

Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci



**BIOFILM V ENDODONCII A MOŽNOSTI JEHO
OVLIVNĚNÍ**

Doktorandská dizertačná práca

Autor: MDDr. Matej Rosa

Vedúci práce: stomatolog Yuliya Morozova, Ph.D.

Olomouc 2024

Odbor: Stomatologie

Čestné prehlásenie:

Prehlasujem, že som danú dizertačnú prácu vykonal samostatne a že som uviedol všetku použitú literatúru a iné pramene.

V Olomouci

MDDr. Matej Rosa

Pod'akovanie

Ďakujem svojej školiteľke, stomatologičke Yulii Morozovej, Ph.D., za vedenie, pomoc a všetky cenné rady, ktoré mi počas môjho doktorského štúdia poskytla. Taktiež by som rád poďakoval MUDr. Kateřine Bogdanovej, Ph.D., za uvedenie do problematiky stanovovania antibakteriálnej aktivity jednotlivých materiálov a pomoc pri realizácii in vitro časti tejto práce. Veľká vďaka patrí tiež Mgr. Kateřine Langovej, Ph.D., za analýzu a štatistické spracovanie dát in vitro, ako aj in vivo časti tejto práce.

Mnohonásobné ďakujem patrí mojej rodine a kamarátom, ktorí ma počas celého môjho doktorského štúdia podporovali. V neposlednom rade chcem poďakovať všetkým mojim kolegom a priateľom z Konzervačného oddělení Kliniky zubního lékařství LF UP a FN Olomouc, za vytvorenie vynikajúceho kolektívu, bez ktorého by táto práca vznikala podstatne dlhší čas.

In vitro časť tejto práce vznikla za podpory grantu IGA_LF_2021_025 s názvom „Antibakteriální aktivita vybraných endodontických sealrů“. Nositeľom / príjemcom daného projektu bola Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci, riešiteľom projektu bol MDDr. Matej Rosa.

Anotácia

Táto práca sa zaoberá možnosťami ovplyvnenia bakteriálneho biofilmu v endodoncií. Je rozdelená do dvoch častí. Teoretická časť pojednáva o bakteriálnej infekcii koreňového kanáliku a o metódach jej eradikácie počas endodontického ošetrovania, ako aj o rôznych definitívnych výplňových materiáloch a ich fyzikálnych, chemických a antimikrobiálnych vlastnostiach.

Praktická časť je zameraná na antimikrobiálne pôsobenie vybraných definitívnych endodontických obturačných materiálov. Jej prvá časť porovnáva antibakteriálnu aktivitu troch vybraných endodontických sealerov na blokoch dentinu v in vitro podmienkach. Druhá časť pozostáva z retrospektívnej in vivo štúdie, v ktorej bola zisťovaná úspešnosť primárneho endodontického ošetrovania vykonaného na Klinice zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci počas obdobia desiatich rokov a v ktorej bol porovnávaný vplyv typu zubu, závažnosti diagnózy a typu definitívneho obturačného materiálu na úspešnosť endodontického ošetrovania.

Výsledky tejto práce by mali pomôcť zubnému lekárovi v pochopení procesu eliminácie mikrobiálnej infekcie z koreňového kanáliku a vo voľbe vhodného materiálu určeného k jeho definitívnemu uzavretiu.

Annotation

This thesis is aimed at means of affecting the bacterial biofilm in endodontics. It consists of two parts. Theoretical part discusses about the bacterial infection of the root canal and the means of its eradication during endodontic treatment, as well as different definitive root canal obturation materials and their physical, chemical and antimicrobial properties.

Practical part is aimed at the antimicrobial action of selected definitive root canal obturation materials. First half compares the antibacterial activity of three selected root canal sealers in dentin blocks in vitro. Second half consists of retrospective in vivo study, which assessed the success rate of primary endodontic treatment provided at the Department of Operative Dentistry and Endodontics at Institute of Dentistry and Oral Sciences of Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and Faculty Hospital in Olomouc in range of ten years and which compared the impact of tooth type, severity of diagnosis and type of definitive obturation material on overall success rate of primary endodontic treatment.

The outcomes of this thesis should help the dentist in understanding the process of elimination of the microbial infection from the root canal and help with the proper choice of the definitive endodontic obturation material.

Obsah

| | |
|--|----|
| Úvod..... | 1 |
| 1 Ciele práce | 2 |
| 2 Teoretická časť..... | 3 |
| 2.1 Mikroorganizmy | 3 |
| 2.1.1 Biofilm | 3 |
| 2.1.2 Mikroorganizmy primárnych infekcií..... | 4 |
| 2.1.3 Mikroorganizmy sekundárnych infekcií..... | 5 |
| 2.1.4 Enterococcus faecalis..... | 5 |
| 2.2 Dezinfekcia v endodoncií | 7 |
| 2.2.1 Výplachové prostriedky v endodoncií | 7 |
| 2.2.1.1 Chlórnan sodný..... | 8 |
| 2.2.1.2 Chlórhedixín | 9 |
| 2.2.1.3 Chelatačné činidlá | 11 |
| 2.2.1.4 Ďalšie výplachové prostriedky v endodoncií | 11 |
| 2.2.1.5 Aktivácia výplachových prostriedkov v endodoncií | 12 |
| 2.2.1.5.1 Manuálna aktivácia | 12 |
| 2.2.1.5.2 Strojová aktivácia..... | 12 |
| 2.2.2 Dezinfekčné vložky | 14 |
| 2.2.2.1 Hydroxid vápenatý | 15 |
| 2.2.2.2 Ďalšie dezinfekčné vložky v endodoncií..... | 16 |
| 2.3 Definitívna koreňová výplň | 17 |
| 2.3.1 Gutaperča | 18 |
| 2.3.2 Endodontické sealery | 21 |
| 2.3.2.1 Sealery na báze hydroxidu vápenatého | 22 |
| 2.3.2.2 Sealery na báze zinkoxid eugenolu | 24 |
| 2.3.2.3 Polyepoxidové sealery..... | 26 |
| 2.3.2.4 Biokeramické materiály..... | 28 |

| | | |
|---------|--|----|
| 3 | Vlastná práca..... | 33 |
| 3.1 | In vitro štúdia | 33 |
| 3.1.1 | Úvod a ciele | 33 |
| 3.1.2 | Pracovné hypotézy | 33 |
| 3.1.3 | Materiály a metodika | 34 |
| 3.1.3.1 | Vzorky dentinu | 34 |
| 3.1.3.2 | Infekcia vzoriek dentinu | 37 |
| 3.1.3.3 | Aplikácia sealerov | 38 |
| 3.1.3.4 | Testovanie antibakteriálnej aktivity | 39 |
| 3.1.4 | Výsledky | 43 |
| 3.1.4.1 | Krátkodobá antibakteriálna aktivita | 43 |
| 3.1.4.2 | Dlhodobá aktivita | 46 |
| 3.1.5 | Diskusie | 48 |
| 3.1.6 | Záver | 53 |
| 3.2 | In vivo štúdia | 55 |
| 3.2.1 | Úvod a ciele | 55 |
| 3.2.2 | Pracovné hypotézy | 55 |
| 3.2.3 | Materiály a metodika | 56 |
| 3.2.4 | Výsledky | 59 |
| 3.2.4.1 | Popisná štatistika | 60 |
| 3.2.4.2 | Korelácie..... | 64 |
| 3.2.5 | Diskusie | 71 |
| 3.2.6 | Záver | 74 |
| 4 | Záver pre prax..... | 75 |
| | Zoznam použitej literatúry..... | 77 |

Zoznam obrázkov

| | |
|--|----|
| Obrázok 1: Typy koreňových kanálikov podľa Vertucciho | 7 |
| Obrázok 2: Hnedý precipitát vznikajúci zmiešaním chlórhexidínu s NaClO | 10 |
| Obrázok 3: Sonický aktivátor..... | 13 |
| Obrázok 4: Ultrasonický aktivátor | 14 |
| Obrázok 5: Prístroj k injekčnej termoplastickej gutaperči | 19 |
| Obrázok 6: Gutaperčové čapy | 20 |
| Obrázok 7: Zafarbenie tvrdých zubných tkanív zinkoxideugenolovým sealerom..... | 25 |
| Obrázok 8: Oprava perforácie biokeramickým materiálom..... | 29 |
| Obrázok 9: Široký koreňový kanálik zaplnený biokeramickým materiálom..... | 29 |
| Obrázok 10: Rozrezaný teľací rezák fixovaný v sádre | 35 |
| Obrázok 11: Hotový dentinový bloček | 36 |
| Obrázok 12: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Pozitívna kontrola | 39 |
| Obrázok 13: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Negatívna kontrola..... | 40 |
| Obrázok 14: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Endomethasone N..... | 40 |
| Obrázok 15: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - ADSeal | 41 |
| Obrázok 16: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - BioRoot RCS..... | 41 |
| Obrázok 17: Úspešné endodontické ošetrenie. a – RVG snímka bezprostredne po plnení (2022), b – kontrolná RVG snímka (2023)..... | 58 |
| Obrázok 18: Neúspešné endodontické ošetrenie. a – RVG snímka bezprostredne po plnení (2013), b – kontrolná RVG snímka (2019)..... | 58 |

Zoznam tabuliek

| | |
|--|----|
| Tabuľka 1: Vlastnosti ideálnej dezinfekčnej vložky | 15 |
| Tabuľka 2: Vlastnosti ideálneho koreňového výplňového materiálu | 18 |
| Tabuľka 3: Rozdelenie endodontických sealerov | 21 |
| Tabuľka 4: Namerané hodnoty log CFU / ml pre každú z vzoriek dentinu, krátkodobá antibakteriálna aktivita..... | 42 |
| Tabuľka 5: : Namerané hodnoty log CFU / ml pre každú z vzoriek dentinu, dlhodobá antibakteriálna aktivita..... | 42 |
| Tabuľka 6: Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s negatívnou kontrolou pomocou ANOVA..... | 43 |
| Tabuľka 7: Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s pozitívnou kontrolou pomocou ANOVA..... | 44 |
| Tabuľka 8: Porovnanie hodnôt jednotlivých vzoriek s pozitívnou kontrolnou skupinou pomocou Dunettových post hoc testov | 44 |
| Tabuľka 9: Popis súborov pomocou mediánu, minimálnej a maximálnej hodnoty, p-hodnota Kruskal-Wallisovho testu..... | 46 |
| Tabuľka 10: Post hoc testy – porovnanie voči kontrolám s Bonferroniho korekci | 47 |
| Tabuľka 11: Zastúpenie jednotlivých endodonticky ošetrovaných zubov | 60 |
| Tabuľka 12: Popisná štatistika sledovaných kritérií | 62 |
| Tabuľka 13: Korelácia medzi úspešnosťou endodontického ošetrovania a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu. a - Mannov-Whitneyov test, b - Fischerov presný test | 65 |

| | |
|--|----|
| Tabuľka 14: Korelácia medzi tri a viac ročnou dobou prežitia a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu. a - Mannov-Whitneyov test, b - Fischerov presný test | 66 |
| Tabuľka 15: Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia, overený Mannovym-Whitneyovým testom | 67 |
| Tabuľka 16: Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a tri a viac ročnou dobou prežitia, overený Mannovym-Whitneyovým testom | 69 |

Zoznam grafov

| | |
|--|----|
| Graf 1: : Rozloženie kvantitatívnych veličín merania krátkodobej antibakteriálnej aktivity. Skupiny s rovnakým písmenom v hornom indexe nepredstavujú štatisticky významné rozdiely | 45 |
| Graf 2: : Rozloženie kvantitatívnych veličín merania dlhodobej antibakteriálnej aktivity. Skupiny s rovnakým písmenom v hornom indexe nepredstavujú štatisticky významné rozdiely | 48 |
| Graf 3: Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia | 63 |
| Graf 4: Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia po vyradení skupiny zubov s dôvodom zlyhania "Iné", zo štatistického súboru..... | 64 |

Zoznam skratiek

| | |
|--------------------------|---|
| ADA..... | American Dental Association |
| ADT | Difúzny test na agare |
| ANOVA..... | Analýza rozptylu |
| ANSI..... | American National Standards Institute |
| ATP..... | Adenozíntrifosfát |
| BHI..... | Bujón brain heart infusion |
| CFU..... | Colony-forming unit |
| DCT | Test priameho kontaktu |
| DNA..... | Deoxyribonukleová kyselina |
| <i>E. faecalis</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> |
| EDTA..... | Kyselina etylendiamintetraoctová |
| FN | Fakultní nemocnice |
| ICD..... | International Classification of Diseases |
| ISO..... | International Organization for Standardization |
| LF UP..... | Lékařská falulta Univerzity Palackého |
| MFU..... | McFarland units |
| NaClO | Chlórnan sodný |
| RNA..... | Ribonukleová kyselina |
| SD | Smerodajná odchýlka |

Úvod

Endodontické ošetrenie je jedným zo základných výkonov konzervačného zubného lekárstva. Je indikované v prípade ireverzibilného poškodenia, nekrózy, alebo gangrény pulpy s alebo bez klinických a / alebo rádiologických príznakov periodontitis. Ďalej je vykonávané z protetických príčin v prípadoch, keď by preparáciou nevhodne postaveného zubu v zubnom oblúku došlo k trepanácií pulpálnej dutiny alebo, ak zvyšné tvrdé zubné tkanivo nedokáže dostatočne podporiť protetickú prácu. Taktiež je indikované pred rekonštrukciou zubov s otáznou vitalitou pulpy a pred výkonmi ako napríklad hemiextrakcia, hemisekcia alebo amputácia koreňa zubu. Cieľom endodontického ošetrenia je zachovanie periradikulárneho tkaniva (periodoncia a alveolárnej kosti) alebo jeho obnova do pôvodného stavu (1), a tým prevencia vzniku alebo eliminácia už vzniknutej periodontitis (2).

S poškodením endodontu sú úzko späté mikroorganizmy, ktoré hrajú významnú úlohu v rozvoji zápalových ochorení pulpy a periodoncia (3,4) a sú taktiež jednou z hlavných príčin zlyhania primárnej endodontickej terapie (5). Základom každého úspešného endodontického ošetrenia je túto mikroflóru z koreňových kanálikov eliminovať (6), čo však v skutočnosti nikdy nie je stopercentne možné a v opracovanom koreňovom systéme je vždy ponechané určité množstvo životaschopných baktérií (6,7). Úlohou definitívnej koreňovej výplne je túto reziduálnu bakteriálnu mikroflóru v dentinových tubuloch koreňového kanáliku zapečatiť (8), a tým jej zabrániť v komunikácii s periodonciom (9), ako aj svojím pôsobením znížiť počet životaschopných baktérií (10).

Dnešný trh s dentálnymi materiálmi ponúka široký výber endodontických sealerov, ktoré sa líšia svojím zložením, chemickými reakciami a vedľajšími produktmi ich tuhnutia, a tým pádom aj jednotlivými svojimi vlastnosťami. Dá sa teda predpokladať, že sealery odlišného zloženia budú mať rozdielny vplyv na bakteriálnu mikroflóru uväznenú v dentinových tubuloch, a tým pádom aj na dlhodobý, úspešný výsledok endodontického ošetrenia.

1 Ciele práce

Cieľom práce je zistiť krátkodobú, ako aj dlhodobú antibakteriálnu aktivitu troch rôznych endodontických sealerov na mikrobiálnu kultúru *Enterococcus faecalis* a porovnať ju s antibakteriálnym účinkom sealeru založeného na báze hydroxidu vápenatého v in vitro podmienkach.

Ďalším cieľom práce je získané výsledky v in vitro časti porovnať so situáciou in vivo a to retrospektívnou štúdiou pacientov ošetrených na Klinice zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci v období 10 rokov.

2 Teoretická časť

2.1 Mikroorganizmy

V prípade, že dôjde k nekróze pulpy, napríklad vplyvom zubného kazu, traumy, alebo iatrogénne, nie je už táto schopná odolávať ataku mikroorganizmov, čo vedie k infekcií koreňového systému. To je možné aj v prípade, ak sa pulpa následkom endodontického ošetrovania v koreňovom systéme už nenachádza. Infekcia následne postupuje koreňovým kanálkom apikálne, až baktérie a / alebo ich faktory virulencie nedosiahnu periodoncium, čo spôsobí jeho zápal (11). Miera tohto zápalu a jeho symptómy sú priamo závislé od množstva baktérií v koreňovom systéme a od ich virulencie, ako aj od odpovede organizmu (12). Vo všeobecnosti však možno povedať, že práve odpoveď organizmu na infekciu má najväčší podiel na poškodení periodontálneho tkaniva (13).

2.1.1 Biofilm

Mikroorganizmy podieľajúce sa na infekcii koreňového systému typicky tvoria biofilm (14), k čomu je nutná ich adherencia k povrchu koreňového kanálku, ako aj k iným mikroorganizmom (12). Kolónie týchto mikroorganizmov sa nachádzajú vnútri matrix, zloženej z extracelulárnych polymérnych substancií, ktoré si samy vytvárajú a majú pozmenený fenotyp v závislosti na ich génovej expresii a rýchlosti rastu (15).

Biofilm poskytuje mikroorganizmom v ňom žijúcim väčší priestor k ich rastu. Primárni kolonizátori svojím metabolizmom vytvárajú podmienky k prichyteniu a rastu sekundárnych kolonizátorov a tým sa v čase mení diverzita biofilmu. Molekuly, ktoré sú za normálnych okolností jednotlivými mikroorganizmami metabolicky nevyužitelné, sú často-krát štiepené mikrobiálnym spoločenstvom biofilmu, čím sa zvyšuje metabolická diverzita a efektívnosť mikroorganizmov. Biofilm taktiež zvyšuje odolnosť baktérií voči environmentálnej záťaži a pôsobeniu antimikrobiálnych látok a imunitnej odpovedi hostiteľského organizmu. Susediace bunky rozličných bakteriálnych druhov môžu produkovať neutralizujúce enzýmy ako β -laktamázu, IgA proteázu, katalázu a iné, čím ochraňujú iné, na pôsobenie antimikrobiálnych látok náchylné mikroorganizmy (16).

Biofilm sa prevažne nachádza intraradikálne a jeho prítomnosť bola zaznamenaná v 74 – 80 % zubov s periodontitis v neliečených, ako aj liečených prípadoch (17). Tento bakteriálny biofilm je vo väčšine prípadov relatívne hrubý a je zložený z niekoľkých vrstiev buniek (18). Najčastejšie prítomné sú koky, tyčinky a filanty, avšak určitý morfológus baktérií je v endodontickom biofilme vždy prevládajúci (19). Morfológia biofilmu sa teda individuálne líši medzi jednotlivými pacientmi a nie je možné definovať konkrétnu podobu biofilmu v endodoncií (17). Rozličná morfológia biofilmu je taktiež pozorovaná v prípade rôznych foriem ochorení endodontu, ako napríklad akútna a chronická periodontitída (20). Lumen koreňového kanálika v apikálnej tretine býva zväčša celkom vyplnené biofilmom (19) a niektoré druhy mikroorganizmov sú taktiež v rôznej miere schopné infikovať dentinové tubuly (12).

Extraradikálne sa endodontický biofilm vyskytuje menej často a jeho prítomnosť je závislá od prítomnosti intraradikálnej infekcie (17). Častejší je jeho výskyt v symptomatických prípadoch, kde bol nájdený v depozitách podobných zubnému kameňu na povrchu koreňa zubu, v abscesových dutinách priľahlých infikovanej apikálnej ramifikácií a v resorpčných lakunách, vždy obklopený polymorfonukleárami (21).

2.1.2 Mikroorganizmy primárnych infekcií

Najčastejšie mikroorganizmy izolované z infikovaných koreňových kanálikov endodonticky neošetrených zubov sú zástupcovia anaeróbných gramnegatívnych tyčínok: *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Tonarella forsythia*, *Prevotella* spp. a *Porphyromonas* spp. Často izolované bývajú taktiež spirochety (*Treponema* spp.), anaeróbne a fakultatívne anaeróbne grampozitívne koky a tyčinky (*Peptostreptococcus* spp., *Eubacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Actinomyces* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp.) (12,22).

2.1.3 Mikroorganizmy sekundárnych infekcií

Spektrum mikroorganizmov izolovaných z neúspešne endodonticky ošetrovaných zubov je mierne odlišné od mikroorganizmov primárnych infekcií. Prevládajú tu fakultatívne anaeróbne grampozitívne koky a tyčinky, ako napríklad *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Peptostreptococcus* a *Actinomyces*. Prítomné sú aj anaeróbne gramnegatívne tyčinky, prípadne baktérie rodu *Lactobacillus*, avšak v menšej miere, ako je tomu u primárnych infekcií (12). Častý je tiež výskyt zástupcov kvasiniek, najčastejšie *Candida albicans* (23).

2.1.4 *Enterococcus faecalis*

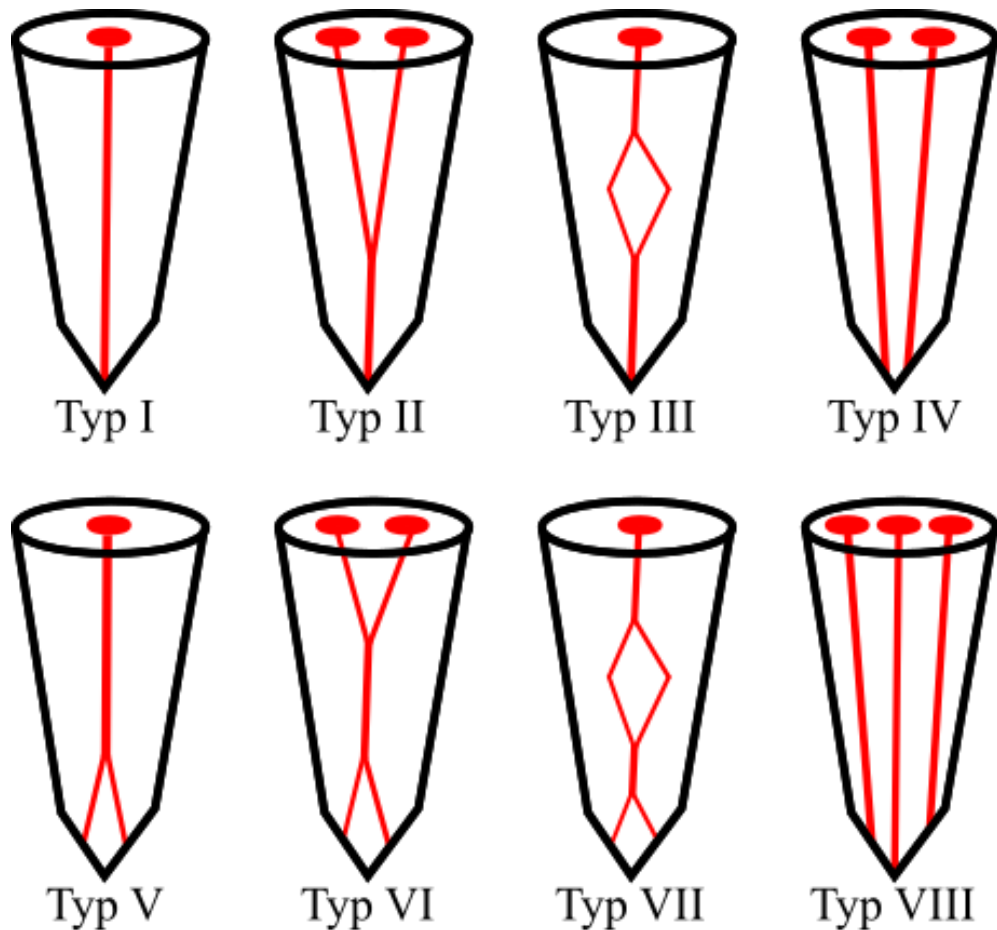
Enterococcus faecalis je grampozitívna, fakultatívne anaeróbna kokovitá baktéria vyskytujúca sa v krátkych reťazcoch (24). Ide o najčastejšie sa vyskytujúci bakteriálny druh izolovaný z neúspešne endodonticky ošetrovaných koreňových kanálikov (5,25). Vykazuje celú plejádu faktorov virulencie, ktorými sú prítomnosť lipoteichoovej kyseliny, peptidoglykánu, lytických enzýmov, ako napríklad cytozín, alebo hyaluronidáza, povrchových adhezínov, agregáčnych substancií a pohlavných feromónov (26). Práve prítomnosť lipoteichoovej kyseliny je považovaná za najdôležitejší etiologický faktor jeho patogenity. Kyselina lipoteichoová je zodpovedná za zápalovú odpoveď organizmu a poškodenie tkanív. Taktiež prispieva k adherencií baktérií a tvorbe biofilmu, čo výrazne ovplyvňuje bakteriálnu odolnosť voči dezinfekčným prostriedkom, antibiotikám a antimikrobiálnym molekulám hostiteľského organizmu (27). Kyselina lipoteichoová izolovaná z bunkovej steny *E. faecalis* je schopná indukovať tvorbu prozápalových cytokínov (28).

E. faecalis je schopný adherovať ku stene koreňového kanálika (29), ako aj infikovať do hĺbky dentinových tubulov (30). Jeho adherencia ku kolagénu dentinovej steny je posilnená vplyvom rastu v alkalických podmienkach, ktoré sú v koreňovom kanáliku častokrát navodené použitím dezinfekčnej vložky z hydroxidu vápenatého, čo zvyšuje jeho infekčnosť a tiež pravdepodobnosť vzniku reziduálnej infekcie (31). Jeho prežitie v alkalickom prostredí je zapríčinené predovšetkým zapojením protónovej pumpy, kedy *E. faecalis* dokáže pufrovať pH prostredia až do výšky 11,5 (32). Práve pre túto jeho vysokú odolnosť je *E. faecalis* najčastejšie používaným testovacím organizmom v endodontických štúdiách (12).

2.2 Dezinfekcia v endodoncií

2.2.1 Výplachové prostriedky v endodoncií

Eradikácia bakteriálnej infekcie endodontu je jednou zo základných úloh endodontického ošetrovania. Anatómia koreňových kanálikov však nikdy nie je jednoduchá a u každého pacienta rovnaká a jeden typ zubu môže mať hneď niekoľko odlišných typov koreňových kanálikov (Obr. 1) (33).



Obrázok 1: Typy koreňových kanálikov podľa Vertucciho

Navyše sa môžu jednotlivé koreňové kanáliky rozvetvovať, prípadne spájať početnými komunikáciami a taktiež môžu počas svojho priebehu vyúsťovať na povrch koreňa v podobe laterálnych koreňových kanálikov (34). Čisto mechanická inštrumentácia koreňového kanáliku je teda nedostatočná a ponecháva 35 a viac percent jeho povrchu neopracovaného (35). Je preto nutné doplniť mechanické opracovanie koreňového kanáliku vhodným výplachovým prostriedkom a koreňový kanálik tak opracovávať chemicko-mechanicky (36).

Z toho vyplýva, že ideálny výplachový prostriedok v endodoncií by mal mať antimikrobiálne pôsobenie. Ďalej je žiadúce, aby rozpúšťal organické a anorganické tkanivo, pôsobil v koreňovom kanáliku ako lubrikant, mal nízke povrchové napätie a samozrejme bol netoxický (37,38).

