

Antifungal properties of selected calcium silicate-based cements

Właściwości przeciwgrzybicze niektórych cementów krzemowo-wapniowych

Joanna Możyńska¹, Alicja Nowicka², Magdalena Kaczała³,
Mariusz Lipski⁴, Marcin Metlerski¹, Agnieszka Gerula-Szymańska¹,
Jadwiga Buczkowska-Radlińska²

¹ Studium Doktoranckie Wydziału Lekarsko-Stomatologicznego, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Polska
Doctoral Studies of the Faculty of Dentistry, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland
Head: dr hab. D. Lichota, prof. PUM

² Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej i Endodoncji, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Polska
Department of Conservative Dentistry and Endodontics, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland
Head: prof. J. Buczkowska-Radlińska

³ Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Polska
Department of Microbiology and Immunology and Laboratory Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland
Head: prof. B. Dołęgowska

⁴ Zakład Stomatologii Zachowawczej Przedklinicznej i Endodoncji Przedklinicznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Polska
Department of Preclinical Conservative Dentistry and Preclinical Endodontics, Pomeranian Medical University in Szczecin
Head: prof. M. Lipski

Abstract

Introduction. The role of fungi in the failure of root canal treatment has been well documented, pointing to *Candida albicans* as the most common species. Consequently, the material forming the protective barrier between periodontal tissues and the root canal system should demonstrate sufficient bactericidal and fungicidal activity. **Aim of the study.** To compare antifungal activity against *C. albicans* of ProRoot MTA, MTA Plus, Biodentine and MTA+. **Material and methods.** The cements were prepared in accordance with the manufacturer's instructions, packed into sections of sterile catheters, and immersed for three hours in sterile water. They were next transferred to 48-well polystyrene plates and incubated at 37°C with 10⁶ cells/ml of *C. albicans*. Samples were immersed in phosphate-buffered saline (PBS) for 24h or 48h and plated on Sabouraud medium. The number of colonies of *C. albicans* was determined after 48h. At the same time, the pH of the solution was measured after 3h,

Streszczenie

Wstęp. W niepowodzeniu leczenia kanałowego bardzo dobrze udokumentowana została rola grzybów. Najczęściej występujące to mikroorganizmy z rodzaju *Candida albicans*, dlatego tak ważne jest, aby materiał, który będzie stanowił barierę ochronną pomiędzy tkankami przyzębia a systemem kanałowym zęba, wykazywał działanie bakterio- i grzybobójcze. **Cel pracy.** Celem badania było porównanie działania przeciwgrzybiczego materiałów ProRootMTA, MTA Plus, MTA+ i Biodentine w odniesieniu do *C. albicans*. **Materiał i metody.** Cementy przygotowano zgodnie z zaleceniami producenta, zapakowano we fragmenty sterylnej cewnika i moczone przez 3 godziny w sterylnej wodzie. Były one następnie przekładane do 48-dółkowych polistyrenowych płytek i inkubowane w temperaturze 37°C z użyciem 10⁶ komórek/ml *Candida albicans*. Próbkę zanurzono w zbuforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) na 24 lub 48 godzin i wysiewano na pożywkę Sabourauda. Liczbę

KEYWORDS:

calcium silicate-based cements, antifungal properties, *Candida albicans*, endodontics

HASŁA INDEKSOWE:

cementy krzemowo-wapniowe, właściwości przeciwgrzybicze, *Candida albicans*, endodoncja

24h, and 48h of incubation. **Results.** Fungicidal activity in decreasing strength was as follows: MTA Plus, ProRoot MTA, Biodentine, and MTA+. MTA Plus had the highest pH of the incubation solution. **Conclusions.** Considering the antifungal effect, all evaluated biomaterials are recommendable in endodontic treatment.

kolonii *C. albicans* określano po 48 godzinach. Równocześnie zmierzono wartość pH roztworu po 3, 24 i 48 godzinach inkubacji. **Wyniki.** Najsilniejsze właściwości grzybobójcze wykazał materiał MTA Plus, następnie ProRoot MTA, Biodentine, a najsłabsze MTA+. MTA Plus charakteryzował się również najwyższymi wartościami pH roztworu. **Wnioski.** Biorąc pod uwagę działanie przeciwgrzybicze, wszystkie oceniane biomateriały są godne polecenia w leczeniu endodontycznym.

