanje duplikata, a potom i ručno. Kako bi se pronašla dodatna istraživanja koja bi odgovarala kriterijima uključenja, pretražene su reference uključenih istraživanja. Reference su zatim pretražene u Web of Science bazi.

Ishodi korišteni u ovom sustavnom pregledu bili su slijedeći: veličina zone inhibicije, broj mikroorganizama (izražen u jedinicama koje formiraju kolonije, *eng.* colony forming units, CFUs), postotak odumrlih stanica u dentinskim tubulusima, promjene u rastu mikroorganizama i volumen živućih stanica.

Iz uključenih istraživanja su ekstrahirani slijedeći podatci:

- 1) opće informacije- prezime autora, godina publikacije, cilj istraživanja, dizajn istraživanja;
- 2) metode: evaluacijske metode, korišteni model, korištena vrsta mikroorganizama, trajanje rasta mikroorganizama, korišteno punilo, vrijeme stvrđivanja punila prije kontakta s mikroorganizmima, vrijeme kontakta punila i mikroorganizama;
- 3) ishodi
- 4) rezultati.

U slučajevima kada su u istraživanjima prikazani nepotpuni ili nejasni podatci, kontaktirani su autori istraživanja putem e- maila. Ukoliko nakon drugog e- maila nije dobiven odgovor, autori više nisu kontaktirani.

Istraživanja su podjeljena u sedam skupina kako bi jasno prikazali rezultate. Starost mikrobnih nakupina definirana je prema istraživanju Stojičić i suradnika (156) gdje su mladi biofilmovi definirani kao nakupine mikroorganizama do dva tjedna starosti, a zreli biofilmovi predstavljaju nakupine starije od dva tjedna.

### **3.1.1. Analiza podataka dobivenih u istraživanjima**

Podatci iz istraživanja opisani su tekstualno i tablično. Kvaliteta izvještavanja procjenjena je od strane dva autora, a procjenjivali su se: model istraživanja, veličina uzorka i odgovarajući opis korištenih materijala.

### **3.2. In vitro istraživanje antibakterijskog učinka biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonskim stanicama *E. faecalis***

Istraživanje je napravljeno na Katedri za medicinsku kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

#### **3.2.1. Priprema materijala za punjenje korijenskih kanala**

U ovom dijelu istraživanja korištena su tri različita biokeramička materijala i materijal za punjenje temeljen na epoksi smoli:

1. TotalFill Bioceramic Sealer (Brasseler SAD, Savannah, GA, SAD)
2. BioRoot Root Canal Sealer (Septodont, Saint- Maur- des- Fosses, Francuska)
3. MTA Fillapex (Angelus, Londrina, PR, Brazil)
4. Punilo temeljeno na epoksi smoli, AH Plus (Dentsply, Konstanz, Njemačka)

Antibakterijski učinak biokeramičkih materijala ispitivan je koristeći modificirani direktni kontaktni test (*eng.* modified direct contact test, mDCT) s nekim izmjenama, opisan u istraživanju Zhanga i suradnika (148).

Materijali su pripremljeni prema uputama proizvođača.

Korišteno je otprilike 20  $\mu$ L svakog svježe pripremljenog materijala, izmjereno žličastim ekskavatorom (Premium instruments, New York, SAD) jednakog obujma.

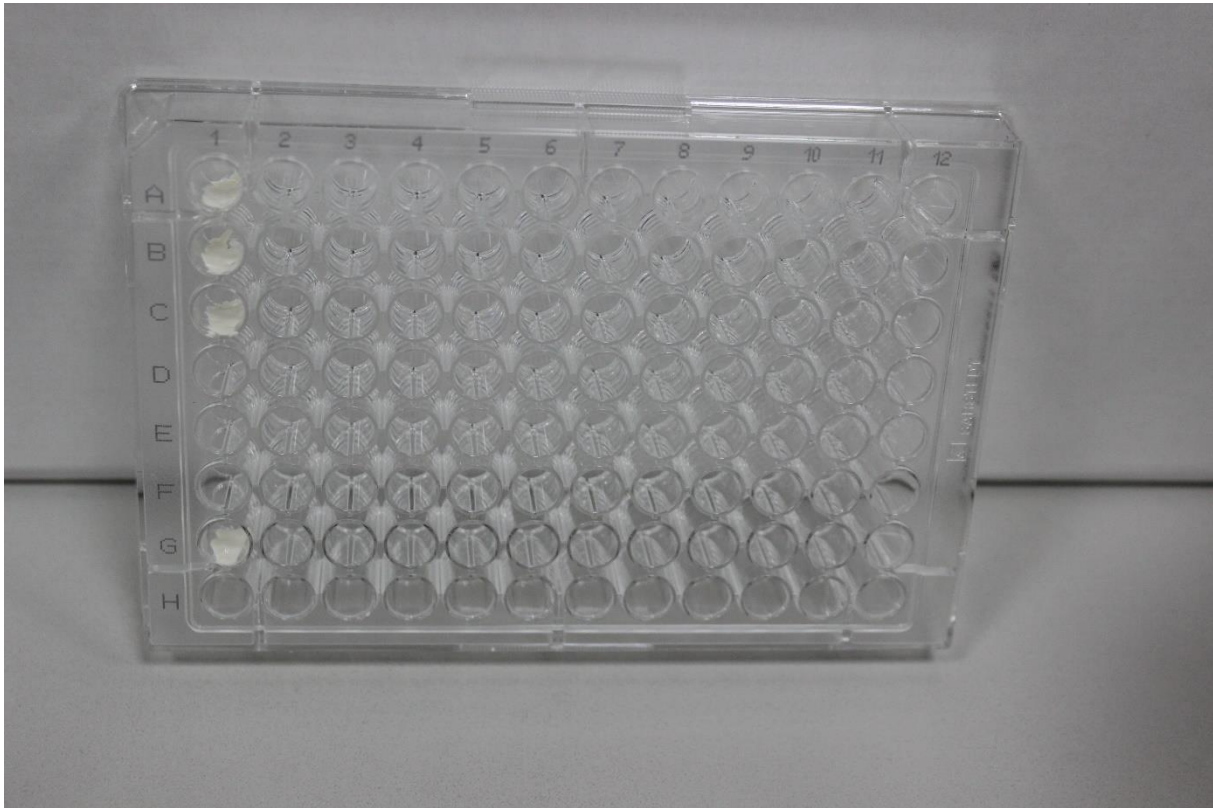
#### **3.2.2. Mikrobiološki postupci ispitivanja antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala**

##### **3.2.2.1. Priprema bakterijske suspenzije**

Za testiranje antibakterijskog učinka punila korišten je *E. faecalis* (ATCC 29212). Bakterije su uzgojene preko noći u triptaza soja bujonu (*eng.* Tryptic Soy Broth, TSB) (TSB; Becton, Spark, MD) na 37°C te sutradan pripremljene u sterilnoj fiziološkoj otopini. Optička gustoća podešena je na  $3 \times 10^8$  CFU/ml pomoću spektrofotometra (PrimLight SECOMAM, Francuska) na 405nm.

##### **3.2.2.2. Testiranje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala**

Modificirani test izravnog kontakta (mDCT) napravljen je u mikrotitarskim pločicama s 96 polja (Sarstedt Inc, Newton, NC). Mikrotitarske ploče su postavljene vertikalno i fiksna površina bočnog zida svake jažice je prekrivena jednakom količinom svakog punila pomoću

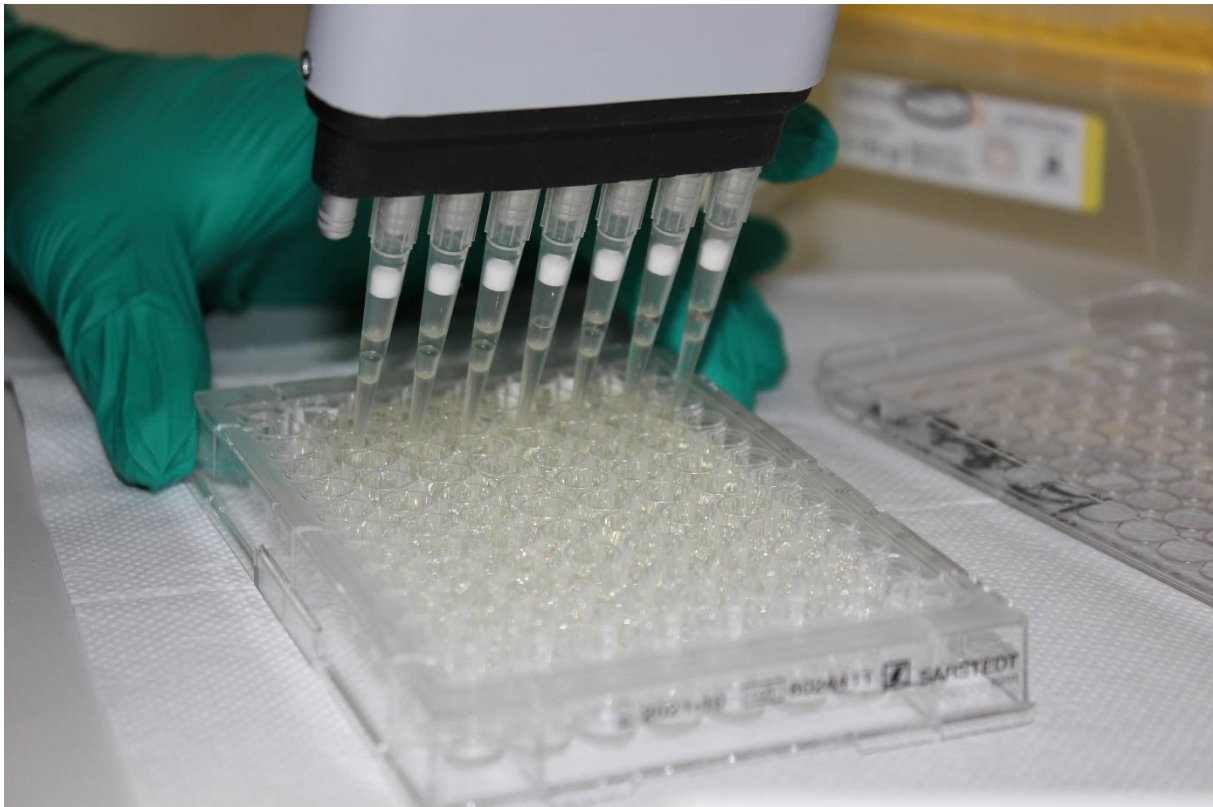


**Slika 4.** Biokeramički materijali za punjenje postavljeni u jažice mikrotitarske pločice s bakterijskom suspenzijom iznad materijala

Pločice s materijalima namijenjenima strdnjavanju jedan ili tri dana su inkubirane na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti prije postavljanja bakterijske suspenzije. Količina 10  $\mu$ l bakterijske suspenzije je postavljena na površinu svakog punila. Za kontrolnu grupu korištene su jažice kod kojih je bakterijska suspenzija postavljena na bočnu površinu, ali bez prethodno postavljenog punila. Ispitivana je antimikrobna učinkovitost svježe pripremljenih materijala, materijala koji su stvrdnjavali jedan dan i materijala koji su stvrdnjavali tri dana. Mikrotitarske pločice inkubirane su 2, 5, 20 i 60 minuta na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti.

### 3.2.2.3. Postupak razrjeđivanja i brojanje bakterija nakon perioda inkubacije

Nakon inkubacije, 190  $\mu$ l TSB-a je dodano u svaku jažicu s postavljenim materijalom i bakterijskom suspenzijom (prva jažica) te je sadržaj pipetiran kroz jednu minutu. Iz prve jažice je zatim pipetirano 10  $\mu$ l suspenzije i prenešeno u drugu jažicu s 190 $\mu$ l TSB-a, te je postupak ponavljan 12 puta (Slika 5).



**Slika 5.** Serijsko razrjeđivanje bakterijske suspenzije

Opisanim postupkom postignuto je razrjeđenje od 20 puta u svakoj jažici. Nakon postupka razrjeđenja, 20  $\mu$ l sadržaja iz svakog razrjeđenja nasadeno je na Mitis Salivarius

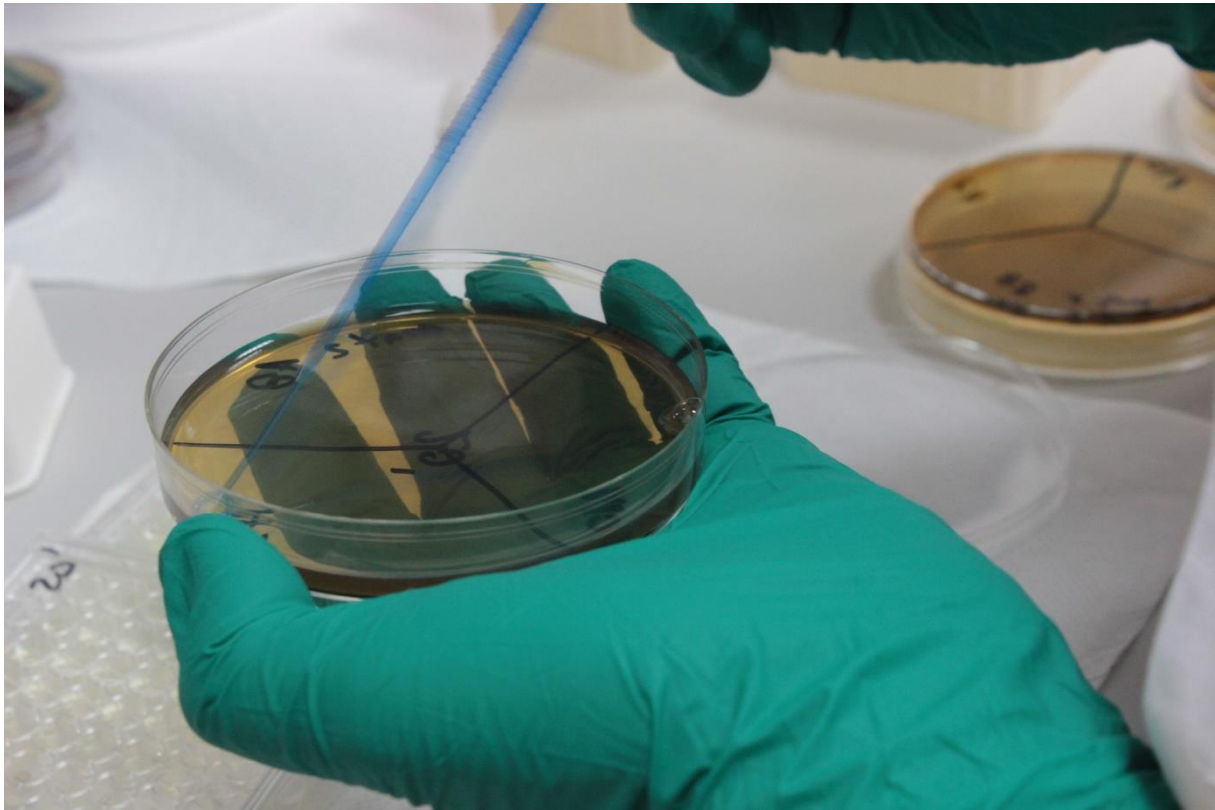


agar

ploče

(Slika

6).



**Slika 6.** Nasađivanje bakterijske suspenzije na Mitis salivarius agar

Nakon inkubacije 24h na 37°C, prebrojane su jedinice koje formiraju kolonije (CFUs) i broj kolonija po mililitru (CFU/ ml) određen je uključujući stupanj razrijeđenja. Svi pokusi su napravljeni u triplikatu.

### **3.2.3. Statistička analiza**

Normalnost distribucije ispitana je Kolmogorov- Smirnovljevim testom. Budući da je distribucija podataka bila pravilna, rezultati ispitivanja antimikrobnog djelovanja materijala, izraženi kao srednje vrijednosti, su analizirani jednosmjernom analizom varijance (ANOVA). Razina značajnosti postavljena je na 95%. Statistička analiza napravljena je statističkim softverom SPSS v. 11.0 (SPSS for Windows; SPSS Inc, Chicago, IL, SAD) i Microsoft Office Excelom 2016 (Microsoft Corp., Redmond, WA, SAD).

### **3.3. *In vitro* istraživanje antibakterijskog djelovanja biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na biofilmovima *E. faecalis* uzgojenim na filter papirima**

Istraživanje je napravljeno na Kliničkom zavodu za kliničku i molekularnu mikrobiologiju KBC-a Zagreb.

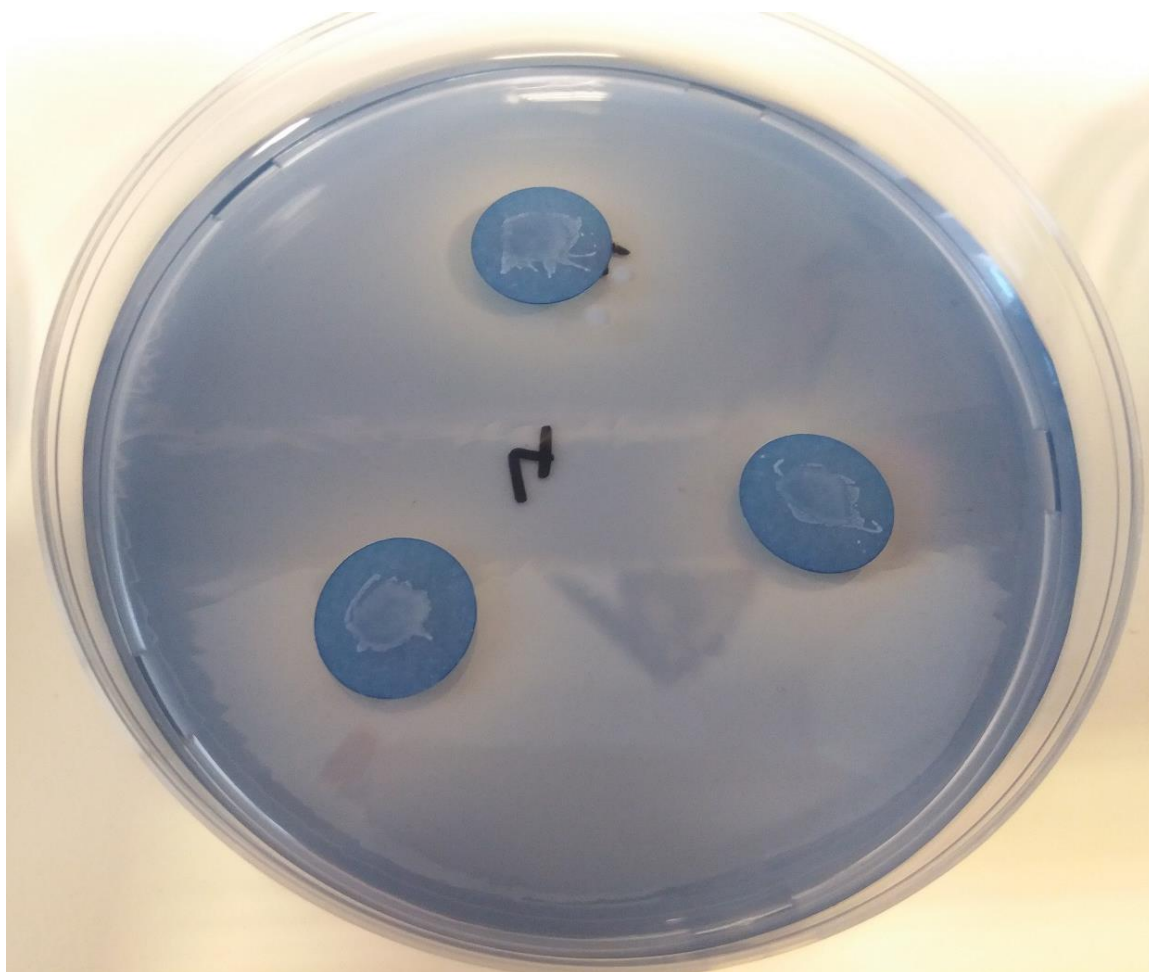
#### **3.3.1. Kreiranje biofilma *E. faecalis***

U ovom istraživanju korišten je divlji soj *E. faecalis*, izoliran iz korijenskog kanala prvog donjeg molara sa simptomatskim kroničnim apikalnim parodontitisom. Za korištenje *E. faecalis* iz korijenskog kanala zuba pacijenta s kroničnim periapikalnim parodontitisom dobivena je suglasnost etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb (Klasa: 8.1-16/118-2, broj: 02/21 AG). Izolat je testiran prema EUCAST-u te je osjetljiv je na ampicilin, gentamicin (VD), vankomicin, teikoplanin, linezolid, i ciprofloksacin. Metoda testiranja je disk difuzija (po EUCAST-u). Bakterija je uzgojena u moždano srčanom bujonu (*eng.* brain heart infusion, BHI) na temperaturi 4° C. Par kolonija je izolirano i uzgojeno u TSB-u preko noći na 37°C. Gustoća bakterijske suspenzije podešena je na 1.0 McFarland pomoću denzitometra (Densimat, Bio Mérieux, Marcy l'Etoile, Francuska).

#### **3.3.2. Kolonizacija i uzgoj bakterija za ispitivanje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala**

Protokol s filter papirnatim diskovima ,opisan u istraživanju Barros i suradnika (157), je korišten za ispitivanje antibakterijske učinkovitosti biokeramičkih punila i punila temeljenog na umjetnoj smoli. Količina 10 µL suspenzije *E. faecalis* postavljena je na 81 filter papirnatu disk (Whatman GmbH, Dassel, Njemačka), koji su položeni na Mitis

Salivarius agar ploče (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka) (Slika 7).