2.2.1.1 *Chlórnan sodný*

Chlórnan sodný (NaClO) je najčastejšie používaný výplachový prostriedok v endodoncií, pričom vykazuje takmer všetky vlastnosti ideálneho výplachu. Dokáže svojim pôsobením zahubiť mikroorganizmy organizované v biofilme na stene koreňového kanáliku a v dentinových tubuloch (39), a taktiež rozpúšťa nekrotické tkanivá (40) a organickú zložku smear layer (39), čo je vrstva pokrývajúca povrch koreňového kanáliku a zasahujúca do dentinových tubulov, ktorá vzniká preparáciou dentinových stien a ktorá je zložená z organických a anorganických substancií preparovaného dentinu, mikroorganizmov a nekrotických zvyškov obsahu koreňového kanáliku (41).

Za účelom endodontického ošetrovania sa používa v koncentráciách od 0,5 % do 5,25 % (38). So zvyšujúcou sa koncentráciou rastie jeho antimikrobiálny účinok, avšak od 2,5 % je tento nárast zanedbateľný (42), znižuje sa len čas pôsobenia potrebný na eradikáciu rovnakého množstva baktérií (43). Dokáže penetrovať do dentinových tubulov, a to do hĺbky 77 – 300 μm . Tá závisí od koncentrácie NaClO, jeho teploty a doby pôsobenia (44). Aj keď má NaClO výborné antimikrobiálne vlastnosti, jeho schopnosť inaktivovať bakteriálny endotoxín minimálna (45,46).

Vyššia koncentrácia má taktiež za následok rýchlejšie rozpúšťanie organického tkaniva (47,48), ale aj jeho vyššiu toxicitu (39), ktorá sa prejaví pri jeho nechcenom pretlačení cez foramen apicale do periodoncia, ako okamžitá, výrazná bolesť s profúznym krvácaním z koreňového kanáliku a v extrémnych prípadoch edémom okolitých mäkkých tkanív, spojeným s možnou reverzibilnou anestéziou, alebo hypestéziou postihnutej oblasti (49). Zvýšená koncentrácia NaClO nepriaznivo vplyva na model pružnosti dentinu a znižuje jeho pevnosť v ohybe, čo môže zvýšiť náchylnosť endodonticky ošetrovaného zubu k fraktúram (50). Ďalšou negatívnou vlastnosťou je možný výskyt alergickej reakcie pri použití NaClO. Ide však o relatívne vzácnu komplikáciu (49).

2.2.1.2 Chlórhexidín

Ďalším z dostupných výplachových prostriedkov je chlórhexidín, konkrétne jeho vo vode rozpustná soľ chlórhexidín diglukonát. Ide o látku, ktorá sa používa najmä v parodontológii, ako prostriedok chemickej kontroly zubného plaku (51), a to v koncentráciách od 0,1 % do 0,2 %. V endodoncii sa používa v koncentráciách rovných 2 % (39). Chlórhexidín má výrazný antimikrobiálny účinok, a to hlavne na grampozitívne baktérie, menovite *E. faecalis* (39,52), pričom vykazuje nižšiu toxicitu v porovnaní s NaClO (53). Jeho antibakteriálne pôsobenie je pravdepodobne založené na koagulácii nukleoproteínov, čo vedie k inhibícii syntézy bunkovej steny baktérií a následnej smrti bakteriálnej bunky (31). Taktiež je schopný sa viazať na hydroxylapatit, hlavnú anorganickú zložku dentinu, z ktorého sa postupne uvoľňuje, čím dokáže v koreňovom kanáliku na určitý čas udržovať baktériostatické prostredie (52). Aj keď má chlórhexidín zreteľný účinok na grampozitívne baktérie, voči gramnegatívnym baktériám pôsobí menej efektívne (39) a jeho schopnosť inaktivovať bakteriálny endotoxín je nedostatočná (45,46). Taktiež nie je schopný rozpúšťať nekrotické organické tkanivá (40). Ďalšou jeho negatívnou vlastnosťou je tvorba hnedého precipitátu po zmiešaní s NaClO (Obr. 2).



Obrázok 2: Hnedý precipitát vznikajúci zmiešaním chlórhexidínu s NaClO

Ten je ťažko odstrániteľný zo stien koreňového kanáliku, môže upchávať laterálne kanáliky a spojky, nepriaznivo vplýva na tesniaci účinok definitívnej koreňovej výplne a môže spôsobiť diskoloráciu ošetrovaného zubu (54). Navyše sa predpokladá, že daným precipitátom je parachlóranilín, látka s karcinogénnym účinkom (53), aj keď niektoré štúdie prítomnosť parachlóranilínu v precipitáte nepreukázali (54). Chlórhexidín sa pre jeho nedostatočné pôsobenie voči gramnegatívnym baktériám a neschopnosť rozpúšťať organické tkanivo v endodontickej praxi často nevyužíva.

2.2.1.3 *Chelatačné činidlá*

Počas opracovania koreňového kanáliku vzniká na jeho stene smear layer, ktorej hrúbka a objem nie sú konštantne predvídateľné. Obsahuje okrem iného zvyšky nekrotického tkaniva a baktérie, pre ktoré pôsobí ako substrát a ktoré v nej môžu prežívať, množiť sa a penetrovať do dentinových tubulov. Antimikrobiálny účinok dezinfekčných prostriedkov na baktérie penetrujúce do dentinových tubulov môže byť vplyvom smear layer výrazne znížený. Taktiež pôsobí ako prekážka medzi stenou koreňového kanáliku a definitívnym obturačným materiálom, čo vedie k nedostatočnému utesneniu koreňového kanáliku a priesaku baktérií pozdĺž koreňovej výplne (41). Je preto nutné smear layer odstrániť. Keďže NaClO, ani chlórhexidín nedokážu odstrániť anorganickú zložku smear layer (41), je nutné počas endodontického ošetrenia využiť pôsobenie chelatačných činidiel.

Najčastejšie používaným chelatačným činidlom je kyselina etylendiamintetraoctová (EDTA). Tá sa používa v 17 % koncentrácií a v kanáliku sa ponecháva po dobu jednej minúty (55), pričom chelatačný účinok je samolimitujúci, keďže prebiehajúcimi chemickými reakciami dochádza k jej spotrebovaniu (56). EDTA vykazuje fungicídny efekt a dokáže narušiť adhéziu bakteriálneho biofilmu k stene koreňového kanáliku. Navyše, pri dlhšom pôsobení dokáže odstraňovať kovové ióny bunkovej membrány baktérií, čo vedie k ich degradácii (15). Treba však podotknúť, že predĺžená doba pôsobenia EDTA môže viesť k oslabeniu dentinovej steny koreňového kanáliku (57).

Ďalším často používaným chelatačným prostriedkom v endodoncii je kyselina citrónová, ktorej účinnosť je mierne vyššia v porovnaní s EDTA, a ktorá sa používa v 10 % koncentrácií (58).

2.2.1.4 *Ďalšie výplachové prostriedky v endodoncii*

Na trhu existuje celá rada ďalších prostriedkov určených k dezinfekcii koreňového kanáliku. Jedným z nich je QMiX, čo je zmes chlórhexidínu, EDTA a detergentu, ktorej účinok na *E. faecalis* v mladom, nevzretom biofilme je porovnateľný s účinkom 6 % NaClO. V prípade vzretého biofilmu, však bol jeho antibakteriálny účinok horší.

MTAD je ďalší výplachový prostriedok zložený z doxycyklínu, kyseliny citrónovej a detergentu. Výsledky jeho antibakteriálnej aktivity sú zmiešané, pričom vo väčšine štúdií je jeho pôsobenie voči biofilmu v porovnaní s NaClO horšie (55).

2.2.1.5 *Aktivácia výplachových prostriedkov v endodoncii*

Na zlepšenie vlastností endodontického výplachového prostriedku a jeho spoľahlivé zatečenie do miest, ktoré nie sú mechanickému opracovaniu prístupné, je doporučená jeho aktivácia v koreňovom kanáliku (25). Metód aktivácie endodontického výplachu je mnoho.

2.2.1.5.1 *Manuálna aktivácia*

Najjednoduchšou a zároveň najdostupnejšou metódou je manuálna aktivácia. Tá v obmedzenej miere prebieha už počas samotného vyplachovania pomocou striekačky s kanylou (59), kedy prietok výplachového prostriedku môže oddeliť, alebo rozrušiť biofilm, preparačnú drť a nekrotické zvyšky pulpálneho tkaniva zo steny koreňového kanáliku (60). Zvýšenie efektivity výplachového prostriedku možno dosiahnuť manuálnou agitáciou gutaperčovým čapom, ktorého veľkosť a kónus sú zhodné s veľkosťou a kónusom apikálnej preparácie, pričom týmto je nutné v koreňovom kanáliku pohybovať apiko-koronálnym smerom s frekvenciou 100 pohybův za 30 sekúnd (61). Taktiež je možné použiť výplachové kanyly pokryté jemnými štetinkami (62), kde ale hrozí ich oddelenie v koreňovom kanáliku (59).

2.2.1.5.2 *Strojová aktivácia*

Ďalšou možnosťou, ako aktivovať výplachový prostriedok je použitie špeciálnych prístrojův pracujúcich na rôznych fyzikálnych princípoch. Jedným z nich sú prístroje využívajúce rozdiel tlakov (59). Patrí sem napríklad systém EndoVac, využívajúci apikálny podtlak, vytvorený umiestnením jemnej odsávacej koncovky do blízkosti foramen apicale (63). Tým je zabezpečený konštantný prietok čerstvého výplachového prostriedku koreňovým kanálikom za minimalizácie rizika jeho pretlačenia do periapikálneho priestoru a taktiež je zlepšený odvod detritu (64).

Iným typom aktivácie je sonická aktivácia (Obr. 3). Tá k svojej činnosti využíva osciláciu koncoviek o frekvenciách medzi 1000 a 6000 hertzami (59). Výskumy však ukázali minimálny (65) alebo žiadny (66) rozdiel v odstránení detritu z hlavného koreňového kanálíku a istmov, v porovnaní s bežným vyplachovaním výplachovou kanylou.



Obrázok 3: Sonický aktivátor

Ultrasonická aktivácia (Obr. 4.) využíva frekvencie medzi 25 a 32 kilohertzami, v dôsledku čoho dochádza k rýchlemu pohybu výplachového prostriedku v okolí ultrazvukovej koncovky a tým k zlepšenému odvodu detritu a zároveň k distribúcií výplachu do odľahlých priestorov koreňového kanálíka (59). Rýchlo meniaci sa tlak výplachového roztoku počas ultrasonickej aktivácie môže zapríčiniť jeho akustickú kavitáciu, čím sa zvýši pravdepodobnosť oddelenia biofilmu, detritu a nekrotických tkanív zo steny koreňového kanálíka (67). Časť kinetickej energie je premenená na teplo (68), čo v prípade NaClO vedie k zlepšeniu jeho schopnosti rozpúšťať organické tkanivá (47,69). Ultrazvuková aktivácia výplachu zlepšuje debridement neopracovaných laterálnych kanálikov a spojok, avšak dôkazy o zlepšení antimikrobiálneho pôsobenia výplachu sú obmedzené (67).



Obrázok 4: Ultrasonický aktivátor

K aktivácií je tiež možné použiť laser, ktorého pôsobením dochádza ku kavitácií výplachového prostriedku, čo vedie k jeho miernemu zahriatiu a k zlepšenému očisťovaniu stien koreňového kanálika od preparačnej drte (70). V endodoncií sú za týmto účelom používané Nd: YAG, Nd: YAP, Er: YAG a Er: Cr lasery (59). Podľa doterajších výskumov je aktivácia laserom schopná zvýšiť schopnosť NaClO rozpúšťať organické tkanivá (71). Taktiež bol laserom aktivovaný výplach schopný lepšie odstrániť biofilm zo steny koreňového kanálika v porovnaní s ultrazvukovou aktiváciou. Tento výsledok bol však dosiahnutý len za použitia fyziologického roztoku, ako výplachového činidla. V prípade použitia NaClO boli rozdiely v oboch metódach aktivácie zanedbateľné (72).

2.2.2 *Dezinfekčné vložky*

Dezinfekčné vložky v endodoncií sú používané prevažne v prípade ošetrovania infikovaných koreňových kanálikov, kedy použitie samotného výplachového prostriedku nedokáže zabezpečiť redukciu počtu mikroorganizmov (73). V takomto prípade od dezinfekčnej vložky očakávame elimináciu zvyšných mikroorganizmov a redukciu zápalovej odpovedi periapikálneho tkaniva (74). Vlastnosti ideálnej dezinfekčnej vložky sú uvedené v Tabuľke 1 (Tab. 1) (37).

Tabuľka 1: Vlastnosti ideálnej dezinfekčnej vložky

| Žiadúce | | Nežiadúce |
|--|--------------------------------------|--|
| Dezinfekcia celého koreňového systému | Indukcia remineralizácie | Zafarbovanie tvrdých zubných tkanív |
| Dlhotrvajúci antimikrobiálny efekt | Analgetické pôsobenie | Ovplyvňovanie definitívneho výplňového materiálu |
| Odstraňovanie zvyšku organického materiálu | Jednoduché nanášanie a odstraňovanie | |
| Penetrácia do dentinových tubulov | Röntgenkontrastnosť | |
| Nedráždiť periapikálne tkanivo | Finančná dostupnosť | |
| Nulová toxicita pre organizmus | | |

2.2.2.1 *Hydroxid vápenatý*

Hydroxid vápenatý je biely prášok s nízkou rozpustnosťou vo vode a vysokým pH okolo 12,5 – 12,8. Prvýkrát bol použitý v endodoncii ako prostriedok na priame prekrytie zubnej drene v dvadsiatych rokoch dvadsiateho storočia (75). Pri jeho kontakte s vitálnou pulpou dochádza k rozvoju okrsku nekrózy, ohraničenej kalcifikovaným tkanivom a vrstvou novo diferencovaných odontoblastov (76). Podobný proces prebieha aj pri jeho náhodnom pretlačení cez apex do periodontia. Pri kontakte s tkanivovými tekutinami sa hydroxid vápenatý rozloží na vápenaté ióny, reagujúce s oxidom uhličitým a uhličitými aniónmi z tkanív, za vzniku precipitátov uhličitanu vápenatého, v blízkosti ktorých dochádza k akumulácii fibronektínu, čo umožňuje adhéziu a diferenciáciu buniek (75). Možno teda povedať, že aj napriek jeho výrazným zásaditým vlastnostiam ide o relatívne bezpečný a biokompatibilný materiál. Jeho vysoké pH tiež pomáha rozkladať nekrotické zvyšky organického tkaniva (77).

Antibakteriálne pôsobenie hydroxidu vápenatého je založené na pomalom uvoľňovaní hydroxylových aniónov vo vodnom prostredí vďaka nízkemu koeficientu rozpustnosti rovnému 0,17. Uvoľnené hydroxylové anióny sú veľmi reaktívne voľné radikály, ktorých antibakteriálny účinok je založený na poškodení cytoplazmatickej membrány bakteriálnych buniek, denaturácii proteínov a poškodení DNA baktérií.

Vysoké pH hydroxidu vápenatého pri dlhodobom pôsobení taktiež nenávratne deaktivuje bakteriálne enzýmy dôležité pre bakteriálny metabolizmus (78). Hydroxid vápenatý je zatiaľ jediná dostupná látka používaná v endodoncií, schopná deaktivovať bakteriálny endotoxín (27,75).

Aj keď má hydroxid vápenatý vynikajúce antimikrobiálne pôsobenie, ktoré je v in vitro podmienkach porovnateľné s pôsobením NaClO (79), je toto jeho pôsobenie v in vivo podmienkach znížené, pravdepodobne schopnosťou dentinu do určitej miery pufrovať jeho vysoké pH (80). Hydroxid vápenatý má taktiež vplyv na *Candida albicans*, v zmysle jej zlepšenej adherencie k povrchom, pričom táto je závislá na prítomnosti vápniku (81), a tiež v zmysle jej zvýšenej schopnosti tvoriť v alkalickom prostredí hýfy a penetrovať tak hlboko do dentinových tubulov (31). Predĺžené pôsobenie hydroxidu vápenatého nepriaznivo vplýva na pevnosť v ohybe dentinu, čo zvyšuje náchylnosť zubu k fraktúram (75).

2.2.2.2 *Ďalšie dezinfekčné vložky v endodoncií*

Z ďalších látok využiteľných ako dezinfekčná vložka v endodoncií možno menovať chlórhexidín, používaný vo forme gélu s 2 % koncentráciou (38). Pre jeho horšie pôsobenie proti gramnegatívnym baktériám (39), jeho neschopnosť inaktivovať bakteriálny endotoxín (45,46) a rozpúšťať nekrotické zvyšky organických tkanív (40), horšie hojenie periapikálneho tkaniva, v porovnaní s hydroxidom vápenatým (82) a jeho schopnosťou, zafarbovať pri dlhodobom pôsobení v koreňovom kanáliku tvrdé zubné tkanivá (83), je jeho použitie ako dezinfekčná vložka menej časté.

Ako dezinfekčnú vložku možno využiť aj antibiotické pasty. Jedným zo zástupcov je Ledermix, čo je pasta zložená z 1 % triamcinolonu a 3 % demeklocyklinu (84). Vďaka obsahu kortikosteroidu dokáže jeho použitie výrazne znížiť pozákrkovú bolestivosť (85). Prítomné tetracyklínové antibiotikum však nedokáže spoľahlivo redukovať bakteriálnu mikroflóru (79) a je tiež príčinou vzniku možnej alergickej reakcie pri použití tohto preparátu (86). Preto sa Ledermix v bežnej praxi nevyskytuje. Antibiotické pasty však môžu byť s výhodou využité v prípade maturogenézy, kedy by použitie hydroxidu vápenatého bolo toxické pre kmeňové bunky izolované z apikálnej papily. V tomto prípade sa používa trojkombinácia antibiotík metronidazolu, ciprofloxacínu a minocyklinu vo forme pasty, kde každé z antibiotík má koncentráciu 25 µg / ml.

Možnému zafarbeniu zubu, prípadne vzniku alergickej reakcie, spôsobenej prítomnosťou minocyklinu, možno predísť jeho zamenou za amoxicilin alebo cefaklor, prípadne jeho vynechaním z antibiotickej pasty (87).

Jódové preparáty, ako napríklad 2 % Lugolov roztok, možno taktiež využiť ako dezinfekčnú vložku v endodoncií (88). Ide o látku s výraznými antibakteriálnymi vlastnosťami, predovšetkým voči *E. faecalis*, a to aj v nízkych koncentráciách (89). Pre jeho alergizujúci potenciál (39) a možné zafarbenie tvrdých zubných tkanív (37) je jeho využitie v endodontickej praxi minimálne.

2.3 Definitívna koreňová výplň

Po dôkladnom mechanickom a chemickom opracovaní koreňového kanáliku je tento nutný definitívne vyplniť hermetickou koreňovou výplňou. Tá má za úlohu oddeliť vonkajšie a vnútorné prostredie a brániť tak prieniku baktérií z prostredia dutiny ústnej do periapikálneho priestoru. Taktiež musí dokonale utesniť celý vnútorný systém koreňových kanálikov a uzavrieť všetky spojky, dentinové tubuly a laterálne koreňové kanáliky, v ktorých by mohla prežívať reziduálna bakteriálna mikroflóra. (37), ktorej stopercentná eradikácia nie je nikdy možná (6,7). Koreňová výplň netesniaca v apikálnej časti koreňového kanáliku má za následok prienik týchto baktérií a ich toxínov, prípadne nekrotických zvyškov pulpy alebo chemických látok samotnej koreňovej výplne do periodoncia, čo vedie k jeho dráždeniu a zápalovej odpovedi. Nedokonalý hermetický uzáver v koronálnej časti vedie k rýchlemu prieniku baktérií, toxínov a chemikálií z dutiny ústnej do koreňovej výplne a následne do periodoncia, kde opäť vyvolávajú jeho zápalovú odpoveď (38).

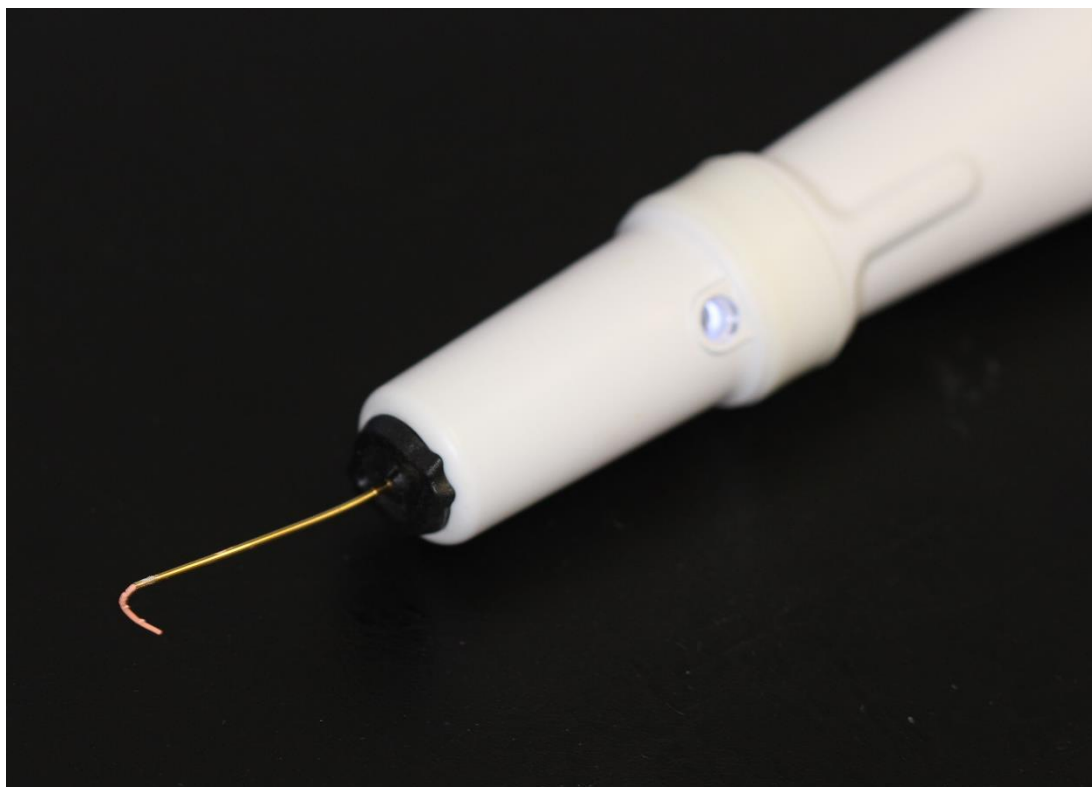
Ideálne by mal definitívny výplňový materiál koreňových kanálikov splňovať podmienky uvedené v Tabuľke 2 (Tab. 2) (37,38,90), pričom ani jeden z dostupných výplňových materiálov nespĺňa všetky tieto požiadavky (91).

Tabuľka 2: Vlastnosti ideálneho koreňového výplňového materiálu

| | Žiadúce | Nežiadúce |
|---|---|---------------------------------------|
| Biokompatibilita | Jednoduchá odstrániteľnosť z koreňového systému | Zafabovanie tvrdých zubých tkanív |
| Objemová stálosť | Prinajmenšom bakteriostatický efekt | Rozpustnosť v tkanivových tekutinách |
| Dlhá doba tuhnutia | Shopnosť utesniť koreňový kanálik apikálne, koronálne a laterálne | Rozpustnosť v prostredí dutiny ústnej |
| Adhézia k dentínu | Polotuhá konzistencia pri aplikácií, tuhá konzistencia po aplikácií | Vodič tepelných zmien |
| Radioopacita ekvivalentná min. 3 mm hliníku (ISO, ANSI / ADA) | Odolnosť voči vlhkosti | |
| Rozpustnosť v rôznych rozpúšťadlách | Sterilnosť, alebo sterilizovateľnosť | |
| Ľahká manipulovateľnosť | | |

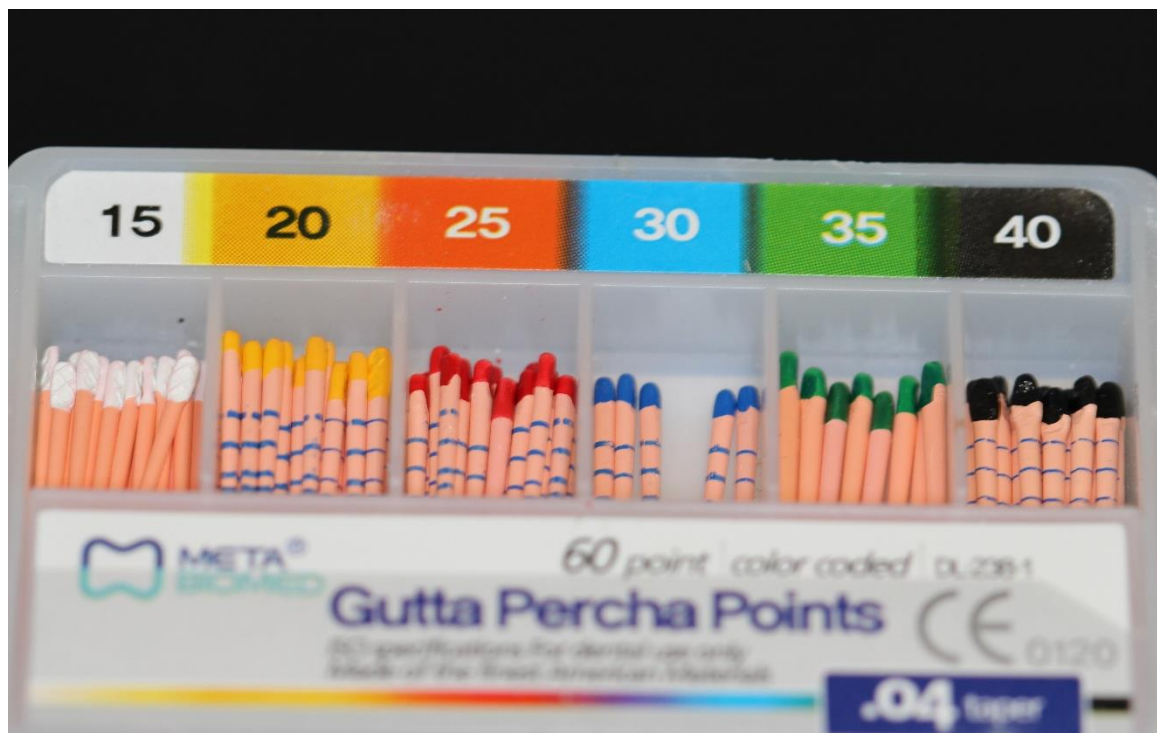
2.3.1 Gutaperča

Gutaperča je jedným z najpoužívanějších materiálov určených k definitívnej obturácii koreňových kanálikov. Z chemického pohľadu sa jedná o trans-izomér kaučuku, vyskytujúci sa v troch formách: alfa-, beta- a gama fáze. Alfa fáza je prirodzene sa vyskytujúca forma gutaperči (92), ktorá sa pri zahriatí na teplotu 54 – 59°C mení na amorfnú gama fázu (93). Jej pomalým ochladením dochádza k opätovnej rekryštalizácii do alfa fázy (92). Alfa fáza gutaperči sa používa pri obturácii koreňového kanálíka metódami využívajúcimi injektáž rozohriatej gutaperči (Obr. 5) (94).