Introduction

The success of endodontic treatment depends on the chemo-mechanical procedure and flawless filling of the canal system. Irrigation and mechanical preparation removes most of the microorganisms from the canals, but because of the canals' anatomical complexity it is difficult to eliminate them completely.¹⁻⁴

The role of fungi in the failure of endodontic treatment has been well documented. The most common microorganisms represent species of *Candida albicans* known for their ability to colonize canal walls and penetrate into dentinal tubules. Local and systemic antibiotics, as well as previous unsuccessful endodontic therapy, and canal retrofilling are recognized as the predisposing factors for fungi colonization.⁴⁻¹³

Incomplete development of the root apex, perforation, resorption, and canal retrofilling are of particular significance in the failure of endodontic treatment. In such situations, it is important to verify that the root filling material is biocompatible, non-irritating to periodontal tissues, and exhibits bactericidal and fungicidal properties. Species of *Candida albicans* grow best when the pH of the solution is in the range of 3.0-8.0.¹⁴ To be fungicidal, biomaterials should show a strong alkaline reaction.¹⁴⁻¹⁶ Today, the use of biomaterials in such cases has an increasing tendency. Biomaterials are able to stimulate tissue healing without causing inflammation, beside offering an esthetic outcome and good biocompatibility. Indications for their use include biological pulp therapy, canal retrofilling, perforation repair, and apexification.

Wstęp

Sukces leczenia endodontycznego zależy od chemo-mechanicznego opracowania oraz szczelnego wypełnienia systemu kanałowego. Płukanie oraz mechaniczne opracowanie kanału usuwa większość mikroorganizmów, ale trudno jest wyeliminować je całkowicie, z powodu złożonej budowy anatomicznej.¹⁻⁴ W niepowodzeniu leczenia endodontycznego została dobrze udokumentowana rola grzybów. Najczęściej były to mikroorganizmy z rodzaju *Candida albicans*. Wykazują one zdolność do kolonizacji ścian kanałów i przenikania do kanalików zębinowych. Uznaje się, że wśród czynników predysponujących do kolonizacji grzybów są antybiotyki wcześniej stosowane miejscowo i ogólnie, nieudane leczenie kanałowe oraz wsteczne wypełnienie kanału.⁴⁻¹³ W niepowodzeniach leczenia endodontycznego szczególne znaczenie mają m.in. niezakończony rozwój wierzchołka korzenia, perforacje, resorpcje, wsteczne wypełnienie kanału. Ważne jest, aby w takich sytuacjach zastosować materiał, który będzie biozgodny, niedrażniący tkanek przyzębia, a także wykazujący właściwości bakterio- i grzybobójcze. Ponieważ największy wzrost grzybów obserwowano przy wartościach pH 3,0-8,0, materiał powinien mieć odczyn silnie zasadowy, aby mógł wykazywać działanie grzybobójcze.¹⁴⁻¹⁶ Współcześnie coraz częściej w takich przypadkach wykorzystywane są biomateriały. Ich działanie polega na stymulacji gojenia tkanek bez wywoływania zapalenia. Zalecane są do biologicznego leczenia miazgi, wstecznego wypełniania kanału, naprawy perforacji i apeksyfikacji.

Współcześnie złotym standardem wśród bio-

Currently, ProRoot MTA (PMTA; Dentsply, Tulsa, USA) remains the gold standard among biological materials used for canal obturation. It consists primarily of calcium and silicate oxides with bismuth oxide added for radiopacity. Today, mineral trioxide aggregate (MTA) is the most popular material for sealing the border between the canal system and the outer surface of the root. MTA demonstrates repair properties and chemical bonding in the presence of water, making it the ideal filling material in moist environments. Moreover, MTA is remarkable for its mechanical resilience, marginal integrity, and suppression of bacterial migration.^{6,8,9,17-20}

MTA Plus (Avalon Biomed Inc., Bradenton, USA) is similar in composition to ProRoot MTA, but its particles are smaller. MTA Plus consists of tri- and dicalcium silicate and bismuth oxide, and is produced as a powder for mixing with gel or water. When mixed with gel MTA Plus produces better results than mixed with distilled water as judged by setting time, porosity, and water absorption. The setting time of MTA Plus is eight minutes and its X-ray absorption is equivalent to 4.5 mm aluminum.²¹⁻²⁴

Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France) is a bioactive cement referred to as a dentine substitute. The powder is composed of di- and tricalcium silicate, calcium carbonate, and zirconium dioxide. The liquid component is an aqueous solution of calcium chloride with addition of polycarboxylate. Biodentine differs in its physicochemical properties from MTA. It binds chemo-mechanically to dental tissues and demonstrates high compressive and flexural strength.²⁵⁻²⁹

MTA+ (Cerkamed, Poland) consists of an active substance in the form of calcium oxide, supplemented with oxides of silicon, iron, aluminum, sodium, potassium, bismuth, and magnesium, and calcium phosphate. Cerkamed claims that its technology produces MTA+ particles that are three times smaller than the smallest particles from other manufacturers. The heat of hydration of MTA+ is low enough to improve sealing properties, setting time, preparation and application, and passage of calcium ions into demineralized tissue. According

to logicznych materiałów do wypełniania kanałów jest ProRoot MTA (PMTA; Dentsply, Tulsa, OK). Składa się on głównie z tlenków wapnia i krzemu oraz tlenku bizmutu, który warunkuje kontrast na zdjęciach rentgenowskich. Mineral Trioxide Aggregate (MTA) stał się najbardziej popularnym materiałem do uszczelniania granicy pomiędzy systemem kanałowym a zewnętrzną powierzchnią korzenia. Materiał ten ma właściwości naprawcze, wiąże chemicznie przy dostępie wody, dlatego idealnie nadaje się do pracy w wilgotnym środowisku. Wykazuje bardzo dobrą odporność mechaniczną, szczelność brzeżną i ogranicza migrację bakterii.^{6,8,9,17-20}

MTA Plus (Avalon Biomed Inc. Bradenton, FL, USA) składem przypomina ProRoot MTA, ale zawiera mniejsze cząstki. MTA Plus składa się z krzemianu trój- i dwuwapniowego oraz tlenku bizmutu, a produkowany jest w postaci proszku do zmieszania z cieczą w stanie żelu lub wodą. MTA Plus przygotowany z żelem daje lepsze wyniki niż z wodą destylowaną w odniesieniu do czasu wiązania, porowatości i absorpcji wody. Czas wiązania tego materiału to 8 minut, a promienie rentgenowskie pochłania w takim stopniu jak 4,5 mm aluminium.²¹⁻²⁴

Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Francja) to bioaktywny cement, nazywany substytutem zębiny. Proszek składa się z wapnia, krzemianu dwuwapniowego, węgla wapnia, dwutlenku cyrkonu. Ciecz składa się z chlorku wapnia w roztworze wodnym z domieszką polikarboxylanu. Biodentine różni się od MTA właściwościami fizykochemicznymi. Wiąże się chemomechanicznie z tkankami zęba oraz ma wysoką wytrzymałość na ściskanie i zginanie.²⁵⁻²⁹

MTA+ (Cerkamed, Polska) składa się z substancji czynnej w postaci tlenku wapnia oraz tlenków krzemu, żelaza, glinu, sodu, potasu, bizmutu, magnezu i fosforanu wapnia. Producent twierdzi, że w wyniku technologii opracowanej przez Cerkamed, cząstka MTA+ jest trzy razy mniejsza od najmniejszych cząstek innych materiałów i ma niski poziom ciepła hydratacji. Ma to wpływ na szczelność, czas wiązania, łatwość przygotowania i aplikacji oraz umożliwia swobodne przenikanie jonów wapnia do tkanki zdemineralizowanej.

to the manufacturer, MTA+ demonstrates good radiopacity. The curing time of this material is three hours.^{30,31}

Aim of the study

The aim of this study was to compare antifungal activity against *C. albicans* of ProRoot MTA, MTA Plus, Biodentine and MTA+.

Material and methods

The following materials have been studied: ProRoot MTA (PMTA; Dentsply, Tulsa, USA), MTA Plus (Avalon Biomed Inc., Bradenton, USA), Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France) and MTA+ (Cerkamed, Poland). All materials were processed strictly in accordance with the manufacturers' instructions and packed into standardized sterile catheters divided into sections 4 mm long and 3 mm in diameter. The materials were immersed for three hours in sterile water at 37°C. Next, they were transferred to 48-well polystyrene plates (NUNC™) and incubated for 90 min. at 37°C with a suspension of *Candida albicans* (ATCC 10231) containing 10⁶ cells/ml.