**Slika 7.** Bakterijska suspenzija na filter papirnatim diskovima

Papirnatih diskova s bakterijama inkubirani su 48h na 37°C i u uvjetima 100% vlažnosti. Nasumično odabrani diskovi pripremljeni su za promatranje pod SEM-om kako bi se potvrdila prisutnost biofilмова.

### **3.3.3. Priprema uzoraka za analizu preglednim elektronskim mikroskopom**

Papirnati diskovi su fiksirani u 2,5% glutaraldehidu (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka) tijekom 24h te dehidrirani u rastućim koncentracijama otopine etanola (60%, 70%, 80% i 96%), 30 minuta u svakoj koncentraciji. Nakon 24h sušenja na zraku, uzorci su napareni zlatom i promatrani pod SEM-om (Tescan Vega TS5136LS, Tescan, Brno, Republika Češka).

### **3.3.4. Ispitivanje antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala**

Filter papirnati diskovi s biofilmovima podijeljeni su u četiri eksperimentalne skupine (n=17/ skupini) ovisno o ispitivanom punilu te u pozitivnu kontrolnu skupinu (n=10):

Skupina 1. TotalFill Bioceramic Sealer (Brasseler SAD, Savannah, GA, SAD)

Skupina 2. BioRoot Root Canal Sealer (Septodont, Saint- Maur- des- Fosses, Francuska)

Skupina 3. MTA Fillapex (Angelus, Lomdrina, PR, Brazil)

Skupina 4. Punilo temeljeno na epoksi smoli, AH Plus (Dentsply, Konstanz, Njemačka)

Testirani materijali su pripremljeni prema uputama proizvođača. Otprilike 40  $\mu$ L svakog svježe pripremljenog materijala, izmjereno pomoću žličastog ekskavatora (Premium instruments, New York, SAD) jednakog volumena, je postavljeno na kontaminiranu površinu filter papirnato disk. Punilo je, preko površine filter papirnato disk, razmazano mikrobiološkom ezom (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD).

Za pozitivnu kontrolnu skupinu (n=10) korišteni su filter papirnati diskovi s biofilmovima koji nisu bili prekriveni punilima. Za negativnu kontrolnu skupinu korišteni su sterilni diskovi prekriveni eksperimentalnim punilima (n= dva uzorka za svako punilo).

### **3.3.5. Mikrobiološka analiza antibakterijske učinkovitosti materijala za punjenje korijenskih kanala**

Nakon 60 minuta kontakta, punila su pažljivo uklonjena sa svakog diska sterilnom Heidelbergovom špatulom (Hu-Friedy Mfg. Co., Frankfurt am Main, Njemačka). Manji ostatci punila ostali su na nekoliko diskova. Svaki disk je stavljen u sterilnu epruvetu koja je sadržavala 1ml fosfatom puferirane fiziološke otopine i lagano protrešeno kroz 5 sekundi (Vortex mixer X-HD, Sinosource, Guandong, Kina) kako bi se uklonile neadherirane bakterijske stanice. Zatim su diskovi prebačeni u drugu sterilnu epruvetu koja je sadržavala 1 mL fosfatom puferirane fiziološke otopine i vorteksirani kroz 30 s te je 10  $\mu$ L sadržaja preneseno je u prvu jažicu mikrotitracijske pločice unutar koje je bilo 90  $\mu$ L TSB-a. Opisanim postupkom u prvoj jažici mikrotitracijske pločice dobilo se razrjeđenje od 1:10. Potom je

pomoću Eppendorf pipete preneseno 10 µL sadržaja iz prve jažice mikrotitracijske pločice u drugu, istog volumena i s istom količinom bujona, te se postiglo razrjeđenje od 1:100. Ponavljanjem istog postupka uzorci su serijski razrjeđivani do razrjeđenja 1:10<sup>8</sup>. Nakon 8-puta serijskog razrjeđenja, 10 µL suspenzije iz svakog razrjeđenja je uzgojeno na Mitis-Salivarius agar pločama (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Njemačka) i inkubirano 24h na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti. Nakon inkubacije izbrojan je broj jedinica koje formiraju kolonije (CFUs) i izračunat konačan broj kolonija na temelju faktora razrjeđenja.

### **3.3.6. Statistička analiza**

Normalnost distribucije ispitana je Kolmogorov- Smirnovljevim testom. Budući da raspodjela podataka nije bila pravilna, dobiveni podatci, izraženi kao srednje vrijednosti, su analizirani Mann- Whitney U testom. Sve p- vrijednosti niže od 0.05 su razmatrane kao statistički značajne. Program IBM SPSS Statistics version 23.0 ([www.spss.com](http://www.spss.com)) je korišten.

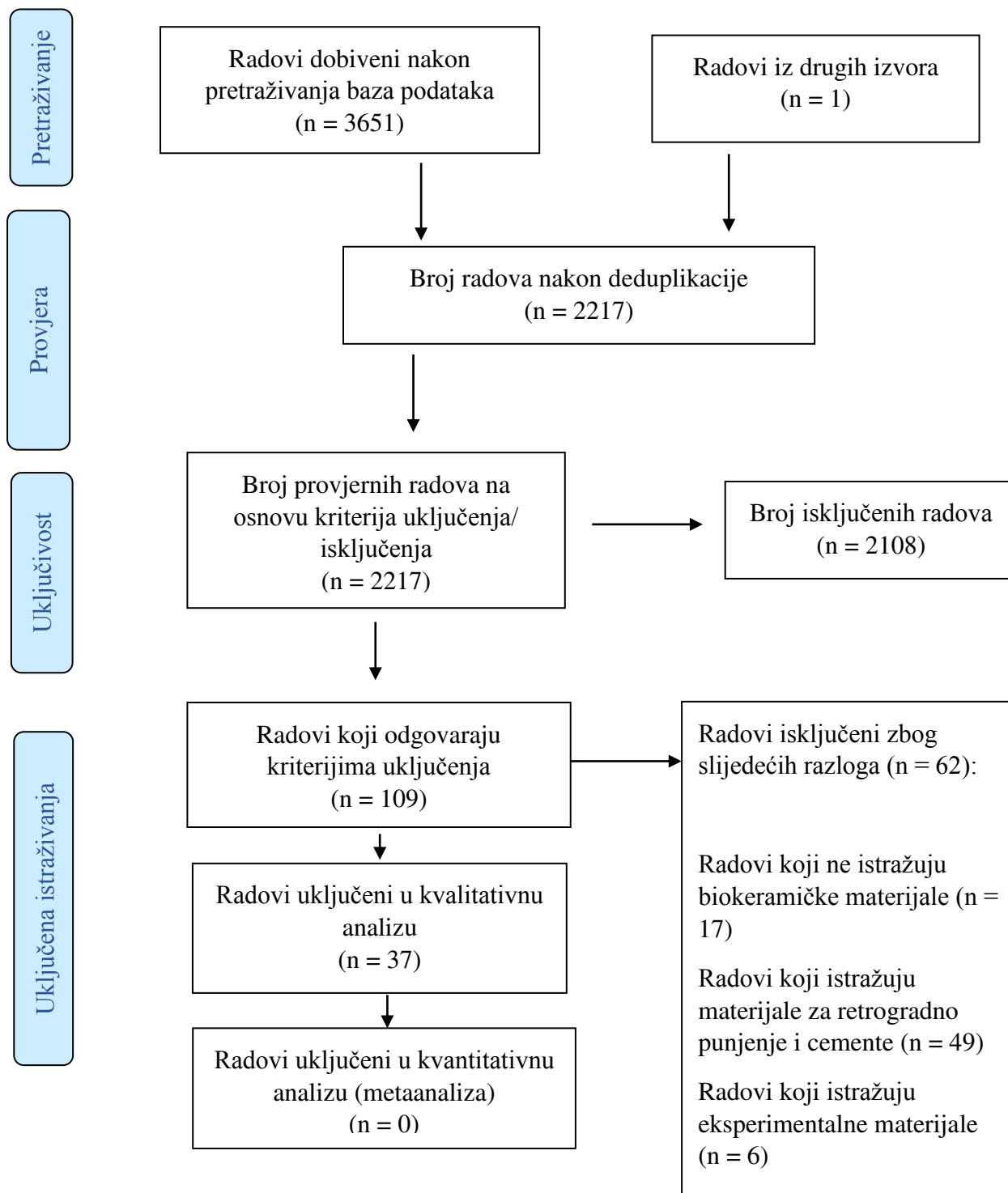
## **4. REZULTATI**

### **4.1. Rezultati sustavnog pregleda literature o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala**

Strategijom pretraživanja dobiven je ukupno 3651 bibliografski zapis, dok je iz drugih izvora dobiven jedan zapis. Nakon uklanjanja duplikata, preostala su 2217 zapisa. Daljnjim probirom isključeno je 2108 zapisa koji nisu odgovarali kriterijima uključenja. Preostalih 109 radova pregledano je u punoj verziji teksta kako bi se procijenili kriteriji uključenja te su isključena 62 rada. Razlozi isključenja navedeni su u odjeljku 5.1.2. Završni broj radova uključen u sustavni pregled literature je 37 radova (Slika 8). Nije bilo moguće napraviti metaanalizu zbog heterogenosti podataka.



## PRISMA 2009 Flow Diagram



Slika 8. PRISMA dijagram



#### **4.1.1. Isključena istraživanja**

Isključena su 62 rada. Sedamnaest radova isključeno je jer nije proučavalo biokeramičke materijale, 49 radova jer su proučavali cementne materijale koji nisu namijenjeni za punjenje korijenskih kanala, te šest radova jer su proučavali eksperimentalne materijale. Jedan rad je isključen jer je koristio izvor mikroorganizama (subgingivni plak) koji se uobičajeno ne koristi u endodontskim istraživanjima te se nije znala starost mikroorganizama unutar plaka.

#### **4.1.2. Uključena istraživanja**

Uključeno je 37 radova (84, 148, 158-193). Karakteristike uključenih istraživanja prikazane su u Tablici 3. Svi uključeni radovi opisivali su su *in vitro* istraživanja, te su svi napisani na engleskom jeziku.

**Tablica 3.** Značajke istraživanja uključenih u sustavni pregled literature

Autor istraživanja i godina	Dizajn istraživanja	Evaluacijske metode	Starost korištenih mikroorganizama (planktonske stanice, mladi ili stari biofilm)	Testirani materijali	Vrijeme stvrdnjavanja materijala	Vrijeme kontakta materijala i mikroorganizama	Proučavani ishodi	Statistička analiza
Alsubait 2009	In vitro	Konfokalna mikroskopija (CLSM)	Stari biofilm (3 tjedna)	AH Plus (Dentsply), BioRoot RCS (Septodont), TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD)	Svježe pripremljeni materijali	1, 7 i 30 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	Omjer živih i odumrlih mikroorganizama	Shapiro–Wilk test, dvosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test
Arias- Moliz 2016	In vitro	Agar difuzijski test (ADT) i intratubularni test (konfokalna mikroskopija)	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	BioRoot RCS (Septodont), MTA Fillapex (Angelus), AH Plus (Dentsply)	<u>ADT</u> 24h na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti <u>CLSM</u> Svježe pripremljeni materijali	<u>ADT</u> 24h na 37°C <u>CLSM</u> 7 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	<u>ADT</u> Veličina zone inhibicije <u>CLSM</u> Omjer živih i odumrlih mikroorganizama	ANOVA, Duncan post hoc test
Brezic 2017	In vitro	ADT i test izravnog dodira (DCT)	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	MTA, Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD), AH Plus (Dentsply) i Endo N2 (Hagerwerken)	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u> Nije jasno opisano	<u>ADT</u> 24h <u>DCT</u> 1, 6, 20 and 24h	<u>ADT</u> Veličina zone inhibicije <u>DCT</u> Broj bakterija (CFUs)	Nije navedeno
Bukhari 2019	In vitro	CLSM	Stari biofilm (8 tjedana)	Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) i AH Plus (Dentsply)	Svježe pripremljeni materijali	24h ili 2 tjedna	Omjer živih i odumrlih mikroorganizama	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), t test
Candeiro 2015	In vitro	ADT i DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	Endosequence BC sealer (Brasseler SAD) i AH Plus (Dentsply)	Svježe pripremljeni materijali	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi, zatim 48h na 37°C u aerobnim uvjetima <u>DCT</u> 7 dana na 37°C nakon čega su CFU/ml prebrojane nakon 1, 24, 72 i 168h	<u>ADT</u> Veličina zone inhibicije <u>DCT</u> Broj bakterija (CFUs)	ANOVA, Tukey's post hoc test
Colombo 2018	In vitro	ADT i DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	BioRoot RCS (Septodont), TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD), MTA Fillapex (Angelus), Sealapex (Kerr), AH Plus	<u>ADT</u> Nije jasno navedeno <u>DCT</u> 7 dana na 37°C u uvjetima 100%	<u>ADT</u> 48h <u>DCT</u> 6, 15 i 60 minuta te poslije 24h na 37°C	<u>ADT</u> Veličina zone inhibicije <u>DCT</u> Broj bakterija (CFUs)	Mann-Whitney U-test, t- test, Tukey's post hoc test

				(Dentsply), Easyseal (Komet)	vlažnosti			
Dalmia 2018	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus (Dentsply), Tubliseal (Sybron Endo), Sealapex (Sybron Endo), MTA Fillapex (Angelus)	Svježe pripremljeni materijali	72h na 37°C u anaerobnim uvjetima	Veličina zone inhibicije	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), t test
del Carpio-Perochena 2015	In vitro	DCT i membranom ograničeni test (MRT); CLSM	<u>DCT i MRT</u> 10 minuta (planktonske stanice) <u>CLSM</u> 7 dana (mladi biofilm)	ThermaSeal (Dentsply) i MTA Fillapex (Angelus)	<u>DCT i MRT</u> 7 dana na 37°C <u>CLSM</u> Svježe pripremljeni materijali	<u>DCT i MRT</u> 30 minuta na 37°C <u>CLSM</u> 7 dana na 37°C	<u>DCT i MRT</u> Broj bakterija (CFUs) <u>CLSM</u> Ukupni biovolumen i biovolumen živućih stanica u $\mu\text{m}^3$	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test, Kruskal-Wallis i Dunn test
Du 2015	In vitro	CLSM	Stari biofilm (3 tjedna)	AH Plus (Dentsply), Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) i MTA Fillapex (Angelus)	Svježe pripremljeni materijali	7, 30, i 60 dana na 37° C u uvjetima 100% vlažnosti	Omjer živih i odumrlih mikroorganizama	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), post hoc test
Faria- Junior 2013	In vitro	DCT	Stari biofilm (14 dana)	AH Plus (Dentsply), Sealer 26 (Dentsply), Epiphany SE (Penctron Clinical Technologies), Sealapex (Kerr), Activ GP (Brasseler SAD), MTA Fillapex (Angelus) i eksperimentalno punilo temeljeno na MTA-u (MTA-S)	2 ili 7 dana	5, 10 ili 15h	Broj bakterija (CFUs)	Kruskal– Wallis i Dunn tests
Gholamhoseini 2018	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	Endoseal-MTA (Maruchi Products), MTA Fillapex (Angelus) and Sure-endo (Sure-endo)	Svježe pripremljeni materijali	Nije jasno navedeno	Veličina zone inhibicije	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test
Gurel 2016	In vitro	ADT	Suspenzija mikroorganizama (planktonske stanice)	Smartpaste Bio, (Smart Seal DRFP Ltd.) MTA Fillapex (Angelus), AH Plus (Dentsply)	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi zatim 24, 48 i 72h na 37° C	Veličina zone inhibicije	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Duncan test
Hasheminia 2016	In vitro	ADT i DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	RoekoSeal (Coltene), AH26 (Dentsply), Tg- sealer (Technical and General Ltd.), Endomethasone	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u>	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi zatim 48h na 37° C <u>DCT</u>	<u>ADT</u> Veličina zone inhibicije <u>DCT</u> Broj bakterija	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test

				(Septodont) i MTA Fillapex (Angelus)	7 dana na 37° C	6,15 i 60 minuta	(CFU)	
Jafari 2016	In vitro	Test dodira (direktna i indirektna metoda)	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH 26 (Dentsply) i MTA Fillapex (Angelus)	Nije jasno navedeno	Nije jasno navedeno	Razlike u bakterijskom rastu	ANOVA, Bonferroni test
Jafari 2016	In vitro	Test dodira (direktna i indirektna metoda)	Kvasna suspenzija (planktonske stanice)	AH 26 (Dentsply) i MTA Fillapex (Angelus)	Nije jasno navedeno	Nije jasno navedeno	Razlike u rastu kvasaca	ANOVA, Tukey's post hoc test
Kapralos 2017	In vitro	Modificirani test izravnog dodira (mDCT), DCT i MRT	MDCT Bakterijska suspenzija (planktonske stanice) DCT i MRT Mladi biofilmovi (24h)	AH Plus (Dentsply), RoekoSeal (Coltene) and Guttaflow 2 (Coltene) and TotalFill BC sealer (Brasseler SAD)	MDCT Svježe pripremljeni materijali (nakon 20 minuta za AH Plus te	MDCT 1h na 37°C; DCT and MRT 24 h	Broj bakterija (CFUs)	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test
Madani 2014	In vitro	DCT	Bakterijska ili kvasna suspenzija (planktonske stanice)	MTA Fillapex (Angelus) i AH 26 (Dentsply)	Nije jasno navedeno	1h za isparavanje bakterijske suspenzije, zatim 3, 6 i 24h na 37° C	Broj bakterija ili kvasaca (CFUs)	ANOVA, Tukey's post hoc test, t test
Mohammadi 2012	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH-26 (Dentsply) , bijeli MTA (WMTA) (Dentsply) i CPM sealer (EGEO SRL)	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi zatim inkubacija 24h ili 7 dana na 37° C	Veličina zone inhibicije	ANOVA, Tukey's post hoc test
Morgental 2011	In vitro	ADT i DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	WMTA (Dentsply), CPM Sealer (EGEO SRL), MTA Fillapex (Angelus) i Endofill (Dentsply)	ADT Svježe pripremljeni materijali DCT 7 dana	ADT 2h na sobnoj temperaturi zatim 48h na 37° C u anaerobnim uvjetima DCT 1.6,15 i 60 minuta	ADT Veličina zone inhibicije DCT Broj bakterija (CFUs)	Kruskal–Wallis i Dunn test, Friedman test
Nejadshamsi 2017	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH 26 (Dentsply), AH Plus (Dentsply) i MTA Fillapex (Angelus)	Svježe pripremljeni materijali	72h na 37° C	Veličina zone inhibicije	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test
Nezhadshamsi 2014	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH 26 (Dentsply), AH Plus (Dentsply) i MTA Fillapex (Angelus)	Svježe pripremljeni materijali	24, 48 i 72h	Veličina zone inhibicije	ANOVA, Tukey's post hoc test
Nirupama 2014	In vitro	DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus (Dentsply), Tubliseal EWT (Sybron Endo), EndoRez, (Ultradent) iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.)	Svježe pripremljeni materijali (20 minuta)	1h te je zatim rast mikroorganizama mjeren svakih 30 minuta unutar 18h	Rast mikroorganizama	Deskriptivna analiza, analiza kovarijance (ANCOVA), Bonferroni test
Omidi 2018	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH 26 (Dentsply), AH Plus (Dentsply) i MTA Fillapex	Svježe pripremljeni materijali	24h na 37° C	Veličina zone inhibicije	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Fisher

Ozcan 2013	In vitro	DCT	Kvasna suspenzija (planktonske stanice)	(Angelus) GuttaFlow (Coltene), iRoot SP (Innovative Bioceamix Inc.) i MTA Fillapex (Angelus)	20 minuta, 1 dan i 7 dana	1h	Broj kvasaca (CFUs)	Individual ANOVA, Tukey's post hoc test
Poggio 2017	In vitro	ADT, DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	BioRoot™RCS (Septodont), TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD), MTA Fillapex (Angelus), Sealapex (Kerr), AH Plus (Dentsply), EasySeal (Komet), Pulp Canal Sealer™ (Kerr), N2 (GHIMAS S. p. A.)	ADT Nije jasno navedeno DCT 7 dana	ADT 2h na sobnoj temperaturi zatim 48h na 37° C DCT 6, 15 i 60 minuta	ADT Veličina zone inhibicije DCT Broj bakterija (CFUs)	Student t test
Prathita 2019	In vitro	DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	MTA Fillapex (Angelus) i Apexit Plus (Ivoclar Vivadent)	1 i 7 dana	1h na 37° C u uvjetima 100% vlažnosti	Broj bakterija (CFUs)	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), post hoc test
Shakya 2016	In vitro	ADT i DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus, (Dentsply) MTA Fillapex, (Angelus) CRCS (Coltene) and Gutta Flow 2 (Coltene)	Svježe pripremljeni materijali	ADT 7 dana DCT 1h i 24h	ADT Veličina zone inhibicije DCT Broj bakterija (CFUs)	ANOVA, Tukey's post hoc test
Shin 2018	In vitro	DCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus (Dentsply), Sealapex (Kerr), TubliSeal Sealer (Kerr), Endosequence BC Sealer (Brasseler USA), EndoSeal Sealer (MARUCHI)	Svježe pripremljeni materijali i 24h nakon stvrdnjavanja	24h na 37° C	Broj bakterija (CFUs)	Kruskal-Wallis i Mann-Whitney test
Singh 2016	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	EndoSequence BC sealer, (Brasseler SAD) MM seal (Micro mega), Endoseal (Prevest DenPro) ,MM- MTA (Micro mega), ProRoot WMTA (Dentsply)	Svježe pripremljeni materijali	24h	Veličina zone inhibicije	Nije navedeno
Singh 2016	In vitro	ADT	Suspenzija mikroorganizama (planktonske stanice)	Endosequence BC sealer (Brasseler SAD), MM seal (Micro mega) i Zical (Prevest DenPro)	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi i zatim 24h na 37° C	Veličina zone inhibicije	Chi- kvadrat test, Pearsonova korelacija
Tanomaru 2008	In vitro	ADT	Bakterijska suspenzija	Sealapex (Sybron)	Svježe	2h na sobnoj	Veličina zone	Nije navedeno