Obrázok 5: Prístroj k injektáži termoplastickej gutaperči

Beta fáza gutaperči vzniká zmenou kryštalickej štruktúry, čoho je dosiahnuté rýchlym ochladením amorfnej gama fázy. Pri jej zahriatí na teplotu 42 – 49°C dochádza k premene kryštalickej štruktúry späť do alfa fázy (95). Gutaperča v beta fáze je najčastejšie používaná vo forme čapov (Obr. 6) k niektorej z metód definitívneho plnenia koreňového systému (92,94).



Obrázok 6: Gutaperčové čapy

Samotná gutaperča je v prípravkoch určených k definitívnemu plneniu koreňového kanálíka zastúpená len z 20 %. Zvyšok tvorí oxid zinočnatý, ktorý je vo výslednom materiáli zastúpený zo 75 % a sulfáty kovov spolu s voskmi a živicami. Celkovo teda možno povedať, že výsledný materiál je z jednej štvrtiny zložený z organickej a z troch štvrtín z anorganickej zložky (92).

Gutaperča spĺňa takmer všetky požiadavky kladené na ideálny definitívny obturačný materiál v endodoncií. Jej antibakteriálne vlastnosti, ktoré sa dajú pripísať obsahu oxidu zinočnatého (96) sú však nedostačujúce (97) a taktiež nie je schopná sa adhezívne viazať k dentinovej stene koreňového kanálíka (92). Túto väzbu musí zabezpečiť sealer (98).

2.3.2 Endodontické sealery

Endodontické sealery sú materiály pastovitej konzistencie, ktorých úlohou je vyplniť priestor medzi gutapečou a dentinovou stenou koreňového kanálika a tým gutaperču k tejto stene adhezívne pripojiť. Taktiež vyplňa nepravidelnosti koreňového kanálika, laterálne a akcesórne kanáliky, prípadne priestor medzi jednotlivými gutaperčovými čapmi pri metóde laterálnej kondenzácie (98). Endodontické sealery by mali vykazovať aspoň bakteriostatické pôsobenie (90).

Na základe ich chemického zloženia sa endodontické sealery dajú rozdeliť do jednotlivých kategórií, ktoré sú uvedené v Tabuľke 3 (Tab. 3) (38,91,99–104), pričom biokeramické materiály sú klasifikované na základe najviac obsiahnutej zložky.

Tabuľka 3: Rozdelenie endodontických sealerov

| Kategória | Podkategória | | Zástupca | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------|--|---|
| Sealery na báze hydroxidu vápenatého | | | Sealapex™, Apexit®, Apexit® Plus | |
| Zinkoxideugenolové sealery | | | Endomethasone N, Tubi-Seal™ | |
| Polyepoxidové sealery | | | AH 26®, AH 26® Silver Free, AH Plus®, AD Seal™ | |
| Biokeramické materiály | Kalciumsilikátové | Cementy | ProRoot MTA, Biodentine | |
| | | Sealery | Založené na MTA | MTA-Fillapex, ProRoot Endo Sealer |
| | | | Nezaložené na MTA | iRoot SP, BioRoot RCS, EndoSequence BC sealer |
| | Kalciumfosfátové | Cementy | Bioglass | |
| | | Sealery | Bioseal, Capseal I, Capseal II | |
| | Zmes kalciumsilikát-kalciumfosfát | Cementy | Bioaggregate, TotalFill | |

2.3.2.1 *Sealery na báze hydroxidu vápenatého*

Tieto sealery boli vyvinuté s cieľom využitia pozitívnych vlastností hydroxidu vápenatého. Taktiež sa od nich sľubovala podpora osteogenézy a cementogenézy (105).

Chemická reakcia tuhnutia prebiehajúca medzi bázou a katalyzátorom, prípadne aktivátorom, kompletne prebehne a sealer stuhne približne za 1 – 6 hodín, v závislosti na zložení sealeru (105,106). V niektorých klinických štúdiách, pri ktorých boli nastavené podmienky podobné podmienkam vládnucom v ošetrovaných koreňových kanálikoch, však tieto sealery tuhli až štyri týždne (107). Je to pravdepodobne spôsobené zložením týchto sealerov, kedy u niektorých prebieha chemická reakcia medzi vodou pochádzajúcou z dentínových tubulov a oxidom vápenatým týchto sealerov, za vzniku hydroxidu vápenatého, čo spomaľuje reakciu tuhnutia sealeru (106). U iných sealerov je zas vlhkosť potrebná k priebehu chemickej reakcie. Voda sa však v dentínových tubuloch nachádza len v obmedzenej miere a po jej vyčerpaní prebieha chemická reakcia tuhnutia len veľmi pomaly (107). Pri tuhnutí majú tieto sealery, podobne ako hydroxid vápenatý, vďaka uvoľňovaniu hydroxylových aniónov, vysoké pH, ktoré si dokážu udržať v zásaditých hodnotách po dobu jeden a viac týždňov (106,108).

Prídavok radioopákných látok činí tieto sealery röntgen kontrastnými, s radioopacitou ekvivalentnou 3 – 6 mm hliníku, čo je v rámci noriem ISO, ako aj ANSI/ADA (108,109).

Po stuhnutí dochádza u týchto sealerov k miernemu zväčšeniu objemu, podobnému sealerom na báze polyepoxidových živíc (106). To je pravdepodobne spôsobené absorpciou vody z dentínových tubulov, čo umožňuje ďalší priebeh chemickej reakcie s výsledným miernym nárastom objemu týchto sealerov (110). Pri kontakte s vodou teda dochádza k stuhnutiu sealeru na jeho povrchu, avšak vo svojej hĺbke môže mať stále menej tuhú, cestovitú konzistenciu. To môže viesť k vzniku porozít, ktoré uľahčujú ďalšiu absorpciu vody, čo má za následok pokračovanie chemickej reakcie medzi jednotlivými zložkami sealeru, čím dochádza k ďalšej objemovej expanzii, ale aj nepriaznivému ovplyvneniu rozpustnosti sealerov (111), ktorá je podstatne vyššia, ako u sealerov polyepoxidových (112).

Vysoká rozpustnosť je aj príčinou ich miernej až stredne vysokej cytotoxicity, ktorá je ale menšia v porovnaní s polyepoxidovými, alebo zinkoxideugenolovými sealerami (113,114) a ktorú tieto sealery vykazujú po dobu približne dvoch týždňov od aplikácie (115). Vďaka vysokej rozpustnosti sa totižto výrazne zvyšuje disociácia hydroxydu vápenatého na hydroxylové anióny, čo signifikantne zvyšuje pH (114) a tým pádom aj zápalovú odpoveď periodoncia (113). Ďalšie látky obsiahnuté v týchto sealeroch, ako napríklad polymetylénmetylsalicylátová živica alebo isobutyl salicylát taktiež pôsobia cytotoxicky na bunky periodontálnych ligament (114).

Existuje len málo štúdií zaoberajúcich sa schopnosťou týchto sealerov zafarbovať tvrdé zubné tkanivá, avšak tie túto ich nežiadúcu vlastnosť potvrdili, aj keď nie v takej miere ako u polyepoxidových, prípadne zinkoxideugenolových sealerov (116).

Sealery na báze hydroxidu vápenatého vykazujú dobrý apikálny uzáver, a to hlavne v prvých dňoch po ich aplikácií (117). Je to spôsobené pravdepodobne ich dobrou adaptáciou k dentínu, a to predovšetkým v apikálnej a strednej tretine koreňového kanálka (108). Ich vysoká rozpustnosť ale zapríčiňuje ich veľkú náchylnosť k vzniku netesností koreňovej výplne, ktorá sa prejaví až s odstupom času (110,117,118).

Antibakteriálna aktivita týchto sealerov je založená práve na pôsobení hydroxidu vápenatého (105), pričom vykazujú vysokú antibakteriálnu aktivitu (119,120), ktorá sa prejaví minimálne po 20 minútach kontaktu sealeru s bakteriálnou kultúrou (120). Túto si dokážu udržať tiež s odstupom času po stuhnutí (121), kedy aj 7 dní od ich namiešania stačí 20 minútový kontakt stuhnutého sealeru s bakteriálnou kultúrou, aby sa ich antibakteriálne vlastnosti signifikantne prejavili (120). Ich výborné antibakteriálne vlastnosti potvrdili aj testy vykonávané na blokoch dentínu, v ktorých sa však ukázalo, že antibakteriálne pôsobenie týchto sealerov je úzko späté s ich zložením. Vzostup pH niektorých sealerov založených na hydroxide vápenatom nemusí byť dostatočný na ovplyvnenie bakteriálnej kultúry nachádzajúcej sa v hĺbke dentínových tubulov (10).

2.3.2.2 *Sealery na báze zinkoxid eugenolu*

Prvé sealery na báze zinkoxid eugenolu vznikli v prvej polovici 20. storočia, na základe pôvodnej receptúry Dr. Louisa I. Grossmana. Tieto sealery tuhnú chelatačnou reakciou prebiehajúcou medzi oxidom zinočnatým a eugenolom (91), pričom táto reakcia prebieha v rozmedzí 10 – 26 hodín. Čas tuhnutia ovplyvňuje hlavne miera vlhkosti (122). Látky zaisťujúce týmto sealerom radioopacitu, ktorá je ekvivalentná štyrom milimetrom hliníku, sú totižto málo rozpustné vo vode, čím predlžujú ich čas tuhnutia (106). Pri tuhnutí majú tieto sealery mierne kyslé pH, ktoré si dokážu udržať po dobu piatich týždňov (122).

U väčšiny týchto sealerov dochádza k ich miernej kontrakcii, porovnateľnej s niektorými kalciumsilikátovými sealerami (123), avšak u niektorých dochádza po stuhnutí ku zväčšeniu ich objemu, porovnateľnému so sealerami na báze hydroxidu vápenatého (106). Rozpustnosť týchto sealerov sa líši v závislosti od výrobcu. Vo všeobecnosti možno ale povedať, že rozpustnosť týchto sealerov je porovnateľná (122), alebo vyššia ako polyepoxidové sealery (124,125) a je pravdepodobne zapríčinená vylúhovaním nezreagovaného eugenolu zo stuhnutého sealeru a taktiež hydrolýzou vzniknutého eugenolátu zinočnatého na hydroxid zinočnatý a eugenol (125).

Jednou z nežiadúcich vlastností týchto sealerov je ich vysoká cytotoxicita, ktorá je hodinu po ich aplikácii porovnateľná s polyepoxidovými sealerami, a ktorá sa pohybuje v stredných hodnotách aj po dvoch týždňoch, kedy už sealery založené na báze polyepoxidových živíc vykazujú len minimálne hodnoty cytotoxicity (113). Je to pravdepodobne spôsobené uvoľňovaním nezreagovaného eugenolu, ako aj uvoľňovaním formaldehydu z niektorých zinkoxid eugenolových sealerov po ich stuhnutí (126). Uvoľňovanie eugenolu z týchto sealerov má za následok aj ďalšiu ich nevítanú vlastnosť, a to zafarbovanie tvrdých zubných tkanív, ktoré sa prejaví už jeden týždeň od ich aplikácie. Dochádza k oxidácii uvoľneného eugenolu, čo spôsobí zníženie jasú a žltočervené sfarbenie tvrdých zubných tkanív (Obr. 7) (127).



Obrázok 7: Zafarbenie tvrdých zubných tkanív zinkoxideugenolovým sealerom

Vysoká náchylnosť k vzniku netesností koreňovej výplne je taktiež slabou stránkou týchto sealerov (118). Medzi sealerom a dentínovou stenou koreňového kanálika sú prítomné časté medzery (128), spôsobené degradáciou eugenolátu zinočnatého oxidom uhličitým, ktorý je v periapikálnej oblasti prítomný vo forme bikarbonátových iónov, ako aj ich častou kontrakciou po stuhnutí (118). Túto nepriaznivú vlastnosť môže do istej miery vyvažovať fakt, že nezreagovaný eugenol podporuje expanziu gutaperči, čím je možné zlepšenie tesnosti koreňovej výplne (129), ako aj existencia chemickej väzby medzi gutaperčou a zinkoxid eugenolovým sealerom zapríčinená chelatačnou reakciou medzi oxidom zinočnatým gutaperči a eugenolom sealeru (91). Táto väzba je však veľmi slabá, a to najmä vďaka prítomnosti početných porozít (128).

Tieto sealery sa vyznačujú svojou vysokou antibakteriálnou aktivitou, a to hlavne voči fakultatívne anaeróbnym baktériám (130), ktorou sa približujú sealerom založeným na polyepoxidových živiciach. Ich antimikrobiálne vlastnosti však rýchlo klesajú a po 72 hodinách sú prakticky nulové (121). V prvých 24 hodinách si ale dokážu udržať svoje antibakteriálne vlastnosti prakticky konštantné (131).

Čerstvo namiešané zinkoxid eugenolové sealery vykazujú vysokú antibakteriálnu aktivitu, ktorá sa prejaví už po 20 minútach kontaktu s kultúrou *E. faecalis*, avšak 7 dní starý sealer nedokáže ani po 60 minútach signifikantne znížiť koncentráciu baktérií (120), čo potvrdzuje ich krátkodobé antibakteriálne vlastnosti. Eugenol uvoľňovaný z týchto sealerov dokáže penetrovať do podstatnej hĺbky dentínových tubulov a ovplyvňovať tak aj bakteriálne kolónie vzdialené od koreňového kanálíka, čo potvrdil Saleh et al., ktorí vo svojich testoch zistili, že zinkoxideugenolový sealer dokáže výrazne ovplyvniť kolónie *E. faecalis* v dentínových tubuloch až do hĺbky 300 µm od steny koreňového kanálíka (10).

2.3.2.3 Polyepoxidové sealery

Sealery na báze polyepoxidových živíc boli prvýkrát vyvinuté v polovici 20. storočia (132). Tuhnú reakciou medzi bázou a katalyzátorom a sealer definitívne stuhne približne za 2,5 – 16 hodín, v závislosti od výrobcu (106,133–135). Táto relatívne dlhá doba tuhnutia je spôsobená pomalou polymeračnou reakciou epoxidových živíc (134) a taktiež k tomu môže prispievať prídavok málo rozpustných radioopákných látok (106). Urýchlenie tejto reakcie je možné vďaka prídavku katalyzátorov, ktoré sú súčasťou zloženia niektorých polyepoxidových sealerov (133). Pri tuhnutí sú tieto sealery v závislosti od zloženia mierne kyslé, s postupným vzostupom pH k neutrálnym hodnotám, prípadne zásadité (133,136), čo môže prispievať k antibakteriálnym a osteogenickým vlastnostiam týchto sealerov, ako aj k ich biokompatibilite (122).

Za svoju rádioopacitu, ktorá sa pohybuje v rozmedzí 6 – 14 mm Al (133–137), vďaka tieto sealery obsahu látok ako napríklad oxid zirkoničitý alebo wolframan vápenatý (106). Takýto veľký rozsah v hodnotách rádioopacity môže byť zapríčinený skutočnosťou, že rádioopákné látky sa ukladajú v hlbších vrstvách sealeru, zatiaľ čo vrchné vrstvy sealeru sú chudobnejšie na obsah týchto látok, čo mohlo spôsobiť rozdiely v nameraných hodnotách jednotlivých výskumov (133).

Po stuhnutí dochádza u týchto sealerov, v závislosti od ich zloženia, k objemovým zmenám v zmysle miernej kontrakcie, prípadne expanzie ich objemu (133–137). Zatiaľ čo kontrakcia je výsledkom polymerizačnej reakcie, expanzia je pravdepodobne spôsobená absorpciou vody po ich polymerizácii (133,136). Ide o proces, prebiehajúci na základe difúzie hlavne v matrix polyepoxidových sealerov, ktorý vychádza z polárnej povahy týchto materiálov (134).

Pôvodné zloženie polyepoxidového sealeru, komerčne známeho pod názvom AH 26®, ktorý obsahoval hexametylén tetraamín ako jednu zo svojich základných zložiek, bolo príčinou vyššej rozpustnosti tohto materiálu, kedy dochádzalo k degradácii hexametylén tetraamínu na amoniak a formaldehyd. Novšia generácia, na trhu dostupná pod názvom AH Plus®, už však túto látku neobsahuje, z čoho vyplýva aj jej nižšia rozpustnosť (125). Vo všeobecnosti teda možno povedať, že sealery založené na báze polyepoxidových živíc majú veľmi nízku rozpustnosť v tkanivových tekutinách (122,134–136). Tá je pravdepodobne dôsledkom reakcie amínových skupín so skupinami epoxidovými, výsledkom čoho je tvorba pevne zosieťovaného a málo rozpustného polyméru (138).

Nepriaznivou vlastnosťou týchto materiálov je ich stredne vysoká až vysoká cytotoxicita, prejavujúca sa už krátko po ich aplikácii (113) a udržiavajúca si svoje vysoké hodnoty počas prvých troch dní od ich aplikácie. S postupom času ich cytotoxicita pomaly klesá, avšak nulovú cytotoxicitu sa nepodarilo preukázať ani po piatich týždňoch od aplikácie týchto materiálov (139). Toxické pôsobenie týchto materiálov na bunky periodontálnych ligament je pravdepodobne spôsobené uvoľňovaním ich nezreagovaných zložiek, ako napríklad Bisfenol-A diglycidyleter, ktorý má mutagénne účinky, ale aj uvoľňovaním amino- a epoxi zlúčenín (140). Ďalšou nežiadúcou vlastnosťou týchto sealerov je ich vysoký potenciál k zafarbovaniu tvrdých zubných tkanív (116). U preparátu AH 26® dochádzalo vplyvom obsahu strieborných iónov k ich tmavému sfarbeniu (127), avšak sivé zafarbenie tvrdých zubných tkanív spôsobené sealerom AH Plus®, ktorý už vo svojom zložení strieborné ióny neobsahuje, naznačuje, že na zafarbení tvrdých zubných tkanív sa podieľajú aj ďalšie zložky týchto sealerov (141).

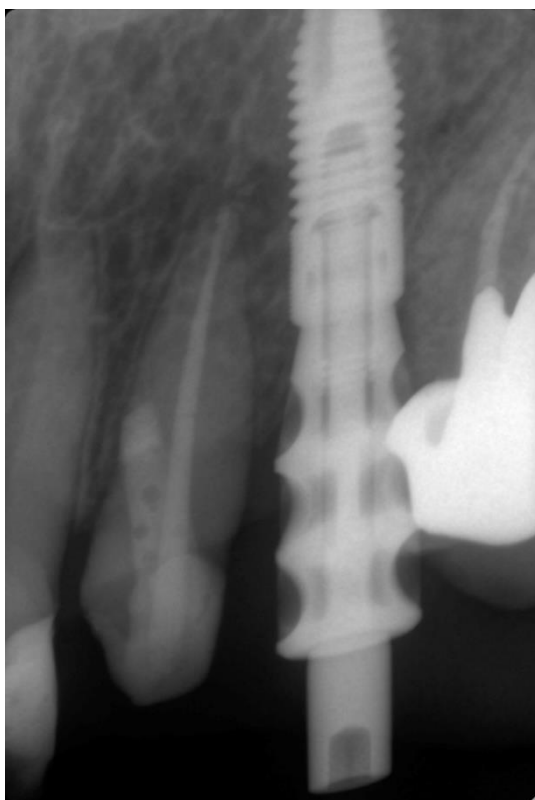
Sealery na báze polyepoxidových živíc sa vyznačujú svojou malou náchylnosťou k vzniku netesností koreňovej výplne (110,117), prameniacej z ich miernej expanzie pri tuhnutí (133–137), ako aj dobrej zatekavosti (136) a relatívne dobrej adhézii k dentínu (91,133).

Čerstvo namiešané polyepoxidové sealery sa vyznačujú vysokou antibakteriálnou aktivitou, kedy dvojminútový kontakt sealeru s bakteriálnou kultúrou dokázal významnou mierou ovplyvniť počet žijúcich buniek tejto kultúry a po piatich minútach styku sealeru s kultúrou *E. faecalis*, táto nevykazovala prítomnosť životaschopných baktérií (120). Takto vysoká antibakteriálna aktivita je možná pravdepodobne práve kvôli obsahu Bisfenolu-A v základnom zložení sealeru, ako aj uvoľňovaniu formaldehydu pri tuhnutí, pričom obe látky sú pre *E. faecalis* toxické (142).

Túto teóriu potvrdzuje aj fakt, že stuhnutý, jeden deň starý, sealer potreboval až 60 minútový kontakt s bakteriálnou kultúrou, aby znížil množstvo žijúcich baktérií, a aj to len minimálnou možnou mierou a sealer starší ako tri dni kultúru *E. faecalis* neovplyvnil vôbec (119,120). V testoch na blokoch dentinu, si však polyepoxidové sealery dokázali udržať svoju antibakteriálnu aktivitu približne konštantnú, a to minimálne po dobu jedného týždňa (143). V týchto testoch sa taktiež ukázala ich schopnosť penetrovať do dentínových tubulov a ovplyvňovať tak kolónie *E. faecalis* v hĺbke 300 µm od steny koreňového kanálika (10).

2.3.2.4 *Biokeramické materiály*

Prvé biokeramické materiály vznikli začiatkom 70-tych rokov 20. storočia, kedy bola vytvorená kalciumfosfát obsahujúca sklokeramika, určená predovšetkým k podpore osteogenézy v kostných defektoch (100). Prvé materiály tohto typu široko používané v zubnom lekárstve však boli uvedené na trh až v 90-tych rokoch 20. storočia, ako kalciumsilikátový cement s komerčným názvom MTA (144). Išlo o materiál určený predovšetkým k oprave perforácií vzniknutých pri endodontickom ošetrení (Obr. 8) (145), avšak odvtedy pribudlo mnoho ďalších indikácií použitia biokeramických materiálov, medzi nimi aj ako prostriedok na plnenie koreňových kanálikov (Obr. 9). Keďže sa jedná o veľkú skupinu materiálov rôzneho zloženia, ktorých počet sa neustále rozrastá, sú ich vybrané vlastnosti zovšeobecnené.



Obrázok 8: Oprava perforácie biokeramickým materiálom



Obrázok 9: Široký koreňový kanálik zaplnený biokeramickým materiálom

Reakcia tuhnutia týchto materiálov je založená na tvorbe kalciumsilikátu a hydroxidu vápenatého (104), pričom táto reakcia prebehne za 4,5 – 20 hodín, v závislosti od zloženia materiálu (102,122,133). U niektorých materiálov je potrebná určitá hladina vlhkosti, prítomnej v koreňovom kanáliku, ktorá katalyzuje reakciu ich tuhnutia (99), pričom doba tuhnutia týchto materiálov sa v absolútne suchých podmienkach výrazne predlžuje, prípadne tieto materiály nestuhnú vôbec (146). Nadmerná vlhkosť však taktiež môže nepriaznivo ovplyvniť čas tuhnutia a mechanické vlastnosti týchto materiálov (133). Hydroxid vápenatý vznikajúci pri tuhnutí (104) má vplyv na ich zásadité pH, ktoré si tieto materiály dokážu udržať aj v dlhodobom časovom horizonte (102,112,122,133) a ktoré prispieva k ich antibakteriálnym vlastnostiam, aktivácií alkalickej fosfatázy (133), a tým podpore vzniku štruktúr podobných hydroxylapatitu (102) a tiež neutralizuje kyselinu mliečnu uvoľnenú z osteoklastov, čím dochádza k obmedzeniu odbúravania tvrdých zubných tkanív (133).

Prídavok látok, ako napríklad oxid bizmutitý, síran bárnatý alebo oxid zirkoničitý prepožičiava týmto materiálom radioopacitu podobnú približne 3 – 11 mm hliníku (102,133,146,147).

Po stuhnutí dochádza u týchto materiálov k miernej objemovej expanzii, ktorá je väčšia, v porovnaní s polyepoxydovými sealermi (102,122,133). Pravdepodobnou príčinou tohto javu je existencia početných porozít vnútri materiálu, vzniknutých po jeho stuhnutí (148). Početné prepojenie týchto porozít má za následok bohatú absorpciu vody z okolia s následným zväčšením objemu materiálu (149).

Rozpustnosť týchto materiálov je taktiež podstatne vyššia ako u polyepoxydových sealerov (102,112,122). Je to pravdepodobne spôsobené tvorbou hydroxidu vápenatého, ktorý sa počas testovania rozpustnosti jednotlivých materiálov určených k definitívnemu plneniu koreňových kanálikov rozpustí (105), čoho dôsledkom je vznik prázdnych miest v koreňovej výplni (102). Pri testovaní týchto materiálov v podmienkach, podobných tým, ktoré sú v koreňových kanálikoch, však dochádza k reakcií medzi vápenatými iónmi biokeramického materiálu a fosfátovými iónmi, pochádzajúcimi in vivo z alkalickej fosfatázy, za tvorby štruktúr podobných hydroxyapatitu (150), ktoré vyplňajú vzniknuté prázdne miesta po rozpustení hydroxidu vápenatého (102). V takýchto testoch bola výsledná rozpustnosť týchto materiálov signifikantne nižšia (151).

Cytotoxicita týchto materiálov sa v závislosti od ich zloženia pohybuje od minimálnych hodnôt až po hodnoty stredne vysoké, podobné sealerom založeným na báze polyepoxydových živíc (113,152–154), pričom ich cytotoxické pôsobenie v priebehu dvoch týždňov postupne klesá (113,153). Zvýšená cytotoxicita niektorých materiálov je pravdepodobne spôsobená uvoľňovaním salicylátu pri tuhnutí (152), niektoré materiály zas naopak podporujú reparatívne procesy vnútri buniek (154). Vplyvom týchto materiálov taktiež dochádza k podpore mineralizácie a tvorbe štruktúr podobných hydroxyapatitu v apikálnej tretine koreňového kanálika (112).

Je známe, že prvé biokeramické materiály určené k plneniu koreňových kanálikov mali vysokú tendenciu k zafarbovaniu tvrdých zubných tkanív, ktorá sa zreteľne prejavila už po 7 dňoch od ich aplikácie a s postupom času sa zafarbovanie tvrdých zubných tkanív stupňovalo. Toto zafarbenie je spôsobené pridanými látkami, zaručujúcimi týmto materiálom ich radioopacitu, hlavne oxidom bizmutitým, oxidom hlinitým, oxidom železitým a oxidom horečnatým (155), ako aj pôsobením chlornanu sodného, bežného výplachového prostriedku používaného v endodoncií, na oxid bizmutitý, prípadne samotný kalciumsilikátový materiál (156). U novších materiálov je však tendencia k zafarbovaniu tvrdých zubných tkanív minimálna a vzniknuté zafarbenie nie je voľným okom viditeľné (155,157).