Following incubation, the samples were washed three times in phosphate-buffered saline (PBS) to remove non-adhering cells. Next, samples were placed in 1 ml PBS for 24 and 48 hours to achieve biofilm growth. Subsequently, samples were transferred to 1 ml Eppendorf tubes and centrifuged using an MPW-351R. The sediment was plated on Sabouraud medium (bioMérieux) and incubated at 37°C for 48h in aerobic conditions. Finally, colonies of *C. albicans* were counted. Ten such measurements for each material were performed. The negative control was obtained by omitting *C. albicans*, and the positive control (with *C. albicans*) was obtained using empty segments of the catheter.

At the same time, the pH of the solution was measured with a pH meter (MU 6100L MULTI METER, USA) after 3, 24, and 48 hours of incubation.

Statistical analysis was performed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests (STATA statistical software package 11.0).

Według producenta MTA+ stanowi dobry kontrast dla promieni rentgenowskich, a czas utwardzania materiału wynosi trzy godziny.^{30,31}

Cel pracy

Celem badania było porównanie działania przeciwgrzybiczego ProRootMTA, MTA Plus, MTA+ i Biodentine w odniesieniu do *C. albicans*.

Materiał i metody

W badaniu ocenie poddano preparaty ProRoot MTA (PMTA; Dentsply, Tulsa, OK), MTA Plus (Avalon Biomed Inc. Bradenton, FL, USA), Biodentine (Septodont, Saint Maur des Fossés, Francja) i MTA+ (Cerkamed, Polska). Wszystkie materiały zostały przygotowane zgodnie z zaleceniami producenta i umieszczone w standaryzowanych, sterylnych cewnikach podzielonych na odcinki tej samej długości 4 mm i średnicy 3 mm. Materiały były moczone przez okres 3 godzin w sterylnej wodzie w temp. 37°C, następnie przenoszone do 48-dółkowych płytek polistyrenowych (NUNC™, Denmark) i inkubowane w zawieszynie *C. albicans* (ATCC 10231) zawierającej 10⁶ kom/ml. Po czasie inkubacji, próbki płukano 3-krotnie w zbuforowanym roztworze soli fizjologicznej (PBS) w celu usunięcia niezaadherowanych komórek. Następnie próbki umieszczano w 1 ml PBS na okres 24 i 48 godzin w celu wzrostu biofilmu. Wszystkie próby po odpowiednich okresach czasu (24 i 48 godziny) były przekładane do probówek typu Eppendorf (1 ml) i odwirowywane – 1800 rpm/ 15 min (MPW-351R, Poland). Uzyskany osad przenoszono na podłoże Sabourauda (BioMérieux, France) i inkubowano w warunkach tlenowych w temp. 37°C w czasie 48 godzin. Następnie zliczono liczbę kolonii *C. albicans*. Każdą próbę przeprowadzono w dziesięciu powtórzeniach. Analogiczną procedurę prowadzono dla kontroli ujemnej, lecz bez użycia zawiesiny *C. albicans* oraz kontroli dodatniej (z zawiesiną *C. albicans*) z użyciem pustych fragmentów cewnika.

Równocześnie zmierzono wartość pH roztworów z zanurzonymi materiałami za pomocą pHmetru MULTI METER MU 6100L (USA) po 3, 24, 48-godzinnej inkubacji.

Analizę statystyczną wykonano z zastosowa-

Table 1. The number of colonies of *C. albicans* depending on the incubation time of the material

Incubation time	Number of colonies of <i>C. albicans</i>			
	¹ MTA Plus	² Pro Root MTA	³ Biodentine	⁴ MTA+
24h	0	7	43	200
	0	58	94	23
	0	7	79	41
	0	3	24	102
	0	0	6	22
Mean value	0	15	49.2	77.6
48h	0	0	23	100
	0	51	22	36
	0	0	0	100
	0	4	1	88
	0	2	0	92
Mean value	0	11.4	9.2	93.2

$p < 0.05$: 1 vs 2,3,4 (24h); 2 vs 4 (24h); 1,2,3 vs 4 (48h); 3 (24h) vs 3 (48h)