			(planktonske stanice)	Endo), Acroseal (Septodont) , Sealer 26 (Dentsply), CPM Sealer (EGEO SRL), MTA Branco Angelus), Intrafill (SSWhite)	pripremljeni materijali	temperaturi i zatim 24h na 37° C	inhibicije	
Thanish 2017	In vitro	Tehnika difuzije kroz disk	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	Zinc oxide eugenol , Endomethasone (Septodont), MTA Fillapex (Angelus)	Nije jasno navedeno	Preko noći na 37° C	Veličina zone inhibicije	Nije navedeno
Wang 2014	In vitro	CLSM	Stari biofilm (3 tjedna)	Endosequence BC sealer (Brasseler SAD), AH Plus (Dentsply), Pulp canal sealer EWT (Sybron Endo)	Svježe pripremljeni materijali	1, 7 i 30 dana na 37° C u uvjetima 100% vlažnosti	Omjer živih i odumrlih bakterija	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), post hoc test
Weckwerth 2014	In vitro	ADT	Kvasna suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus (Dentsply), Fillapex (Angelus), Sealapex (Sybron Endo), Sealer 26 (Dentsply) i EndoFill (Dentsply)	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi i zatim 24h na 37°	Veličina zone inhibicije	Kruskal-Wallis i Dunn test
Willenhausen 2011	In vitro	SEM	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	GuttaFlow (Coltene), Endosequence BC sealer (Brasseler SAD) i Pulp canal sealer EWT (Sybron Endo)	24h	24h za <i>E. faecalis</i> and 48h za <i>Parvimonas micra</i>	Kvantitativna analiza (nije jasno navedeno)	Mann-Whitney test
Zhang 2009	In vitro	MDCT	Bakterijska suspenzija (planktonske stanice)	AH Plus (Dentsply), Epiphany Se (Penctron Clinical Tehologies LLC), EndoRez (Ultradent), Apexit plus, (Ivoclar Ivadent) Sealapex (Sybron Endo), iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) i Tubli Seal EWT (Sybron Endo)	20 minuta, 1, 3 i 7 dana	2, 5, 20 i 60 minuta na 37° C u uvjetima 100% vlažnosti	Broj bakterija (CFUs)	Jednosmjerna analiza varijance (ANOVA), Tukey's post hoc test
Zordan- Bronzel 2019	In vitro	DCT i MDCT	<u>DCT</u> Bakterijska i kvasna suspenzija (planktonske stanice) <u>MDCT</u> Stari biofilm (2 tjedna)	AH Plus (Dentsply), TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) i eksperimentalno punilo	<u>DCT</u> 24h <u>MDCT</u> Nije jasno navedeno	<u>DCT</u> 1h i 30 minuta <u>MDCT</u> 15h	Broj mikroorganizama (CFUs)	Kruskal-Wallis i Dunn test

Materijali za punjenje korijenskih kanala koji su bili istraživani u uključenim istraživanjima su: 1. MTA Fillapex (Angelus, Londina, PR, Brazil)  
2. Endosequence BC Sealer, (Brasseler SAD, Savannah, GA, SAD)  
3. TotalFill BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA, SAD)  
4. iRoot SP (Innovative BioCeramix Inc., Vancouver, Kanada)  
5. Bioroot RCS (Septodont, Saint- Maur- des- Fosses, Francuska)  
6. CPM Sealer (EGEO, Buenos Aires, Argentina)  
7. Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd, Stamford, Engleska).

Tri istraživanja (84, 158, 159) su proučavala kombinirani antimikrobni učinak irigansa i materijala za punjenje korijenskih kanala. Većina istraživača su koristili planktonske stanice (84, 148, 158, 160, 163-177, 179, 180, 184- 191), dok je dio koristio mlade (84, 158, 159) ili stare biofilme (159, 161, 178, 181, 192). Jedno istraživanje (180) donijelo je jedino kvalitativne rezultate, te zbog toga podatci o antimikrobnom djelovanju nisu mogli biti precizno prikazani. Odgovorni autori istraživanja u kojima su nedostajali određeni podatci (148, 158, 167, 170, 171, 179, 180, 185- 187, 191) su kontaktirani e- mailom, međutim većina ih nije odgovorila nakon drugog poslanog maila. Samo jedan autor (170) je odgovorio da se slanje podataka o istraživanju protivi politici objavljivanja podataka. Jedna e- mail poruka vratila se kao nedostavljena (180).

#### **4.1.3. Rezultati istraživanja antimikrobne učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala**

##### **4.1.3.1. MTA Fillapex**

Većina uključenih istraživanja ispitivala je antimikrobni učinak MTA Fillapexa. Devetnaest istraživačkih skupina koristilo je planktonske stanice (84, 162-165, 167, 169, 171-173, 177, 179, 185- 190, 193) dok su četiri skupine koristile mlade (84, 158) ili stare biofilme (159, 161).

Najčešće korišteni test je bio agar difuzijski test (ADT) (84, 162, 171, 177, 179, 185-189, 193). Devet istraživanja opisalo je korištenje DCT-a (158, 161, 163, 167, 169, 172, 173, 185, 190) kod kojeg su se brojale jedinice koje formiraju kolonije (CFUs). Dva istraživanja (164, 165) opisala su DCT kod kojeg su koristili očitavanja optičke gustoće (*eng.* optical density, OD). Jedno istraživanje (159) opisalo je korištenje CLSM-a u istraživanju antimikrobnog učinka. Devetnaest istraživanja (84, 158, 159, 161- 164, 167, 169, 172, 173,

177, 185- 190, 193) istraživalo je antibakterijski učinak MTA Fillapexa. Rezultati istraživanja su prikazani u Tablici 4.



**Tablica 4.** Antibakterijski učinak MTA Fillapexa (Angelus)

Autor istraživanja i godina	Bakterija korištena u istraživanju	Evaluacijske metode	Vrijeme stvrdnjavanja materijala	Vrijeme kontakta materijala i mikroorganizama	Rezultati
Arias- Moliz, 2016.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT, CLSM	<u>ADT</u> 24h na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti <u>CLSM</u> Svježe pripremljeni materijali	<u>ADT</u> 24h <u>CLSM</u> 7 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	<u>ADT</u> MTA Fillapex (Angelus) nije pokazao antibakterijsku učinkovitost kada je izložen vodi ili fosfatom puferiranoj fiziološkoj otopini. U kombinaciji s EDTA-om, MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najnižu učinkovitost u odnosu na BioRoot RCS (Septodont) i AH Plus (Dentsply). <u>CLSM</u> BioRoot RCS (Septodont) je pokazao najbolju antimikrobnu učinkovitost u kombinaciji sa svim protokolima ispiranja, a slijedi ga MTA Fillapex.
Columbo, 2018	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT; DCT	<u>ADT</u> Nije jasno navedeno <u>DCT</u> 7 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	<u>ADT</u> 48h <u>DCT</u> 6, 15 i 60 minuta, zatim 24h na 37°C	<u>ADT</u> MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najlošiju antibakterijsku učinkovitost u usporedbi s EasySealom (Komet), AH Plusom (Dentsply). MTA Fillapex (Angelus), BioRoot RCS (Septodont) i Sealapex (Kerr) su imali sličnu antibakterijsku učinkovitost. TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) nije pokazao učinkovitost. <u>DCT</u> Totalfill BC Sealer (Brasseler SAD) i EasySeal (Komet) su postigli potpuno uklanjanje bakterija u svim vremenima kontakta. BioRoot RCS (Septodont) i MTA Fillapex (Angelus) su pokazali manje vrijednosti CFUs nakon 6 minuta kontakta, međutim nakon 15 i 60 minuta taj je učinak bio bolji kod BioRoot RCS-a. (Septodont)
Dalmia., 2018	<i>E. faecalis</i> (MTCC2093)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	72h na 37°C u anaerobnim uvjetima	MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najnižu antibakterijsku učinkovitost u odnosu na AH Plus (Dentsply), Tubliseal (Kerr) i Sealapex (Sybron Endo). Također je pokazao smanjenje veličine zone inhibicije tijekom vremena (najveća nakon 24h, a najmanja nakon 72h).
del Crapio- Perochena, 2015	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	DCT i MRT, CLSM	<u>DCT i MRT</u> 7 dana <u>CLSM</u> Svježe pripremljeni materijali	<u>DCT i MRT</u> 30 minuta na 37°C <u>CLSM</u> 7 dana na 37°C	<u>DCT i MRT</u> MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najveću antimikrobnu učinkovitost u odnosu na ThermaSeal (Dentsply) učinkovitost neovisno o dodatku Chitosan nanočestica ( $p > 0.05$ ). Postavljanje filter membrane između bakterija i punila smanjilo je učinkovitost punila ( $p < 0.05$ ). <u>CLSM</u> MTA Fillapex (Angelus) i ThermaSeal (Dentsply) se nisu razlikovali u učinku nakon 7 dana ( $p > 0.05$ ).
Du, 2015.	<i>E. faecalis</i> (VP3- 181)	CLSM	Svježe pripremljeni materijali	7, 30 i 60 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	Najviše bakterija eliminirano je kada je korištena kombinacija NaOCl-a i punila (nakon 30 i 60 dana) ( $p < 0.05$ ). Kombinacija NaOCl-a i MTA Fillapexa (Angelus) rezultirala je najvećom antibakterijskom učinkovitošću (83% eliminiranih bakterija). Nije bilo statistički značajne razlike između punila s ili bez NaOCl-a nakon 7 dana ( $p >$

Faria- Junior , 2013	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	DCT	2 ili 7 dana	5, 10 ili 15h	0.05). <u>Rezultati nakon 2 dana stvrđavanja</u> U usporedbi s drugim materijalima i kontrolnom skupinom, MTA Fillapex (Angelus) je eliminirao više bakterija (p < 0.05). Bolju učinkovitost imao je nakon 15h kontakta u odnosu na 5h kontakta (p < 0.05). <u>Rezultati nakon 7 dana stvrđavanja</u> Nije postojala razlika među skupinama nakon 5h kontakta (p < 0.05). U ostalim vremenima kontakta, također nije postojala razlika u djelovanju.
Gholamhoseini, Alizadeh i Bolbolian, 2018	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) and <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	Nije jasno navedeno	Jedino je MTA Fillapex (Angelus) pokazao antibakterijsku učinkovitost protiv <i>E. faecalis</i> . MTA Fillapex (Angelus) i Sure-endo (Sure- endo) su imali podjednaku učinkovitost protiv <i>Staphylococcus aureus</i> .
Gürel, 2016.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) i <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi zatim 24, 48 ili 72h na 37°C	MTA Fillapex (Angelus) je pokazao lošiju antimikrobnu učinkovitost u odnosu na Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd.) u svim vremenima kontakta i za sve bakterije (p < 0.05). AH Plus (Dentsply) je pokazao veće zone inhibicije u usporedbi s MTA Fillapexom (Angelus), osim za <i>Escherichia coli</i> nakon 72 h. Sva punila su pokazala najbolju učinkovitost nakon 24h. Učinkovitost je opadala nakon 48 i 72h.
Hashemina, 2017	<i>E. faecalis</i> (PTCC139)	ADT i DCT	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u> 7 dana na 37°C	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi zatim 48h na 37°C <u>DCT</u> 6, 15 i 60 minuta	<u>ADT</u> Nije postojala razlika u djelovanju MTA Fillapexa (Angelus) i RoekoSeala (Coltene) (p = 0.99). MTA Fillapex je pokazao najvišu antibakterijsku učinkovitost u usporedbi s drugim punilima u istim vremenima kontakta (p < 0.05).
Jafari., 2016	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356), <i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 39392), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) and <i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	Test dodira (izravni i neizravni)	Nije jasno navedeno	Nije jasno navedeno	<u>Izravni dodir</u> Oba punila (MTA Fillapex (Angelus) and AH 26 (Dentsply)) su pokazala značajan pad učinkovitosti za sve bakterijske vrste, osim MTA Fillapex (Angelus) na <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> and <i>E. faecalis</i> . MTA Fillapex (Angelus) je imao sličan učinak na <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> i <i>Lactobacillus casei</i> i najslabiji na <i>E. faecalis</i> . Zaključno, učinkovitost MTA Fillapexa (Angelus) je bila značajno manja nego punila AH 26 (Dentsply). <u>Neizravni dodir</u> MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najveću učinkovitost na <i>E. faecalis</i> i najslabiji na <i>Lactobacillus acidophilus</i> . Generalno su oba punila imala sličan učinak.
Madani., 2014	<i>E. faecalis</i> (PTCC 1394), <i>Escherichia coli</i> (DH5), <i>Streptococcus mutans</i> (PTCC 1683)	DCT	Nije jasno navedeno	1h dok ispari suspenzija mikroorganizama zatim 3, 6 i 24h na 37°C	MTA Fillapex (Angelus) je bio učinkovitiji u smanjenju broja kolonija <i>E. faecalis</i> i <i>Escherichia coli</i> nakon 3, 6 i 24 h i <i>Streptococcus mutans</i> kolonija nakon 24 h u usporedbi s AH 26 (Dentsply).
Morgental, 2011.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT i DCT	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u> 7 dana	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi i zatim 24h na 37° C u aneobnim uvjetima <u>DCT</u>	<u>ADT</u> MTA Fillapex (Dentsply) i Endofill (Dentsply) (pozitivna kontrola) su imali najveće zone inhibicije u usporedbi s drugim materijalima (p < 0.05). <u>DCT</u>

				1, 6, 15 i 60 minuta	Svi materijali su imali učinak sličan negativnoj kontroli u svim vremenima kontakta ( $p > 0.05$ ).
Nejashamsi, 2011.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	72h na 37° C	MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najslabiji antibakterijski učinak, koji je opadao tijekom vremena.
Nezhadshamsi, Forghan-Parast i Sahranavard, 2014.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	24, 48 i 72h	MTA Fillapex (Angelus) je pokazao značajno slabiji učinak u usporedbi s AH 26 (Dentsply) i AH Plus (Dentsply).
Omidi, 2018.	<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC (1394)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	24h na 37° C	MTA Fillapex (Angelus) je pokazao lagano slabiji učinak u odnosu na AH 26 (Dentsply), ali bolji nego AH Plus (Dentsply).
Poggio, 2017.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT i DCT	<u>ADT</u> Nije jasno navedeno <u>DCT</u> 7 dana	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi i zatim 24h na 37° C u aneobnim uvjetima <u>DCT</u> 6, 15 i 60 minuta	<u>ADT</u> MTA Fillapex (Angelus), BioRoot RCS (Septodont) i Sealapex (Kerr) su pokazali najniži učinak u odnosu na druge materijale. <u>DCT</u> MTA Fillapex (Angelus), BioRoot ECS (Septodont), Pulp Canal Sealer™ (Kerr) i N2 (GHIMAS S. p. A) su pokazali najmanji broj CFUs nakon 6 minuta kontakta. MTA Fillapex (Angelus) je pokazao značajan rast u baktericidnom učinku nakon 15 i 60 minuta ( $p < 0.05$ ).
Prathita, Djauharie i Meidyawati, 2019.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	DCT	1 i 7 dana	1h na 37° C u uvjetima 100% vlažnosti	Nakon jedan dan stvrdnjavanja, MTA Fillapex (Angelus) je pokazao bolju učinkovitost od Apexit Plusa (Ivoclar Vivadent). Nakon jedan i sedam dana, MTA Fillapex (Angelus) je imao bolju učinkovitost nego svježe pripremljeni materijali i nije bilo razlike između te dvije vremenske točke. Nakon 7 dana, MTA Fillapex (Angelus) je imao bolju učinkovitost nego Apexit Plus (Ivoclar Vivadent).
Shakya, 2016	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT i DCT	Svježe pripremljeni materijali	<u>ADT</u> 7 dana <u>DCT</u> 1 i 24h	<u>ADT</u> Zona inhibicije MTA Fillapexa (Angelus) je bila najmanja nakon 7 dana ( $p = 0.0001$ ). MTA Fillapex (Angelus) je imao najslabiju učinkovitost u usporedbi sa CRCS (Coltene) ( $p = 0.0001$ ) i bolju u odnosu na AH Plus (Dentsply) ( $p = 0.0001$ ) nakon 24h. Nakon 7 dana, antibakterijska učinkovitost svih punila se smanjila, međutim MTA Fillapex (Angelus) je još uvijek bio bolji od AH Plusa (Dentsply). <u>DCT</u> MTA Fillapex (Angelus) je imao najbolji učinak nakon 1h, a nakon 24h CRCS (Coltene) i MTA Fillapex (Angelus) su imali sličan učinak.
Thanish Ahamed i Geetha, 2017.	<i>E. faecalis</i>	ADT	Nije jasno navedeno	Preko noći na 37° C	Rezultati su prikazani bez standardne devijacije i p- vrijednosti. MTA Fillapex (Angelus) je pokazao sličan učinak kao Cink oksid eugenol, te je njihova učinkovitost bila manja nego Endomethasona (Septodont).

Protukvasni učinak MTA Fillapexa ispitivan je u pet istraživanja (162, 165, 167, 171, 179), a rezultati su prikazani u Tablici 5.

**Tablica 5.** Protukvasni učinak MTA Fillapexa (Angelus)

Autor istraživanja i godina	Bakterija korištena u istraživanju	Evaluacijske metode	Vrijeme stvrdnjavanja materijala	Vrijeme kontakta materijala i mikroorganizama	Rezultati
Gürel, 2016.	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi zatim 24, 48 i 72h na 37° C	Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd.) punilo je pokazalo manju zonu inhibicije od MTA Fillapexa (Angelus) u svim vremenima kontakta ( $p < 0.05$ ). AH Plus (Dentsply) je imao veću zonu inhibicije od MTA Fillapexa (Angelus) nakon 72h. Svako punilo je imalo najbolji učinak nakon 24h, a najslabiji nakon 72h.
Jafari, 2016.	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231), <i>Candida glabrata</i> (ATCC 90030) and <i>Candida krusei</i> (DSM 70079)	Test dodira (izravna i neizravna metoda)	Nije jasno navedeno	Nije jasno navedeno	<u>Izravna metoda</u> MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najbolji učinak na <i>C. albicans</i> i najslabiji na <i>Candida krusei</i> . AH 26 (Dentsply) je imao bolji učinak na <i>Candida krusei</i> i <i>Candida glabrata</i> nego MTA Fillapex (Angelus). <u>Neizravna metoda</u> MTA Fillapex (Angelus) i AH 26 (Dentsply) su pokazali sličan učinak, iako rezultati nisu bili statistički značajni.
Madani, 2014.	<i>C. albicans</i> (PTCC 5027)	DCT	Nije jasno navedeno	1h za isparavanje bakterijske suspenzije, zatim 3, 6 i 24h na 37° C	MTA Fillapex (Angelus) je bio učinkovitiji u usporedbi s AH 26 (Dentsply) u smanjenju broja kolonija <i>C. albicans</i> nakon 6 i 24h.
Oczan, 2013.	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	DCT	20 minuta, 1 i 7 dana	1h	MTA Fillapex(Angelus) i iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) su pokazali slične rezultate nakon 20 minuta stvrdnjavanja ( $p < 0.05$ ), dok je AH plus (Dentsply) pokazao najbolju učinkovitost potpuno inhibirajući rast kvasaca nakon 20 minuta stvrdnjavanja. Nije bilo razlike između punila nakon 1 i 7 dana stvrdnjavanja ( $p > 0.05$ ).
Weckwerth i sur., 2015.	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperaturi zatim 24h na 37°	MTA Fillapex (Angelus) s dodatkom ketokonazola i flukonazola je uzrokovao veće zone inhibicije u odnosu na punilo bez dodataka ( $p < 0.05$ ).

Nije bilo moguće donijeti jedinstveni zaključak za grupu istraživanja koja su proučavala antibakterijski i protukvasni učinak MTA Fillapexa (Angelus) zbog velike različitosti istraživanja (različita metodologija, vrste mikroorganizama itd.).

#### **4.1.3.2. Endosequence BC Sealer, iRoot SP i TotalFill BC Sealer**

Nakon uvođenja Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) na tržište 2009. godine, poznatijeg kao iRoot SP (Innovative BioCeramix Inc.) (142) na tržištu sjeverne Amerike, uveden je TotalFill BC Sealer (Brasseler USA) na europsko tržište (124). Svi materijali imaju isti sastav, te je njihov antimikrobni učinak usporediv.

Antimikrobni učinak Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) proučavan je u devet istraživanja (159, 160, 174, 175, 178, 180, 183, 184, 191). Šest istraživačkih skupina koristilo je planktonske stanice (160, 174, 175, 180, 184, 191) dok su tri skupine koristile zrele biofilmove (159, 178, 183).

U tri istraživanja (168, 174, 175) korišten je ADT u istraživanju antimikrobnog učinka Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD), dok su tri istraživanja (159, 178, 183) koristila CLSM. Također su tri istraživanja (160, 184, 191) koristila DCT dok je u jednom istraživanju (180) korišten SEM.