Náchylnosť týchto materiálov k vzniku netesností koreňovej výplne závisí od ich zloženia a použitej techniky plnenia koreňového kanálika. Ak sú tieto materiály použité samostatne k vytvoreniu apikálnej zátky u koreňových kanálikov, s veľkým apikálnym rozmerom, je percento netesností minimálne, a to vďaka ich expanzii pri tuhnutí (158). Záleží ale na hrúbke vrstvy použitého materiálu. Ak je táto vrstva tenká dva milimetre, prípadne je táto vrstva tenšia, je riziko vzniku netesností podstatne vyššie (100). Pri použití biokeramických materiálov určených k plneniu koreňového kanálika v kombinácii s gutaperčou, bolo percento netesností porovnateľné (110,159), prípadne menšie ako pri použití polyepoxydových sealerov (105). Prispieva k tomu ich expanzia pri tuhnutí, ako aj tvorba kryštálov podobných hydroxyapatitu, ktoré uzatvárajú prípadné netesnosti (98).

Biokeramické sealery sú vďaka svojim fyzikálnym vlastnostiam vhodné k plneniu metódou centrálného kónusu (160), technikou využívajúcou jeden hlavný čap, presne kopírujúci geometriu nikel-titánových rotačných nástrojov použitých k opracovaniu koreňového kanálika (161), pričom množstvo použitého sealeru je kvôli rôznovárnosti koreňových kanálikov väčšie, v porovnaní s klasickými metódami využívajúcimi kondenzáciu gutaperči. To kladie zvýšené nároky na vlastnosti použitého materiálu, ktoré biokeramické sealery s prehľadom spĺňajú (160).

Antibakteriálne vlastnosti týchto materiálov sú odlišné a závisia od ich zloženia. Shin et al. porovnávali vo svojom výskume dva biokeramické sealery rôzneho zloženia, Endoseal® a Endosequence BC Sealer™, pričom výraznejšie na kultúru *E. faecalis* vplýval prvý menovaný, pravdepodobne kvôli vyššiemu obsahu oxidov kovov, ktoré dokázali poškodiť bunkovú stenu Gram pozitívnych baktérií a tým pádom uľahčiť penetráciu hydroxidu vápenatého do cytosolu bunky (119). Rozdiely v antibakteriálnom pôsobení v závislosti od zloženia potvrdzujú aj štúdie na dentínových blokoch. MTA spôsobil až 1000 násobné zmenšenie počtu baktérií v prvých minútach po aplikácii a jeho antimikrobiálna aktivita sa nezmenila ani po 7 dňoch, kedy bolo pozorované len minimálne navýšenie počtu živých buniek *E. faecalis*, pričom prítomnosť dentínu a jeho zložiek ešte viac posilnila pôsobenie MTA (143). Biokeramický sealer TotalFill® zas spôsobil pokles živých bakteriálnych buniek približne o polovicu v prvý deň po aplikácii a podobné antibakteriálne vlastnosti si dokázal udržať v horizonte jedného mesiaca od namiešania. V porovnaní s týmto, antibakteriálna aktivita preparátu BioRoot™ RCS po 7 dňoch výrazne poklesla a potom zas signifikantne stúpla po 30 dňoch od aplikácie a to hlavne vďaka významnému nárastu koncentrácie uvoľneného hydroxidu vápenatého zo sealeru a tým pádom aj zvýšeniu pH, približne 28 dní od jeho namiešania (162). V testoch priameho kontaktu biokeramického sealeru iRoot®SP s kolóniami *E. faecalis* sa prejavil vysoký antibakteriálny účinok už po dvoch minútach a po 20 minútach neboli pozorované žiadne životaschopné baktérie a to ihneď po aplikácii, ako aj po kontakte so sealerom stuhnutým tri dni. Avšak sealer namiešaný pred 7 dňami nemal na kolónie *E. faecalis* takmer žiadny vplyv (120). Oproti tomu biokeramický sealer TotalFill® dokázal v podobných testoch výrazne vplývať na planktonické formy *E. faecalis*, ako aj na baktérie organizované v biofilme, po dobu 7 dní (142).

3 Vlastná práca

3.1 In vitro štúdia

Porovnanie krátkodobej a dlhodobej antibakteriálnej aktivity troch vybraných endodontických sealerov

3.1.1 Úvod a ciele

Veľké množstvo endodontických sealerov vyskytujúcich sa na trhu s dentálnymi materiálmi, môže najmä pre začínajúceho zubného lekára pôsobiť chaoticky a voľba najvhodnejšieho materiálu nemusí byť vždy jednoznačná. Rôzne zloženie jednotlivých sealerov má za následok ich rozdielne vlastnosti, mimo iné aj ich rôzne antibakteriálne pôsobenie. Ide však o jednu z vlastností, ktorá túto veľakrát ťažkú voľbu môže výrazne uľahčiť, keďže sa dá predpokladať, že čím lepšími antibakteriálnymi vlastnosťami voči reziduálnej mikroflóre ponechanej v systéme koreňových kanálikov bude daný sealer oplývať, tým lepšiu prognózu bude mať výsledné ošetrovanie.

Cieľom štúdie bolo zistiť krátkodobú a dlhodobú antibakteriálnu aktivitu troch endodontických sealerov, založených na rôznych bázach, voči *E. faecalis*, a porovnať ju s antibakteriálnou aktivitou sealeru Apexit® Plus (Ivoclar Vivadent, Lichtenštajnsko), založeného na hydroxide vápenatom. Aj keď je *E. faecalis* schopný prežívať vo výrazne alkalickom prostredí (32), dosahuje pH vybraného sealeru hodnôt rovných 12,5 (163), čo výrazne prekonáva schopnosť prežitia tohto bakteriálneho druhu.

3.1.2 Pracovné hypotézy

Na základe údajov dostupných z literatúry, bola vyslovená nasledujúca pracovná hypotéza:

- H. Sealery založené na báze hydroxidu vápenatého budú vykazovať najväčšiu antibakteriálnu aktivitu voči *E. faecalis*, v porovnaní s ostatnými použitými sealerami.

3.1.3 Materiály a metodika

3.1.3.1 Vzorky dentinu

Pre účely štúdie bolo potrebné použiť stále zuby bez prítomnosti zubného kazu, s jednoduchou anatómiou koreňov a koreňových kanálikov. Prednostne išlo o jednokoreňové zuby s jedným koreňovým kanálikom. V klinickej praxi je však hlavným dôvodom extrakcie zubu jeho deštrukcia kazom. Navyše, použitie extrahovaných tretích molárov bolo nemožné, z dôvodu zložitej anatómie ich koreňového systému (164) a extrakcia intaktných zubov z ortodontických dôvodov je zriedkavý výkon. Kvôli týmto dôvodom nebolo možné v dostatočnom časovom intervale nazhromaždiť potrebný počet stálych ľudských zubov vyhovujúcich týmto kritériám. Preto boli ľudské zuby v tejto štúdií nahradené zubami teľacími, ktoré sú dostupné v relatívne veľkom množstve a ktoré majú fyzikálne a chemické vlastnosti podobné zubom ľudským (19). Teľacie zuby majú taktiež rovnaký priemer dentinových tubulov, ako je tomu v prípade ľudských zubov, odlišný je len ich vyšší počet (165).

Teľacie zuby pochádzali od darcov približne rovnakého veku. Všetky zuby boli pred prípravou vzoriek podrobené röntgenovej analýze, ktorej cieľom bolo zistiť počet a priechodnosť koreňových kanálikov. Vybrané boli len zuby s jedným plne priechodným koreňovým kanálikom.

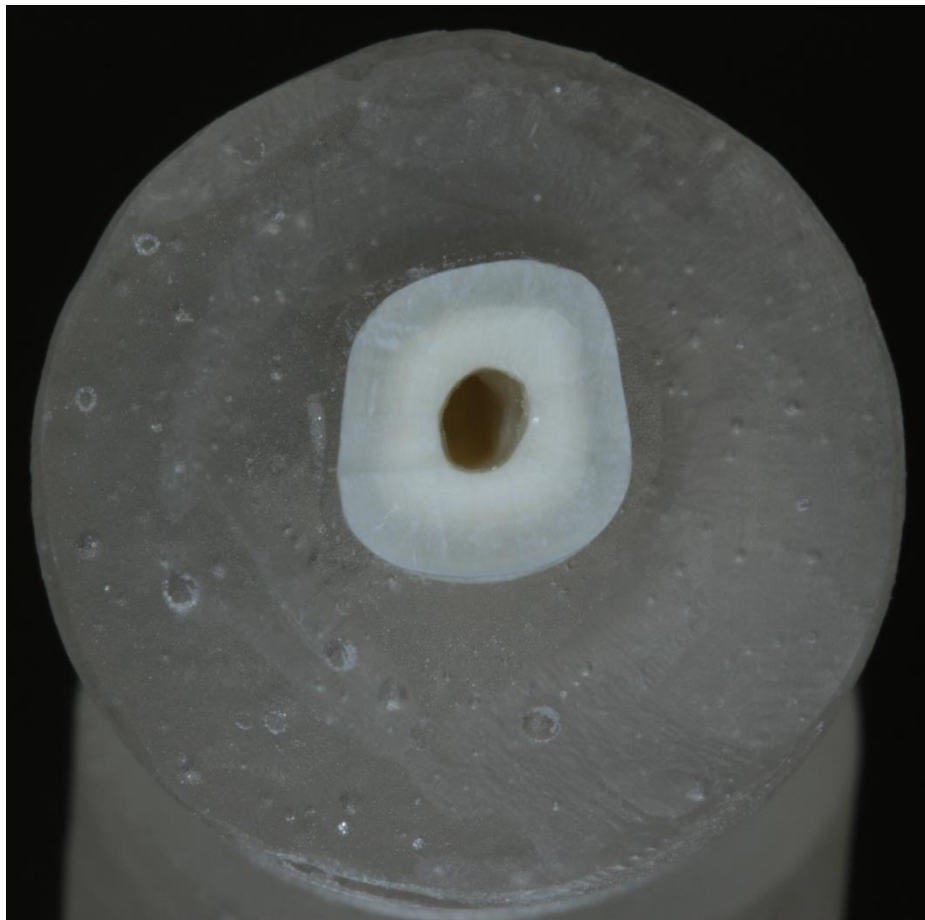
Zuby boli fixované v alabastrovej sadre, anatomická korunka zubu bola odrezaná a koreň zubu bol za pomoci dentálnej laboratórnej píly rozdelený na dve, približne 10 mm dlhé polovice (Obr.10).



Obrázok 10: Rozrezaný teľací rezák fixovaný v sádre

Obe polovice boli vyňaté zo sadry, čím boli vytvorené jednotlivé dentinové bločky. Koreňové kanáliky týchto bločkov boli opracované Gates-Gliddenovými vrtákmi číslo 1 – 6 (ISO 50 – ISO 150, priemer 0,5 – 1,5 mm). Bežné rotačné endodontické nástroje používané v humánnej medicíne neboli na opracovanie širokého koreňového kanáliku teľacieho zubu vhodné, keďže priemer špičky posledného nástroja v ich sekvencií bol rovný ISO 50 (0,5 mm). Koreňový kanálik bol medzi jednotlivými nástrojmi vyplachovaný roztokom 1 % NaClO. Po finálnom opracovaní Gates-Gliddenovým vrtákom číslo 6, bol vykonaný výplachový protokol koreňového kanáliku. Ten pozostával z výplachu 5 % NaClO po dobu piatich minút a následným výplachom 17 % EDTA po dobu jednej minúty, čím sa odstránil smear layer a otvorili dentinové tubuly. Na záver bol výplachový protokol ukončený výplachom 1 % NaClO po dobu piatich minút.

Koreňové kanáliky boli následne vysušené sterilnými papierovými čapmi a povrch koreňa bol očistený pomocou Sof-Lex™ XT diskov (3M ESPE, Monrovia, CA, USA). Povrch jednotlivých dentinových bločkov bol pokrytý prípravkom Single Bond™ Universal (3M ESPE, Monrovia, CA, USA) a OptiBond™ FL Adhesive (Kerr, Švajčiarsko), čím bola vytvorená adhezívna vrstva zabráňujúca prieniku baktérií do dentinových tubulov z povrchu koreňa. Jeden koniec koreňového kanálika bol následne zapečatený pomocou Filtek™ Ultimate Flowable Restorative composite (3M ESPE, Monrovia, CA, USA), pričom bolo dbané na to, aby sa tento materiál nedostal na steny koreňového kanálika. Toho bolo docielené vyplnením objemu koreňového kanálika teflonovou páskou, ktorá bola po ošetrovaní povrchu koreňa a zapečatení jedného z koncov koreňového kanálika z bločku odstránená. Zapečatený koniec bol potom upevnený v živici Premacryl™ Plus (SpofaDental, Jičín, Česká republika), ktorá tvorila podstavu výslednej dentinovej vzorky. Takto pripravené vzorky boli po dobu 20 minút sterilizované destilovanou vodou v autokláve, pri teplote 121 °C a tlaku 205 kPa. Týmto spôsobom bolo pripravených 52 vzoriek dentinu (Obr. 11).



Obrázok 11: Hotový dentinový bloček

3.1.3.2 Infekcia vzoriek dentínu

K infekcií vzoriek dentínu bol vybraný *E. faecalis*, keďže ide o baktériu, ktorá vďaka svojej vysokej odolnosti voči súčasne používaným výplachom a dezinfekčným vložkám hrá výraznú úlohu v zlyhaní endodontického ošetrovania.

Štandardný referenčný bakteriálny kmeň *E. faecalis* CCM 4224 bol zaobstaraný z Českej zbierky mikroorganizmov (Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno). Bakteriálny kmeň bol skladovaný v kryoskúmavkách (ITEST plus, Hradec Králové, Česká republika) pri teplote -80°C .

E. faecalis bol inokulovaný na krvný agar s 5 % ovčou krvou (TRIOS, Česká republika) a kultivovaný po dobu 18 ± 2 h, pri teplote $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Čerstvé bakteriálne kolónie boli použité k príprave bakteriálnej suspenzie. Kolónie boli resuspendované v dvoch ml fyziologického roztoku (TRIOS, Hradec Králové, Česká republika) tak, aby výsledná turbidita bola rovná hodnote turbidity McFarlandovho štandardu o veľkosti 1 MFU. Hodnota výslednej turbidity bola meraná turbidimetrom (Erba LaChema, Brno, Česká republika).

Vzorky dentínu boli vložené do sterilných 50 ml centrifugačných skúmaviek (VWR, Stříbrná Skalice, Česká republika), pričom pod týmito vzorkami sa nachádzali dva ml sterilnej destilovanej vody, aby sa predišlo ich vysychaniu. Sterilná 50 ml skúmavka bola naplnená 10 ml bujónu brain heart infusion (BHI) spolu s 0,25 % roztokom glukózy, k podnieteniu rastu biofilmu a následne bolo pridaných 10 μl bakteriálnej suspenzie. Výsledná bakteriálna koncentrácia tak činila 5×10^5 CFU / ml. Pripravená bakteriálna suspenzia bola mikropipetou napipetovaná do koreňových kanálikov 50 vzoriek dentínu. Päť z týchto vzoriek bolo použitých ako pozitívna kontrola pri sledovaní krátkodobej a päť ako pozitívna kontrola pri sledovaní dlhodobej antibakteriálnej aktivity vybraných endodontických sealerov. Navyše, boli koreňové kanáliky dvoch vzoriek naplnené len BHI, bez prítomnosti baktérií. Tieto dve vzorky slúžili ako kontrola sterility. Vzorky boli vložené do inkubátoru a boli inkubované pri teplote $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$ po dobu 24 hodín. Nasledujúci deň bol obsah koreňových kanálikov každej zo vzoriek odstránený odsávačkou a koreňové kanáliky boli inokulované čerstvo pripravenou bakteriálnou suspenziou *E. faecalis* (5×10^5 CFU / ml) v BHI + 0,25 % roztok glukózy.

Výnimku tvorila skupina kontroly sterility, u ktorej boli koreňové kanáliky naplnené iba BHI. Tento proces bol opakovaný každý deň s výnimkou víkendov, po dobu 14 dní. K testovaniu rastu baktérií bolo zvyšné rastové médium s bakteriálnou suspenziou kultivované zároveň so vzorkami dentinu, pričom pozitívna detekcia rastu baktérií bola sledovaná jeho zákalom.

3.1.3.3 *Aplikácia sealerov*

V tejto štúdií boli použité štyri druhy sealerov. Ako negatívna kontrola bol použitý sealer na báze hydroxidu vápenatého Apexit[®] Plus (Ivoclar Vivadent, Lichtenštajnsko). Pozitívnu kontrolu tvorili vzorky vyplnené len gutaperčou, bez prítomnosti sealeru. Testovanými sealermi boli zinkoxideugenolový sealer Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko), polyepoxidový sealer ADSeal[™] (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) a kalciumsilikátový sealer BioRoot[™] RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko).

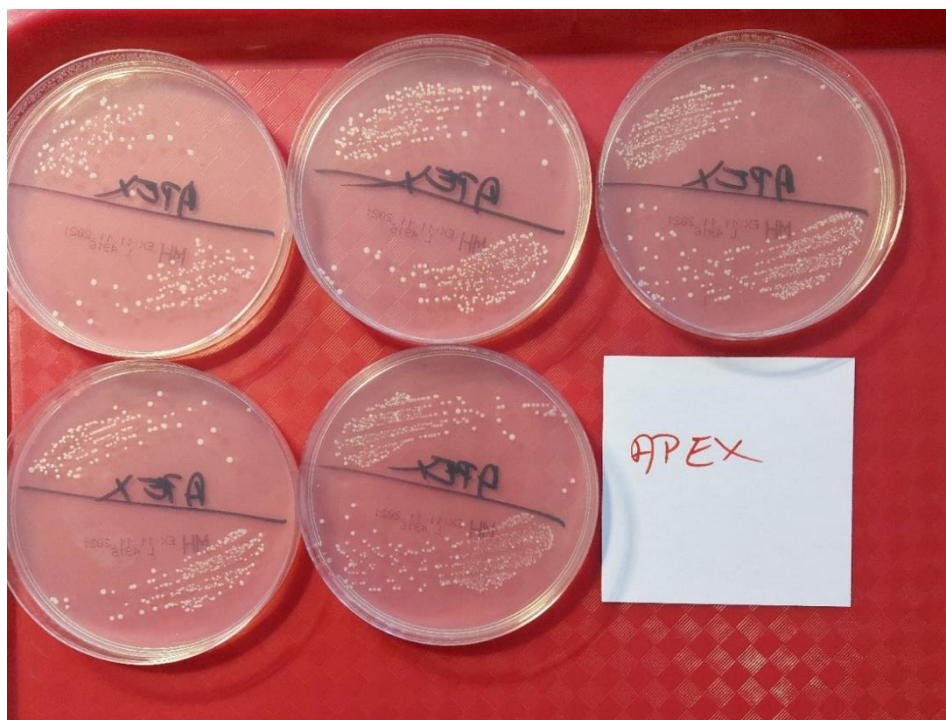
Pripravené vzorky dentinových blokov boli náhodne rozdelené do piatich skupín po päť vzoriek. V podobných dostupných štúdiách sa počet použitých vzoriek v jednotlivých skupinách pohyboval medzi piatimi a desiatimi vzorkami (10,162,166). Vzhľadom na výsledky štatistickej analýzy bolo toto množstvo vzoriek postačujúce. V každej z testovaných skupín bol obsah koreňového kanáliku odstránený a koreňový kanálik bol vypláchnutý sterilným fyziologickým roztokom a vysušený sterilnými papierovými čapmi. Jednotlivé sealery boli pripravené podľa návodu výrobcu a ich nanášanie do koreňového kanáliku taktiež prebiehalo podľa návodu výrobcu, čo zabezpečilo podmienky v zaplnených koreňových kanálikoch podobné reálnej situácii. Sealery boli do koreňových kanálikov nanesené pomocou sterilného gutaperčového čapu, alebo pomocou automix kanyly dodanej výrobcom sealeru. Následne bol do koreňového kanáliku vložený sterilný gutaperčový čap, s cieľom rovnomerne rozložiť sealer a tento bol v koreňovom kanáliku ponechaný. Prebytok gutaperčového čapu bol odrezaný a koreňový kanálik bol zapečatený pomocou Single Bond[™] Universal (3M ESPE, Monrovia, CA, USA) a Filtek[™] Ultimate Flowable Restorative composite (3M ESPE, Monrovia, CA, USA). Vzorky boli inkubované pri teplote 35 ± 1 °C po dobu 24 hodín pre sledovanie krátkodobej a 30 dní pre sledovanie dlhodobej antibakteriálnej aktivity. Dvadsaťštyri hodinová inkubačná doba bola zvolená kvôli relatívne dlhému času tuhnutia použitých endodontických sealerov (102,106,133).

3.1.3.4 Testovanie antibakteriálnej aktivity

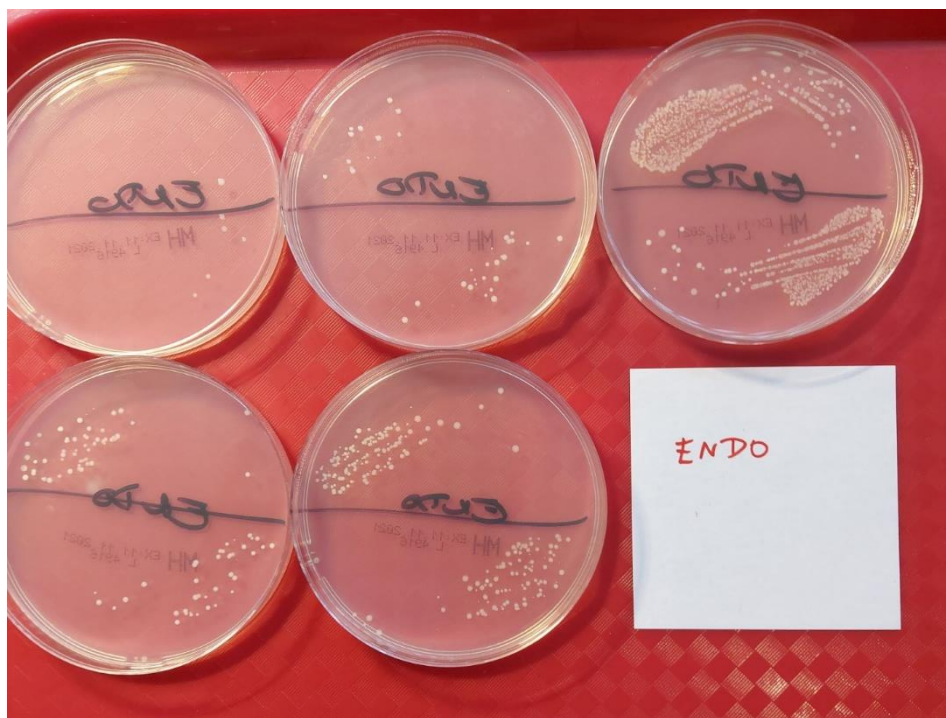
Po ukončení inkubačnej doby boli vzorky opláchnuté sterilným fyziologickým roztokom. Kompozitná zátka bola odstránená pomocou diamantovaných brúsikov a gutaperča so sealerom boli odstránené pomocou sterilného ručného nástroja H-file ISO 80 (priemer 0,8 mm na špičke pracovnej časti, kónus 2 %). Steny koreňového kanálka každej zo vzoriek boli následne oškrabané za pomoci rotačného nástroja Peeso-Largo Reamer číslo 5 (priemer 1,5 mm) a piliny obsahujúce baktérie boli zozbierané v 2 ml mikroskúmavkách (Eppendorf, Nemecko) obsahujúcich jeden ml sterilného fyziologického roztoku. Táto suspenzia bola dôkladne premiešaná a 10 μ l suspenzie bolo okamžite inokulovaných na Mueller-Hintonov kultivačný agar (TRIOS, Hradec Králové, Česká republika) a rozriedených sterilnou inokulačnou kľučkou k semikvantitatívnemu stanoveniu rastu mikroorganizmov. Tým bolo docielené, že minimálne množstvo dentinových pilín, ktoré mohli obsahovať zvyšky sealeru, bolo inokulované na agarové doštičky. Tento postup bol použitý v podobných dostupných štúdiách (10,166). Agarové doštičky boli kultivované pri teplote $35 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 18 ± 2 hodiny. Na konci inkubačnej doby bol stanovený log CFU / ml baktérií (Obr. 12 – 16). Namerané hodnoty sú uvedené v Tabuľke 4 a Tabuľke 5 (Tab. 4 a Tab. 5). Hranica detekcie bakteriálneho rastu bola 10^2 CFU / ml.