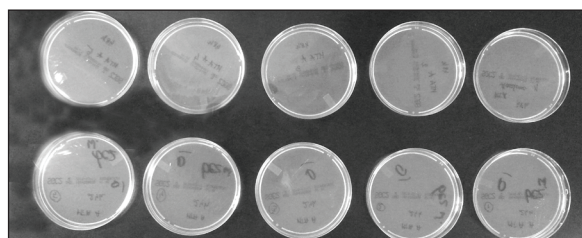


Fig. 1. MTA Plus – no visible colonies of *C. albicans*.
Preparat MTA Plus – brak widocznych kolonii *C. albicans*.

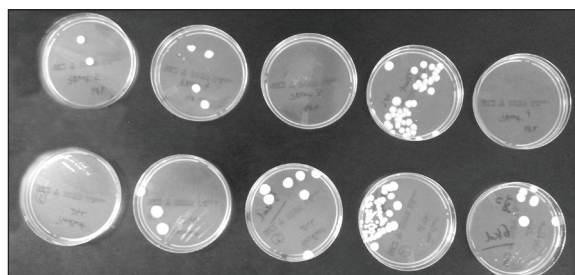


Fig. 2. ProRoot MTA – visible single colonies of *C. albicans*.
Preparat ProRoot MTA – widoczne pojedyncze kolonie *C. albicans*.

Results

All materials demonstrated antifungal properties (Table 1).

There was no growth of fungi in any of the samples with MTA Plus (Fig. 1). The results differed significantly from recorded growth of fungi in the presence of other tested materials ($p < 0.05$). In the case of Pro Root MTA, an average of 15 and 11 fungal colonies after 24 and 48 hours of incubation, respectively were found (Fig. 2). For Biodentine, an average of 49 and 9 colonies after

niem testu Kruskala-Wallis i Manna-Whitneya (STATA statistical software package 11.0).

Wyniki

Wszystkie materiały wykazały właściwości przeciwgrzybicze (Tab. 1).

Nie odnotowano wzrostu grzybów w żadnej z próbek zawierających preparat MTA Plus (Fig. 1). Wynik ten różnił się istotnie od odnotowanego wzrostu grzybów w obecności innych badanych materiałów ($p < 0,05$). W przypadku pró-

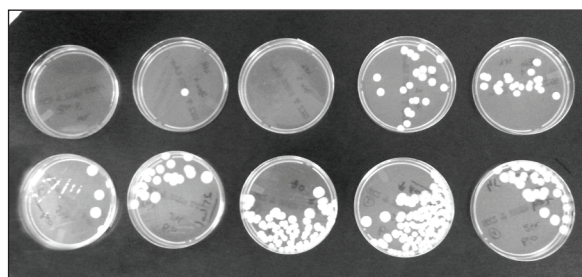


Fig. 3. Biodentine – visible numerous colonies of *C. albicans*.
Preparat Biodentine – widoczne liczne kolonie *C. albicans*.

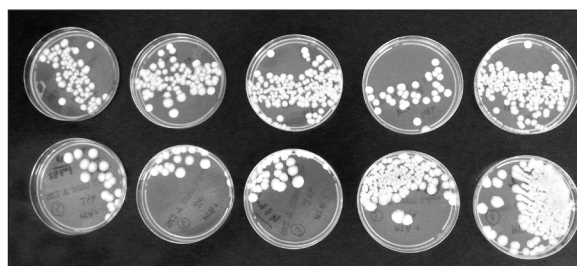


Fig. 4. MTA+ – visible multiple colonies of *C. albicans*.
Preparat MTA+ – widoczne mnogie kolonie *C. albicans*.

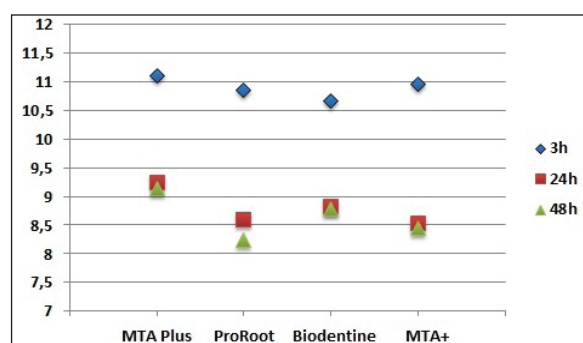


Fig. 5. pH values of the materials of different times. / Wartości pH materiałów w różnym czasie.