Dvije skupine istraživača (170, 148) su proučavale antibakterijski učinak iRoot SP-a. (Innovative BioCeramix Inc.). U jednom istraživanju (148) je korišten *E. faecalis*, dok su u drugom istraživanju (170) korišteni *E. faecalis* i *Staphylococcus aureus*.

Protukvasni učinak su ispitivale dvije istraživačke skupine (170, 171). Oba istraživanja provedena su na planktonskim stanicama kvasaca. Ozcan i suradnici (171) te Nirupama i suradnici (170) su koristili DCT dok su Zhang i suradnici (148) koristili MDCT.

Pet istraživačkih skupina (166, 172, 181, 185, 192) proučavalo je antimikrobni učinak TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD). Dva istraživanja (172, 185) koristila su planktonske stanice u ADT-u i DCT-u. Kapralos i suradnici (166) su koristili planktonske stanice u MDCT-u i mlade biofilmove u DCT-u i MRT-u. Zordan- Bronzel i suradnici (192) su koristili planktonske stanice u DCT-u i stare biofilmove u MDCT-u, dok su Alsubait i suradnici (181) koristili stare biofilmove koje su ispitivali CLSM-om.

Willenhausen i suradnici (180) su SEM-om proučavali rast bakterija, međutim nisu imali kontrolnu skupinu te rezultati nisu jasno definirani.

Rezultati istraživanja koja su proučavala antibakterijski učinak Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD), iRoot SP-a (Innovative Bioceramix Inc.) i TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) su prikazani u Tablici 6.

**Tablica 6.** Antibakterijski učinak Endosequence BC Sealera, iRoot SP-a i TotalFill BC Sealera

Autor i godina publikacije	Korištena bakterija	Evaluacijska metoda	Vrijeme stvrdnjavanja materijala (prije kontakta s bakterijama)	Vrijeme kontakta materijala i bakterija	Rezultati
Alsubait, 2019	<i>E. faecalis</i> (ATCC 47077)	CLSM	Svježe pripremljeni materijali	1,7 i 30 dana na 37°C u uvjetima 100% vlažnosti	Antibakterijski učinak AH Plusa (Dentsply), TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) i BioRoot RCS-a(Septodont) bioje sličan nakon 1 dana kontakta. TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je uzrokovao najveći broj mrtvih bakterija nakon 7 dana u usporedbi s djelovanjem nakon 1 i 30 dana. Nakon 7 dana, TotalFill (Brasseler SAD) je ubio značajno više bakterija nego što je to bilo u kontrolnoj (p= 0.013) i BioRoot RCS (Septodont) (p= 0.000) skupini. Međutim, nakon 30 dana, svi materijali su ubili više bakterija nego je to bilo u kontrolnoj skupini (p< 0.05), ali je BioRoot RCS (Septodont) ubio značajno više bakterija (p= 0.04) od TotalFilla (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply) (p= 0.000).
Brezic, 2017	<i>Streptococcus mitis</i> and <i>Streptococcus oralis</i>	ADT i DCT	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u> Nije jasno opisano	<u>ADT</u> 24h <u>DCT</u> 1,6,20 i 24h	<u>ADT</u> Endosequence (Brasseler SAD) je pokazao najbolji učinak na <i>Streptococcus oralis</i> i N2 protiv <i>Streptococcus mitisa</i> . <u>DCT</u> MTA je pokazao najbolji učinak protiv <i>Streptococcus oralisa</i> , a AH Plus (Dentsply) protiv <i>Streptococcus mitis</i> nakon 24h.
Bukhari, 2019	<i>E. faecalis</i> (OG1RF)	CLSM	Svježe pripremljeni materijali	24h i 2 tjedna	Endosequence BC Sealer je pokazao bolji učinak u usporedbi s AH Plusom u oba vremenska razdoblja kontakta, sa statistički značajnom razlikom (p< 0.0005). Nije bilo značajne razlike unutar Endosequence skupina nakon 24h i 2 tjedna (p> 0.05).
Candeiro, 2015	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT, DCT	Svježe pripremljeni materijali	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperaturi i zatim 48h na 37°C <u>DCT</u> 7 dana na 37°C	<u>ADT</u> Zona inhibicije u AH Plus(Dentsply) skupini bila je veća nego u EndoSequence BC Sealer (Brasseler SAD) skupini (p< 0.05). <u>DCT</u> Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao bolju učinkovitost samo nakon 24 h kontakta (p< 0.05).
Colombo, 2018	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT, DCT	<u>ADT</u> Nije jasno opisano <u>DCT</u> 7 dana na 37°C u uvjetima 100 % vlažnosti	<u>ADT</u> 48h <u>DCT</u> 6, 15, i 60 minuta i zatim na 37°C kroz 24h	<u>ADT</u> TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) nije pokazao antibakterijski učinak. <u>DCT</u> TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je uzrokovao potpunu eliminaciju bakterija.
Du, 2015	<i>E. faecalis</i> (VP3-181)	CLSM	Svježe pripremljeni materijali	7, 30 i 60 dana	Materijali u kombinaciji s NaOCl-om su pokazali veću učinkovitost u smanjenju broja živućih bakterija. Nije bilo razlike između AH Plusa (Dentsply) i Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) (p> 0.05).
Kapralos, 2018	<i>E. faecalis</i> (ATCC 19434) <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 700610), <i>Staphylococcus</i>	MDCT, DCT i MRT	<u>MDCT</u> Svježe pripremljeni materijali (20minuta AH Plus, 50 minuta RoekoSeal I 30 minuta Guttaflow 2) ili nakon 24 h i 7 dana	<u>MDCT</u> 1h na 37°C <u>DCT and MRT</u> 24h.	<u>MDCT</u> Svježe pripremljeni ili stvrdnjavan 24h ili 7 dana, TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao antibakterijsku aktivnost u svim istraživanim uvjetima. <i>Staphylococcus aureus</i> je bio otporniji u vodenim uvjetima na djelovanje TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD)

	<i>epidermidis</i> (ATCC 35984), i <i>Staphylococcus aureus</i> Newman		DCT and MRT Svježe pripremljeni materijali		kada se uspoređi s drugim bakterijskim vrstama ( $p < 0.05$ ) <u>DCT and MRT</u> Iako je TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) smanjio broj živućih stanica kod svih bakterijskih vrsta ( $p < 0.05$ ), AH Plus (Dentsply) je pokazao bolju učinkovitost kada je korišten MRT. Kada je korišten DCT, AH Plus (Dentsply) je pokazao bolju učinkovitost protiv <i>Staphylococcus aureus</i> i <i>E. faecalis</i> biofilmova u usporedbi s TotalFill BC Sealerom (Brasseler SAD).
Nirupama, 2014.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212) i <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	DCT	Svježe pripremljeni materijali (20 minuta)	1h, zatim je bakterijski rast mjereno svakih 30 minuta kroz 18h	IRoot SP (innovative Bioceramix Inc.) je pokazao učinkovitost na <i>E. faecalis</i> kroz prvih 8h, a na <i>Staphylococcus aureus</i> kroz 7h.
Poggio, 2017.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT i DCT	<u>ADT</u> Svježe pripremljeni materijali <u>DCT</u> 7 dana	<u>ADT</u> 2h na sobnoj temperature i zatim 48h na 37°C <u>DCT</u> 6, 15 i 60 minuta	<u>ADT</u> TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) nije stvorio zonu inhibicije. <u>DCT</u> TotalFill BC (Brasseler SAD) je ubio sve bakterije u svim vremenima kontakta.
Shin, Lee i Lee, 2018.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29221), <i>Porphyromonas endodontalis</i> (ATCC 35406) and <i>Porphyromonas gingivalis</i> (ATCC 33277)	DCT	Svježe pripremljeni materijali i nakon 24h na 37 °C	24h na 37 °C	Svježe miješani Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) pokazao je najslabiju učinkovitost protiv <i>E. faecalis</i> i ta učinkovitost nije postojala kada se materijal stvrdnuo. Svježe miješani Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) je imao najslabiju učinkovitost protiv <i>Porphyromonas endodontalis</i> i <i>Porphyromonas gingivalis</i> neovisno jeli materijal bio stvrdnut ili ne.
Singh., 2016.	<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	ADT	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperature i zatim 24h na 37°C	Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao najveću zonu inhibicije, međutim nije postojala statistički značajna razlika u odnosu ProRoot WMTA (Dentsply) i MM-MTA (Micro Mega) ( $p > 0.05$ ).
Singh, 2016.	<i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ADT	Svježe pripremljeni materijali	2h na sobnoj temperature i zatim 24h na 37°C	Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao najveću zonu inhibicije protiv svih mikroorganizama međutim razlika nije bila statistički značajna ( $p > 0.005$ ).
Wang, Shen i Haapasalo, 2014.	<i>E. faecalis</i> VP3-181	CLSM	Svježe pripremljeni materijali	1, 7 i 30 dana	Sva punila su ubila više bakterija nego kontrolna skupina u svim vremenima kontakta ( $p < 0.05$ ). Antibakterijska učinkovitost Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) je rasla tijekom vremena ( $p < 0.05$ ). Nije bilo razlike između Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply) ( $p > 0.05$ ).
Zhang, 2009.	<i>E. faecalis</i> (VP3-181), izoliran iz zuba s perzistirajućim apikalnim paradontitisom	MDCT	20 minuta, 1, 3 and 7 dana	2, 5, 20 i 60 minuta na 37 °C u uvjetima 100% vlažnosti	Svježe pripremljeni iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) je ubio sve bakterije unutar dvije minute kontakta.. Jedan dan stvrdnjavani iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) je značajno smanjio broj bakterija ( $p < 0.05$ ) tijekom prve dvije minute, a ubio je sve bakterije unutar 20 minuta. IRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) je imao stabilnu učinkovitost do trećeg dana, a nakon 7 dana izgubio je učinkovitost.



Zordan- 2019.	Bronzel., <i>E. faecalis</i> (ATCC 29211)	DCT i MDCT	<u>DCT</u> 24h <u>MDCT</u> Nije jasno navedeno	<u>DCT</u> 1h i 30 minuta <u>MDCT</u> 15h	<u>DCT</u> TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je značajno smanjio broj <i>E. faecalis</i> u usporedbi s kontrolnom grupom (p < 0.05). <u>MDCT</u> TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao značajnu učinkovitost protiv <i>E. faecalis</i> u usporedbi s AH Plusom (Dentsply) i kontrolnom skupinom (p < 0.05).
------------------	---	------------	---	--	---

Protukvasni učinak istraživani je u četiri istraživanja (170, 171, 175, 192) na vrsti *C. albicans*. U istraživanju Singha i suradnika (175) Endosequence BC Sealer (Brasseler) je pokazao najveću zonu inhibicije u usporedbi s MM Seal-om (Micro Mega, Francuska) i Zicalom (Prevest DenPro, Jammu, Indija).

Ozcan i suradnici (171) su pokazali da je svježe pripremljeni iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) uzrokovao značajno smanjenje ( $p > 0,05$ ) kvasnog rasta u usporedbi s MTA Fillapexom (Angelus). Također, iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) je pokazao značajno bolje rezultate u usporedbi sa svježe pripremljenim GuttaFlow-om (Coltène-Whaledent, Langenau, Njemačka) ( $p < 0.05$ ). Jedino je svježe pripremljeni AH Plus (Dentsply) pokazao veću protukvasnu aktivnost u usporedbi sa svim materijalima ( $p < 0.001$ ). Materijali koji su se stvrdnjavali jedan ili sedam dana su pokazali nisku ili nikakvu protukvasnu aktivnost bez statistički značajne razlike između materijala i pozitivne kontrole ( $p > 0.05$ ). U istraživanju Nirupame i suradnika (170), iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) je imao sličan protukvasni učinak kao TubliSeal EWT (Kerr) i AH Plus (Dentsply) te su se oni značajno razlikovali od pozitivne kontrole ( $p < 0.05$ ).

U istraživanju Zordan- Bronzela i suradnika (192) TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je u potpunosti eliminirao *C. albicans*.

#### **4.1.3.3. BioRoot RCS**

Četiri istraživačke skupine (84, 172, 181, 185) istraživale su antibakterijski učinak BioRoot RCS-a (Septodont). Sva istraživanja provedena su na *E. faecalis*. Dva istraživanja (172, 185) su proučavala učinak na planktonskim stanicama dok je jedno istraživanje (84) koristilo mlade biofilmove i jedno istraživanje (181) stare biofilmove.

Poggio i suradnici (172) i Colombo i suradnici (185) su koristili DCT i ADT. U istraživanju Poggia i suradnika (172), BioRoot RCS je uzrokovao podjednaku zonu inhibicije, kao MTA Fillapex (Angelus) i Sealapex (Kerr) u ADT. Njihova zona inhibicije je bila najmanja u usporedbi s Pulp Canal Sealer EWT-om (Kerr), AH Plusom (Dentsply), N2 (GHIMAS S.p.A.) i EasySeal-om (Komet). Jedino TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) nije uzrokovao nastanak zone inhibicije. Kod korištenja DCT-a, učinkovitost BioRoot RCS-a (Septodont) bila je usporediva s MTA Fillapexom (Angelus), Pulp Canal Sealer EWT (Kerr) i N2 (GHIMAS S.p.A.) koji su uzrokovali pojavu najmanjeg broja kolonija formiranih na milimetru, nakon 6 minuta kontakta. BioRoot RCS (Septodont) je također pokazao značajan porast u baktericidnom učinku ( $p < 0.05$ ) nakon 15 i 60 minuta. U DCT-u jedino su TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) i EasySeal (Komet) uzrokovali smrt svih bakterija.

U istraživanju Colomba i suradnika (30), BioRoot RCS (Septodont) je pokazao najslabiji antibakterijski učinak u odnosu na MTA Fillapex (Angelus) i Sealepex (Kerr) u ADT-u. Jedino je EasySeal (Komet) pokazao značajno veću učinkovitost u odnosu na druge materijale ( $p < 0.01$ ). Kod DCT-a, BioRoot RCS (Septodont) je pokazao najslabiju aktivnost nakon 6 minuta kontakta, usporedivu jedino s MTA Fillapexom (Angelus). Nakon 15 i 60 minuta, BioRoot RCS (Septodont) je pokazao značajan porast u baktericidnom djelovanju ( $p < 0.05$ ).

Arias- Moliz i suradnici (84) su koristili intratubularni infekcijski test (pomoću CLSM-a). Ispiranje s EDTA-om u kombinaciji s BioRoot RCS-om (Septodont) ili AH Plusom (Dentsply) rezultiralo je značajno većom zonom inhibicije nego MTA Fillapex (Angelus) u ADT-u. BioRoot RCS (Septodont) nije uzrokovao nastanak zone inhibicije kada je bio izložen PBS-u ili vodi. BioRoot RCS (Septodont) je pokazao najveću antimikrobnu aktivnost u svim irigacijskim protokolima. Irigacija EDTA-om je rezultirala je najvećim brojem mrtvih bakterijskih stanica, nakon čega je slijedila irigacija vodom.

U istraživanju Alsubaita i suradnika (181), BioRoot RCS (Septodont) se nije značajno razlikovao od AH Plusa (Dentsply) i TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) nakon jednog dana. Nakon 7 dana, BioRoot RCS (Septodont) je pokazao najnižu antibakterijsku učinkovitost u usporedbi s AH Plusom (Dentsply) i TotalFill BC Sealerom (Brasseler SAD). Međutim, nakon 30 dana, BioRoot RCS (Septodont) je ubio najveći broj bakterija u usporedbi s AH Plusom (Dentsply) ( $p = 0.000$ ) i TotalFill BC Sealerom (Brasseler SAD) ( $p = 0.04$ ).

#### 4.1.3.4. CPM Sealer

Antimikrobni učinak CPM Sealer je proučavan u 3 istraživanja (168, 169, 176). Jedino su Tanomaru i suradnici (176) proučavali prokvasni učinak CPM-a (EGEO) na *C. albicans*. Ostali mikroorganizmi u istom istraživanju su bili: *Micrococcus luteus* (*M. luteus*), *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *E. faecalis*.

Mohammadi i suradnici (168) su proučavali antibakterijski učinak na *Streptococcus mutans* i *S. aureus*, dok su Morgental i suradnici (169) koristili *E. faecalis*.

Morgental i suradnici (169) su koristili DCT i ADT, dok su ostali koristili samo ADT.

U istraživanju Morgentala i suradnika (169), CPM Sealer (EGEO) u ADT-u nije inhibirao rast *E. faecalis* u usporedbi s White MTA-om (Angelus, Londrina, Brazil). Najveću zonu inhibicije pokazali su MTA Fillapex (Angelus) i Endofill (Dentsply, Petropolis, Brazil). U DCT-u svi materijali su bili slični negativnoj kontroli u svim vremenima kontakta ( $p > 0.05$ ).

Tanomaru i suradnici (176) su opisali inhibicijske zone za 6 materijala, od kojih je jedan bio CPM Sealer (EGEO). Međutim, zbog različitog stupnja difuzije materijala unutar agra, statistička analiza nije mogla biti provedena te nije bila moguća usporedba materijala.

Rezultati istraživanja Mohammadija i suradnika (168) nisu jasni jer su opisani rezultati za dva materijala koji prethodno nisu bila navedena u metodologiji.

#### **4.1.3.5. Smartpaste Bio**

Samo jedno istraživanje (162) je proučavalo antimikrobni učinak Smartpaste Bio materijala (Smart Seal DRFP Ltd.). Proučavani mikroorganizmi su bili: *E. faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) *Escherichia coli* (*E. coli*) (ATCC 25922) i kvasac *C. albicans* (ATCC 10231). Korišten je ADT. Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd.) je pokazao značajnu inhibiciju bakterijskog rasta ( $p < 0.05$ ) u svim vremenskim točkama, s izuzetkom na *Pseudomonas aeruginosa*, kod kojeg je AH Plus (Dentsply) pokazao bolju učinkovitost. MTA Fillapex (Angelus) je pokazao značajno nižu antimikrobnu učinkovitost ( $p < 0.05$ ) u usporedbi sa Smartpaste Bio (Smart Seal DRFP Ltd.). Svim ispitivanim materijalima je slabila antimikrobna učinkovitost tijekom vremena.

#### **4.1.4. Kvaliteta izvještavanja literature**

Sedam skupina autora (164, 165, 168, 174, 176, 177, 179) nejasno je opisalo model i veličinu uzorka. Dva rada (170, 180) sadržavala su nejasan opis veličine uzorka dok u pet radova (175, 185, 186, 191, 192) opis eksperimentalnog modela nije bio dovoljno detaljan. Dva istraživanja (184, 193) su bila dostupna jedino u formi sažetka, stoga ocjena kvalitete izvještavanja nije bila moguća. Ostali autori (84, 158- 163, 166, 167, 169, 171-173, 178, 181, 183, 187-190) su odgovarajuće opisali model i veličinu uzorka. U svim radovima su odgovarajuće opisani korišteni materijali.

#### 4.2. Rezultati *in vitro* istraživanja antibakterijskog učinka biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanice *E. faecalis*

Brojevi CFUs nakon 2, 5, 20 i 60 minuta kontakta svježe pripremljenih materijala, materijala koji su stvrdnjavali jedan i tri dana su prikazani u Tablicama 7, 8 i 9.