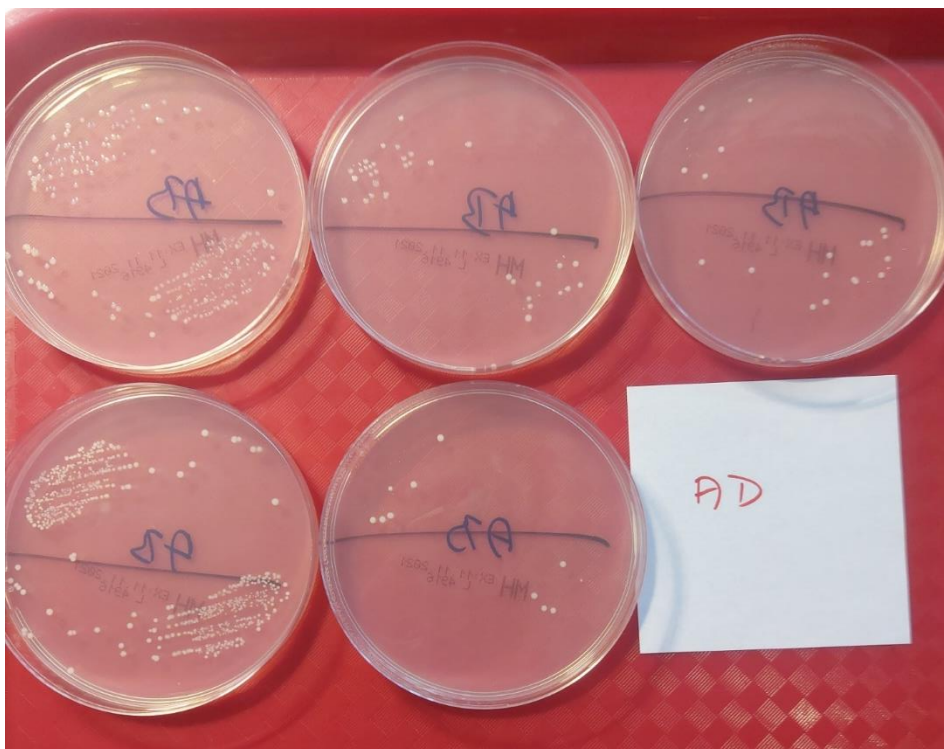
Obrázok 12: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Pozitívna kontrola



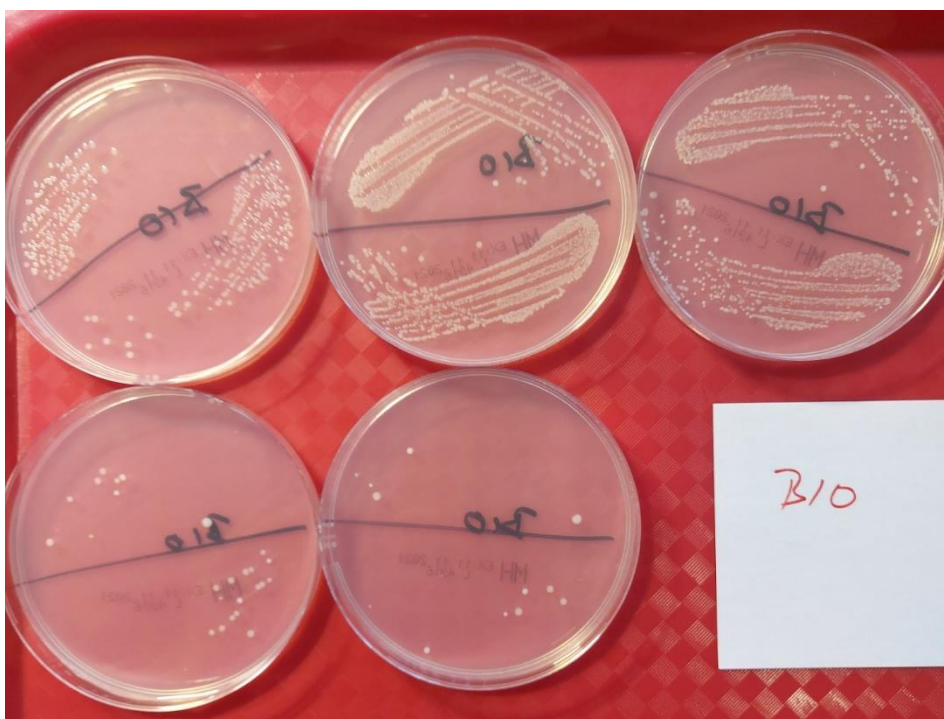
Obrázok 13: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Negatívna kontrola



Obrázok 14: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - Endomethasone N



Obrázok 15: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - ADSeal



Obrázok 16: Výsledná krátkodobá antibakteriálna aktivita - BioRoot RCS

Tabuľka 4: Namerané hodnoty log CFU / ml pre každú z vzoriek dentinu, krátkodobá antibakteriálna aktivita

| Sealer | Číslo vzorky | | | | |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Endomethasone N | 1×10^6 | 1×10^5 | 1×10^3 | 1×10^2 | 1×10^4 |
| ADSeal | 1×10^3 | 1×10^3 | 1×10^5 | 1×10^3 | 1×10^5 |
| BioRoot RCS | 1×10^6 | 1×10^2 | 1×10^2 | 1×10^5 | 1×10^6 |
| Apexit Plus (negatívna kontrola) | 1×10^6 | 1×10^6 | 1×10^5 | 1×10^6 | 1×10^5 |
| Bez sealeru (pozitívna kontrola) | 1×10^6 | 1×10^6 | 1×10^7 | 1×10^2 | 1×10^7 |

Tabuľka 5: Namerané hodnoty log CFU / ml pre každú z vzoriek dentinu, dlhodobá antibakteriálna aktivita

| Sealer | Číslo vzorky | | | | |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Endomethasone N | 1×10^5 | 1×10^4 | 1×10^4 | 1×10^3 | 1×10^3 |
| ADSeal | 1×10^5 | 1×10^5 | 1×10^4 | 1×10^4 | 1×10^3 |
| BioRoot RCS | 1×10^6 | 1×10^6 | 1×10^6 | 1×10^2 | 1×10^2 |
| Apexit Plus (negatívna kontrola) | 1×10^4 | 1×10^3 | 1×10^3 | 1×10^2 | 1×10^2 |
| Bez sealeru (pozitívna kontrola) | 1×10^7 | 1×10^7 | 1×10^7 | 1×10^6 | 1×10^6 |

3.1.4 Výsledky

3.1.4.1 Krátkodobá antibakteriálna aktivita

Kvantitatívne premenné boli prezentované pomocou priemerov a smerodajných odchýliek (SD). Pre porovnanie viacerých nezávislých vzoriek bola použitá analýza rozptylu (ANOVA). V prípade signifikantných výsledkov boli vykonané Dunnetove post hoc testy, ktoré porovnali jednotlivé sealery voči kontrole.

Všetky testy boli vykonávané na hladine štatistickej významnosti $\alpha = 0,05$. Výsledky, u ktorých bola p-hodnota nižšia než 0,05, boli považované za štatisticky významné a sú označené červenou farbou.

Dáta boli analyzované pomocou štatistického softwaru IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM corp., Armonk, NY, USA), MedCalc Statistical Software, Version 19.1.5 (Ostend, Belgicko) a pomocou TIBCO STATISTICA, Version 13.4.0.14.

Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s negatívnou kontrolou pomocou ANOVA je znázornené v Tabuľke 6 (Tab. 6).

Tabuľka 6: Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s negatívnou kontrolou pomocou ANOVA

| Sealer | N | Priemer | SD | Minimum | Maximum | p |
|--------------------|---|---------|----------|---------|---------|-------|
| Endomethasone N | 5 | 222220 | 436804,4 | 100 | 1000000 | 0,179 |
| ADSeal | 5 | 40600 | 54224,5 | 1000 | 100000 | |
| BioRoot RCS | 5 | 420040 | 530997,2 | 100 | 1000000 | |
| Negatívna kontrola | 5 | 640000 | 492950,3 | 100000 | 1000000 | |

ANOVA nepreukázala štatisticky významné rozdiely medzi priemernými hodnotami log CFU / ml v závislosti na druhu sealeru, $p = 0,179$.

Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s pozitívnou kontrolou pomocou ANOVA je znázornené v Tabuľke 7 (Tab. 7).

Tabuľka 7: Porovnanie priemerných hodnôt vzoriek s pozitívnou kontrolou pomocou ANOVA

| Sealer | N | Priemer | SD | Minimum | Maximum | p |
|--------------------|---|---------|-----------|---------|----------|-------|
| Endomethasone N | 5 | 222220 | 436804,4 | 100 | 1000000 | |
| ADSeal | 5 | 40600 | 54224,5 | 1000 | 100000 | 0,049 |
| BioRoot RCS | 5 | 420040 | 530997,2 | 100 | 1000000 | |
| Pozitívna kontrola | 5 | 4400020 | 5128331,1 | 100 | 10000000 | |

ANOVA preukázala štatisticky významné rozdiely medzi priemernými hodnotami log CFU / ml v závislosti na druhu sealeru, $p = 0,049$.

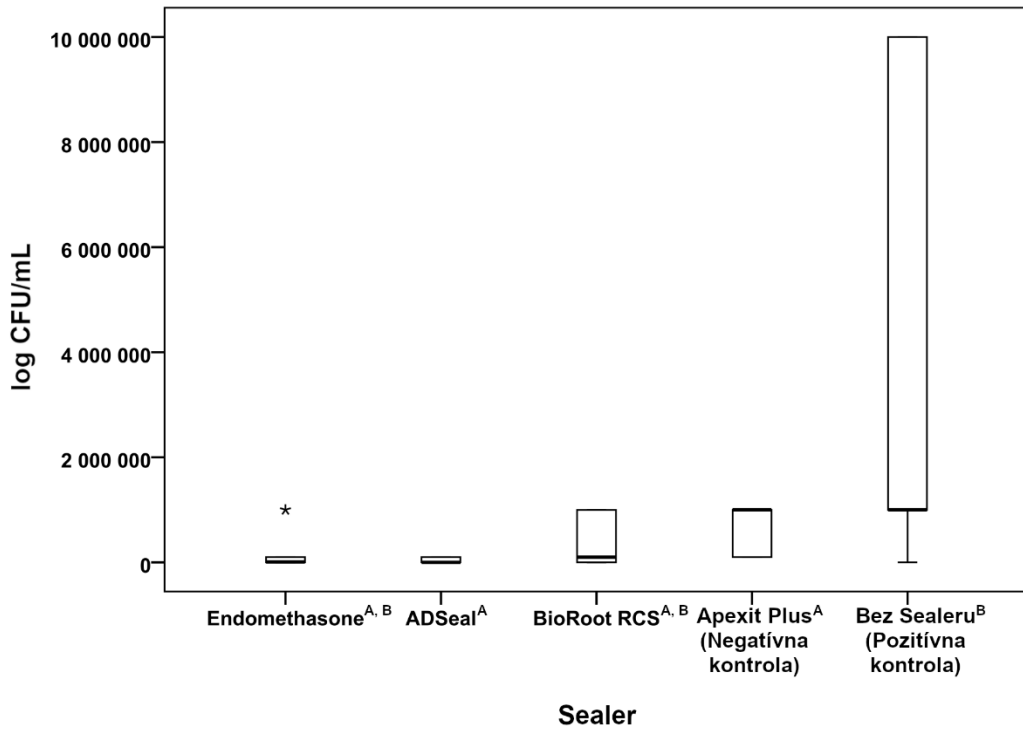
Na porovnanie hodnôt jednotlivých vzoriek s pozitívnou kontrolnou skupinou boli vykonané Dunettové post hoc testy. Výsledky sú uvedené v Tabuľke 8 (Tab. 8).

Tabuľka 8: Porovnanie hodnôt jednotlivých vzoriek s pozitívnou kontrolnou skupinou pomocou Dunettových post hoc testov

| pozitívna kontrola vs | p |
|-----------------------|-------|
| Endomethasone N | 0,054 |
| ADSeal | 0,043 |
| BioRoot RCS | 0,068 |

Pomocou Dunettových post hoc testov bol preukázaný štatisticky významný rozdiel medzi pozitívnou kontrolou (priemerná hodnota = 4 400 020) a skupinou ADSeal (priemerná hodnota = 40 600), $p = 0,043$.

Rozloženie kvantitatívnych veličín bolo znázornené krabicovým grafom (Graf 1). Vodorovná čiara v krabici znázorňuje hodnotu mediánu, dolná hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu) a horná hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Svorky znázorňujú maximálne a minimálne namerané hodnoty. Znak * znázorňuje extrémnu hodnotu.



Graf 1: Rozloženie kvantitatívnych veličín merania krátkodobej antibakteriálnej aktivity. Skupiny s rovnakým písmenom v hornom indexe nepredstavujú štatisticky významné rozdiely

3.1.4.2 Dlhodobá aktivita

Porovnanie piatich súborov medzi sebou bolo vykonané pomocou Kruskal-Wallisovho testu, čo je globálny test, ktorý najprv zistí, či existujú rozdiely medzi skupinami, ak sa berú do úvahy všetky skupiny. Týmto testom boli preukázané štatisticky významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami, $p = 0,010$. Následne bolo vykonané mnohonásobné porovnanie pomocou post hoc testov s Bonferroniho korekciou, ktoré zrovnávalo skupiny voči kontrolám.

K štatistickému spracovaniu bol použitý štatistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM corp., Armonk, NY, USA).

Popis súborov pomocou mediánu, minimálnej a maximálnej hodnoty, p-hodnota Kruskal-Wallisovho testu sú znázornené v Tabuľke 9 (Tab. 9).

Tabuľka 9: Popis súborov pomocou mediánu, minimálnej a maximálnej hodnoty, p-hodnota Kruskal-Wallisovho testu

| Sealer | aktivita (log CFU/mL) | | |
|----------------------------|-----------------------|--------------|------------|
| | Medián | Minimum | Maximum |
| Endomethasone N (n = 5) | 10 000 | 1 000 | 100 000 |
| ADSeal (n = 5) | 10 000 | 1 000 | 100 000 |
| Bioroot RCS (n = 5) | 1 000 000 | 100 | 1 000 000 |
| Negatívna kontrola (n = 5) | 1 000 | 100 | 10 000 |
| Pozitívna kontrola (n = 5) | 10 000 000 | 1 000 000 | 10 000 000 |
| p (Kruskal-Wallisův test) | | 0,010 | |

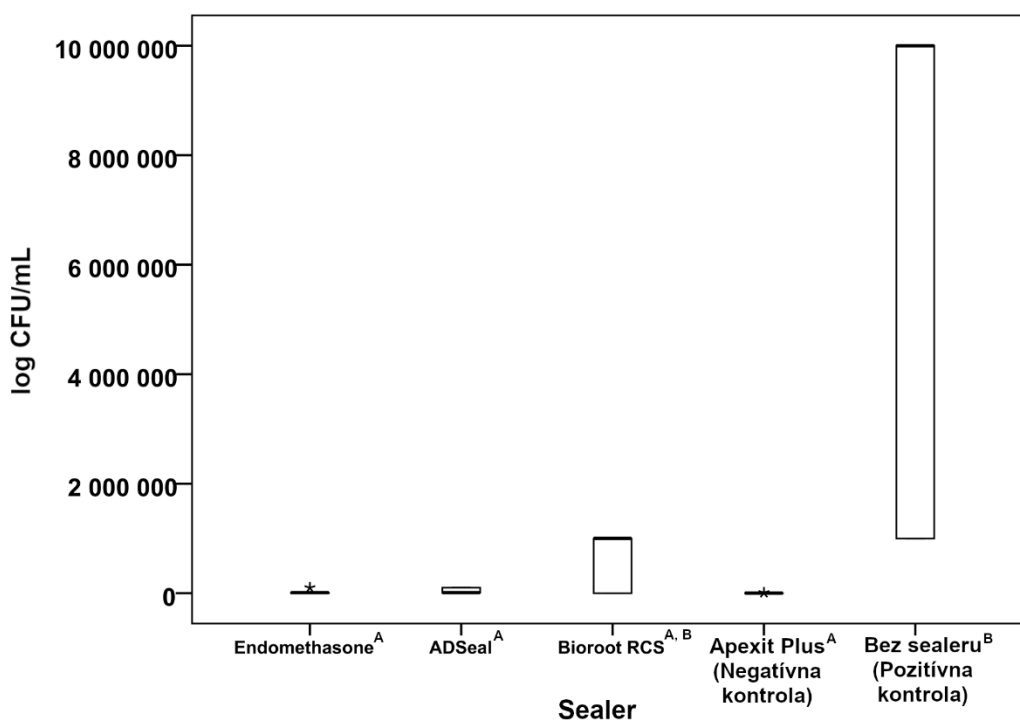
Post hoc testy – porovnanie voči kontrolám s Bonferroniho korekciou sú znázornené v Tabuľke 10 (Tab. 10).

Tabuľka 10: Post hoc testy – porovnanie voči kontrolám s Bonferroniho korekci

| Porovnanie voči | negatívnej kontrole (n = 5) | pozitívnej kontrole (n = 5) |
|-------------------------|--|--|
| Endomethasone N (n = 5) | 0,600 | 0,048 |
| ADSeal (n = 5) | 0,246 | 0,048 |
| Bioroot RCS (n = 5) | 1,000 | 0,186 |

Bolo preukázané, že dlhodobá antibakteriálna aktivita sealerov Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) a ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) je štatisticky významne nižšia (medián = 10 000 u oboch sealerov), než aktivita u pozitívnej kontroly (medián = 10 000 000), $p = 0,048$ u oboch sealerov. Iné štatisticky významné rozdiely neboli preukázané.

Rozloženie nameraných hodnôt bolo znázornené krabicovým grafom (Graf 2). Vodorovná čiara v krabici znázorňuje hodnotu mediánu, dolná hrana krabice hodnotu 1. kvartilu (25. percentilu) a horná hrana hodnotu 3. kvartilu (75. percentilu). Svorky znázorňujú maximálne a minimálne namerané hodnoty. Znak * znázorňuje extrémnu hodnotu.



Graf 2: Rozloženie kvantitatívnych veličín merania dlhodobej antibakteriálnej aktivity. Skupiny s rovnakým písmenom v hornom indexe nepredstavujú štatisticky významné rozdiely

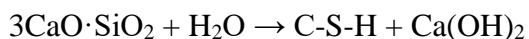
3.1.5 Diskusia

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť krátkodobú a dlhodobú antibakteriálnu aktivitu troch vybraných endodontických sealerov voči bakteriálnej kultúre *E. faecalis* a porovnať ju s antibakteriálnou aktivitou hydroxidu vápenatého, ktorý bol v tejto štúdií zastúpený endodontickým sealerom Apexit Plus (Ivoclar Vivadent, Lichtenštajnsko). *E. faecalis* bol pre účely tejto štúdie vybraný kvôli jeho vysokej rezistencii na endodontické výplachové a dezinfekčné prostriedky. Ide tiež o najbežnejší bakteriálny kmeň izolovaný zo zubov, u ktorých došlo k zlyhaniu primárneho endodontického ošetrovania (12). Štatistická analýza výsledkov nepreukázala štatisticky významný rozdiel medzi antibakteriálnou aktivitou testovaných sealerov a skupinou negatívnej kontroly a to u krátkodobej, ako aj dlhodobej antibakteriálnej aktivity. Analýza dát teda preukázala, že všetky testované endodontické sealery boli schopné signifikantne znížiť množstvo živých bakteriálnych buniek, podobne, ako tomu je u negatívnej kontroly.

Porovnaním výsledkov zhodnotenia krátkodobej antibakteriálnej aktivity študovaných endodontických sealerov s priemernými hodnotami log CFU / ml pozitívnej kontroly boli nájdené štatisticky významné rozdiely medzi priemernými hodnotami log CFU / ml v závislosti na druhu sealeru. Bol preukázaný štatisticky významný rozdiel medzi pozitívnou kontrolou a sealerom ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika). Vyhodnotením výsledkov zobrazených v Grafe 1 je možné zoradiť jednotlivé endodontické sealery na základe ich stúpajúcej antibakteriálnej aktivity nasledovne: BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko), Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) a ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika).

Porovnanie výsledkov zhodnotenia dlhodobej antibakteriálnej aktivity testovaných sealerov preukázalo štatisticky významný rozdiel medzi pozitívnou kontrolou a sealermi Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) a ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika). Možno teda dokázať ich lepšie dlhodobé antibakteriálne pôsobenie v porovnaní so sealerom BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko), čo je znázornené aj v Grafe 2.

BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) je dvojzložkový kalciumsilikátový endodontický sealer, pozostávajúci z prášku a tekutiny. Prášok obsahuje trikalciomsilikát, oxid zirkoničitý, ktorý slúži ako rádioopákne plnivo a povidon, ktorý zlepšuje adhéziu sealeru k tvrdým zubným tkanivám. Tekutina z väčšiny obsahuje sterilnú vodu a chlorid vápenatý, ktorý slúži ako modifikátor tuhnutia (102). Antibakteriálna aktivita tohto endodontického sealeru je založená na chemickej reakcii jeho tuhnutia, pri ktorej trikalciomsilikát reaguje s vodou za vzniku hydratovaného kalciumsilikátu v gélovej fáze a hydroxidu vápenatého podľa chemickej rovnice (167):



Prostredie vytvorené touto chemickou reakciou má vysoké hodnoty pH, čo je zdrojom antibakteriálnych vlastností tohto sealeru. To vysvetľuje podobnosť jeho krátkodobej antibakteriálnej aktivity na *E. faecalis* s negatívnou kontrolou, zastúpenou v tejto štúdií sealerom na báze hydroxidu vápenatého Apexit Plus (Ivoclar Vivadent, Lichtenštajnsko). Nižší antibakteriálny efekt kalciumsilikátového sealeru v porovnaní s ostatnými skúmanými sealermi môže byť zapríčinený vysokou odolnosťou *E. faecalis* voči hydroxidu vápenatému a to prevažne, ak je organizovaný v biofilme (168).

Zásadité prostredie podporuje adhérenciu *E. faecalis* ku kolagénym vláknám steny koreňového kanálika, čo zvyšuje jeho infekčnosť a tiež riziko reziduálnej infekcie (31). *E. faecalis* je schopný pufrovať vysoko alkalické pH prostredia aktiváciou jeho protónovej pumpy a to až pokiaľ pH prostredia nedosiahne výšky 11,5 (32). Hodnoty pH sealeru BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) však ležia medzi 11,25 (112), čo je tesne pod touto hranicou a 11,7 (102). Tento rozdiel v hodnotách pH môže byť spôsobený rôznym miešacím pomerom prášku a tekutiny počas prípravy tohto sealeru, čo môže vo výsledku ovplyvniť jeho antibakteriálne vlastnosti.

Výsledná krátkodobá a dlhodobá aktivita kalciumsilikátového sealeru zistená v tejto štúdií je v kontraste s výsledkami podobných dostupných štúdií (112,119,162,169). V štúdiách, v ktorých bol použitý BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) bolo krátkodobé (112,162) a dlhodobé (162) pôsobenie kalciumsilikátového sealeru voči *E. faecalis* výrazne vyššie v porovnaní s polyepoxidovým sealerom. Toto mohlo byť spôsobené rozdielnou metodikou štúdií. Alsubait et al. (162) vo svojej štúdií používali horizontálne rozrezané korene ľudských zubov a sealer BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) bol do týchto vzoriek nanosený pomocou striekačky. To vyústilo v relatívne rovnomernú distribúciu sealeru po celej stene koreňového kanálika, čoho je takmer nemožné dosiahnuť v reálnych podmienkach endodontického ošetrovania (170). Nanášanie sealeru BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) podľa návodu výrobcu, a síce pomocou sterilného gutaperčového čapu mohlo viesť k vzniku plôch na stene koreňového kanálika, ktoré neboli pokryté sealerom a kde sa jeho krátkodobé a dlhodobé antibakteriálne vlastnosti nemohli prejaviť.

Štúdia, ktorú vykonával Colombo et al. (112) testovala krátkodobú antibakteriálnu aktivitu sealeru BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) pomocou difúzneho testu na agare (ADT) a testu priameho kontaktu (DCT). Absencia prítomnosti dentinu v týchto štúdiách však mohla viesť k rozdielnym výsledkom. Dentin je totiž to schopný pufrovať alkalické prostredie vytvorené počas tuhnutia kalciumsilikátových sealerov, čím môže ovplyvniť ich antibakteriálne pôsobenie (80).

Iné štúdie (119,169) používali EndoSequence BC (Brasseler, Savannah, GA, USA) ako testovaný kalciumsilikátový sealer. Na rozdiel od BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) ide o predmiešaný sealer v striekačke, čo môže prispieť k jeho stabilnému pH, ktoré v tomto prípade nie je závislé na miešacom pomere prášku a tekutiny.

K vyššej antibakteriálnej aktivite sealeru EndoSequence BC (Brasseler, Savannah, GA, USA) môže taktiež prispieť jeho odlišné zloženie. Oxid hlinitý a oxid kremičitý prítomný v tomto sealery poškodzujú stenu grampozitívnych baktérií, čo umožňuje prienik hydroxidu vápenatého do cytosolu bakteriálnej bunky, kde môže denaturovať bakteriálnu DNA, čo vedie k vyššiemu antibakteriálnemu pôsobeniu tohto sealeru (119).

Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) je dvojzložkový sealer, pozostávajúci z prášku obsahujúceho acetát hydrokortizonu, jodid tymolu, síran bárnatý, oxid zinočnatý a stearát horečnatý a z tekutiny obsahujúcej eugenol (171). Antibakteriálna aktivita tohto endodontického sealeru je založená na antibakteriálnom pôsobení jeho jednotlivých zložiek. Voľné hydroxylové skupiny eugenolu môžu zmeniť zloženie cytoplazmatickej membrány bakteriálnej bunky, čím zabráni transportu ATP a iónov a inhibujú niektoré bakteriálne enzýmy (172). Eugenol je uvoľňovaný zo sealeru počas jeho tuhnutia, avšak vplyvom nepresného miešacieho pomeru, môže byť voľný eugenol uvoľňovaný aj po jeho stuhnutí (126). Thymol, ktorý je v tomto sealery prítomný, môže taktiež ovplyvňovať bakteriálnu kultúru *E. faecalis* (173).

Výsledky krátkodobej a dlhodobej antibakteriálnej aktivity zistené v tejto štúdií korelovali s výsledkami podobných štúdií z minulosti (10,143,166). Štúdia Prestegarda et al. (143) dokázala, že zinkoxid eugenolový sealer je schopný výrazne znížiť množstvo životaschopných bakteriálnych buniek *E. faecalis* v porovnaní so sealerom založeným na hydroxide vápenatom. Tento výrazný antibakteriálny efekt však časom klesá.

Iné štúdie (174,175) používali k testovaniu antibakteriálnej aktivity zinkoxid eugenolového sealeru ADT a DCT. Obe štúdie dokázali vysokú antibakteriálnu aktivitu tohto sealeru, v porovnaní so sealerom založeným na hydroxide vápenatom. Toto ešte viac potvrdzuje tvrdenie, že antibakteriálna aktivita tohto druhu sealeru je založená na pôsobení jeho jednotlivých komponentov a nie na pôsobení produktov a medziproduktov chemickej reakcie jeho tuhnutia, prípadne jeho pH, ktoré leží tesne pod neutrálnymi hodnotami (122). Dlhodobá antibakteriálna aktivita tohto sealeru môže byť teda vysvetlená práve jeho vysokým antibakteriálnym pôsobením v čerstvo namiešanom stave, kedy došlo k zahubeniu veľkej väčšiny životaschopných bakteriálnych buniek a následná obnova bakteriálnej kultúry v koreňovom kanáliku už nebola možná.

ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) je polyepoxidový sealer, ktorý mal v tejto štúdií najsignifikantnejší krátkodobý a signifikantný dlhodobý vplyv na kultúru *E. faecalis*. To korešponduje s výsledkami podobných štúdií vykonávaných na dentinových bločkoch (10,166). V týchto štúdiách bol dokázaný vysoký antibakteriálny efekt polyepoxidových sealerov v porovnaní so sealermi založenými na hydroxide vápenatom.

Antibakteriálny efekt sealeru ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) je pravdepodobne založený na antibakteriálnom pôsobení jeho hlavných zložiek a medziproduktov chemickej reakcie jeho tuhnutia. Ide o dvojzložkový sealer, zložený z bázy a katalyzátora. Báza sealeru obsahuje prevažne bisfenol A dyglycidyl éter (105), ktorý má mutagénne účinky (176). Počas reakcie tuhnutia dochádza k tvorbe minimálneho množstva formaldehydu, ktorý reaguje s bakteriálnymi proteínmi, DNA a RNA, čím negatívne ovplyvňuje bakteriálnu kultúru *E. faecalis* (119,177). Toto tvrdenie je podporené výsledkami DCTa ADT štúdií (120,174), v ktorých už stuhnutý polyepoxidový sealer nedokázal výrazne ovplyvniť kultúru *E. faecalis*. Hodnoty pH počas tuhnutia tohto sealeru ležia tesne pod neutrálnymi hodnotami (136), a teda na antibakteriálne pôsobenie nemajú vplyv. Tvorba minimálneho množstva formaldehydu počas tuhnutia tohto sealeru môže byť odvodená od jeho zloženia, ktoré je podobné zloženiu iného polyepoxidového sealeru AH Plus (Dentsply DeTrey, Nemecko) (105), u ktorého bol vznik formaldehydu pri tuhnutí dokázaný (178).

Mutagénne účinky hlavnej zložky tohto sealeru a tvorba formaldehydu pri tuhnutí vysvetľujú aj jeho výraznú dlhodobú antibakteriálnu aktivitu. Podobne ako u zinkoxid eugenolových sealerov, mohlo pôsobením týchto látok dôjsť k zahubeniu veľkého množstva životaschopných bakteriálnych buniek, s následnou nemožnosťou obnovy bakteriálnej kultúry.