**Tablica 7.** Broj CFUs nakon 2, 5, 20 i 60 minuta izloženosti svježe pripremljenim punilima i usporedba s kontrolnom skupinom

Vrijeme kontakta	2 minute	5 minuta	20 minuta	60 minuta
Kontrolna skupina	1,13E- 02	1,06E- 02	2,09E- 02	3,12E- 03
	1,27E- 02	2,35E- 02	2,11E- 02	5,04E- 03
	1,27E- 02	1,01E- 02	1,99E- 02	9,12E- 03
AH Plus	2,40E- 04	2,40E- 04	1,44E- 03	2,40E- 04
	2,40E- 03	4,80E- 04	2,40E- 04	2,40E- 04
	1,13E- 02	2,40E- 04	4,80E- 04	2,40E- 04
TotalFill BC Sealer	2,40E- 03	2,40E- 04	0,00E+ 00	2,40E- 04
	1,20E- 03	2,40E- 04	2,40E- 04	2,40E- 04
	0,00E+ 00	2,40E- 04	4,80E- 04	2,40E- 04
MTA Fillapex	0,00E+ 00	2,40E- 04	2,40E- 04	2,40E- 04
	0,00E+ 00	0,00E+ 00	2,40E- 04	2,40E- 04
	0,00E+ 00	0,00E+ 00	4,80E- 04	2,40E- 04
BioRoot RCS	2,88E- 03	0,00E+ 00	2,40E- 04	0,00E+ 00
	1,20E- 03	0,00E+ 00	1,44E- 03	0,00E+ 00
	1,20E- 03	0,00E+ 00	1,20E- 03	0,00E+ 00

E- eksponencija

**Tablica 8.** Broj CFUs nakon 2, 5, 20 i 60 minuta izloženosti punilima koja su stvrdnjavala jedan dan i usporedba s kontrolnom skupinom

Vrijeme kontakta	2 minute	5 minuta	20 minuta	60 minuta
Kontrolna skupina	2,88E- 03	2,35E- 02	3,98E- 02	2,88E- 03
	9,36E- 03	3,02E- 02	3,07E- 02	9,36E- 03
	1,94E- 02	2,74E- 02	3,96E- 02	8,88E- 03
AH Plus	1,25E- 02	1,44E- 02	2,02E- 02	2,33E- 02
	6,48E- 03	1,82E- 02	1,49E- 02	3,36E- 03
	1,27E- 02	3,02E- 02	1,15E- 02	3,84E- 03
TotalFill BC Sealer	4,80E- 04	4,80E- 04	1,20E- 03	1,20E- 03
	7,20E- 04	3,36E- 03	1,44E- 03	1,68E- 03
	7,20E- 04	2,16E- 03	7,20E- 04	1,44E- 03
MTA Fillapex	2,88E- 03	8,40E- 03	1,20E- 03	2,16E- 03
	4,80E- 04	8,40E- 03	9,60E- 04	3,12E- 03
	1,68E- 03	7,92E- 03	1,44E- 03	6,00E- 03
BioRoot RCS	4,80E- 04	4,56E- 03	1,20E- 03	9,60E- 04
	9,60E- 04	2,88E- 03	1,44E- 03	7,20E- 04
	1,68E- 03	5,52E- 03	1,68E- 03	1,44E- 03

E-eksponencija

**Tablica 9.** Broj CFUs nakon 2, 5, 20 i 60 minuta izloženosti punilima koja su stvrdnjavala tri dana i usporedba s kontrolnom skupinom

Vrijeme kontakta	2 minute	5 minuta	20 minuta	60 minuta
AH Plus	1,68E- 03	1,92E- 03	9,60E- 04	2,40E- 03
	1,20E- 03	2,16E- 03	3,60E- 03	4,80E- 04
	1,20E- 03	7,20E- 04	1,68E- 03	2,40E- 04
TotalFill BC Sealer	1,44E- 03	4,80E- 03	4,80E- 04	9,60E- 04
	7,20E- 04	0,00E+ 00	0,00E+ 00	2,16E- 03
	1,20E- 03	0,00E+ 00	0,00E+ 00	2,40E- 03
MTA Fillapex	3,12E- 03	4,80E- 04	1,20E- 03	1,68E- 03
	1,68E- 03	1,20E- 03	7,20E- 04	9,60E- 04
	2,16E- 03	4,80E- 04	0,00E+ 00	1,20E- 03
BioRoot RCS	1,68E- 03	4,80E- 04	4,80E- 04	7,20E- 04
	1,92E- 03	0,00E+ 00	2,40E- 04	4,80E- 04
	1,20E- 03	2,40E- 04	0,00E+ 00	7,20E- 04
Kontrolna skupina	6,48E- 03	1,68E- 03	1,03E- 02	3,84E- 03
	1,46E- 02	1,44E- 03	3,84E- 03	4,80E- 03
	3,60E- 03	1,90E- 02	6,48E- 03	5,28E- 03

E- eksponencija

Svi ispitivani materijali su pokazali značajnu antibakterijsku učinkovitost u odnosu na kontrolnu skupinu ( $p < 0.05$ ). TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao najbolju, a AH Plus (Dentsply) najlošiju učinkovitost u svim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta. Nije bilo statistički značajne razlike između TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) i BioRoot RCS-a (Septodont) u svim vremenima stvrdnjavanja i kontakta ( $p > 0.05$ ). MTA Fillapex (Angelus) i BioRoot RCS (Septodont) su pokazali statistički bolju učinkovitost od AH Plusa (Dentsply) ( $p < 0.05$ ) u svim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta s bakterijskom suspenzijom.

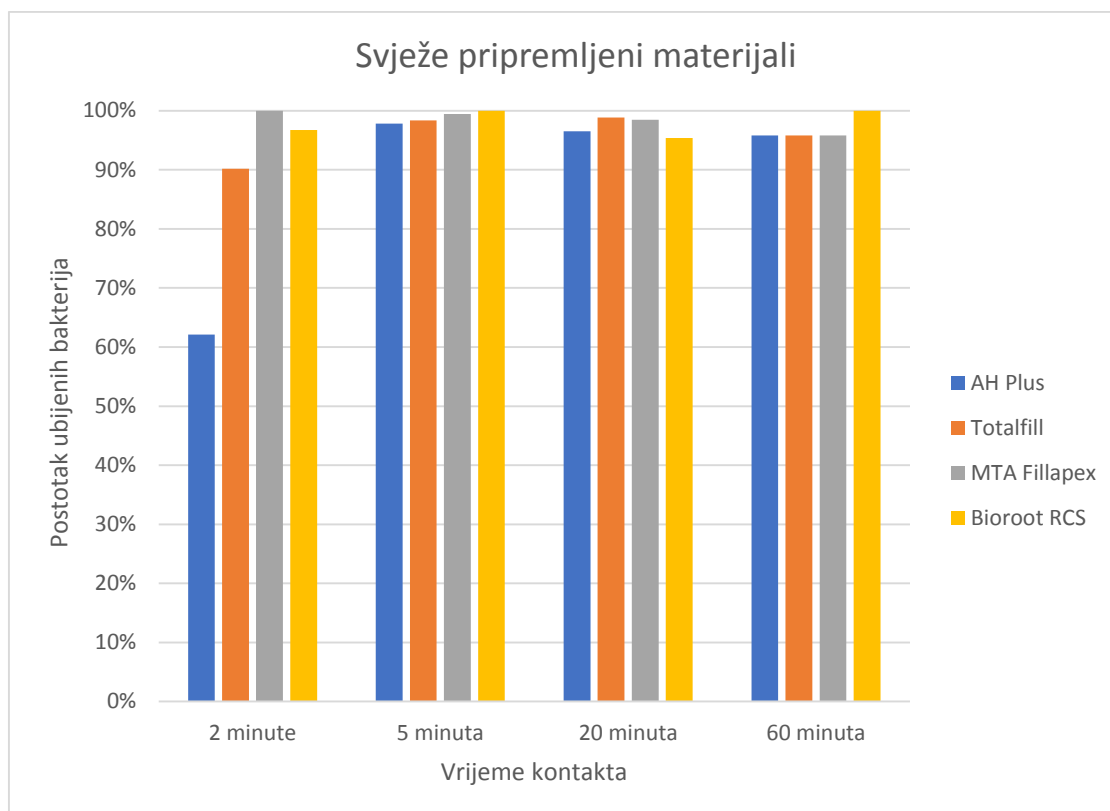
Svi svježe pripremljeni materijali su imali značajno bolju antibakterijsku učinkovitost u odnosu na materijale koji su stvrdnjavali jedan dan ( $p < 0.05$ ). Nije bilo statistički značajne razlike između svježe pripremljenih materijala i materijala koji su stvrdnjavali tri dana ( $p >$

0.05). Također, materijali koji su stvrdnjavali tri dana, pokazali su statistički značajno bolje djelovanje od materijala koji su stvrdnjavali jedan dan ( $p < 0.05$ ).

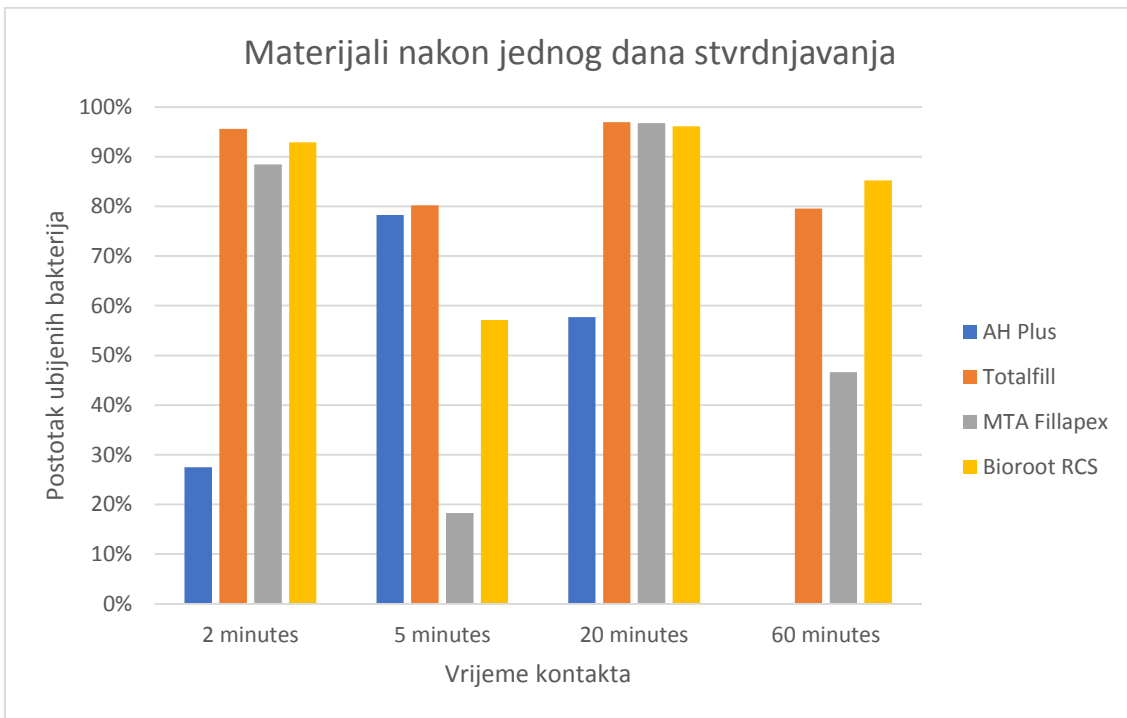
Svi testirani biokeramički materijali (TotalFill BC Sealer, BioRoot RCS i MTA Fillapex) su imali najbolji učinak nakon 20 minuta kontakta, neovisno o vremenu stvrdnjavanja ( $p < 0.05$ ). U ostalim vremenima kontakta- dvije, pet i 60 minuta, biokeramički materijali nisu pokazali statistički različite rezultate ( $p > 0.05$ ).

Antibakterijska učinkovitost materijala u različitim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta materijala s bakterijskom suspenzijom, prikazana je na slikama 9., 10. i 11.

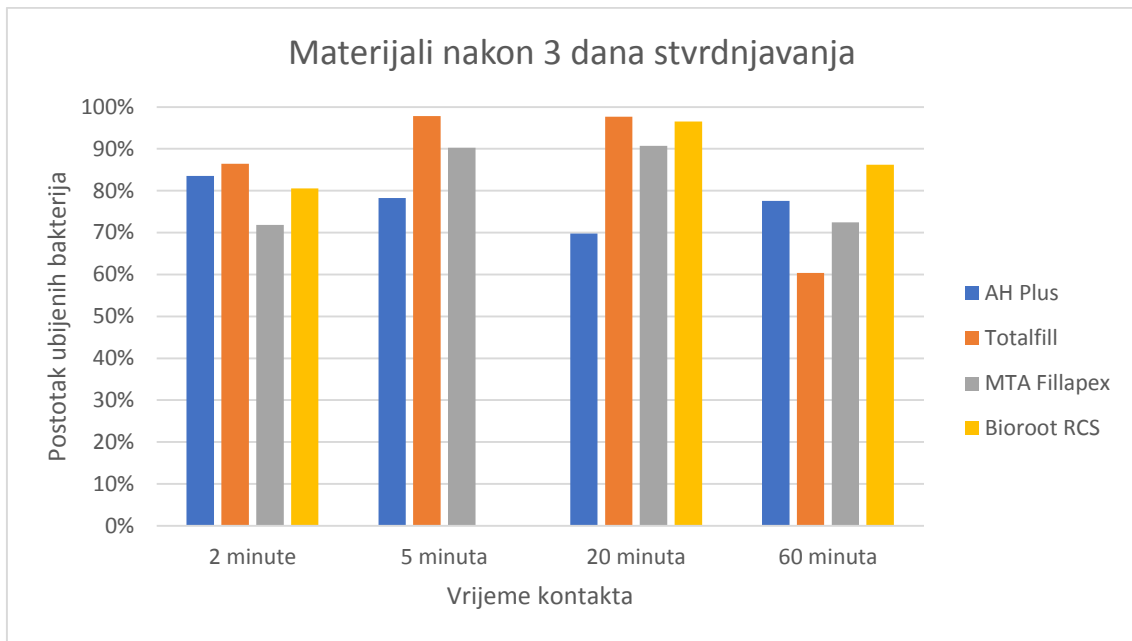




**Slika 9.** Antibakterijska učinkovitost svježe pripremljenih biokeramičkih materijala za punjenje



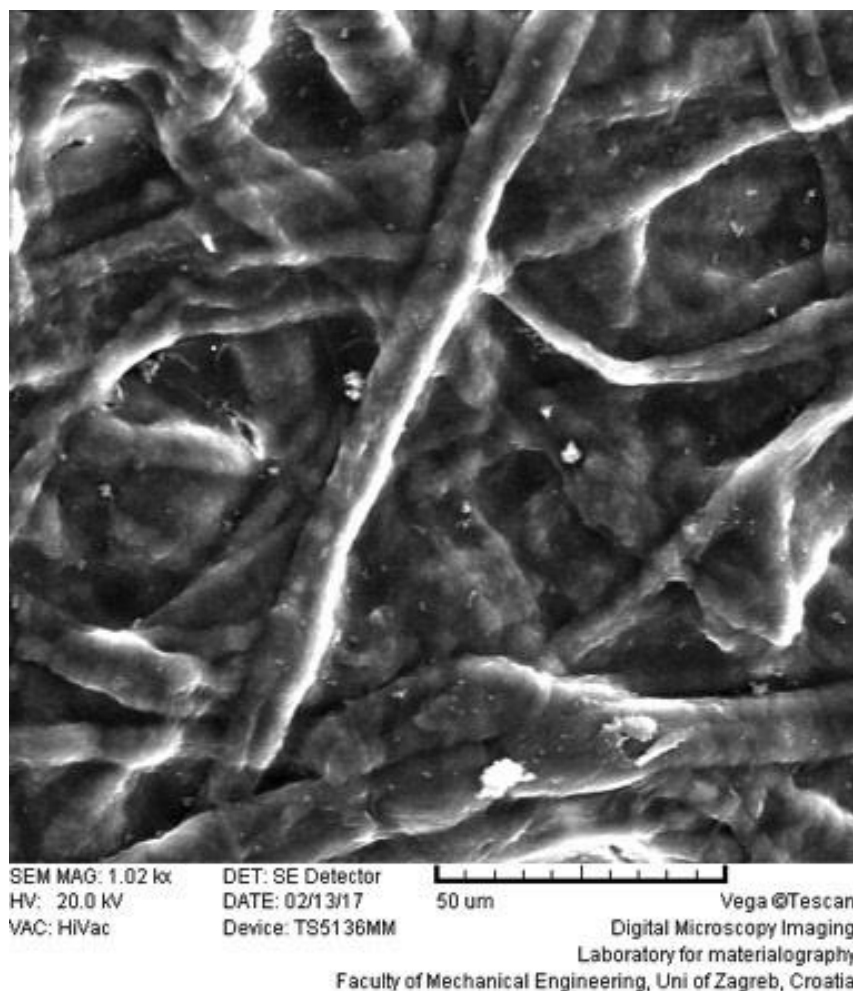
**Slika 10.** Antibakterijska učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje nakon jednog dana stvrdnjavanja



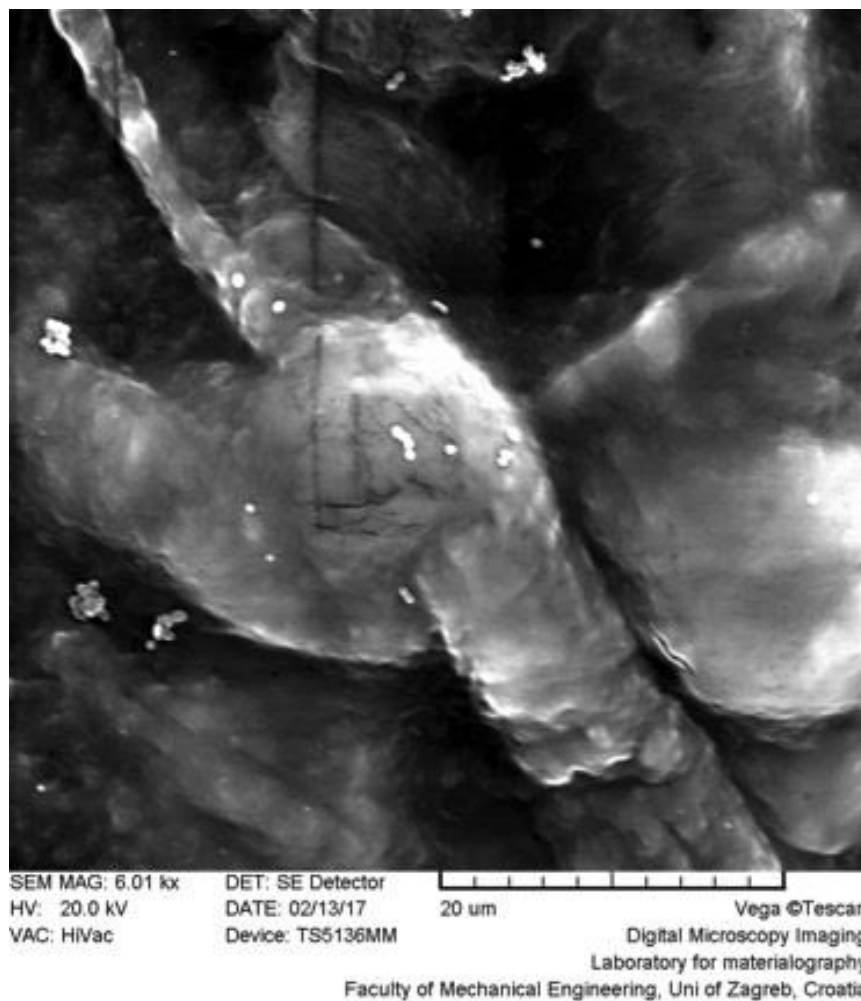
**Slika 11.** Antibakterijska učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje nakon tri dana stvrdnjavanja

#### 4.3. Rezultati *in vitro* istraživanja antibakterijskog učinka biokeramičkih materijala za punjenje na mlade biofilmove *E. faecalis*

Analiza SEM-om potvrdila je prisutnost biofilma *E. faecalis* na filter papirnatim diskovima (Slika 12, Slika 13).



**Slika 12.** SEM snimka biofilмова *E. faecalis* na filter papirnatim diskovima (*povećanje 1000x*)



**Slika 13.** SEM snimka biofilмова *E. faecalis* na filter papirnatim diskovima (*povećenje 6000x*)

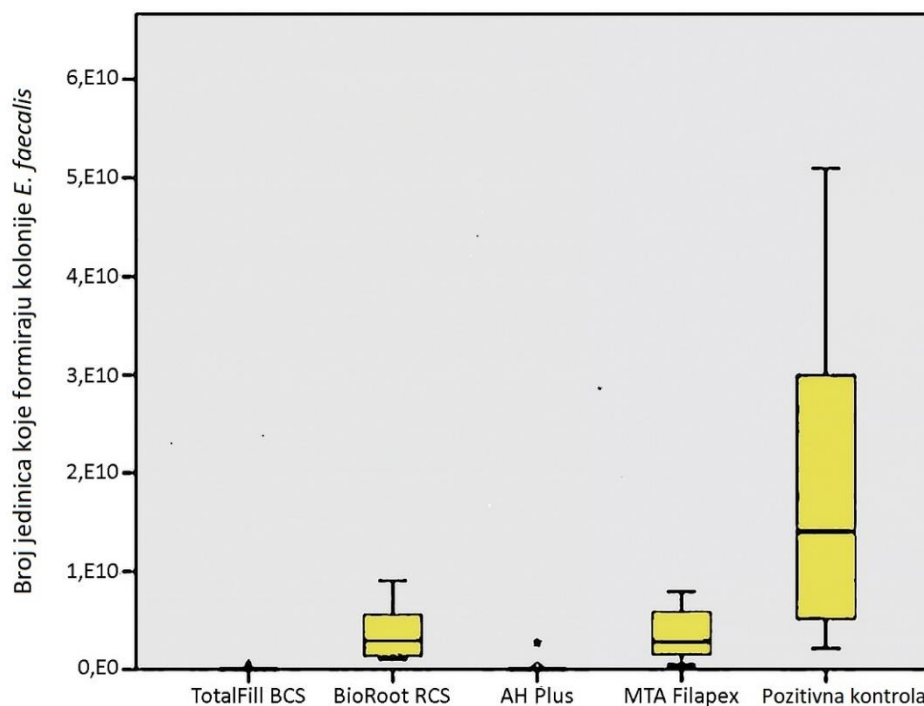
Svi ispitivani materijali značajno su smanjili broj bakterija na filter diskovima u usporedbi s pozitivnom kontrolnom skupinom ( $p < 0.001$ ) (Tablica 10).

**Tablica 10.** Broj CFUs nakon 60 minuta izloženosti punilima i usporedba s pozitivnom kontrolnom skupinom

Skupine	Srednja vrijednost	SD	Minimum	Maksimum	Percentili			Smanjenje broja u odnosu na pozitivnu kontrolu
					25th	50th (Median)	75th	
TotalFill BCS	3,72E+07	1,20E+08	1,00E+04	5,00E+08	1,00E+06	8,00E+06	1,00E+07	99,94%
BioRoot RCS	3,58E+09	2,56E+09	1,00E+09	9,00E+09	1,40E+09	2,90E+09	6,00E+09	79,29%
AH Plus	1,78E+08	6,51E+08	1,00E+05	2,70E+09	1,00E+06	1,00E+07	4,75E+07	99,93%
MTA Filapex	3,51E+09	2,50E+09	4,00E+08	7,90E+09	1,45E+09	2,80E+09	6,05E+09	80,00%
Pozitivna kontrola	2,44E+10	2,75E+10	2,10E+09	9,00E+10	4,75E+09	1,40E+10	3,53E+10	

E- ekspanzija

Nije bilo statistički značajne razlike između TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply) ( $p=0.386$ ), i između BioRoot RCS-a (Septodont) i MTA Fillapexa (Angelus) ( $p=0.931$ ). TotalFill BC (Brasseler SAD) i AH Plus (Dentsply) su pokazali veću antibakterijsku učinkovitost nego BioRoot RCS (Septodont) i MTA Fillapex (Angelus) ( $p<0.001$ ) (Slika 14).



**Slika 14.** Antibakterijska učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje

## 5. RASPRAVA

### 5.1. Sustavni pregled literature o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala

Pretraživanjem literature pronašli smo 37 radova o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala zuba. Međutim, usprkos relativno velikom broju istraživanja nije bilo moguće donijeti zaključak o usporednom djelovanju biokeramičkih materijala zbog visoke heterogenosti istraživanja. Istraživanja su koristila različite izvore i starosne skupine mikroorganizama, različita vremena stvrdnjavanja materijala, različita vremena kontakta materijala i mikroorganizama i različite mikrobiološke testove stoga nisu bila usporediva. Nismo uspjeli naći niti dva istraživanja s istim eksperimentalnim uvjetima te je bilo moguće napraviti samo opisnu analizu radova. Iako ovakva vrsta dokaza ne pridonosi donošenju zaključaka u praksi, mogla bi biti od koristi u odabiru najboljeg biokeramičkog punila. Međutim, ovaj sustavni pregledni rad otvorio je brojna pitanja koja zahtijevaju dodatnu pažnju istraživača u ovom području.

Prvo, postoje različite klasifikacije biokeramičkih materijala u literaturi. Iako su mnoga istraživanja opisivala biokeramičke materijale i njihov sastav, pronašli smo samo dva pregledna rada (113, 114) u kojima su opisane klasifikacije biokeramičkih materijala, međutim te dvije klasifikacije su bile različite. Al-Haddad i Che Ab Aziz (113) su podijelili biokeramičke materijale u tri skupine: kalcij silikatni, materijali temeljeni na MTA-u i kalcij fosfatni biokeramički materijali, dok Jafari i Jafari (114) navode dvije skupine biokeramičkih materijala: kalcij silikatni materijali (materijali koji se temelje na MTA- u i materijali koji se ne temelje na MTA-u) i kalcij fosfatni materijali. Različita klasifikacija biokeramičkih materijala u literaturi uzrokuje probleme u analiziranju rezultata objavljenih znanstvenih radova i njihovoj interpretaciji. Zbog toga bi jedan od primarnih ciljeva budućih preglednih radova trebao biti objasniti različitosti između pojedinih biokeramičkih materijala u svrhu kreiranja jasne klasifikacije biokeramičkih materijala u endodonciji i primjene u znanstvenim radovima.

Nadalje, do sada je objavljeno nekoliko sustavnih preglednih radova (114, 194- 196) koji su se bavili antimikrobnom učinkovitosti biokeramičkih materijala. Međutim, niti jedan od navedenih radova nije uključio svu dostupnu literaturu o antimikrobnom djelovanju biokeramičkih materijala već su analizu temeljili na pojedinim elementima (npr. vrsti mikroorganizama). Alshwaimi i suradnici (194) su, u svom preglednom radu, analizirali samo

objavljena istraživanja na *E. faecalis* u kombinaciji s DCT-om. Silva Almeida i suradnici (195) uključili su u svoj sustavni pregledni rad istraživanja koja su uspoređivala antimikrobnu učinkovitost biokeramičkih i konvencionalnih materijala. Jafari i Jafari (114) te Donnermeyer i suradnici (196) su dali kratki osvrt na antimikrobno djelovanje bez uključenja većeg broja istraživanja.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je u većini uključenih istraživanja antimikrobna učinkovitost biokeramičkih materijala ispitivana na *E. faecalis* (84, 148, 159, 160- 164, 166, 167, 169, 170, 172- 174, 176- 178, 180, 183, 185- 192, 197). *E. faecalis* je mikroorganizam koji se standardno koristi u endodontskim istraživanjima za ispitivanje antimikrobne učinkovitosti i različitih protokola za ispiranje korijenskih kanala. Razlog je njegova sposobnost prodiranja duboko u dentinske tubuluse, formiranje biofilмова i preživljavanje u uvjetima kada nisu dostupne hranjive tvari, te otpornost na dezinficijense (46, 198- 202). Rezultati pojedinih istraživanja (203, 204) su pokazali da i kvasci mogu biti uzročnici apikalnog parodontitisa, međutim, samo je manji dio istraživanja (165, 167, 171, 179, 192) ispitivao učinak biokeramičkih materijala na kvasce. Stoga je preporuka da se daljnja istraživanja naprave na kvascima i drugim bakterijskim vrstama koje su potencijalno odgovorne za neuspjeh endodontskog liječenja (165, 164, 166-168, 170, 175, 176, 180, 192). Antimikrobna učinkovitost materijala za punjenje može se ispitivati na planktonskim stanicama (84, 169) ili na biofilmovima (159, 178). Iako je De Deus (205) predložio korištenje zrelih biofilмова u istraživanju antimikrobnih svojstava endodontskih punila, samo je šest istraživanja (159, 161, 178, 181, 183) ispitivalo antimikrobnu učinkovitost biokeramičkih punila na zrelim biofilmovima. U ovom radu smo definirali mlade i stare biofilmove prema istraživanju Stojicic, Shen i Haapsalo (156), međutim još uvijek je potreban generalni konsenzus oko odgovarajućeg modela starosti endodontskog biofilma za buduća istraživanja.

Nadalje, De Deus (205) predlaže da se u istraživanjima oponašaju uvjeti korijenskog kanala. Stoga je potrebno zamijeniti stare testove poput ADT i DCT novim mikrobiološkim testovima. U literaturi se za ispitivanje antimikrobnog djelovanja biokeramičkih materijala najčešće koriste ADT i DCT. Oba testa imaju određenja ograničenja i nedostatke. ADT je ovisan o topljivosti i difuzijskim karakteristikama testiranog materijala i medija na kojem se materijal testira, pa se preporučuje samo za istraživanje materijala topljivih u vodi (163). Međutim ADT se najčešće koristi u dosadašnjim radovima (84, 160, 163, 169, 172- 174, 176, 179, 184- 189). Ograničenja DCT-a su: nemogućnost korištenja svježe pripremljenih materijala zbog mogućnosti adherencije na supstrat (161) i nemogućnost ispitivanja učinka na



biofilmove (170, 206). U nekoliko najnovijih radova antimikrobna učinkovitost materijala za punjenje ispitivana je CLSM-om (84, 159, 178, 181, 183). Prema nekim autorima, CLSM je preciznija metoda za ispitivanje antimikrobne učinkovitosti jer ispituje materijale u klinički prihvatljivim uvjetima, na dentinu na kojem su prethodno uzgojeni biofilmovi (178).

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da se u dosadašnjim znanstvenim radovima antimikrobna aktivnost materijala za punjenje ispitivala u različitim vremenima stvrdnjavanja materijala i kontakta s mikroorganizmima (84, 181, 190), zbog čega je nemoguće napraviti usporedbu istraživanja. Korisno bi bilo definirati bitne vremenske točke u vremenima stvrdnjavanja i kontakta materijala s mikroorganizmima. Međutim, sporna je mogućnost izvođenja istraživanja s dužim vremenima kontakta, obzirom da je poznato da mikroorganizmi tijekom vremena spontano odumiru ovisno o okolišnim uvjetima u kojima se nalaze (159).

## **5.2. *In vitro* istraživanje antibakterijske učinkovitosti biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanicame *E. faecalis***

Rezultati ovog dijela istraživanja pokazuju da biokeramički materijali imaju bolju antibakterijsku učinkovitost u odnosu na materijal temeljen na umjetnoj smoli (AH Plus). Materijal temeljen na kalcij silikatu i fosfatu (TotalFill BC Sealer) bio je najučinkovitiji protiv *E. faecalis*, nakon čega slijedi čisti trikalcij silikatni materijal (BioRoot RCS), dok je MTA bazirani salicilatni smolasti materijal (MTA Fillapex) bio najmanje učinkovit, ali još uvijek bolji od materijala temeljenog na umjetnoj smoli, AH Plusa (Dentsply). Značajna antibakterijska učinkovitost biokeramičkih materijala je rezultat njihovog visokog pH, hidrofilnosti i aktivnog otpuštanja kalcij hidroksida tijekom procesa stvrdnjavanja (148, 160, 192). Prema našim saznanjima, do sada je objavljeno samo jedno istraživanja (172) koje uspoređuje antibakterijsku učinkovitost više biokeramičkih materijala. U istraživanju Poggia i suradnika (172), TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je eliminirao sve bakterije kada je korišten DCT. Rezultati našeg istraživanja su usporedivi s rezultatima Zordan Bronzel i suradnika (192) i Bukhari i suradnika (183) koji su utvrdili da kalcij silikatni i fosfatni materijali (TotalFill BC Sealer i Endosequence BC) pokazuju značajnu i bolju antibakterijsku učinkovitost protiv *E. faecalis* od materijala temeljenog na umjetnoj smoli.

U literaturi još uvijek postoje kontroverze vezane za superiorniju antibakterijsku učinkovitost materijala temeljenih na kalcij silikatu i fosfatu. U istraživanju Shin i suradnika (191) i Candeiro i suradnika (160), Endosequence BC Sealer (Brasseler SAD) nije pokazao značajniju antibakterijsku učinkovitost u usporedbi s materijalom temeljenim na umjetnoj smoli.

Razlike rezultata istraživanja mogu se objasniti korištenjem različitih mikrobioloških metoda. U dosadašnjim istraživanjima, antimikrobna učinkovitost materijala za punjenje je bila većinom ispitivana ADT-om (174, 176). Taj test se temelji na mjerenju zona inhibicija bakterijskog rasta oko postavljenih ispitivanih materijala. Što je veća zona inhibicije, materijal ima bolju antibakterijsku učinkovitost. Međutim, kao što smo već opisali u prethodnom odjeljku, nije pogodan za ispitivanje endodontskih materijala (207). Druga metoda za ispitivanje antibakterijske učinkovitosti je DCT. Zasniva se na tijesnom dodiru mikrobnih stanica i ispitivanog materijala. Predstavlja pouzdaniju metodu jer daje uvid u baktericidno djelovanje materijala, što je klinički relevantno. Također, tom tehnikom je moguće ispitati učinkovitost materijala u različitim vremenima stvrdnjavanja (148).

Prema dosadašnjim saznanjima, samo su tri istraživanja (84, 172, 181) proučavala antibakterijsku učinkovitost BioRoot RCS-a (Septodont). U istraživanju Poggio i suradnika

(172), BioRoot RCS (Septodont) je imao sličan učinak kao MTA Fillapex (Angelus), ali slabiji od TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD). Autori su koristili DCT za proučavanje antibakterijskog učinka materijala kao što smo i mi u našem istraživanju. U istraživanju Alsubaita i suradnika (181), BioRoot RCS (Septodont) i TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) su pokazali sličnu antibakterijsku učinkovitost kada je korišten CLSM. Ariaz- Moliz i suradnici (84) su u svom istraživanju naveli bolje djelovanje BioRoot RCS-a (Septodont) i MTA Fillapexa (Angelus) u odnosu na AH Plus (Dentsply). Iz navedenih rezultata istraživanja i rezultata našeg istraživanja, može se zaključiti da BioRoot RCS (Septodont), u *in vitro* uvjetima, ima značajnu antibakterijsku učinkovitost i bolje djelovanje od materijala temeljenog na umjetnoj smoli i materijala temeljenog na MTA-u i umjetnoj smoli.

Rezultati istraživanja koja su ispitivala učinak MTA Fillapexa (Angelus) su raznoliki. U našem istraživanju, MTA Fillapex (Angelus) je pokazao najslabiji učinak u usporedbi s ostalim biokeramičkim materijalima, ali bolji od materijala temeljenog na umjetnoj smoli. Slični rezultati su objavljeni u prethodnim istraživanjima (84, 161, 189). S druge strane, nekoliko istraživanja je pokazalo slabiju učinkovitost usporedivu s AH Plusom (Dentsply) (162, 185). Ta razlika može se pripisati korištenju ADT, čija ograničenja smo ranije naveli (207). Najslabija učinkovitost MTA Fillapexa (Angelus) u odnosu na druge materijala može se objasniti niskom pH vrijednošću zbog niskog postotka dostupnog kalcij hidroksida (208). U ovom istraživanju nije bilo razlike u antibakterijskoj učinkovitosti između svježe pripremljenih materijala i materijala koji su stvrdnjavali tri dana. Ova tema je prilično kontroverzna u literaturi. Većina prethodnih istraživanja izvjestila je o padu antimikrobne učinkovitosti tijekom stvrdnjavanja (148, 186, 191). Međutim, Kapralos i suradnici (166) su pokazali da učinkovitost materijala može biti dragocjena kroz duži vremenski period. U njihovom istraživanju, TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je imao sličnu učinkovitost neovisno o tome jeli svježe pripremljen ili stvrdnjavan 24h ili 7 dana. Dugotrajna učinkovitost biokeramičkih materijala se povezuje s dugotrajnim otpuštanjem kalcij hidroksidnih iona nakon početne reakcije stvrdnjavanja (148).

U ovom istraživanju smo koristili planktonske stanice za ispitivanje antibakterijske učinkovitost materijala za punjenje korijenskih kanala. U kliničkim situacijama, nakon konvencionalne kemomehaničke obrade, u kanalu ostaju prisutni bakterijski biofilmovi i planktonske stanice koje su najčešće smještene na intrakanalnim zidovima i u anatomskim nepravilnostima kanala (209). Rezultati ovog istraživanja mogu se promatrati samo u okviru djelovanja biokeramičkih materijala na planktonske stanice. Slijedeća istraživanja bi trebala

ispitati njihovu učinkovitost na biofilmove građene od jedne ili više mikrobnih vrsta različitog stupnja starosti.

### **5.3. *In vitro* istraživanje antibakterijske učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na mlade biofilmove *E.faecalis***

Iako su svi testirani materijali pokazali smanjenje broja jedinica koje formiraju kolonije (CFUs), niti jedna skupina nije dovela do potpune eliminacije bakterija. Prvenstveno se takvi rezultati vežu uz izvor bakterija. U ovom istraživanju je korišten divlji soj *E. faecalis*. Divlji sojevi su manje osjetljivi u usporedbi s najčešće korištenim ATCC sojem *E. faecalis* na djelovanje punila te se preporučuju za ispitivanje antimikrobne učinkovitosti punila (157). Također, *E. faecalis* ima značajnu ulogu u etiologiji perzistirajućih periradikularnih lezija (29) jer posjeduje faktore virulencije i sposobnost da preživi konvencionalnu kemomehaničku obradu korijenskih kanala (160).

Antibakterijska učinkovitost punila ovisi o starosnoj skupini bakterija. Većina istraživanja je ispitivala antibakterijsku učinkovitost punila na planktonskim bakterijskim stanicama (148, 160, 170). Međutim, planktonske stanice ne predstavljaju stvarnu situaciju u inficiranim korijenskim kanalima, stoga se preporuča korištenje starijih bakterijskih biofilmova, koji pokazuju veću otpornost na antimikrobna sredstva (156, 178, 210). U ovom istraživanju smo koristili 48h stare biofilmove i mikrobiološki protokol opisan u istraživanju Barros i suradnika (157). Preporuka za daljnja istraživanje o antibakterijskoj učinkovitosti punila je korištenje starijih biofilmova.

Rezultati našeg istraživanja pokazuju nepotpunu eliminaciju bakterija u svim skupinama što je usporedivo s prethodnim istraživanjima (159, 211). Suprotno su pokazali Zhang i suradnici (148) u čijem istraživanju su biokeramički materijal iRoot SP (Innovative Bioceramix Inc.) (unutar 2 minute) i materijal temeljen na umjetnoj smoli, AH Plus (Dentsply) (unutar 5 do 20 minuta) uzrokovali potpunu eliminaciju *E.faecalis*. Ovakav rezultat može se objasniti činjenicom da su planktonske stanice osjetljivije od biofilmova na djelovanje antimikrobnih sredstava (145).

Također, naši rezultat su pokazali sličnu antibakterijsku učinkovitost TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply), protiv *E. faecalis* biofilmova (eliminacija 99.9%) nakon 60 minuta kontakta. Isti zaključak su donijeli Wang i suradnici (178) u istraživanju gdje su pomoću CLSM-a pokazali da nema razlike između biokeramičkog punila Endosequence BC Sealera (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply) nakon dužih vremena kontakta (jedan, sedam i 30 dana). Smatra se da je antibakterijska učinkovitost biokeramičkih punila povezana s otpuštanjem  $Ca^{2+}$  iona i visokim pH punila (145, 148, 160). U istraživanju

Nirupame i suradnika (170), AH Plus (Dentsply) i biokeramički iRoot SP materijal (Innovative Bioceramix Inc.) su pokazali značajni antibakterijsku učinkovitost protiv *E. faecalis*. Međutim, AH Plus (Dentsply) je pokazao dulje vrijeme djelovanja (18h), vjerojatno zbog otpuštanja bisfenol-A-diglicidilnog etera tijekom polimerizacije (212). U ovom istraživanju smo ispitivali antimikrobnu učinkovitost punila, unutar 60 minuta od postavljanja materijala, koristeći DCT.

Istraživanja koja su koristila DCT, a nisu imala dentin kao podlogu, pokazala su da punila gube antibakterijski učinak unutar nekoliko sati ili dana od miješanja (148, 198). Također, vrijeme kraće od 60 minuta se pokazalo prekratkim za početak djelovanja punila na bakterije poput *E. faecalis* (172).

Zanimljiv rezultat ovog istraživanja su superiorni rezultati TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) nad BioRoot RCS-om (Septodont) budući su oba materijala biokeramička i imaju sličan sastav. BioRoot RCS (Septodont) je najnovije dvokomponentno punilo. Prah se sastoji od trikalcijevog silikata, cirkonijskog dioksida i povidona, a tekućina od vode, kalcijevog klorida i polikarboksilata. Do sada je objavljeno nekoliko istraživanja o njegovom antibakterijskom djelovanju (84, 172). Poggio i suradnici (172) su opisali slabiju antibakterijsku učinkovitost BioRoot RCS-a (Septodont) u usporedbi s punilom na bazi epoksi smole protiv 18h starih biofilmova *E. faecalis*, što se tumači kraćim radnim vremenom (minimum 10 min) i vremenom stvrdnjavanja (maksimalno 4h) (84, 213). Drugi razlog bi mogao biti vezan uz manju homogenost tog punila u usporedbi s već tvornički pripremljenim (*eng.* premixing) punilima. U najnovijem istraživanju Arias- Moliz i suradnika (84), BioRoot RCS (Septodont) je pokazao bolju intratubularnu antibakterijsku učinkovitost u usporedbi s MTA Fillapexom (Angelus) i AH Plusom (Dentsply).

Različiti rezultati istih materijala u navedenim istraživanjima mogu se objasniti korištenjem različitih mikrobioloških testova (160, 172). Najčešće korišteni testovi u ovakvoj vrsti istraživanja su DCT i ADT (160, 169, 172). ADT je odgovarajući test za ispitivanje topljivih materijala, ali zbog već prethodno navedenih ograničenja testa taj test se više ne preporučuje (148).

DCT je kvantitativna i ponovljiva metoda za oponašanje kontakta mikroorganizama s endodontskim materijalima te daje informaciju o baktericidnom učinku (172) stoga je pouzdanija i relevantnija metoda (157, 118).

## 6. ZAKLJUČCI

Prvi dio istraživanja bio je sustavni pregledni rad o antimikrobnoj učinkovitosti biokeramičkih materijala. Nije bilo moguće donijeti zaključak o njihovom usporednom djelovanju i preporučiti određeni materijal za kliničku upotrebu zbog velike heterogenosti istraživanja te nemogućnosti izrade metaanalize. Preporuka za daljnja istraživanja je definirati jedinstveni metodološki pristup i provesti istraživanja na ljudima kako bi se mogle donijeti preporuke za klinički rad.

U drugom dijelu istraživanju ispitivali smo antibakterijski učinak o djelovanju biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala na planktonske stanice *E. faecalis* koje mogu zaostati u korijenskim kanalima nakon kemomehaničke obrade. TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao najbolju, a AH Plus (Dentsply) najlošiju učinkovitost u svim vremenima stvrdnjavanja materijala i vremenima kontakta. Svi svježe pripremljeni materijali pokazali su bolju antibakterijsku učinkovitost u odnosu na materijale koji su stvrdnjavali jedan dan. Nije bilo razlike između u antibakterijskom djelovanju između materijala koji su stvrdnjavali jedan i tri dana. Svi testirani biokeramički materijali (TotalFill BC Sealer, Bioroot RCS i MTA Fillapex) su imali najbolji učinak nakon 20 minuta kontakta, neovisno o vremenu stvrdnjavanja.

U trećem istraživanju antibakterijskog učinka biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala koristili smo mlade biofilmove *E. faecalis*. TotalFill BC Sealer (Brasseler) i AH Plus (Dentsply) su pokazali sličnu antibakterijsku učinkovitost protiv *E. faecalis*, koja je bolja u odnosu na BioRoot RCS (Septodont) i MTA Fillapex (Angelus).

## 7. SAŽETAK

**Cilj:** Ciljevi istraživanja bili su usporediti antimikrobnu učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala, te ispitati njihovu antibakterijsku učinkovitost na planktonske stanice i mlade biofilmove *E. faecalis*.

**Materijali i metode:** U prvom dijelu istraživanja pretražene su tri elektroničke baze podataka: MEDLINE preko OvidSP platforme, Embase preko OvidSP platforme i Web of Science. Istraživanja su uključena neovisno o dizajnu istraživanja, vrsti publikacije i jeziku. Dva autora su zasebno ocijenila kvalitetu izvještavanja.