Limity tejto štúdie spočívajú predovšetkým v nízkom počte študovaných vzoriek, rôznych priemeroch koreňových kanálikov a tým rôznych hrúbkach dentinovej steny jednotlivých vzoriek. Aj napriek röntgenovému vyšetreniu všetkých použitých teľacích zubov, mohli byť v pripravených vzorkách prítomné variácie, týkajúce sa ich anatómie a histológie. To mohlo vyústiť v nerovnomerné rozloženie, ako aj v nerovnomerné množstvo sealeru v koreňových kanálikoch jednotlivých vzoriek, čo mohlo viesť k nekonštantným výsledkom naprieč celou skupinou vzoriek. Rôzne metódy aplikácie jednotlivých druhov sealerov mohli viesť k nerovnomernej distribúcií sealeru na dentinové steny koreňového kanáliku. Išlo však o pracovný postup doporučený výrobcom jednotlivých sealerov použitých v tejto štúdií.

3.1.6 Záver

Najvyššiu krátkodobú antibakteriálnu aktivitu vykazoval polyepoxidový sealer ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) a to vďaka obsahu bisfenolu A diglicidyl éteru, ako aj tvorbe minimálneho množstva formaldehydu pri tuhnutí. Druhý v poradí bol zinkoxid eugenolový sealer Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) a to vďaka uvoľňovaniu eugenolu pri jeho tuhnutí a antibakteriálnemu pôsobeniu iodidu tymolu obsiahnutom v jeho zložení. Kalciumsilikátový sealer BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) preukazoval najnižšie antibakteriálne vlastnosti, porovnateľné s endodontickým sealerom, založeným na hydroxide vápenatom, Apexit® Plus (Ivoclar Vivadent, Lichtenštajnsko). Tento výsledok bol pravdepodobne spôsobený rôznym miešacím pomerom prášku a tekutiny, čo mohlo ovplyvniť pH tohto sealeru a tým aj jeho antibakteriálne vlastnosti.

Výrazná dlhodobá antibakteriálna aktivita bola preukázaná u sealerov ADSeal (Meta Biomed, Cheongju, Kórejská republika) a Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko). Je pravdepodobne zapríčinená výrazným pôsobením ich jednotlivých zložiek, prípadne medziproduktov ich tuhnutia, proti *E. faecalis*, kedy pri aplikácii týchto sealerov do koreňového kanálika došlo k tak výraznému ovplyvneniu tejto bakteriálnej kultúry, že jej následná obnova už nebola možná. Uvoľňovanie eugenolu zo stuhnutého sealeru Endomethasone N (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko), zapríčinené nesprávnym miešacím pomerom, mohlo taktiež prispieť k jeho výraznému dlhodobému antibakteriálnemu účinku. Nízka antibakteriálna aktivita kalciumsilikátového sealeru BioRoot RCS (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francúzsko) môže byť vysvetlená nesprávnym miešacím pomerom jeho jednotlivých zložiek a tým pádom jeho nízkym pH pod hranicou 11,5. K nevýraznému dlhodobému antibakteriálnemu pôsobeniu mohlo taktiež prispieť jeho nerovnomerné nanesenie v koreňových kanálikoch jednotlivých vzoriek.

3.2 In vivo štúdia

Sledovanie miery úspešnosti a dlhodobej prognózy endodontického ošetrenia a identifikácia najčastejších faktorov, ktorými sú ovplyvnené

3.2.1 Úvod a ciele

Úspešné endodontické ošetrenie výrazne ovplyvňuje prognózu zubu a má tiež vplyv na celkový protetický alebo ortodontický liečebný plán. Faktorov, ktoré ovplyvňujú výsledok tohto ošetrenia je nespočetné množstvo. Znížená miera úspešnosti môže byť očakávaná u zubov s nekrotickou alebo gangrenóznou pulpou, zubov, u ktorých je na röntgenovom snímku pred ošetrenia prítomné periapikálne prejasnenie zubov s nedoplnenými (179) alebo s preinštrumentovanými koreňovými kanálíkmi, kde možno predpokladať pretlačenie infikovaného dentinu do periodoncia (180).

Cieľom tejto retrospektívnej in vivo štúdie bolo posúdiť mieru úspešnosti endodontického ošetrenia vykonávaného na Konzervačnom oddelení Kliniky zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci v rozsahu 10 rokov, ako aj zhodnotiť mieru úspešnosti endodontického ošetrenia v závislosti na type zubu, miery infekcie koreňového kanálíka a použitom výplňovom materiáli.

3.2.2 Pracovné hypotézy

Na základe výsledkov in vitro štúdie a údajov dostupných z literatúry, boli vyslovené nasledujúce pracovné hypotézy:

- H1. Zuby s jednoduchou anatómiou systému koreňových kanálikov budú mať vyššiu mieru úspešnosti endodontického ošetrenia.
- H2. Zuby s nižšou mierou infekcie v koreňových kanálikoch budú mať vyššiu mieru úspešnosti endodontického ošetrenia.
- H3. Zuby, ktorých koreňové kanáliky sú zaplnené polyepoxidovými sealerami, budú mať vyššiu mieru úspešnosti endodontického ošetrenia.

3.2.3 Materiály a metodika

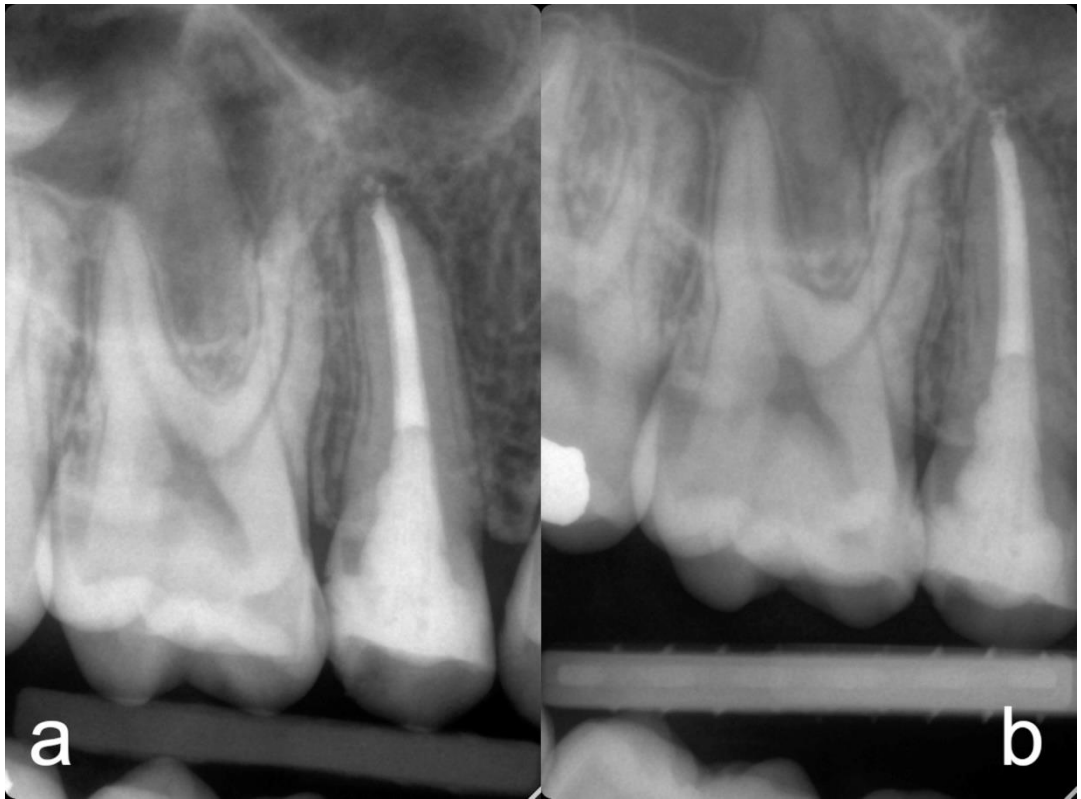
Na začiatku štúdie bol vytvorený zoznam pacientov, ktorí podstúpili endodontické ošetrovanie na Konzervačnom oddelení Kliniky zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci v čase od 01. 01. 2012 do 30. 11. 2022. Celkovo bolo takto vyhľadaných 2608 pacientov. Tento zoznam obsahoval typ ošetrovaného zubu, diagnózu, pre ktorú bolo endodontické ošetrovanie indikované a dátum, kedy bol daný zub definitívne endodonticky ošetrovaný. Následne boli nájdené a zhodnotené röntgenové snímky každého z pacientov pomocou software Planmeca Romexis® (Planmeca Oy, Helsinki, Fínsko). Druh definitívnej koreňovej výplne bol vyhľadaný v pacientových záznamoch uložených v databázovom software PC DENT (CompuGroup Medical Česká republika s.r.o., Praha, Česká republika). Každý zo sledovaných zubov musel spĺňať nasledujúce kritériá:

1. Muselo sa jednať o primárne endodontické ošetrovanie. Zuby so sekundárnym endodontickým ošetrovaním boli zo štúdie vyradené.
2. Museli byť prítomné kontrolné intraorálne röntgenové snímky ošetrovaného zubu, zhotovené najmenej pol roka po definitívnom endodontickom ošetrovaní.
3. Na kontrolných röntgenových snímkach musela byť jasne viditeľná absencia, tvorba alebo zväčšovanie periapikálneho prejasnenia.
4. Typ definitívneho obturačného materiálu musel byť zaevidovaný v pacientových záznamoch.

Počet endodonticky ošetrovaných zubov, spĺňajúcich tieto kritériá bol 1433. Zaznamenané dáta boli nasledovné:

1. Typ ošetrovaného zubu v two-digit systéme. Zuby boli rozdelené do 6 skupín, v závislosti na ich zvyšujúcej sa zložitosti systému koreňových kanálikov:
 - Skupina 1 – horné rezáky a očné zuby
 - Skupina 2 – dolné rezáky a očné zuby
 - Skupina 3 – dolné premoláre
 - Skupina 4 – horné premoláre
 - Skupina 5 – dolné moláre
 - Skupina 6 – horné moláre

2. Rok, kedy bol zub definitívne endodonticky ošetrený.
3. Rok poslednej röntgenovej kontroly ošetrovaného zubu. V prípade neúspešného endodontického ošetrenia bol zaznamenaný rok, kedy bolo zlyhanie ošetrenia jasne identifikovateľné.
4. Diagnóza podľa ICD-10, Verzia 2019. Jednotlivé diagnózy boli rozdelené do troch skupín, v závislosti na ich závažnosti a zvyšujúcej sa miere infekcie systému koreňových kanálikov:
 - Skupina 1 – Žiadna alebo minimálna infekcia: Vitálna extirpácia pulpy, Pulpitis, Nekróza pulpy
 - Skupina 2 – Stredná až mierne závažná infekcia: Gangréna pulpy, Periodontitis
 - Skupina 3 – Závažná bakteriálna infekcia: Kombinované pulpo-parodontálne lézie
5. Definitívny obturačný materiál. Materiály používané na Konzervačnom oddelení Kliniky zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci boli gutaperča v kombinácii so sealerom, založeným na hydroxide vápenatom, polyepoxidovým, alebo kalciumsilikátovým sealerom. Ďalším materiálom používaným k obturácii koreňového kanáliku bol kalciumsilikátový cement, ako napríklad MTA a jeho deriváty.
6. Výsledok endodontického ošetrenia. Za výsledok úspešného endodontického ošetrenia sa považovala perzistencia zubu v dutine ústnej, bez prítomnosti periapikálneho prejasnenia, prípadne javiaceho jasné známky hojenia periapikálneho tkaniva (Obr. 17 a Obr. 18).



Obrázok 17: Úspešné endodontické ošetrenie. a – RVG snímka bezprostredne po plnení (2022), b – kontrolná RVG snímka (2023)



Obrázok 18: Neúspešné endodontické ošetrenie. a – RVG snímka bezprostredne po plnení (2013), b – kontrolná RVG snímka (2019)

7. V prípade úspešného endodontického ošetrenia bola zaznamenaná doba prežitia tri a viac rokov od dokončenia tohto ošetrenia. Ako „neznáme“, bola označená doba prežitia u zubov, u ktorých bolo úspešné endodontické ošetrenie dokončené pred menej ako tromi rokmi.
8. V prípade neúspešného endodontického ošetrenia bola zaznamenaná príčina jeho zlyhania. Tá bola rozdelená do dvoch skupín:
 - Periapikálne prejasnenie – tvorba alebo zväčšovanie sa periapikálneho prejasnenia.
 - Iné – strata zubu v dôsledku úrazu, fraktúry, progredujúcej parodontitis, prípadne kvôli jeho nízkemu významu v protetickom, prípadne ortodontickom pláne terapie. Aj keď tieto zuby signifikantne znižovali mieru úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia, neboli zavzaté do štatistického spracovania údajov, keďže išlo o zuby nereprezentujúce faktory, ovplyvňujúce počas endodontického ošetrenia.

3.2.4 Výsledky

K štatistickému spracovaniu bol použitý štatistický software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM corp., Armonk, NY, USA).

Kvalitatívne premenné boli popísané pomocou absolútnych a relatívnych početností. Vzťahy medzi premennými boli u ordinálnych veličín overené pomocou Mannovho-Whitneyovho testu, pre nominálne veličiny bol použitý Fischerov presný test. Všetky testy boli vykonávané na hladine signifikancie 0,05. Ak bola p-hodnota nižšia než 0,05, boli rozdiely považované za štatisticky významné, čo je v nasledujúcich tabuľkách označené červenou. Celková miera úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia bola 80,1 % v prípade, že boli do štatistického spracovania zavzaté aj zuby, u ktorých bol dôvod zlyhania „iné“. Ak boli tieto zuby zo štatistického spracovania vyňaté, posunula sa miera úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia na 88,6 %.

3.2.4.1 Popisná štatistika

Popisná štatistika je znázornená v Tabuľke 11 a Tabuľke 12 (Tab. 11 a Tab. 12). Úspešnosť primárneho endodontického ošetrovania je znázornená grafmi (Graf 3 a Graf 4).

Tabuľka 11: Zastúpenie jednotlivých endodonticky ošetrovaných zubov

| | n = 1433 | Počet | % |
|-----|-----------------|--------------|----------|
| | 11 | 44 | 3,1% |
| | 12 | 40 | 2,8% |
| | 13 | 47 | 3,3% |
| | 14 | 69 | 4,8% |
| | 15 | 87 | 6,1% |
| | 16 | 83 | 5,8% |
| | 17 | 42 | 2,9% |
| | 18 | 3 | 0,2% |
| Zub | 21 | 43 | 3,0% |
| | 22 | 48 | 3,3% |
| | 23 | 52 | 3,6% |
| | 24 | 48 | 3,3% |
| | 25 | 89 | 6,2% |
| | 26 | 110 | 7,7% |
| | 27 | 38 | 2,7% |
| | 28 | 1 | 0,1% |

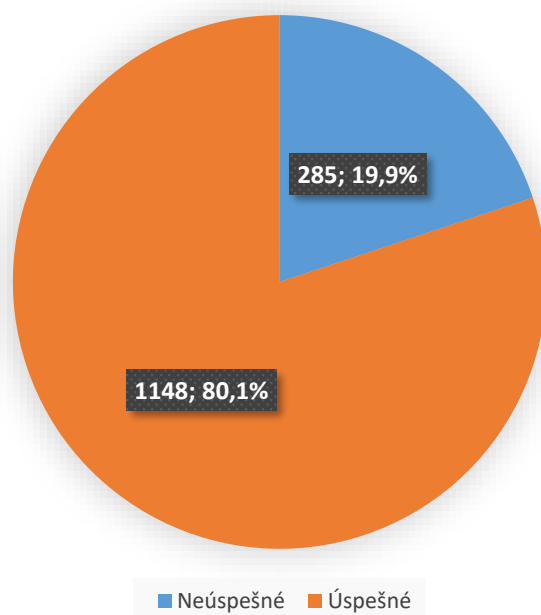
| | n = 1433 | Počet | % |
|-----|-----------------|--------------|----------|
| | 31 | 14 | 1,0% |
| | 32 | 17 | 1,2% |
| | 33 | 30 | 2,1% |
| | 34 | 37 | 2,6% |
| | 35 | 58 | 4,0% |
| | 36 | 78 | 5,4% |
| | 37 | 48 | 3,3% |
| Zub | 41 | 14 | 1,0% |
| | 42 | 21 | 1,5% |
| | 43 | 22 | 1,5% |
| | 44 | 40 | 2,8% |
| | 45 | 75 | 5,2% |
| | 46 | 90 | 6,3% |
| | 47 | 43 | 3,0% |
| | 48 | 1 | 0,1% |
| | 63 | 1 | 0,1% |

Tabuľka 12: Popisná štatistika sledovaných kritérií

| n = 1433 | | Počet | % |
|-------------------------|-----|--------------|----------|
| Skupina zubov | 1 | 275 | 19,2% |
| | 2 | 118 | 8,2% |
| | 3 | 210 | 14,7% |
| | 4 | 293 | 20,4% |
| | 5 | 260 | 18,1% |
| | 6 | 277 | 19,3% |
| | 0,5 | 35 | 2,4% |
| Kontrola po X rokoch | 1 | 238 | 16,6% |
| | 2 | 262 | 18,3% |
| | 3 | 205 | 14,3% |
| | 4 | 152 | 10,6% |
| | 5 | 134 | 9,4% |
| | 6 | 112 | 7,8% |
| | 7 | 89 | 6,2% |
| | 8 | 89 | 6,2% |
| | 9 | 64 | 4,5% |
| | 10 | 42 | 2,9% |
| | 11 | 11 | ,8% |
| Skupina diagnóz | 1 | 449 | 31,3% |
| | 2 | 960 | 67,0% |
| | 3 | 24 | 1,7% |

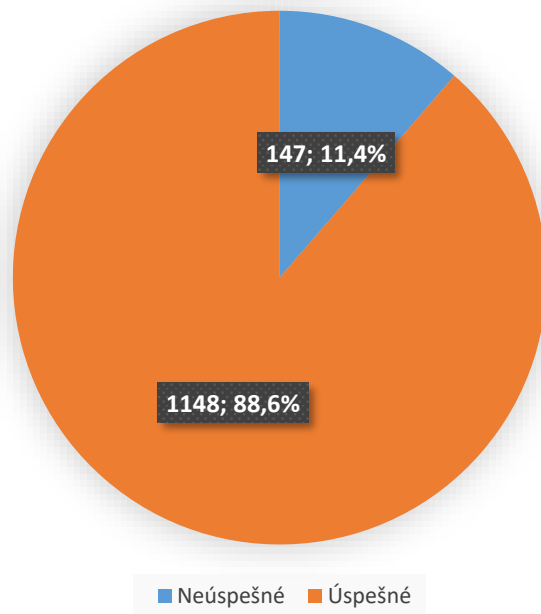
| n = 1433 | | Počet | % |
|---------------------------|-------------------------------------|-------|-------|
| Materiál | Sealer na báze hydroxidu vápenatého | 22 | 1,5% |
| | Kalciumsilikátový cement | 49 | 3,4% |
| | Kalciumsilikátový sealer | 152 | 10,6% |
| | Polyepoxidový sealer | 1210 | 84,4% |
| Prežitie tri a viac rokov | - | 285 | 19,9% |
| | + | 695 | 48,5% |
| | Neznáme | 453 | 31,6% |
| Dôvod zlyhania | | 1148 | 80,1% |
| | Iné | 138 | 9,6% |
| | Periapikálne prejasnenie | 147 | 10,3% |

Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia



Graf 3: Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia

Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia



Graf 4: Úspešnosť primárneho endodontického ošetrenia po vyradení skupiny zubov s dôvodom zlyhania "Iné", zo štatistického súboru

3.2.4.2 Korelácie

Korelácia medzi úspešnosťou endodontického ošetrenia a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu je znázornená v Tabuľke 13 (Tab. 13).

Tabuľka 13: Korelácia medzi úspešnosťou endodontického ošetrenia a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu. a - Mannov-Whitneyov test, b - Fischerov presný test

| n = 1295 | | Miera úspešnosti | | | | p |
|--------------------|-------------------------------------|------------------|--------|-------|--------|---------------------------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| Skupina zubov | 1 | 235 | 20,5 % | 18 | 12,2 % | <0.0001 a |
| | 2 | 80 | 7,0 % | 9 | 6,1 % | |
| | 3 | 179 | 15,6 % | 16 | 10,9 % | |
| | 4 | 247 | 21,5 % | 21 | 14,3 % | |
| | 5 | 194 | 16,9 % | 39 | 26,5 % | |
| | 6 | 213 | 18,6 % | 44 | 29,9 % | |
| Skupina diagnóz | 1 | 382 | 33,3 % | 36 | 24,5 % | 0.027 ^a |
| | 2 | 751 | 65,4 % | 108 | 73,5 % | |
| | 3 | 15 | 1,3 % | 3 | 2,0 % | |
| Materiál | Sealer na báze hydroxidu vápenatého | 20 | 1,7 % | 1 | 0,7 % | 0.010 ^b |
| | Kalciumsilikátový cement | 44 | 3,8 % | 2 | 1,4 % | |
| | Kalciumsilikátový sealer | 136 | 11,8 % | 7 | 4,8 % | |
| | Polyepixidový sealer | 948 | 82,6 % | 137 | 93,2 % | |

Mannov-Whitneyov test preukázal štatisticky významnú súvislosť medzi typom zubu, diagnózou a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania. Úspešne ošetrované zuby mali menej komplexnú anatómiu systému koreňových kanálikov, $p < 0,0001$ a menej závažnú bakteriálnu kontamináciu, $p = 0,027$. Fischerov presný test preukázal štatisticky významný vzťah medzi mierou úspešnosti a použitým obturačným materiálom. U úspešne ošetrovaných zubov boli použité aj iné materiály, než polyepoxidový sealer, $p = 0,010$.

Korelácia medzi tri a viacročnou dobou prežitia a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu je znázornená v Tabuľke 14 (Tab. 14).

Tabuľka 14: Korelácia medzi tri a viac ročnou dobou prežitia a typom zubu, typom diagnózy a typom definitívneho obturačného materiálu. a - Mannov-Whitneyov test, b - Fischerov presný test

| | n = 842 | Doba prežitia po dobu tri a viac rokov | | | | p |
|-----------------|-------------------------------------|--|--------|-------|--------|--------------------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| Skupina zubov | 1 | 128 | 18,4 % | 18 | 12,2 % | 0.001 ^a |
| | 2 | 41 | 5,9 % | 9 | 6,1 % | |
| | 3 | 112 | 16,1 % | 16 | 10,9 % | |
| | 4 | 145 | 20,9 % | 21 | 14,3 % | |
| | 5 | 128 | 18,4 % | 39 | 26,5 % | |
| | 6 | 141 | 20,3 % | 44 | 29,9 % | |
| Skupina diagnóz | 1 | 239 | 34,4 % | 36 | 24,5 % | 0.019 ^a |
| | 2 | 446 | 64,2 % | 108 | 73,5 % | |
| | 3 | 10 | 1,4 % | 3 | 2,0 % | |
| Materiál | Sealer na báze hydroxidu vápenatého | 17 | 2,4 % | 1 | 0,7 % | 0.554 ^b |
| | Kalciumsilikátový cement | 17 | 2,4 % | 2 | 1,4 % | |
| | Kalciumsilikátový sealer | 30 | 4,3 % | 7 | 4,8 % | |
| | Polyepoxidový sealer | 631 | 90,8 % | 137 | 93,2 % | |

Mannov-Whitneyov test preukázal štatisticky významnú súvislosť medzi dĺžkou prežitia úspešne endodonticky ošetrovaného zubu a jeho typom, $p = 0,001$ a diagnózou, $p = 0,019$. Zuby s jednoduchšou anatómiou systému koreňových kanálikov a s menej závažnou bakteriálnou kontramináciou vykazovali vyššiu mieru prežitia po dobu tri a viac rokov.

Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania, overený Mannovym-Whitneyovým testom je znázornený v Tabuľke 15 (Tab. 15).

Tabuľka 15: Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania, overený Mannovym-Whitneyovým testom

| Skupina diagnóz 1 | | Miera úspešnosti | | | | p |
|-------------------|---|------------------|--------|-------|--------|-------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| | 1 | 74 | 19,4 % | 4 | 11,1 % | |
| | 2 | 28 | 7,3 % | 2 | 5,6 % | |
| Skupina zubov | 3 | 69 | 18,1 % | 3 | 8,3 % | 0.004 |
| | 4 | 76 | 19,9 % | 3 | 8,3 % | |
| | 5 | 62 | 16,2 % | 12 | 33,3 % | |
| | 6 | 73 | 19,1 % | 12 | 33,3 % | |

| Skupina diagnóz 2 | | Miera úspešnosti | | | | p |
|-------------------|---|------------------|--------|-------|--------|-------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| | 1 | 156 | 20,8 % | 14 | 13,0 % | |
| | 2 | 51 | 6,8 % | 7 | 6,5 % | |
| Skupina zubov | 3 | 109 | 14,5 % | 12 | 11,1 % | 0.001 |
| | 4 | 168 | 22,4 % | 18 | 16,7 % | |
| | 5 | 132 | 17,6 % | 26 | 24,1 % | |
| | 6 | 135 | 18,0 % | 31 | 28,7 % | |

| Skupina diagnóz 3 | Miera úspešnosti | | | | p |
|-------------------|------------------|--------|-------|--------|-------|
| | + | | - | | |
| | Počet | % | Počet | % | |
| 1 | 5 | 33,3 % | 0 | 0,0 % | 0.498 |
| 2 | 1 | 6,7 % | 0 | 0,0 % | |
| Skupina | 3 | 6,7 % | 1 | 33,3 % | |
| zubov | 4 | 20,0 % | 0 | 0,0 % | |
| | 5 | 0,0 % | 1 | 33,3 % | |
| | 6 | 33,3 % | 1 | 33,3 % | |

Štatisticky významný vzťah medzi typom zubu a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia bol dokázaný v skupine s minimálnou a miernou, až stredne závažnou mierou infekcie.

Medzi typom zubu a mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia v skupine so závažnou mierou infekcie nebol preukázaný žiadny štatisticky významný vzťah. To bolo spôsobené malým počtom zubov v tejto skupine.

Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a tri a viacročnou dobou prežitia, overený Mannovym-Whitneyovým testom je znázornený v Tabuľke 16 (Tab. 16).

Tabuľka 16: Vzťah medzi diagnózou, typom zubu a tri a viac ročnou dobou prežitia, overený Mannovým-Whitneyovým testom

| Skupina diagnóz 1 | | Doba prežitia po dobu tri a viac rokov | | | | p |
|-------------------|---|--|--------|-------|--------|-------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| | 1 | 41 | 17,2 % | 4 | 11,1 % | 0.012 |
| | 2 | 17 | 7,1 % | 2 | 5,6 % | |
| Skupina | 3 | 44 | 18,4 % | 3 | 8,3 % | |
| zubov | 4 | 46 | 19,2 % | 3 | 8,3 % | |
| | 5 | 42 | 17,6 % | 12 | 33,3 % | |
| | 6 | 49 | 20,5 % | 12 | 33,3 % | |

| Skupina diagnóz 2 | | Doba prežitia po dobu tri a viac rokov | | | | p |
|-------------------|---|--|--------|-------|--------|-------|
| | | + | | - | | |
| | | Počet | % | Počet | % | |
| | 1 | 84 | 18,8 % | 14 | 13,0 % | 0.015 |
| | 2 | 24 | 5,4 % | 7 | 6,5 % | |
| Skupina | 3 | 67 | 15,0 % | 12 | 11,1 % | |
| zubov | 4 | 97 | 21,7 % | 18 | 16,7 % | |
| | 5 | 86 | 19,3 % | 26 | 24,1 % | |
| | 6 | 88 | 19,7 % | 31 | 28,7 % | |

| Skupina diagnóz 3 | Doba prežitia po dobu tri a viac rokov | | | | p |
|-------------------|--|--------|-------|--------|-------|
| | + | | - | | |
| | Počet | % | Počet | % | |
| 1 | 3 | 30,0 % | 0 | 0,0 % | |
| 3 | 1 | 10,0 % | 1 | 33,3 % | |
| 4 | 2 | 20,0 % | 0 | 0,0 % | 0.661 |
| 5 | 0 | 0,0 % | 1 | 33,3 % | |
| 6 | 4 | 40,0 % | 1 | 33,3 % | |

Mannov-Whitneyov test preukázal štatisticky významnú koreláciu medzi dĺžkou prežitia a komplexnosťou anatómie systému koreňových kanálikov u zubov s minimálnou, prípadne strednou, až mierne závažnou mierou infekcie, $p = 0,012$ a $p = 0,015$. Koreňové kanáliky s jednoduchšou anatómiou mali dlhodobú mieru prežitia.

V skupine zubov so závažnou mierou infekcie nebol preukázaný žiadny štatisticky významný vzťah medzi zložitnosťou anatómie a dĺžkou prežitia. To bolo spôsobené malým počtom zubov v tejto skupine.

3.2.5 Diskusia

Cieľom tejto retrospektívnej in vivo štúdie bolo zistiť mieru úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia vykonávaného na Konzervačnom oddelení Kliniky zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci. Celková miera úspešnosti bola 80,1 %. Ak boli zo štatistického spracovania vyňaté zuby, u ktorých primárne endodontické ošetrenie zlyhalo z dôvodu iných, než tvorba alebo zväčšovanie sa periapikálneho prejasnenia na röntgenových snímkach, bola miera úspešnosti rovná 88,64 %, čo je mierne pod hodnotou miery úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia, uvádzanej v súčasných systematických prehľadových štúdiách (2,181). Tento výsledok mohol byť spôsobený tým, že väčšina endodoncií bola vykonaná pregraduálnymi študentmi pod dohľadom vyučujúcich a tiež tým, že časť zubov mala zložitú a komplexnú anatómiu koreňov a koreňových kanálikov, čo znemožňovalo ich riadne vypracovanie a vydezinfikovanie na plnú pracovnú dĺžku. To v konečnom dôsledku v rade prípadov viedlo k ošetreniu s kompromisným výsledkom.

Táto štúdia preukázala štatisticky významný vzťah medzi typom zubu a celkovou mierou úspešnosti, ako aj dlhodobou mierou prežitia primárneho endodontického ošetrenia, čo je v súlade s podobnými súčasnými štúdiami (182–185). Zuby s jednoduchšou a predvídateľnejšou anatómiou, ako napríklad rezáky, očné zuby a dolné premoláre, majú vyššiu mieru úspešnosti, než zuby s viacerými koreňovými kanálkami a ich variáciami, napríklad horné premoláre a horné a dolné moláre. V prípade horných molárov bola najvyššia miera variability zistená v mesiobukálnom koreni, kde môže byť prítomný typ kanáliku II, III (186), alebo IV (186,187) podľa Vertucciho (33). V distobukálnom a palatinálnom koreni prevláda väčšinou typ I (188), avšak jedna zo štúdií uviedla ako častú aj prítomnosť typu IV a VII (187). Taktiež je častá prítomnosť laterálnych kanálikov, predovšetkým v apikálnej časti palatinálnych koreňov (189). Navyše vykazuje druhý mesiobukálny koreňový kanálik veľkú početnosť kalcifikácií, predovšetkým pri jeho vstupe, ale aj pozdĺž jeho priebehu (190). Anatómia dolných molárov je o čosi jednoduchšia, najčastejšie sa v mesiálnom koreni vyskytuje Vertucciho typ I a II (34,191,192) a v distálnom koreni Vertucciho typ I (191,192) koreňového kanáliku. Avšak prítomnosť početných spojok, a to hlavne v meisálnom koreni (34,191) a časté apikálne ramifikácie (191) sťažujú mechanické a chemické opracovanie koreňových kanálikov týchto zubov. To z dolných molárov, spolu s ich horným ekvivalentom robí zuby, u ktorých je endodontické ošetrenie najzložitejšie a má najmenej predvídateľný výsledok.

Štatisticky významný vzťah medzi diagnózou a celkovou mierou úspešnosti a dlhodobou mierou prežitia primárneho endodontického ošetrenia bol preukázaný v tejto štúdií. To potvrdzujú aj predošlé dostupné štúdie (183,185). Zuby s menej závažnou diagnózou, tým pádom menej závažnou mierou infekcie systému koreňových kanálikov, mali vyššiu mieru úspešnosti primárneho endodontického ošetrenia, než zuby zo závažnejšou bakteriálnou kontamináciou. Infekcia koreňových kanálikov je spôsobená hlavne anaeróbnymi a fakultatívne anaeróbnymi mikroorganizmami, organizovanými v biofilme (12). Najodolnejším z týchto organizmov je *E. faecalis*, ktorý je častým nálezom u zlyhaného endodontického ošetrenia (193). Je to spôsobené jeho výraznou rezistenciou voči najbežnejšie používanej dezinfekčnej vložke, hydroxidu vápenatému, predovšetkým ak je organizovaný v biofilme (168). K jeho infekčnosti tiež prispieva jeho schopnosť penetrovať dentinové tubuly do hĺbky 300 – 400 µm (10). *Candida albicans*, ako jeden z najbežnejších mikroorganizmov infikovaných koreňových kanálikov (194), tvorí v alkalickom prostredí hýfy, čím penetruje hlboko do dentinových tubulov a zvyšuje tak svoju infekčnosť (31).

Výsledky štúdie preukázali štatisticky významný vzťah medzi typom zubu, diagnózou a celkovou mierou úspešnosti a dlhodobou mierou prežitia primárneho endodontického ošetrenia. Zuby s jednoduchšou anatómiou a so žiadnou, až minimálnou alebo miernou, až stredne závažnou mierou infekcie mali lepšiu šancu na prežitie, ako zuby so zložitejšou anatómiou. U zubov so závažnou mierou bakteriálnej infekcie nebol preukázaný žiadny štatisticky významný vzťah, čo bolo spôsobené nízkym počtom zubov v tejto skupine. Zuby s komplexnou anatómiou koreňových kanálikov, obsahujúcou početné spojky medzi jednotlivými koreňovými kanálikmi, sú náročnejšie na mechanické a chemické opracovanie a vydezinfikovanie, hlavne ak je miera ich infekcie vysoká. Tieto spojky koreňových kanálikov slúžia ako rezervoár prežívajúcich mikroorganizmov, čo prispieva k zlyhaniu endodontického ošetrenia (195). Každá apikálna ramifikácia, laterálny kanálik alebo neošetrený koreňový kanálik môže taktiež slúžiť ako takýto rezervoár. Na vyčistenie a dezinfekciu miest neprístupných endodontickým nástrojom a k odstráneniu reziduálnych baktérií, pulpálneho tkaniva, dentinových pilín a smear layer je doporučené používať kombináciu NaClO s EDTA (63) a podporiť účinnosť týchto prostriedkov ich aktiváciou (69,196). Ani tieto kroky však nie sú schopné úplne odstrániť reziduálny biofilm zo systému koreňových kanálikov (25).

Táto štúdia preukázala štatisticky významný vzťah medzi celkovou mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania a použitým definitívnym obturačným materiálom, kedy boli úspešne ošetrované koreňové kanáliky častokrát zaplnené inými materiálmi, prevažne kalciumsilikátovými sealermi v kombinácií s gutaperčou a kalciumsilikátovými cementmi, než polyepoxidovým sealerom v kombinácií s gutaperčou. To bolo spôsobené niekoľkými z vlastností týchto materiálov, pričom prvou z nich je ich antibakteriálna aktivita. Vzhľadom na ich zloženie možno povedať, že každý z definitívnych obturačných materiálov používaných na Konzervačnom oddelení Kliniky zubného lékařství LF UP a FN v Olomouci oplýva do určitej miery antibakteriálnymi vlastnosťami. Sealery založené na báze hydroxidu vápenatého vykazujú vysoký antibakteriálny účinok (119), ktorý môže byť pozorovaný po dobu minimálne jedného týždňa (120). Polyepoxidové sealery majú taktiež výrazné antibakteriálne vlastnosti (143). Kalciumsilikátové sealery a cementy si dokážu svoju vysokú antibakteriálnu aktivitu udržať po dobu 30 dní (142,162). Ďalšie z vlastností prispievajúce k úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania sú objemová stabilita a rozpustnosť týchto materiálov v tkanivových tekutinách a tým náchylnosť k prieniku baktérií uväznených týmito materiálmi v dentinových tubuloch a komunikáciách medzi koreňovými kanálikmi do periodoncia. Počas ich tuhnutia dochádza u sealerov založených na hydroxide vápenatom k miernemu zvýšeniu ich objemu (110), avšak ich vysoká rozpustnosť (112) je zdrojom jej nedostatočnej schopnosti utesniť koreňový kanálik, čo sa prejaví s odstupom času (118). Polyepoxidové sealery pri tuhnutí v závislosti na svojom zložení mierne znižujú alebo zväčšujú svoj objem (133–137) a vykazujú zanedbateľnú rozpustnosť (135), čo prispieva k ich dobrej schopnosti utesniť koreňový kanálik. Kalciumsilikátové sealery a cementy počas svojho tuhnutia zväčšujú svoj objem (158) a majú minimálnu rozpustnosť (102,150,151), čím vykazujú porovnateľnú alebo lepšiu schopnosť hermeticky utesniť koreňový kanálik, než je tomu u polyepoxidových sealerov (105). To je navyše umocnené tvorbou hydroxylapatitu podobných štruktúr (150), ktoré vyplňajú potenciálne netesnosti koreňovej výplne (98).

Štatisticky významný vzťah medzi dlhodobou mierou úspešnosti primárneho endodontického ošetrovania a použitým definitívnym obturačným materiálom nebol v tejto štúdií potvrdený. Zuby s úspešne ošetrovanými koreňovými kanálkami a s úspešne zvládnutou bakteriálnou infekciou pomocou ich mechanického a chemického opracovania spolu s využitím antibakteriálnych vlastností definitívnych obturačných materiálov a ich schopnosti dlhodobo hermeticky utesniť koreňový kanálik, vykazujú znaky dlhodobo úspešnej endodontickej liečby bez ohľadu na použitý definitívny obturačný materiál.

3.2.6 Záver

Zhodnotením výsledkov tejto retrospektívnej in vivo štúdie možno povedať, že dôkladná znalosť anatómie systému koreňových kanálikov jednotlivých zubov, dôsledné dodržiavanie výplachového protokolu umocnené aktiváciou jednotlivých výplachových prostriedkov a riadne porozumenie vlastností jednotlivých definitívnych obturačných materiálov, je základom k zvládnutiu bakteriálnej infekcie koreňového kanálika a tým k poskytnutiu dlhodobo úspešnej endodontickej liečby.

4 Závěry pre prax

Zosumarizovaním poznatkov z teoretickej, ako aj z praktickej in vitro a in vivo časti tejto práce, možno vyvodit' nasledovné závery:

1. Úspešné endodontické ošetrovanie výrazne ovplyvňuje prognózu zubu a jeho prípadné využitie v protetickom alebo ortodontickom pláne. Úspechu možno dosiahnuť iba odstránením všetkých nekrotických a infikovaných organických tkanív, ako aj minimalizáciou bakteriálnej infekcie koreňového systému.
2. Bakteriálna kultúra *E. faecalis*, organizovaná v biofilme, vykazuje výraznú odolnosť voči pôsobeniu skúmaných sealerov, kedy žiadny z použitých materiálov nedokázal výrazne znížiť jej množstvo u všetkých testovaných vzoriek dentinu v in vitro podmienkach.
3. Napriek tomu, že najvýraznejšiu krátkodobú aktivitu v in vitro podmienkach vykazoval zástupca polyepoxidových sealerov a najvýraznejšiu dlhodobú aktivitu v in vitro podmienkach vykazovali zástupcovia polyepoxidových a zinkoxid eugenolových sealerov, je eradikácia mikrobiálneho osídlenia koreňového kanálíku proces, pozostávajúci z niekoľkých krokov a nie je možné spoliehať sa len na antimikrobiálne pôsobenie definitívnej koreňovej výplne.
4. K dostatočnej minimalizácii počtu mikroorganizmov v koreňovom systéme je potrebná dôkladná znalosť anatómie jednotlivých ošetrovaných zubov, identifikácia všetkých prítomných koreňových kanálikov a ich následné mechanické a chemické opracovanie na plnú pracovnú dĺžku a hermetické uzavretie. Definitívna koreňová výplň je len jednou zložkou tohto komplexného procesu a svojím antimikrobiálnym pôsobením a inými fyzikálnymi vlastnosťami dopĺňa predošlé kroky dezinfekcie.
5. Ako ideálny výplňový materiál možno odporučiť kalciumsilikátové sealery v kombinácii s gutaperčou. Aj napriek tomu, že v in vitro podmienkach tejto práce vykazovali nepresvedčivé krátkodobé a dlhodobé antimikrobiálne pôsobenie, je nutné podotknúť, že táto ich vlastnosť bola testovaná na vyzretom, vysoko odolnom bakteriálnom biofilme. V reálnych podmienkach je ich pôsobenie voči redukovanému bakteriálnemu biofilmu dostatočné, na čo možno usudzovať z výsledkov in vivo časti tejto práce.

6. Ďalšie výhody kalciumsilikátových sealerov sú ich minimálna rozpustnosť v tkanivových tekutinách, ako aj ich objemová stálosť, vďaka čomu ich možno použiť k plneniu metódou centrálneho kónusu. Ide o metódu relatívne jednoduchú a s minimálnym počtom krokov, z čoho vyplýva menej chýb pri zhotovení definitívnej koreňovej výplne.
7. Ako najvhodnejšia forma kalciumsilikátových sealerov sa javia predmiešané materiály nanášané do koreňového kanáliku za pomoci kanyly. Tým je zaručený presne daný miešací pomer jednotlivých zložiek a teda konštantné vlastnosti materiálu, ako aj rovnomerné nanesenie sealeru v celom objeme koreňového kanáliku.
8. Priebeh, výsledky a vizuálne podklady uvedené v tejto práci by mali pomôcť zubnému lekárovi v pochopení procesu eliminácie mikrobiálnej infekcie z koreňového kanáliku a vo voľbe vhodného materiálu určeného k jeho definitívnemu uzavretiu.

Zoznam použitej literatúry

1. Löst C. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J* [Internet]. 2006 Dec 1 [cited 2023 Aug 30];39(12):921–30. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2591.2006.01180.x>
2. Burns LE, Kim J, Wu Y, Alzwaideh R, McGowan R, Sigurdsson A, et al. Outcomes of primary root canal therapy: An updated systematic review of longitudinal clinical studies published between 2003 and 2020. *Int Endod J* [Internet]. 2007 [cited 2023 Aug 29];40:41. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/iej.13736>
3. Bergenholtz G. Micro organisms from necrotic pulp of traumatized teeth. *OdontRevy*. 1974;25(4):347–58.
4. Sundqvist G. Bacteriological studies of necrotic dental pulps. *Umae Univ Odontol Diss*. 1976;
5. Rôças IN, Siqueira JF. Characterization of microbiota of root canal-treated teeth with posttreatment disease. *J Clin Microbiol*. 2012;
6. Waltimo T, Trope M, Haapasalo M, Ørstavik D. Clinical efficacy of treatment procedures in endodontic infection control and one year follow-up of periapical healing. *J Endod*. 2005;31(12):863–6.
7. Fabricius L, Dahlén G, Sundqvist G, Happonen RP, Möller AJR. Influence of residual bacteria on periapical tissue healing after chemomechanical treatment and root filling of experimentally infected monkey teeth. *Eur J Oral Sci*. 2006;114(4):278–85.
8. Özcan E, Eldeniz AU, Ari H. Bacterial killing by several root filling materials and methods in an ex vivo infected root canal model. *Int Endod J*. 2011;44(12):1102–9.
9. Wu MK, Dummer PMH, Wesselink PR. Consequences of and strategies to deal with residual post-treatment root canal infection. *Int Endod J*. 2006;39(5):343–56.

10. Saleh IM, Ruyter IE, Haapasalo M, Ørstavik D. Survival of *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules after root canal filling with different root canal sealers in vitro. *Int Endod J*. 2004;37(3):193–8.
11. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. *Int Endod J* [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Feb 25];55 Suppl 3(S3):512–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34958494/>
12. Sakko M, Tjäderhane L, Rautemaa-Richardson R. Microbiology of Root Canal Infections. *Prim Dent J*. 2016;5(2):84–9.
13. Casadevall A, Pirofski LA. Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage-response framework. *J Water Health* [Internet]. 2009 [cited 2024 Feb 25];7 Suppl 1(SUPPL. 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19717929/>
14. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 2004 [cited 2024 Feb 25];15(6):348–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15574679/>
15. Morozova Y, Voborná I, Žižka R, Bogdanová K, Večeřová R, Rejman D, et al. Ex Vivo Effect of Novel Lipophosphonoxins on Root Canal Biofilm Produced by *Enterococcus faecalis*: Pilot Study. *Life* 2022, Vol 12, Page 129 [Internet]. 2022 Jan 17 [cited 2024 Mar 4];12(1):129. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-1729/12/1/129/htm>
16. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community lifestyle. *J Clin Periodontol* [Internet]. 2005 [cited 2024 Mar 6];32 Suppl 6(SUPPL. 6):7–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16128825/>
17. Ricucci D, Siqueira JF. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod* [Internet]. 2010 [cited 2024 Feb 25];36(8):1277–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20647081/>
18. Siqueira JF, Rôças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2002 [cited 2024 Mar 6];93(2):174–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11862207/>

19. Swimberghe RCD, Coenye T, De Moor RJG, Meire MA. Biofilm model systems for root canal disinfection: a literature review. *Int Endod J*. 2019;52(5):604–28.
20. Siqueira JF, Rôças IN. Community as the unit of pathogenicity: an emerging concept as to the microbial pathogenesis of apical periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2009 Jun [cited 2024 Mar 6];107(6):870–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19464660/>
21. Ricucci D, Siqueira JF, Bate AL, Pitt Ford TR. Histologic investigation of root canal-treated teeth with apical periodontitis: a retrospective study from twenty-four patients. *J Endod* [Internet]. 2009 [cited 2024 Mar 6];35(4):493–502. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345793/>
22. Siqueira JF, Rôças IN. Diversity of endodontic microbiota revisited. *J Dent Res* [Internet]. 2009 Nov [cited 2024 Feb 25];88(11):969–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19828883/>
23. Waltimo TMT, Sen BH, Meurman JH, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Yeasts in apical periodontitis. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 2003 [cited 2024 Feb 25];14(2):128–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12764075/>
24. Votava M, Broukal Z, Vaněk J. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. I. Brno: Neptun; 2007. 567 p.
25. Mohammed SA, Vianna ME, Penny MR, Hilton ST, Mordan NJ, Knowles JC. Investigations into in situ *Enterococcus faecalis* biofilm removal by passive and active sodium hypochlorite irrigation delivered into the lateral canal of a simulated root canal model. *Int Endod J* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Jan 10];51(6):649–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29178348/>
26. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 2004 [cited 2024 Feb 25];15(5):308–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15470268/>
27. Baik JE, Jang KS, Kang SS, Yun CH, Lee K, Kim BG, et al. Calcium hydroxide inactivates lipoteichoic acid from *Enterococcus faecalis* through deacylation of the lipid moiety. *J Endod* [Internet]. 2011 Feb [cited 2024 Mar 3];37(2):191–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21238801/>

28. Baik JE, Ryu YH, Han JY, Im J, Kum KY, Yun CH, et al. Lipoteichoic acid partially contributes to the inflammatory responses to *Enterococcus faecalis*. *J Endod* [Internet]. 2008 Aug [cited 2024 Mar 3];34(8):975–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18634930/>
29. Brändle N, Zehnder M, Weiger R, Waltimo T. Impact of growth conditions on susceptibility of five microbial species to alkaline stress. *J Endod* [Internet]. 2008 May [cited 2024 Feb 26];34(5):579–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18436038/>
30. Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 2002 [cited 2024 Feb 26];13(2):171–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12097359/>
31. Zancan RF, Calefi PHS, Borges MMB, Lopes MRM, de Andrade FB, Vivian RR, et al. Antimicrobial activity of intracanal medications against both *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* biofilm. *Microsc Res Tech*. 2019;82(5):494–500.
32. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J*. 2002;
33. Vertucci FJ. Root canal anatomy of the human permanent teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1984 [cited 2023 Nov 12];58(5):589–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6595621/>
34. Marceliano-Alves MF, Lima CO, Bastos LG do PMN, Bruno AMV, Vidaurre F, Coutinho TM, et al. Mandibular mesial root canal morphology using micro-computed tomography in a Brazilian population. *Aust Endod J* [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2023 Nov 12];45(1):51–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29611889/>
35. Peters OA, Schönenberger K, Laib A. Effects of four Ni-Ti preparation techniques on root canal geometry assessed by micro computed tomography. *Int Endod J* [Internet]. 2001 Apr [cited 2024 Feb 25];34(3):221–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12193268/>
36. Gulabivala K, Patel B, Evans G, Ng Y-L. Effects of mechanical and chemical procedures on root canal surfaces.

37. Peřinka L, Bartůřková ř, Záhlová E. Zákklady klinické endodoncie. Praha: Quintessenz; 2003. 288 p.
38. Torabinejad M, Fouad AF, Walton RE. Endodontics: Principles and Practice. 5th ed. Elsevier Saunders; 2014. 496 p.
39. Zehnder M. Root canal irrigants. J Endod [Internet]. 2006 May [cited 2024 Mar 9];32(5):389–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16631834/>
40. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. J Endod [Internet]. 2004 [cited 2024 Mar 10];30(11):785–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15505511/>
41. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - a review. Int Endod J [Internet]. 2010 Jan [cited 2024 Mar 10];43(1):2–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20002799/>
42. Siqueira JF, Rôças IN, Favieri A, Lima KC. Chemomechanical reduction of the bacterial population in the root canal after instrumentation and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium hypochlorite. J Endod [Internet]. 2000 [cited 2024 Mar 10];26(6):331–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11199749/>
43. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Aprecio RM, Torabinejad M. Minimum contact time and concentration of sodium hypochlorite required to eliminate *Enterococcus faecalis*. J Endod [Internet]. 2010 Mar [cited 2024 Mar 10];36(3):520–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20171375/>
44. Zou L, Shen Y, Li W, Haapasalo M. Penetration of sodium hypochlorite into dentin. J Endod [Internet]. 2010 May [cited 2024 Mar 13];36(5):793–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20416421/>
45. Da Silva LAB, Leonardo MR, Assed S, Tanomaru Filho M. Histological study of the effect of some irrigating solutions on bacterial endotoxin in dogs. Braz Dent J [Internet]. 2004 [cited 2024 Mar 10];15(2):109–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15776192/>
46. Tanomaru JMG, Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Bonetti Filho I, Silva LAB. Effect of different irrigation solutions and calcium hydroxide on bacterial LPS. Int Endod J [Internet]. 2003 Nov [cited 2024 Mar 10];36(11):733–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14641436/>

47. Stojicic S, Zivkovic S, Qian W, Zhang H, Haapasalo M. Tissue dissolution by sodium hypochlorite: effect of concentration, temperature, agitation, and surfactant. *J Endod* [Internet]. 2010 [cited 2024 Mar 10];36(9):1558–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20728727/>
48. Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T. Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2002 Dec 1;94(6):756–62.
49. Hülsmann M, Hahn W. Complications during root canal irrigation--literature review and case reports. *Int Endod J* [Internet]. 2000 [cited 2024 Mar 10];33(3):186–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11307434/>
50. Sim TPC, Knowles JC, Ng YL, Shelton J, Gulabivala K. Effect of sodium hypochlorite on mechanical properties of dentine and tooth surface strain. *Int Endod J* [Internet]. 2001 Mar [cited 2024 Mar 10];34(2):120–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11307260/>
51. Addy M, Moran JM. Clinical indications for the use of chemical adjuncts to plaque control: chlorhexidine formulations. *Periodontol 2000* [Internet]. 1997 [cited 2024 Mar 11];15(1):52–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9643232/>
52. Zamany A, Safavi K, Spångberg LSW. The effect of chlorhexidine as an endodontic disinfectant. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2003 [cited 2024 Mar 11];96(5):578–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14600693/>
53. Bui TB, Baumgartner JC, Mitchell JC. Evaluation of the Interaction between Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine Gluconate and its Effect on Root Dentin. *J Endod*. 2008 Feb 1;34(2):181–5.
54. Orhan EO, Irmak Ö, Hür D, Yaman BC, Karabucak B. Does Para-chloroaniline Really Form after Mixing Sodium Hypochlorite and Chlorhexidine? *J Endod* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2024 Mar 11];42(3):455–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26830426/>

55. Basrani B, Haapasalo M. Update on endodontic irrigating solutions. *Endod Top* [Internet]. 2012 Sep 1 [cited 2024 Mar 13];27(1):74–102. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/etp.12031>
56. Hülsmann M, Heckendorff M, Lennon Á. Chelating agents in root canal treatment: mode of action and indications for their use. *Int Endod J* [Internet]. 2003 Dec [cited 2024 Mar 13];36(12):810–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14641420/>
57. Çalt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod* [Internet]. 2002 [cited 2024 Mar 13];28(1):17–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11806642/>
58. Zehnder M, Schmidlin P, Sener B, Waltimo T. Chelation in root canal therapy reconsidered. *J Endod* [Internet]. 2005 [cited 2024 Mar 13];31(11):817–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16249726/>
59. Tashkandi N, Alghamdi F. Effect of Chemical Debridement and Irrigant Activation on Endodontic Treatment Outcomes: An Updated Overview. *Cureus* [Internet]. 2022 Jan 23 [cited 2024 Mar 9];14(1). Available from: </pmc/articles/PMC8863357/>
60. Christos B, van der Sluis LWM. Syringe Irrigation: Blending Endodontics and Fluid Dynamics. *Endod Irrig Chem Disinfect Root Canal Syst* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2024 Mar 17];45–64. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-16456-4_3
61. Huang TY, Gulabivala K, Ng YL. A bio-molecular film ex-vivo model to evaluate the influence of canal dimensions and irrigation variables on the efficacy of irrigation. *Int Endod J* [Internet]. 2008 Jan [cited 2024 Mar 17];41(1):60–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17916068/>
62. Al-Hadlaq SM, Al-Turaiki SA, Al-Sulami U, Saad AY. Efficacy of a new brush-covered irrigation needle in removing root canal debris: a scanning electron microscopic study. *J Endod* [Internet]. 2006 Dec [cited 2024 Mar 17];32(12):1181–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17174678/>