U drugom dijelu istraživanja bakterijska suspenzija je postavljena na površinu svježe pripremljenih materijala te materijala koji su stvrdnjavali jedan ili tri dana u vertikalno postavljenim mikrotitarskim pločama. Nakon inkubacije 2, 5, 20 i 60 minuta u svaku jažicu mikrotitarske ploče dodan je triptaza soja bujon. Nakon serijskog razrjeđivanja, izbrojane su kolonije.

U trećem dijelu istraživanja bakterijski biofilmovi su uzgojeni na filter papirnatim diskovima postavljenima na ploče s agrom te su, nakon inkubacije, diskovi prekriveni s četiri materijala za punjenje korijenskih kanala. Nakon 60 minuta, materijali za punjenje su uklonjeni i diskovi su prenešeni u epruvete s fosfatom puferiranom fiziološkom otopinom. Nakon serijskog razrjeđivanja, izbrojane su kolonije.

**Rezultati:** Prvi dio istraživanja obuhvatio je 37 istraživanja koja su ispitivala antimikrobu učinkovitost biokeramičkih materijala za punjenje korijenskih kanala. Nije bilo moguće napraviti usporedbu rezultata istraživanja i dati jasan zaključak i usporedbu djelovanja jer su istraživači koristili različite izvore i starosne skupine mikroorganizama, različita vremena stvrdnjavanja materijala i kontakta između mikroorganizama i materijala i različite antimikrobne testove.

U drugom dijelu istraživanja su biokeramički materijali pokazali značajno bolju učinkovitost u odnosu na kontrolnu skupinu i materijal temeljen na umjetnoj smoli ( $p < 0.05$ ). TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) je pokazao najbolju učinkovitost, usporedivu s BioRoot RCS-om (Septodont) ( $p > 0.05$ ), a slijedi ih MTA Fillapex (Angelus) ( $p < 0.05$ ). Svježe pripremljeni materijali su imali sličnu učinkovitost kao materijali koji su stvrdnjavali tri dana ( $p > 0.05$ ), ali bolju od materijala koji su stvrdnjavali jedan dan ( $p < 0.05$ ). Svi materijali su pokazali najbolju učinkovitost nakon 20 minuta kontakta s bakterijama, neovisno jesu bili svježe pripremljeni ili stvrdnjavali jedan ili tri dana.

U trećem dijelu istraživanja nije bilo značajne razlike između TotalFill BC Sealera (Brasseler SAD) i AH Plusa (Dentsply) ( $p=0.386$ ). Oba materijala su pokazala bolju antibakterijsku učinkovitost od BioRoot RCS-a (Septodont) i MTA Fillapexa (Angelus) ( $p<0.001$ ).

**Zaključak:** Budući da su istraživanja uključena u sustavni pregledni rad visoko heterogena, nije moguće donijeti zaključak o tome koji materijal ima najbolje djelovanje niti preporuke za kliničku praksu jer su istraživanja provedena na različite načine, što čini metaanalizu neizvedivom. Potrebno je usuglasiti metodološki pristup, jasno definirati podjelu materijala i provesti istraživanja na ljudima kako bi se moglo donijeti preporuke za kliničku praksu.

U istraživanju učinka biokeramičkih materijala na planktonske stanice *E. faecalis*, biokeramički materijali su pokazali bolju učinkovitost u usporedbi s konvencionalno korištenim materijalom temeljenim na umjetnoj smoli. Materijali su pokazali najbolju učinkovitost nakon 20 minuta kontakta s bakterijskom suspenzijom, neovisno o tome da li je materijal bio svježe pripremljen ili je stvrdnjavao jedan ili tri dana.

U istraživanju učinka biokeramičkih materijala na mlade biofilmove *E. faecalis*, TotalFill BC Sealer (Brasseler SAD) i AH Plus (Dentsply) su pokazali bolju kratkoročnu antibakterijsku učinkovitost od BioRoot RCS-a (Septodont) i MTA Fillapexa (Angelus).



## 8. SUMMARY

**Aim:** The aims of the studies were to compare the antimicrobial efficacy of bioceramic root canal sealers and to examine their antibacterial efficacy on planktonic cells and young biofilms of *E. faecalis*.

**Materials and methods:** In the first part of the study, three electronic databases were searched: MEDLINE via OvidSP platform, Embase via OvidSP platform and Web of Science. Studies were included irrespective of research design, type of publication, and language. Reporting quality was assessed by two authors independently.

In the second part of the study, the bacterial suspension was placed on the surface of freshly mixed sealers and one or three days set sealer in vertically held microtiter plates. After incubation of 2, 5, 20 and 60 minutes, Trypticase Soy Broth was added to each well of the microtiter plate. After serial dilution, colony forming units were counted.

In the third part of the study, bacterial biofilms were grown on filter paper discs placed on agar plates and, after incubation, the discs were covered with four root canal sealers. After 60 minutes, the sealers were removed and the discs were transferred to tubes containing phosphate buffered saline. After serial dilution, colony forming units were counted.

**Results:** The first part of the study included 37 studies that examined the antimicrobial efficacy of bioceramic sealers. It is not possible to make a comparison of the results from studies and to give a clear conclusion about their comparative activity because the studies used heterogeneous source and age groups of microorganisms, setting and contact times of sealers and antimicrobial tests.

In the second part of the study bioceramic materials showed significantly better efficacy than the control group and resin-based material ( $p < 0.05$ ). TotalFill BC Sealer (Brasseler USA) showed the highest efficacy, comparable to BioRoot RCS (Septodont) ( $p > 0.05$ ), followed with MTA Fillapex (Angelus) ( $p < 0.05$ ). Freshly prepared materials had similar efficacy as sealers set for three days ( $p > 0.05$ ), but better than sealers set for one day ( $p < 0.05$ ). All sealers exhibited the highest efficacy after 20 minutes of contact, independently sealers were freshly mixed or set for one or three days.

In the third part of the study, there was no significant difference between TotalFill BC Sealer (Brasseler USA) and AH Plus (Dentsply) ( $p = 0.386$ ). Both sealers showed better antibacterial efficacy than BioRoot RCS (Septodont) and MTA Fillapex (Angelus) ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** Since the studies included in the systematic review are highly heterogeneous, it is not possible to give a conclusion about which sealer has the best

performance or recommendations for clinical practice because the studies were conducted in different ways, which makes meta-analysis futile. It is necessary to uniform the methodological approach, clearly define the materials classification and conduct studies on humans in order to be able to make recommendations for clinical practice.

In a study of efficacy of bioceramic materials on *E. faecalis* planktonic cells, bioceramic sealers showed better efficacy compared to commercially used resin-based sealer. All sealers exhibited strongest efficacy at 20 minutes of contact time, independly sealer was freshly mixed or one or three day set.

In a study of the efficacy of bioceramic sealers on young *E. faecalis* biofilms, TotalFill BC Sealer (Brasseler USA) and AH Plus (Dentsply) showed better short-term antibacterial efficacy than BioRoot RCS (Septodont) and MTA Fillapex (Angelus).

## 9. LITERATURA

1. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The Effects of Surgical Exposures of Dental Pulps in Germ-Free and Conventional Laboratory Rats. *Oral surg, Oral Med, Oral Pathol.* 1965;20:340-9.
2. Siqueira JF, Jr. *Treatment of Endodontic Infection.* London: Quintessence Publishing; 2011.
3. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000.* 2006;42:80-7.
4. Cohen S, Hargreaves K. *Pathways of the pulp.* St Louis: Mosby Inc; 2006.
5. Narayanan LL, Vaishnavi C. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):233-9.
6. Dahlen G, Moller A. Microbiology of endodontic infection In: Slots J, Taubman MA, editors. *Contemporary Oral Microbiology and immunology:* St. Louis: Mosby year Book Inc; 1991.
7. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Exploiting molecular methods to explore endodontic infections: Part 2--Redefining the endodontic microbiota. *J Endod.* 2005;31(7):488-98.
8. Eriksen HM, Kirkevang L-L, Petersonn K. Endodontic epidemiology and treatment outcome: general considerations. *Endod Topics.* 2002;2:1-9.
9. Figdor D. Microbial aetiology of endodontic treatment failure and pathogenic properties of selected species. *Aust Endod J.* 2004;30(1):11-4.
10. Sundqvist G. *Bacteriological Studies of Necrotic Dental Pulps.* Umea, Sweden: University of Umea; 1976.
11. Wittgow WC, Jr., Sabiston CB, Jr. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod.* 1975;1(5):168-71.
12. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microbiol Immun.* 1992;7:257-62.
13. Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immun.* 1997;12:318-22.
14. Lana M, Ribeiro-Sobrinho A, Stehling R. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. *Oral Microbiol Immun.* 2001;16:100-5.
15. Peters LB, Wesselink PR, van Winkelhoff AJ. Combinations of bacterial species in endodontic infections. *Int Endod J.* 2002;35(8):698-702.

16. Kantz WE, Henry CA. Isolation and classification of anaerobic bacteria from intact pulp chambers of non-vital teeth in man. *Arch Oral Biol.* 1974;19(1):91-6.
17. Fabricius L, Dahlen G, Ohman AE, Moller AJ. Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure. *Scand J Dent Res.* 1982;90(2):134-44.
18. Shah HN, Collins DM. Prevotella, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. *Int J Syst Bacteriol.* 1990;40(2):205-8.
19. Conrads G, Gharbia SE, Gulabivala K, Lampert F, Shah HN. The use of a 16s rDNA directed PCR for the detection of endodontopathogenic bacteria. *J Endod.* 1997;23(7):433-8.
20. Dahle U, Titterud Sundle P, Tronstad L. Treponemas and endodontic infections. *Endod Topics.* 2003;6:160-70.
21. Sakamoto M, Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Benno Y. Molecular analysis of bacteria in asymptomatic and symptomatic endodontic infections. *Oral Microbiol Immunol.* 2006;21(2):112-22.
22. Rupf S, Kannengiesser S, Merte K, Pfister W, Sigusch B, Eschrich K. Comparison of profiles of key periodontal pathogens in periodontium and endodontium. *Endod Dent Traumatol.* 2000;16(6):269-75.
23. Siqueira JF, Rocas IN, Moraes SR, Santos KR. Direct amplification of rRNA gene sequences for identification of selected oral pathogens in root canal infections. *Int Endod J.* 2002;35(4):345-51.
24. Siqueira JF, Rocas IN, De Uzeda M, Colombo AP, Santos KR. Comparison of 16S rDNA-based PCR and checkerboard DNA-DNA hybridisation for detection of selected endodontic pathogens. *J Med Microbiol.* 2002;51(12):1090-6.
25. Siqueira JJ. Tratamento das infeccoes endodonticas. Rio de Janeiro: MEDSI; 1997.
26. Peters LB, Wesselink PR, Moorer WR. Penetration of bacteria in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J.* 2000;33(1):28-36.
27. Jhajharia K, Parolia A, Vikram Shetty K, Lata Kiran M. Biofilm in endodontics: A review. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2015;5(1):1-12.
28. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Aboim MC, Rosado AS. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial communities associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(6):741-9.

29. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;97(1):85-94.
30. Siqueira JF, Jr. Endodontic infections: concepts, paradigms, and perspectives. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(3):281-93.
31. Siqueira JF, Jr., Rocas IN. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod.* 2008;34(11):1291-301 e3.
32. Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod.* 2002;28(10):689-93.
33. Siqueira JF, Jr., de Uzeda M. Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *J Endod.* 1996;22(12):674-6.
34. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. *Clin Microbiol Rev.* 1994;7(4):462-78.
35. Goulhen F, Grenier D, Mayrand D. Oral microbial heat-shock proteins and their potential contributions to infections. *Crit Revi Oral Biol Med.* 2003;14(6):399-412.
36. Love RM. *Enterococcus faecalis*- a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J.* 2001;34(5):399-405.
37. Gopikrishna A, Kandaswamy D, Jeyavel R. Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of five endodontic root canal sealers against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *J Conserv Dent.* 2006;9:2-12.
38. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mat Res.* 1998;43(3):338-48.
39. Rocas IN, Siqueira JF, Jr., Santos KR. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *J Endod.* 2004;30(5):315-20.
40. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. *Int End J.* 1998;31(1):1-7.
41. Sedgley CM, Molander A, Flannagan SE, Nagel AC, Appelbe OK, Clewell DB, et al. Virulence, phenotype and genotype characteristics of endodontic *Enterococcus* spp. *Oral Microbiol Immunol.* 2005;20(1):10-9.
42. Egan MW, Spratt DA, Ng YL, Lam JM, Moles DR, Gulabivala K. Prevalence of yeasts in saliva and root canals of teeth associated with apical periodontitis. *Int Endod J.* 2002;35(4):321-9.

43. Portenier I, Waltimo T, Haapasalo M. The root canal survivor and "star" in post-treatment disease. *Endod Topics*. 2003;6:135-59.
44. Nivens DE, Ohman DE, Williams J, Franklin MJ. Role of alginate and its O acetylation in formation of *Pseudomonas aeruginosa* microcolonies and biofilms. *J Bacteriol*. 2001;183(3):1047-57.
45. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*. 2002;295(5559):1487.
46. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(2):167-93.
47. Mohammadi Z, Palazzi F, Giardino L, Shalavi S. Microbial biofilms in endodontic infections: an update review. *Biomed J*. 2013;36(2):59-70.
48. Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol*. 1987;41:435-64.
49. Caldwell DE, Atuku E, Wilkie DC, Wivcharuk KP, Karthikeyan S, Korber DR, et al. Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms. *Adv Dent Res*. 1997;11(1):4-13.
50. Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dental Cosmos*. 1894;36:505-27.
51. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilm: A common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284:312-22.
52. Usha HL, Kaiwar A, Mehta D. Biofilm in endodontics: New understanding to an old problem. *Int J Contemp Dent Med Rev*. 2010;1:44-51.
53. Kolenbrander PE, Parrish KD, Andersen RN, Greenberg EP. Intergeneric coaggregation of oral *Treponema* spp. with *Fusobacterium* spp. and intrageneric coaggregation among *Fusobacterium* spp. *Infect Immun*. 1995;63(12):4584-8.
54. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45(4):999-1007.
55. Dunavant TR, Regan JD, Glickman GN, Solomon ES, Honeyman AL. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*. 2006;32(6):527-31.
56. Listgarten MA. Formation of dental plaque and other biofilms. Cardiff, Wales. HN N, Bioline; 1999.

57. Nair PN, Henry S, Cano V, Vera J. Microbial status of apical root canal system of human mandibular first molars with primary apical periodontitis after "one-visit" endodontic treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(2):231-52.
58. Frank SA, Barbour AG. Within-host dynamics of antigenic variation. *Infect Genet Evol.* 2006;6(2):141-6.
59. Ingle J, Bakland L, Baumgarten J. *Endodontics*. 6th ed. St. Louis, PMPH-USA; 2008.
60. Tronstad L, Barnett F, Cervone F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(2):73-7.
61. Lomcali G, Sen BH, Cankaya H. Scanning electron microscopic observations of apical root surfaces of teeth with apical periodontitis. *Endod Dent Traumatol.* 1996;12(2):70-6.
62. Medvedev AE, Sabroe I, Hasday JD, Vogel SN. Tolerance to microbial TLR ligands: molecular mechanisms and relevance to disease. *J Endotoxin Res.* 2006;12(3):133-50.
63. Jontell M, Gunraj MN, Bergenholtz G. Immunocompetent cells in the normal dental pulp. *J Dent Res.* 1987;66(6):1149-53.
64. Figdor D, Davies J. Cell surface structures of *Actinomyces israelii*. *Aust Dent J.* 1997;42(2):125-8.
65. Wilson M. Susceptibility of oral bacterial biofilms to antimicrobial agents. *J Med Microbiol.* 1996;44(2):79-87.
66. Takemura N, Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Noguchi N, Ebisu S. Single species biofilm-forming ability of root canal isolates on gutta-percha points. *Eur J Oral Sci.* 2004;112(6):523-9.
67. Zancan RF, Calefi PHS, Borges MMB, Lopes MRM, de Andrade FB, Vivan RR, et al. Antimicrobial activity of intracanal medications against both *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* biofilm. *Microsc Res Tech.* 2019;82(5):494-500.
68. Cheng X, Xiang D, He W, Qiu J, Han B, Yu Q, et al. Bactericidal Effect of Er:YAG Laser-Activated Sodium Hypochlorite Irrigation Against Biofilms of *Enterococcus faecalis* Isolate from Canal of Root-Filled Teeth with Periapical Lesions. *Photomed Laser Surg.* 2017;35(7):386-92.
69. Bukhari S, Karabucak B. The Antimicrobial Effect of Bioceramic Sealer on an 8-week Matured *Enterococcus faecalis* Biofilm Attached to Root Canal Dentinal Surface. *J Endod.* 2019.
70. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against

*Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology*. 2019.

71. Hubble TS, Hatton JF, Nallapareddy SR, Murray BE, Gillespie MJ. Influence of *Enterococcus faecalis* proteases and the collagen-binding protein, Ace, on adhesion to dentin. *Oral Microbiol Immunol*. 2003;18(2):121-6.
72. Noiri Y, Ehara A, Kawahara T, Takemura N, Ebisu S. Participation of bacterial biofilms in refractory and chronic periapical periodontitis. *J Endod*. 2002;28(10):679-83.
73. Hulsmann M, Peters O, Dummer P. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Topics*. 2005;10:30-76.
74. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin N Am*. 1974;18(2):269-96.
75. Orstavik D, Kerekes K, Molven O. Effects of extensive apical reaming and calcium hydroxide dressing on bacterial infection during treatment of apical periodontitis: a pilot study. *Int Endod J*. 1991;24(1):1-7.
76. Siqueira JF, Jr., Lima KC, Magalhaes FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. *J Endod*. 1999;25(5):332-5.
77. Ingle JI, Zeldow BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc*. 1958;57(4):471-6.
78. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*. 2004;30(8):559-67.
79. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod*. 2006;32(5):389-98.
80. Grossman L, Oliet S, Del Rio C. Preparation of the root canal: equipment and technique for cleaning, shaping and irrigation. Philadelphia: Lea &Febiger; 1988.
81. Senia ES, Marshall FJ, Rosen S. The solvent action of sodium hypochlorite on pulp tissue of extracted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1971;31(1):96-103.
82. Hand RE, Smith ML, Harrison JW. Analysis of the effect of dilution on the necrotic tissue dissolution property of sodium hypochlorite. *J Endod*. 1978;4(2):60-4.
83. Rutala WA, Weber DJ. Uses of inorganic hypochlorite (bleach) in health-care facilities. *Clin Microbiol Rev*. 1997;10(4):597-610.
84. Arias-Moliz MT, Ferrer-Luque CM, Espigares-Garcia M, Baca P. *Enterococcus faecalis* biofilms eradication by root canal irrigants. *J Endod*. 2009;35(5):711-4.
85. Zamany A, Safavi K, Spangberg LS. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003;96(5):578-81.



86. Davies GE, Francis J, Martin AR, Rose FL, Swain G. 1:6-Di-4'-chlorophenyldiguanidohexane (hibitane); laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *Br J Pharmacol Chemother.* 1954;9(2):192-6.
87. Hennessey TS. Some antibacterial properties of chlorhexidine. *J Periodontal Res.* 1973;12:61-7.
88. Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res.* 1977;85(4):255-65.
89. Lester KS, Boyde A. Scanning electron microscopy of instrumented, irrigated and filled root canals. *Br Dent J.* 1977;143(11):359-67.
90. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod.* 2005;31(11):817-20.
91. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, et al. A new solution for the removal of the smear layer. *J Endod.* 2003;29(3):170-5.
92. Stojcic S, Shen Y, Qian W, Johnson B, Haapasalo M. Antibacterial and smear layer removal ability of a novel irrigant, QMiX. *Int Endod J.* 2012;45(4):363-71.
93. Chavez De Paz LE, Dahlen G, Molander A, Moller A, Bergenholtz G. Bacteria recovered from teeth with apical periodontitis after antimicrobial endodontic treatment. *Int Endod J.* 2003;36(7):500-8.
94. Tomson RM, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the root canal system. *Br Dent J.* 2014;216(6):315-22.
95. Grossman L. *Endodontic Practice.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1981.
96. Torabinejad M, Ung B, Kettering JD. In vitro bacterial penetration of coronally unsealed endodontically treated teeth. *J Endod.* 1990;16(12):566-9.
97. Zjača K, Prskalo K. Materijali za punjenje korijenskog kanala. *Sonda.* 2004;6(11):83-5.
98. Tay FR, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, Pashley DH, Mak YF, et al. Ultrastructural evaluation of the apical seal in roots filled with a polycaprolactone-based root canal filling material. *J Endod.* 2005;31(7):514-9.
99. Kumar RV, Shruthi C. Evaluation of the sealing ability of resin cement used as a root canal sealer: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2012;15(3):274-7.
100. Mohammadi Z, Karim Soltani M, Shalavi S, Yazdizadeh M, Jafarzadeh M. Calcium hydroxide-based root canal sealers: an updated literature review. *Compend Contin Edu Dent.* 2014;35(5):334-9.