63. Konstantinidi E, Psimma Z, Chávez de Paz LE, Boutsoukis C. Apical negative pressure irrigation versus syringe irrigation: a systematic review of cleaning and disinfection of the root canal system. *Int Endod J* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2022 Jan 11];50(11):1034–54. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/iej.12725>
64. Nielsen BA, Craig Baumgartner J. Comparison of the EndoVac system to needle irrigation of root canals. *J Endod* [Internet]. 2007 May [cited 2024 Mar 17];33(5):611–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17437884/>
65. Duque JA, Duarte MAH, Canali LCF, Zancan RF, Vivian RR, Bernardes RA, et al. Comparative Effectiveness of New Mechanical Irrigant Agitating Devices for Debris Removal from the Canal and Isthmus of Mesial Roots of Mandibular Molars. *J Endod* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Mar 17];43(2):326–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27989584/>
66. Klyn SL, Kirkpatrick TC, Rutledge RE. In vitro comparisons of debris removal of the EndoActivator system, the F file, ultrasonic irrigation, and NaOCl irrigation alone after hand-rotary instrumentation in human mandibular molars. *J Endod* [Internet]. 2010 [cited 2024 Mar 17];36(8):1367–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20647098/>
67. Boutsoukis C, Arias-Moliz MT. Present status and future directions - irrigants and irrigation methods. *Int Endod J* [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Mar 17];55 Suppl 3(Suppl 3):588–612. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35338652/>
68. Zeltner M, Peters OA, Paqué F. Temperature changes during ultrasonic irrigation with different inserts and modes of activation. *J Endod* [Internet]. 2009 Apr [cited 2024 Mar 17];35(4):573–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19345808/>
69. Iandolo A, Amato M, Dagna A, Poggio C, Abdellatif D, Franco V, et al. Intracanal heating of sodium hypochlorite: Scanning electron microscope evaluation of root canal walls. *J Conserv Dent* [Internet]. 2018 [cited 2022 Jan 10];21(5):569. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30294123/>

70. De Groot SD, Verhaagen B, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR, Van Der Sluis LWM. Laser-activated irrigation within root canals: cleaning efficacy and flow visualization. *Int Endod J* [Internet]. 2009 Dec [cited 2024 Mar 18];42(12):1077–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19912378/>
71. Guneser MB, Arslan D, Usumez A. Tissue dissolution ability of sodium hypochlorite activated by photon-initiated photoacoustic streaming technique. *J Endod* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2024 Mar 18];41(5):729–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25728817/>
72. De Meyer S, Meire MA, Coenye T, De Moor RJG. Effect of laser-activated irrigation on biofilms in artificial root canals. *Int Endod J* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 Mar 18];50(5):472–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27014832/>
73. Kawashima N, Wadachi R, Suda H, Yeng T, Parashos P. Root canal medicaments. *Int Dent J* [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2024 Mar 17];59(1):5–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19323305>
74. CHONG BS, FORD TRP. The role of intracanal medication in root canal treatment. *Int Endod J* [Internet]. 1992 [cited 2024 Mar 18];25(2):97–106. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1399059/>
75. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. *Int Endod J*. 2011;44(8):697–730.
76. Schröder U. Effects of calcium hydroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration, proliferation, and differentiation. *J Dent Res* [Internet]. 1985 [cited 2024 Mar 20];64 Spec No:541–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3857254/>
77. Yang SF, Rivera EM, Baumgardner KR, Walton RE, Stanford C. Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *J Endod* [Internet]. 1995 [cited 2024 Mar 20];21(12):613–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8596083/>
78. Mohammadi Z, Shalavi S, Yazdizadeh M. Antimicrobial Activity of Calcium Hydroxide in Endodontics: A Review. *Chonnam Med J* [Internet]. 2012 [cited 2024 Mar 10];48(3):133. Available from: </pmc/articles/PMC3539092/>

79. Plutzer B, Zilm P, Ratnayake J, Cathro P. Comparative efficacy of endodontic medicaments and sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilms. *Aust Dent J* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 Mar 18];63(2):208–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29181844/>
80. Haapasalo HK, Sirén EK, Waltimo TMT, Ørstavik D, Haapasalo MPP. Inactivation of local root canal medicaments by dentine: An in vitro study. *Int Endod J*. 2000;33(2):126–31.
81. Klotz SA, Rutten MJ, Smith RL, Babcock SR, Cunningham MD. Adherence of *Candida albicans* to immobilized extracellular matrix proteins is mediated by calcium-dependent surface glycoproteins. Vol. 14, *Microbial Pathogenesis*. 1993. p. 133–47.
82. Dammaschke T, Schneider U, Stratmann U, Yoo JM, Schäfer E. Effect of root canal dressings on the regeneration of inflamed periapical tissue. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2005 Jun [cited 2024 Mar 23];63(3):143–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16191907/>
83. Thomson AD, Athanassiadis B, Kahler B, Walsh L. Tooth discolouration: staining effects of various sealers and medicaments. *Aust Endod J* [Internet]. 2012 Apr [cited 2024 May 11];38(1):2–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22432819/>
84. Bryson EC, Levin L, Banchs F, Abbott P V., Trope M. Effect of immediate intracanal placement of Ledermix Paste(R) on healing of replanted dog teeth after extended dry times. *Dent Traumatol* [Internet]. 2002 Dec [cited 2024 Mar 23];18(6):316–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12656865/>
85. Ehrmann EH, Messer HH, Adams GG. The relationship of intracanal medicaments to postoperative pain in endodontics. *Int Endod J* [Internet]. 2003 Dec [cited 2024 Mar 23];36(12):868–75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14641427/>
86. Kaufman AY, Solomonov M, Galieva D, Abbott P V. Allergic reaction to the tetracycline component of Ledermix paste: a case report. *Int Endod J* [Internet]. 2014 Nov 1 [cited 2024 Mar 23];47(11):1090–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24456195/>

87. Žižka R, Škrdlant J, Míšová E. Maturogeneze. LKS. 2015;25(11):220–8.
88. Athanassiadis B, Abbott P V., Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. Aust Dent J [Internet]. 2007 [cited 2024 May 11];52(1 Suppl). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17546863/>
89. Pallotta RC, Ribeiro MS, Machado ME d. L. Determination of the minimum inhibitory concentration of four medicaments used as intracanal medication. Aust Endod J [Internet]. 2007 Dec [cited 2024 May 11];33(3):107–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18076578/>
90. Arnaldo C. Endodontics. Volume II. Firenze: Edizioni Odontoiatriche Il Tridente; 2005. 416 p.
91. Tyagi S, Tyagi P, Mishra P. Evolution of root canal sealers: An insight story. Eur J Gen Dent. 2013;2(3):199.
92. Gatewood RS. Endodontic materials. Dent Clin North Am [Internet]. 2007 Jul [cited 2024 Mar 3];51(3):695–712. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17586151/>
93. Schilder H, Goodman A, Aldrich W. The thermomechanical properties of gutta-percha: III. Determination of phase transition temperatures for gutta-percha. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol. 1974 Jul 1;38(1):109–14.
94. Vishwanath V, Rao HM. Gutta-percha in endodontics - A comprehensive review of material science. J Conserv Dent [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Mar 3];22(3):216. Available from: </pmc/articles/PMC6632621/>
95. Tanomaru-Filho M, Bier CAS, Tanomaru JMG, Barros DB. EVALUATION OF THE THERMOPLASTICITY OF DIFFERENT GUTTA-PERCHA CONES AND THE TC SYSTEM. J Appl Oral Sci [Internet]. 2007 [cited 2024 Mar 3];15(2):131. Available from: </pmc/articles/PMC4327244/>
96. Moorer WR, Genet JM. Antibacterial activity of gutta-percha cones attributed to the zinc oxide component. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol. 1982 May 1;53(5):508–17.

97. Kowalski J, Rygas J, Homa K, Dobrzyński W, Dobrzyński D, Wiglusz RJ, et al. Antibacterial Activity of Endodontic Gutta-Percha—A Systematic Review. *Appl Sci* 2024, Vol 14, Page 388 [Internet]. 2023 Dec 31 [cited 2024 Mar 3];14(1):388. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3417/14/1/388/htm>
98. Li GH, Niu LN, Zhang W, Olsen M, De-Deus G, Eid AA, et al. Ability of new obturation materials to improve the seal of the root canal system: A review. *Acta Biomaterialia*. 2014.
99. Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *International Journal of Biomaterials*. 2016.
100. Surya Raghavendra S, Jadhav GR, Gathani KM, Kotadia P. BIOCERAMICS IN ENDODONTICS – A REVIEW. *J Istanbul Univ Fac Dent*. 2017;
101. Singh H, Markan S, Kaur M, Gupta G. “Endodontic Sealers”: Current Concepts and Comparative Analysis. *Dent - Open J*. 2015;
102. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of bioroot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J*. 2017;
103. Jafari F, Jafari S. Composition and physicochemical properties of calcium silicate based sealers: A review article. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2017.
104. Žižka R, Šedý J, Škrdlant J, Kučera P, Čtvrtlík R, Tomašík J. Kalciumsilikátové cementy. 1. část: Vlastnosti a rozdělení. *LKS*. 2018;28(2):37–43.
105. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. *Dental Materials Journal*. 2020.
106. Marín-Bauza GA, Silva-Sousa YTC, da Cunha SA, Rached FJA, Bonetti-Filho I, Sousa-Neto MD, et al. Physicochemical properties of endodontic sealers of different bases. *J Appl Oral Sci*. 2012;20(4):455–61.
107. Allan NA, Walton RC, Schaeffer MA. Setting times for endodontic sealers under clinical usage and in vitro conditions. *J Endod*. 2001;

108. Cañadas PS, Berástegui E, Gatón-Hernández P, Silva LA, Leite GA, Silva RS. Physicochemical properties and interfacial adaptation of root canal sealers. *Braz Dent J.* 2014;
109. Tanomaru-Filho M, Jorge EG, Tanomaru JMG, Gonçalves M. Evaluation of the radiopacity of calcium hydroxide- and glass-ionomer-based root canal sealers. *Int Endod J.* 2008;
110. Ballullaya S V., Vinay V, Thumu J, Devalla S, Priyadarshini BI, Balla S. Stereomicroscopic dye leakage measurement of six different root canal sealers. *J Clin Diagnostic Res.* 2017;11(6):ZC65–8.
111. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Júnior FA, De-Deus G, Miranda CES, 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;
112. 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;
113. Jagtap P, Shetty R, Agarwalla A, Wani P, Bhargava K, Martande S. Comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers on cultured human periodontal fibroblasts: In vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2018;19(7):847–52.
114. Kaur A, Shah N, Logani A, Mishra N. Biototoxicity of commonly used root canal sealers: A meta-analysis. *Journal of Conservative Dentistry.* 2015.
115. Scelza MZ, Coil J, Alves GG. Effect of time of extraction on the biocompatibility of endodontic sealers with primary human fibroblasts. *Braz Oral Res.* 2012;
116. Tour Savadkouhi S, Fazlyab M. Discoloration potential of endodontic sealers: A brief review. *Iranian Endodontic Journal.* 2016.
117. Muneeb Lone M, Raza Khan F, Ahmed Lone M. Evaluation of Microleakage in Single-Rooted Teeth Obturated with Thermoplasticized Gutta-Percha Using Various Endodontic Sealers: An In-Vitro Study. *J Coll Physicians Surg Pakistan.* 2018;28(5):339–43.
118. Patni PM, Chandak M, Jain P, Patni MJ, Jain S, Mishra P, et al. Stereomicroscopic evaluation of sealing ability of four different root canal sealers- An invitro study. *J Clin Diagnostic Res.* 2016;

119. 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* [Internet]. 2018;13(1):54–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jds.2017.10.007>
120. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers by Modified Direct Contact Test Against *Enterococcus faecalis*. *J Endod* [Internet]. 2009;35(7):1051–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2009.04.022>
121. 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;
122. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod*. 2013;
123. Ørstavik D, Nordahl I, Tibballs JE. Dimensional change following setting of root canal sealer materials. *Dent Mater*. 2001;
124. Poggio C, Arciola CR, Dagna A, Colombo M, Bianchi S, Visai L. Solubility of root canal sealers: A comparative study. *Int J Artif Organs*. 2010;33(9):676–81.
125. Schäfer E, Zandbiglari T. Solubility of root-canal sealers in water and artificial saliva. *Int Endod J*. 2003;
126. Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of resin-, zinc oxide-eugenol-, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. *Int Endod J*. 2002;35(2):153–8.
127. Ioannidis K, Beltes P, Lambrianidis T, Kapagiannidis D, Karagiannis V. Crown discoloration induced by endodontic sealers: spectrophotometric measurement of Commission International de l’Eclairage’s L*, a*, b* chromatic parameters. *Oper Dent*. 2013;
128. Upadhyay V, Upadhyay M, Panday RK, Chturvedi TP, Bajpai U. A SEM evaluation of dentinal adaptation of root canal obturation with GuttaFlow and conventional obturating material. *Indian J Dent Res*. 2011;22(6):881.

129. Chandrasekhar V, Morishetty PK, Metla SL, Raju RVSC. Expansion of gutta-percha in contact with various concentrations of zinc oxide-eugenol sealer: A three-dimensional volumetric study. *J Endod.* 2011;
130. Monajemzadeh A, Ahmadi S, Aslani S, Sadeghi-Nejad B. In vitro antimicrobial effect of different root canal sealers against oral pathogens. *Curr Med Mycol.* 2017;
131. Wainstein M, Morgental RD ornelle., Waltrick SB eltram. G, Oliveira SD, Vier-Pelisser FV ieir., Figueiredo JAP ol., et al. In vitro antibacterial activity of a silicone-based endodontic sealer and two conventional sealers. *Braz Oral Res.* 2016;30:1–5.
132. ORSTAVIK D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endod Top.* 2005;12(1):25–38.
133. Lee JK, Kwak SW, Ha JH, Lee WC, Kim HC. Physicochemical Properties of Epoxy Resin-Based and Bioceramic-Based Root Canal Sealers. *Bioinorg Chem Appl.* 2017;
134. Marin-Bauza GA, Rached-Junior FJA, Souza-Gabriel AE, Sousa-Neto MD, Miranda CES, Silva-Sousa YTC. Physicochemical properties of methacrylate resin-based root canal sealers. *J Endod.* 2010;
135. Flores DSH, Rached-Júnior FJA, Versiani MA, Guedes DFC, Sousa-Neto MD, Pécora JD. Evaluation of physicochemical properties of four root canal sealers. *Int Endod J.* 2011;
136. Song Y-S, Choi Y, Lim M-J, Yu M-K, Hong C-U, Lee K-W, et al. In vitro evaluation of a newly produced resin-based endodontic sealer . *Restor Dent Endod.* 2016;41(3):189.
137. Resende LM, Rached-Junior FJA, Versiani MA, Souza-Gabriel AE, Miranda CES, Silva-Sousa YTC, et al. A comparative study of physicochemical properties of AH plus, epiphany, and epiphany SE root canal sealers. *Int Endod J.* 2009;
138. Camargo RV de, Silva-Sousa YTC, Rosa RPF da, Mazzi-Chaves JF, Lopes FC, Steier L, et al. Evaluation of the physicochemical properties of silicone- and epoxy resin-based root canal sealers. *Braz Oral Res.* 2017;

139. Garza EG, Wadajkar A, Ahn C, Zhu Q, Opperman LA, Bellinger LL, et al. Cytotoxicity evaluation of methacrylate-based resins for clinical endodontics in vitro. *J Oral Sci.* 2012;
140. Al-Hiyasat AS, Tayyar M, Darmani H. Cytotoxicity evaluation of various resin based root canal sealers. *Int Endod J.* 2010;
141. El Sayed MAA, Etemadi H. Coronal discoloration effect of three endodontic sealers: An in vitro spectrophotometric analysis. *J Conserv Dent.* 2013;
142. Kapralos V, Koutroulis A, Ørstavik D, Sunde PT, Rukke HV. Antibacterial Activity of Endodontic Sealers against Planktonic Bacteria and Bacteria in Biofilms. *J Endod.* 2018;44(1):149–54.
143. Prestegard H, Portenier I, Ørstavik D, Kayaoglu G, Haapasalo M, Endal U. Antibacterial activity of various root canal sealers and root-end filling materials in dentin blocks infected ex vivo with *Enterococcus faecalis*. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(8):970–6.
144. Haapasalo M, Parhar M, Huang X, Wei X, Lin J, Shen Y. Clinical use of bioceramic materials. *Endod Top.* 2015;
145. Dawood AE, Parashos P, Wong RHK, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *Journal of investigative and clinical dentistry.* 2017.
146. Xuereb M, Vella P, Damidot D, Sammut C V., Camilleri J. In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model. *J Endod.* 2015;
147. Guerreiro-Tanomaru JM, Húngaro Duarte MA, Gonçalves M, Tanomaru-Filho M. Radiopacity evaluation of root canal sealers containing calcium hydroxide and MTA. *Braz Oral Res.* 2009;
148. Camilleri J. Evaluation of the effect of intrinsic material properties and ambient conditions on the dimensional stability of white mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Endod.* 2011;
149. Camilleri J, Mallia B. Evaluation of the dimensional changes of mineral trioxide aggregate sealer. *Int Endod J.* 2011;

150. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *Int Endod J.* 2017;
151. Silva EJ, Perez R, Valentim RM, Belladonna FG, De-Deus GA, Lima IC, et al. Dissolution, dislocation and dimensional changes of endodontic sealers after a solubility challenge: a micro-CT approach. *Int Endod J.* 2017;
152. Bin C V., Valera MC, Camargo SEA, Rabelo SB, Silva GO, Balducci I, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of root canal sealers based on mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2012;
153. Saygili G, Saygili S, Tuglu I, Capar ID. In vitro cytotoxicity of guttaflow bioseal, guttaflow 2, AH-Plus and MTA fillapex. *Iran Endod J.* 2017;
154. Eldeniz AU, Shehata M, Högg C, Reichl FX. DNA double-strand breaks caused by new and contemporary endodontic sealers. *Int Endod J.* 2016;
155. Kohli MR, Yamaguchi M, Setzer FC, Karabucak B. Spectrophotometric analysis of coronal tooth discoloration induced by various bioceramic cements and other endodontic materials. *J Endod.* 2015;
156. Camilleri J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution. *J Endod.* 2014;
157. Ioannidis K, Mistakidis I, Beltes P, Karagiannis V. Spectrophotometric analysis of crown discoloration induced by MTA-and ZnOE-based sealers. *J Appl Oral Sci.* 2013;
158. Jain A, Ponnappa KC, Yadav P, Rao Y, Relhan N, Gupta P, et al. Comparison of the root end sealing ability of four different retrograde filling materials in teeth with root apices resected at different angles - an invitro study. *J Clin Diagnostic Res.* 2016;
159. Mohamed El Sayed MA, Al Hussein H. Apical dye leakage of two single-cone root canal core materials (hydrophilic core material and gutta-percha) sealed by different types of endodontic sealers: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2018;
160. Heran J, Khalid S, Albaaj F, Tomson PL, Camilleri J. The single cone obturation technique with a modified warm filler. *J Dent.* 2019;

161. Pereira AC, Nishiyama CK, Castro Pinto L de. Single-cone obturation technique: a literature review. *RSBO*. 2012;
162. 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* [Internet]. 2019;107(4):513–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10266-019-00425-7>
163. Hoshino RA, da Silva GF, Delfino MM, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, et al. Physical Properties, Antimicrobial Activity and In Vivo Tissue Response to Apexit Plus. *Materials (Basel)* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2021 Dec 14];13(5). Available from: </pmc/articles/PMC7085033/>
164. Hargreaves, Kenneth M, Berman, Louis H. Cohen's pathways of the pulp. 11th ed. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier; 2016. 928 p.
165. Camargo CHR, Siviero M, Camargo SEA, de Oliveira SHG, Carvalho CAT, Valera MC. Topographical, Diametral, and Quantitative Analysis of Dentin Tubules in the Root Canals of Human and Bovine Teeth. *J Endod*. 2007;
166. Heling I, Chandler NP. The antimicrobial effect within dentinal tubules of four root canal sealers. *J Endod*. 1996;22(5):257–9.
167. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* [Internet]. 2007 Jun [cited 2021 Nov 8];40(6):462–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17459120/>
168. Zancan RF, Vivian RR, Milanda Lopes MR, Weckwerth PH, de Andrade FB, Ponce JB, et al. Antimicrobial Activity and Physicochemical Properties of Calcium Hydroxide Pastes Used as Intracanal Medication. *J Endod*. 2016;42(12):1822–8.
169. 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* [Internet]. 2019;45(8):1047–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2019.04.004>
170. Kahn FH, Rosenberg PA, Schertzer L, Korthals G, Nguyen PNT. An in-vitro evaluation of sealer placement methods. *Int Endod J* [Internet]. 1997 [cited 2021 Nov 9];30(3):181–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9477802/>

171. da Silva EJNL, Santos CC, Zaia AA. Long-term cytotoxic effects of contemporary root canal sealers. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2013 [cited 2021 Nov 9];21(1):43. Available from: [/pmc/articles/PMC3881813/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28346030/)
172. Marchese A, Barbieri R, Coppo E, Orhan IE, Daglia M, Nabavi SF, et al. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit Rev Microbiol* [Internet]. 2017 Nov 2 [cited 2021 Nov 9];43(6):668–89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28346030/>
173. Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, et al. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2021 Nov 9];210:402–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27211664/>
174. Heyder M, Kranz S, Völpel A, Pfister W, Watts DC, Jandt KD, et al. Antibacterial effect of different root canal sealers on three bacterial species. *Dent Mater* [Internet]. 2013;29(5):542–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2013.02.007>
175. Kayaoglu G, Erten H, Alaçam T, Ørstavik D. Short-term antibacterial activity of root canal sealers towards *Enterococcus faecalis*. *Int Endod J*. 2005;38(7):483–8.
176. Heil J, Reifferscheid G, Waldmann P, Leyhausen G, Geurtsen W. Genotoxicity of dental materials. *Mutat Res* [Internet]. 1996 Jul 5 [cited 2021 Nov 10];368(3–4):181–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8692224/>
177. Slutzky-Goldberg I, Slutzky H, Solomonov M, Moshonov J, Weiss EI, Matalon S. Antibacterial properties of four endodontic sealers. *J Endod* [Internet]. 2008 Jun [cited 2021 Nov 10];34(6):735–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18498902/>
178. Leonardo MR, Silva LAB Da, Filho MT, Silva RS Da. Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(2):221–5.
179. Sjögren U, Hägglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* [Internet]. 1990 [cited 2023 Aug 29];16(10):498–504. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2084204/>

180. Basmadjian-Charles CL, Farge P, Bourgeois DM, Lebrun T. Factors influencing the long-term results of endodontic treatment: a review of the literature. *Int Dent J* [Internet]. 2002 [cited 2023 Aug 31];52(2):81–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12013255/>
181. Elemam RF, Pretty I. Comparison of the Success Rate of Endodontic Treatment and Implant Treatment. *ISRN Dent* [Internet]. 2011 Aug 24 [cited 2023 Aug 29];2011:1–8. Available from: [/pmc/articles/PMC3168915/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20110115/)
182. Cheung GSP. Survival of first-time nonsurgical root canal treatment performed in a dental teaching hospital. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;93(5):596–604.
183. Azim AA, Griggs JA, Huang GTJ. The Tennessee study: factors affecting treatment outcome and healing time following nonsurgical root canal treatment. *Int Endod J* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2023 Nov 11];49(1):6–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25582870/>
184. Laukkanen E, Vehkalahti MM, Kotiranta AK. Impact of type of tooth on outcome of non-surgical root canal treatment. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2023 Nov 11];23(11):4011–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30710194/>
185. Ricucci D, Russo J, Rutberg M, Burleson JA, Spngberg LSW. A prospective cohort study of endodontic treatments of 1,369 root canals: results after 5 years. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2011 Dec [cited 2023 Nov 11];112(6):825–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22099859/>
186. De Miranda Candeiro GT, Dos Santos Gonçalves S, De Araújo Lopes LL, De Freitas Lima IT, Alencar PNB, Iglecias EF, et al. Internal configuration of maxillary molars in a subpopulation of Brazil's Northeast region: A CBCT analysis. *Braz Oral Res* [Internet]. 2019 [cited 2023 Nov 12];33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31460608/>

187. Magalhães J, Velozo C, Albuquerque D, Soares C, Oliveira H, Pontual ML, et al. Morphological Study of Root Canals of Maxillary Molars by Cone-Beam Computed Tomography. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2022 [cited 2023 Nov 11];2022. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35087327/>
188. Sert S, Bayirli GS. Evaluation of the root canal configurations of the mandibular and maxillary permanent teeth by gender in the Turkish population. *J Endod* [Internet]. 2004 [cited 2023 Nov 12];30(6):391–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15167464/>
189. Divine KA, McClanahan SB, Fok A. Anatomic Analysis of Palatal Roots of Maxillary Molars Using Micro-computed Tomography. *J Endod* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2023 Nov 11];45(6):724–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31056296/>
190. Keleş A, Keskin C, Versiani MA. Micro-CT assessment of radicular pulp calcifications in extracted maxillary first molar teeth. *Clin Oral Investig* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2023 Nov 12];26(2):1353–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34373955/>
191. Harris SP, Bowles WR, Fok A, McClanahan SB. An anatomic investigation of the mandibular first molar using micro-computed tomography. *J Endod* [Internet]. 2013 Nov [cited 2023 Nov 12];39(11):1374–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24139257/>
192. Mantovani VDO, Gabriel AEDS, Silva RG, Savioli RN, Sousa-Neto MD, Cruz-Fiiho AM. Analysis of the mandibular molars root canals morphology. Study by computed tomography. *Braz Dent J* [Internet]. 2022 [cited 2023 Nov 11];33(5):1–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36287490/>
193. Taneja S, Kumari M. Use of triple antibiotic paste in the treatment of large periradicular lesions. *J Investig Clin Dent* [Internet]. 2012 [cited 2023 Nov 20];3(1):72–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22298525/>
194. Mergoni G, Percudani D, Lodi G, Bertani P, Manfredi M. Prevalence of *Candida* Species in Endodontic Infections: Systematic Review and Meta-analysis. *J Endod* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2023 Nov 23];44(11):1616-1625.e9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30241680/>

195. Teixeira FB, Sano CL, Gomes BPFA, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ. A preliminary in vitro study of the incidence and position of the root canal isthmus in maxillary and mandibular first molars. *Int Endod J* [Internet]. 2003 Apr 1 [cited 2023 Nov 23];36(4):276–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12702122/>
196. Mohammed S alarab, Vianna ME, Penny MR, Hilton ST, Mordan N, Knowles JC. A novel experimental approach to investigate the effect of different agitation methods using sodium hypochlorite as an irrigant on the rate of bacterial biofilm removal from the wall of a simulated root canal model. *Dent Mater* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Nov 23];32(10):1289–300. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27515530/>