101. Schwartz RS. Adhesive dentistry and endodontics. Part 2: bonding in the root canal system-the promise and the problems: a review. *J Endod.* 2006;32(12):1125-34.
102. Miletic I, Devcic N, Anic I, Borcic J, Karlovic Z, Osmak M. The cytotoxicity of RoekoSeal and AH plus compared during different setting periods. *J Endod.* 2005;31(4):307-9.
103. Siqueira JF, Jr. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. *Int End J.* 2001;34(1):1-10.
104. Nair PN, Sjogren U, Figdor D, Sundqvist G. Persistent periapical radiolucencies of root-filled human teeth, failed endodontic treatments, and periapical scars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999;87(5):617-27.
105. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
106. Torabinejad M, Walton W. *Endodontics Principles and Practice.* Philadelphia: Saunders; 2008.
107. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J.* 2006;39(12):921-30.
108. Orstavik D. Radiological aspects of apical periodontitis. *Endod Topics.* 2002;1:3-25.
109. Whites C, Pharoah M. *Oral Radiology.* 8th Edition, Los Angeles: Mosby; 2014.
110. Patel S, Wilson R, Dawood A, Foschi F, Mannocci F. The detection of periapical pathosis using digital periapical radiography and cone beam computed tomography - part 2: a 1-year post-treatment follow-up. *Int Endod J.* 2012;45(8):711-23.
111. Best JM, Porter AE, Thian ES, Huang J. Bioceramics: Past, present and for the future. *J Eur Ceram Soc.* 2008;28:1319-27.
112. Koch K BD, Ali Nasseh A A review of bioceramic technology in endodontics. 2012; Available from: [https://media.zwp-online.info/archiv/pub/sim/ro/2013/ro0113/ro0113\\_06\\_13\\_koch.pdf](https://media.zwp-online.info/archiv/pub/sim/ro/2013/ro0113/ro0113_06_13_koch.pdf)
113. Al-Haddad A, Che Ab Aziz ZA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *Int J Biomater.* 2016;2016:9753210.
114. Jafari F, Jafari S. Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: A review article. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(10):e1249-e55.
115. Krell KF, Wefel JS. A calcium phosphate cement root canal sealer--scanning electron microscopic analysis. *J Endod.* 1984;10(12):571-6.
116. Haapasalo M. Clinical use of bioceramic materials. *Endod Topics.* 2015;32(1):97-117.

117. Torabinejad M, Parirokh M, Dummer PMH. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview - part II: other clinical applications and complications. *Int Endod J.* 2018;51(3):284-317.
118. Wang C. Bioceramic materials in endodontics. *Endod Topics.* 2015;32:3-30.
119. Madani Z, Alvandifar S, Bizhani A. Evaluation of tooth discoloration after treatment with mineral trioxide aggregate, calcium-enriched mixture, and Biodentine((R)) in the presence and absence of blood. *Dent Res J.* 2019;16(6):377-83.
120. Camilleri J. The chemical composition of mineral trioxide aggregate. *J Conserv Dent.* 2008;11(4):141-3.
121. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part III: Clinical applications, drawbacks, and mechanism of action. *J Endod.* 2010;36(3):400-13.
122. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod.* 2010;36(1):16-27.
123. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater.* 2013;29(2):e20-8.
124. Debelian G, Trope M. The use of premixed materials in endodontics. *G Ital Endod.* 2016;30(70-80).
125. Frenkel G, Kaufman A, Ashkenazi M. Clinical and radiographic outcomes of pulpotomized primary molars treated with white or gray mineral trioxide aggregate and ferric sulfate--long-term follow-up. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;37(2):137-41.
126. Tanomaru-Filho M, Andrade AS, Rodrigues EM, Viola KS, Faria G, Camilleri J, et al. Biocompatibility and mineralized nodule formation of Neo MTA Plus and an experimental tricalcium silicate cement containing tantalum oxide. *Int Endod J.* 2017;50 Suppl 2:e31-e9.
127. Marciano MA, Duarte MA, Camilleri J. Dental discoloration caused by bismuth oxide in MTA in the presence of sodium hypochlorite. *Clin Oral Investig.* 2015;19(9):2201-9.
128. Santos LG, Felipe WT, Souza BD, Konrath AC, Cordeiro MM, Felipe MC. Crown discoloration promoted by materials used in regenerative endodontic procedures and effect of dental bleaching: spectrophotometric analysis. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(2):234-42.
129. Santos AD, Araujo EB, Yukimitu K, Barbosa JC, Moraes JC. Setting time and thermal expansion of two endodontic cements. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(3):e77-9.
130. Camilleri J, Pitt Ford TR. Mineral trioxide aggregate: a review of the constituents and biological properties of the material. *Int Endod J.* 2006;39(10):747-54.

131. Komabayashi T, Spangberg LS. Comparative analysis of the particle size and shape of commercially available mineral trioxide aggregates and Portland cement: a study with a flow particle image analyzer. *J Endod.* 2008;34(1):94-8.
132. Kahler B, Chugal N, Lin LM. Alkaline Materials and Regenerative Endodontics: A Review. *Materials (Basel).* 2017;10(12).
133. Malkondu O, Karapinar Kazandag M, Kazazoglu E. A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int.* 2014;2014:160951.
134. Guimaraes BM, Tartari T, Marciano MA, Vivian RR, Mondeli RF, Camilleri J, et al. Color stability, radiopacity, and chemical characteristics of white mineral trioxide aggregate associated with 2 different vehicles in contact with blood. *J Endod.* 2015;41(6):947-52.
135. Trope M, Bunes A, Debelian G. Root filling materials and techniques: bioceramics a new hope? *Endod Topics.* 2015;32:86-96.
136. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of proroot mta to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod.* 2007;33(10):1231-4.
137. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;107(6):e79-82.
138. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2011;37(5):673-7.
139. Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. *Dent Mater.* 2014;30(9):1005-20.
140. Yoshino P, Nishiyama CK, Modena KC, Santos CF, Sipert CR. In vitro cytotoxicity of white MTA, MTA Fillapex(R) and Portland cement on human periodontal ligament fibroblasts. *Braz Dental J.* 2013;24(2):111-6.
141. Jung S, Sielker S, Hanisch MR, Libricht V, Schafer E, Dammaschke T. Cytotoxic effects of four different root canal sealers on human osteoblasts. *PloS One.* 2018;13(3):e0194467.
142. Al-Haddad A, Abu Kasim NH, Che Ab Aziz ZA. Interfacial adaptation and thickness of bioceramic-based root canal sealers. *Dent Mater J.* 2015;34(4):516-21.
143. Moinzadeh AT, Zerbst W, Boutsoukis C, Shemesh H, Zaslansky P. Porosity distribution in root canals filled with gutta percha and calcium silicate cement. *Dent Mater.* 2015;31(9):1100-8.

144. Ghoneim AG, Lutfy RA, Sabet NE, Fayyad DM. Resistance to fracture of roots obturated with novel canal-filling systems. *J Endod.* 2011;37(11):1590-2.
145. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Junior FA, De-Deus G, Miranda CE, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J.* 2012;45(5):419-28.
146. Candeiro GT, Correia FC, Duarte MA, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2012;38(6):842-5.
147. Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 2010;43(9):769-74.
148. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2009;35(7):1051-5.
149. Koch K, Brave D. Bioceramic technology—the game changer in endodontics. . *Endodontic Practice.* 2009;12:7-11.
150. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod.* 2013;39(10):1281-6.
151. Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dent Mater.* 2011;27(8):836-44.
152. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2005;31(2):97-100.
153. Tran XV, Gorin C, Willig C, Baroukh B, Pellat B, Decup F, et al. Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair. *J Dent Res.* 2012;91(12):1166-71.
154. CfRa D. Systematic reviews: CRD's guidance for undertaking reviews in healthcare. York, UK: University of York; 2009.
155. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS medicine.* 2009;6(7):e1000097.
156. Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M. Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. *J Endod.* 2013;39(4):473-7.
157. Barros J, Silva MG, Rocas IN, Goncalves LS, Alves FF, Lopes MA, et al. Antibiofilm effects of endodontic sealers containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles. *J Endod.* 2014;40(8):1167-71.

158. Del Carpio-Perochena A, Kishen A, Shrestha A, Bramante CM. Antibacterial Properties Associated with Chitosan Nanoparticle Treatment on Root Dentin and 2 Types of Endodontic Sealers. *J Endod.* 2015;41:1353–8.
159. Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. Combined Antibacterial Effect of Sodium Hypochlorite and Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis* Biofilms in Dentin Canals. *J Endod.* 2015;41(8):1294-8.
160. Candeiro GTM, Moura-Netto C, D'Almeida-Couto RS, Azambuja-Junior N, Marques MM, Cai S, et al. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. *Int Endod J.* 2016;49(9):858-64.
161. Faria-Junior NB, Tanomaru-Filho M, Berbert FL, Guerreiro-Tanomaru JM. Antibiofilm activity, pH and solubility of endodontic sealers. *Int End J.* 2013;46(8):755-62.
162. Gürel M, Demiryürek EO, Özyürek T, Gülhan T. Antimicrobial activities of different bioceramic root canal sealers on various bacterial species *Int J Appl Dent Sci.* 2016;2(3):19-22.
163. Hasheminia M, Razavian H, Mosleh H, Shakerian B. In vitro evaluation of the antibacterial activity of five sealers used in root canal therapy. *Dent Res J.* 2017;14(1):62-7.
164. Jafari F, Samadi Kafil H, Jafari S, Aghazadeh M, Momeni T. Antibacterial Activity of MTA Fillapex and AH 26 Root Canal Sealers at Different Time Intervals. *Iran Endod J.* 2016;11(3):192-7.
165. Jafari F, Jafari S, Samadi Kafil H, Momeni T, Jamloo H. Antifungal Activity of Two Root Canal Sealers against Different Strains of *Candida*. *Iran Endod J.* 2017;12(1):98-102.
166. Kapralos V, Koutroulis A, Orstavik D, Sunde PT, Rukke HV. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. *J Endod.* 2018;44(1):149-54.
167. Madani ZS, Sefidgar SA, Rashed Mohasel A, Zabihi E, Mesgarani A, Bijani A, et al. Comparative evaluation of antimicrobial activity of two root canal sealers: MTA Fillapex and AH 26. *Minerva Stomatol.* 2014;63(7-8):267-72.
168. Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F, Shalavi S. Antibacterial activity of a new mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *Int Dent J.* 2012;62(2):70-3.
169. Morgental RD, Vier-Pelisser FV, Oliveira SD, Antunes FC, Cogo DM, Kopper PM. Antibacterial activity of two MTA-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2011;44(12):1128-33.
170. Nirupama DN, Nainan MT, Ramaswamy R, Muralidharan S, Usha HH, Sharma R, et al. In Vitro Evaluation of the Antimicrobial Efficacy of Four Endodontic Biomaterials against

*Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, and *Staphylococcus aureus*. Int J Biomater. 2014;2014:383756.

171. Ozcan E, Yula E, Arslanoglu Z, Inci M. Antifungal activity of several root canal sealers against *Candida albicans*. Acta Odontol Scand. 2013;71(6):1481-5.

172. Poggio C, Trovati F, Ceci M, Colombo M, Pietrocola G. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. J Clin Exp Dent. 2017;9(6):e743-e8.

173. Shakya VK, Gupta P, Tikku AP, Pathak AK, Chandra A, Yadav RK, et al. An Invitro Evaluation of Antimicrobial Efficacy and Flow Characteristics for AH Plus, MTA Fillapex, CRCS and Gutta Flow 2 Root Canal Sealer. J Clin Diagn Res. 2016;10(8):104-8.

174. Singh G, Gupta I, Elshamy FMM, Boreak N, Homeida HE. In vitro comparison of antibacterial properties of bioceramic-based sealer, resin-based sealer and zinc oxide eugenol based sealer and two mineral trioxide aggregates. Eur J Dent. 2016;10(3):366-9.

175. Singh G, Elshamy FM, Homeida HE, Boreak N, Gupta I. An in vitro Comparison of Antimicrobial Activity of Three Endodontic Sealers with Different Composition. J Contemp Dent Pract. 2016;17(7):553-6.

176. Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Hotta J, Watanabe E, Ito IY. Antimicrobial activity of endodontic sealers based on calcium hydroxide and MTA. Acta Odontol Latinoam. 2008;21(2):147-51.

177. Thanish Ahamed S, Geetha RV. Comparative Effect of Commercially Available Endodontic Sealers Against *Enterococcus faecalis*. Int J Pharm Sci Rev Res. 2017;44(2):186-7.

178. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dentin extends the antibacterial effect of endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms. J Endod. 2014;40(4):505-8.

179. Weckwerth PH, Lima FL, Greatti VR, Duarte MA, Vivan RR. Effects of the association of antifungal drugs on the antimicrobial action of endodontic sealers. Braz Oral Res. 2015;29.

180. Willershausen I, Callaway A, Briseno B, Willershausen B. In vitro analysis of the cytotoxicity and the antimicrobial effect of four endodontic sealers. Head Face Med. 2011;7:15.

181. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. Odontology. 2019.

182. Almeida LHS, Moraes RR, Morgental RD, Cava SS, Rosa WLO, Rodrigues P, et al. Synthesis of silver-containing calcium aluminate particles and their effects on a MTA-based endodontic sealer. *Dent Mater.* 2018;34(8):e214-e23.
183. Bukhari S, Karabucak B. The Antimicrobial Effect of Bioceramic Sealer on an 8-week Matured *Enterococcus faecalis* Biofilm Attached to Root Canal Dentinal Surface. *J Endod.* 2019.
184. Brezic A, Pezelj- Ribaric S, Baraba A. Antibacterial effects of root canal filling materials. *Acta Stomatol Croat.* 2017;51(1):79.
185. Colombo M, Poggio C, Dagna A, Meravini MV, Riva P, Trovati F, et al. Biological and physico-chemical properties of new root canal sealers. *J Clin Exp Dent.* 2018;10(2):e120-e6.
186. 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.
187. Gholamhoseini H, Alizahed S, Bolbolian M. In vitro evaluation of antimicrobial activity of three bioceramic endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Dental Specialty.* 2018;6(3):261-3.
188. Nejadshamsi P, Bagheri S, Sahranavard M, Bashardoust N. Comparative evaluation of antimicrobial effect of MTA fillapex sealer with two Resin-based sealers. *Int J Adv Biotechnol Res.* 2017;8(4):1056-60.
189. Omidi S, Hoshyari N, Mirzadeh AR, Hassanabadi ME, Ahajan M, Charati MY, et al. Comparison of Antibacterial Activity of Three Endodontic Sealers against *Enterococcus faecalis*. *J Res Med Dent Sci.* 2018;6(1):413-7.
190. Prathita T, Djauharie NK, Meidyawati R. Antimicrobial activity of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide on *Enterococcus faecalis* strain ATCC 29212. *Int J Appl Pharm.* 201;11(1).
191. Shin JH, Lee DY, Lee SH. Comparison of antimicrobial activity of traditional and new developed root sealers against pathogens related root canal. *J Dent Sci.* 2018;13(1):54-9.
192. Zordan-Bronzel CL, Tanomaru-Filho M, Rodrigues EM, Chavez-Andrade GM, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM. Cytocompatibility, bioactive potential and antimicrobial activity of an experimental calcium silicate-based endodontic sealer. *Int Endod J.* 2019;52(7):979-86.
193. Nezhadshamsi P, Forghan-parast K, Sahranavard Z. Comparison of the antibacterial effects of three endodontic root canal sealers (AH 26, AH Plus and MTA Fillapex) on *Enterococcus faecalis*. *Iran J Public Health.* 2014;43:32.



194. AlShwaimi E, Bogari D, Ajaj R, Al-Shahrani S, Almas K, Majeed A. In Vitro Antimicrobial Effectiveness of Root Canal Sealers against *Enterococcus faecalis*: A Systematic Review. J Endod. 2016;42(11):1588-97.
195. Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are Premixed Calcium Silicate-based Endodontic Sealers Comparable to Conventional Materials? A Systematic Review of In Vitro Studies. J Endod. 2017;43(4):527-35.
196. Donnermeyer D, Burklein S, Dammaschke T, Schafer E. Endodontic sealers based on calcium silicates: a systematic review. Odontology. 2019;107(4):421-36. Epub 2018/12/17.
197. Del Carpio-Perochena A, Bramante CM, Duarte MA, de Moura MR, Aouada FA, Kishen A. Chelating and antibacterial properties of chitosan nanoparticles on dentin. Restor Dent Endod. 2015;40(3):195-201.
198. Kayaoglu G, Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. Crit Reviews Oral Biol Med. 2004;15(5):308-20.
199. Menezes MM, Valera MC, Jorge AO, Koga-Ito CY, Camargo CH, Mancini MN. In vitro evaluation of the effectiveness of irrigants and intracanal medicaments on microorganisms within root canals. Int Endod J. 2004;37(5):311-9.
200. Zehnder M, Guggenheim B. The mysterious appearance of enterococci in filled root canals. Int Endod J. 2009;42(4):277-87.
201. Chavez de Paz LE, Hamilton IR, Svensater G. Oral bacteria in biofilms exhibit slow reactivation from nutrient deprivation. Microbiology. 2008;154(Pt 7):1927-38.
202. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjogren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998;85(1):86-93.
203. Peciuliene V, Reynaud AH, Balciuniene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and enteric bacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J. 2001;34(6):429-34.
204. Nair PN, Sjogren U, Krey G, Kahnberg KE, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. J Endod. 1990;16(12):580-8.
205. de Deus DA. Editorial. Int Endod J. 2012;45:1063-4.
206. Lovato KF, Sedgley CM. Antibacterial activity of endosequence root repair material and proroot MTA against clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. J Endod. 2011;37(11):1542-6.

207. Cobankara FK, Altinoz HC, Ergani O, Kav K, Belli S. In vitro antibacterial activities of root-canal sealers by using two different methods. *J Endod.* 2004;30(1):57-60.
208. Kuga MC, Fariol G, Weckwerth AC, Hungaro Duaertel MA, de Campos EA, Reis So MV. Evaluation of the pH, calcium release and antibacterial activity of MTA Fillapex. *Rev Odontol UNESP* 2013;42.
209. Nair PN. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J.* 2006;39(4):249-81.
210. Rezende GC, Massunari L, Queiroz IO, Gomes Filho JE, Jacinto RC, Lodi CS, et al. Antimicrobial action of calcium hydroxide-based endodontic sealers after setting, against *E. faecalis* biofilm. *Braz Oral Res.* 2016;30.
211. Bailon-Sanchez ME, Baca P, Ruiz-Linares M, Ferrer-Luque CM. Antibacterial and anti-biofilm activity of AH plus with chlorhexidine and cetrimide. *J Endod.* 2014;40(7):977-81.
212. Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss EI, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. *J Endod.* 2008;34(6):735-8.
213. Prullage RK, Urban K, Schafer E, Dammaschke T. Material Properties of a Tricalcium Silicate-containing, a Mineral Trioxide Aggregate-containing, and an Epoxy Resin-based Root Canal Sealer. *J Endod.* 2016;42(12):1784-8.

## 10. ŽIVOTOPIS

Marija Šimundić Munitić, dr. med. dent.

Stomatološka poliklinika Split

Tel: 021/ 386- 126

E- mail: msimundic4@gmail.com

### Obrazovanje

- 2016.- danas Poslijediplomski doktorski studij „Translacijska istraživanja u biomedicini“ (TRIBE), Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
- 2013.- 2016. Poslijediplomski specijalistički studij „Dentalna medicina“, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- 2012. -2015. Specijalizacija iz područja Endodoncije i restaurativne dentalne medicine

### Radno iskustvo

- 2011.- danas Stomatološka poliklinika Split
- 2010.- 2011. Primarne stomatološke ordinacije u Splitu i Omišu
- 2009.- 2010. Staž pri Domu zdravlja Splitsko- Dalmatinske županije

### Jezici

- Hrvatski jezik (materinji)
- Engleski jezik (napredno)
- Njemački jezik (napredno)

### Znanstveni članci

- Šimundić Munitić M, Bago I, Glockner K, Kqiku L, Gabrić D, Anić I. Effect of Different Laser Treatments on the Bond Strength of Intracanal Fiber Posts Cemented with a Self-Adhesive Resin Cement. J Prosthodont. 2019.
- Šimundić Munitić M, Poklepović Peričić T, Utrobičić A, Bago I, Puljak L. Antimicrobial efficacy of commercially available endodontic bioceramic root canal sealers: A systematic review. PLoS One. 2019.
- Šimundić Munitić M, Budimir A, Jakovljević S, Anić I, Bago I. Short-Term Antibacterial Efficacy of Three Bioceramic Root Canal Sealers Against *Enterococcus Faecalis* Biofilms. Acta Stomatol Croat. 2020.

- Suk M, Bago I, Katić M, Šnjarić D, Šimundić Munitić M, Anić I. The efficacy of photon-initiated photoacoustic streaming in the removal of calcium silicate-based filling remnants from the root canal after rotary retreatment. *Lasers Med Sci.* 2017.

### **Kongresi**

- 2019. Predavanje „Endodoncija u svakodnevnoj praksi“ na kongresu Hrvatskog endodontskog društva u Zagrebu
- 2019. Predavanje „Biokeramički materijali i antibiotici u endodonciji“ na Cochran simpoziju u Zagrebu
- 2019. Predavanje „Renesansa endodoncije- novi tehnike i materijali“ na kongresu Hrvatskog parodontološkog društva u Puli
- 2019. Predavanje „Dnevnik jednog endodonta“ na kongresu „Practical knowledge for students 2019“ u Splitu
- 2018. Predavanje „Primjena antibiotika kod rizičnih pacijenata“ na skupu Hrvatskog endodontskog društva u Zagrebu
- 2015.-Predavanje "Rizični pacijent u ordinaciji dentalne medicine" na kongresu Hrvatskog endodontskog društva
- 2015. Poster prezentacija na kongresu Europskog endodontskog društva u Barceloni

### **Članstva**

- Hrvatska komora dentalne medicine
- Hrvatsko endodontsko društvo (nadzorni odbor)
- Europsko endodontsko društvo