$p < 0.05$: 1 vs. 2,3,4 (3h,24h,48h); 3 vs. 4 (3h,24h,48h); 2 vs. 3,4 (3h); 2 vs. 3 (48h)

24 and 48 hours of incubation, respectively were observed (Fig. 3). The difference in growth of *C. albicans* in the case of Biodentine after 24 and 48 hours was statistically significant ($p < 0.05$). More than 200 fungal colonies appeared in the presence of MTA+ (Fig. 4). The difference in growth of *C. albicans* between MTA+ and Biodentine after 24h and MTA+ as compared with the other three materials after 48 hours was statistically significant ($p < 0.05$).

Measurement of pH after 3 hours of incubation disclosed the highest value for MTA Plus solution (11.1) and the lowest for Biodentine (10.67). pH for MTA+ and ProRoot MTA was 10.96 and 10.85, respectively. pH diminished with time (after 24 and 48 hours of incubation), but was still the highest for MTA Plus. Statistically significant differences between pH values of MTA Plus solution and other three materials, and between Biodentine and MTA+ at all times of measurement were found ($p < 0.05$) (Fig. 5).

Wobec materiału ProRoot MTA wykazano obecność odpowiednio po 24h inkubacji średnio 15, a po upływie 48h 11 kolonii grzybów (Fig. 2). W obecności Biodentine po 24h wyhodowano średnio 49, a po 48h 9 kolonii grzybów (Fig. 3). W przypadku Biodentine stwierdzono różnice istotne statystycznie pomiędzy wzrostem *C. albicans* po 24h i 48h ($p < 0,05$). Z badanych próbek zawierających MTA+ wyhodowano więcej niż 200 kolonii grzybów (Fig. 4). Wykazano różnice istotne statystycznie we wzroście *C. albicans* pomiędzy MTA+, a Biodentine po 24h oraz pomiędzy MTA+ a wszystkimi pozostałymi materiałami po 48h ($p < 0,05$).

Podczas pomiaru pH po 3h inkubacji, najbardziej zasadowy odczyn stwierdzono dla roztworu MTA Plus (11,1), najniższy dla Biodentine (10,67), natomiast dla MTA+ i ProRoot MTA pH wynosiło odpowiednio 10,96 i 10,85. W miarę upływu czasu (po 24 i 48 godzinach inkubacji) pH było stosunkowo niższe, jednak nadal najwyższe wartości wykazywał materiał MTA Plus. Stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami pH roztworów MTA Plus a pozostałymi materiałami oraz pomiędzy Biodentine a MTA+ we wszystkich czasach pomiarowych ($p < 0,05$) (Fig. 5).

Dyskusja

Cementy krzemowo-wapniowe stanowią odpowiednią barierę ochronną przed inwazją mikroorganizmów, ze względu na dobrą adhezję i właściwości uszczelniające, lepsze niż skondensowanej gutaperki z uszczelniaczem.^{1-4,6,8} Według piśmiennictwa jednym z drobnoustrojów odpowiedzialnych za przewlekły stan zapalny tkanek

Discussion

Calcium silicate-based cements create a suitable protective barrier against invading microorganisms due to their good adhesive and sealing properties, which is superior to condensed gutta-percha with sealer.^{1-4,6,8} According to the literature, species of *Candida albicans* are among microorganisms responsible for chronic inflammation of apical tissues and failure of root canal treatment.^{24,32}

Candida albicans attains virulence and resistance by acquiring ability to adapt cells to different pH values, by variation of the expression of specific genes in response to a change in environmental conditions. The antifungal action of MTA has been found to depend principally on the release of OH⁻ ions, as is the case of calcium hydroxide.^{11,18} Calcium hydroxide reacts by releasing hydroxyl ions leading to a highly alkaline environment which microorganisms cannot survive. Chemically, it damages the microbial cytoplasmic membrane, suppresses enzyme activity and disrupts the cellular metabolism or microorganisms.³

In the present study, all studied materials had antifungal properties. The strongest were demonstrated by MTA Plus. *Mohammadi et al.*¹⁸ evaluated the MTA groups and demonstrated fungal growth during the 1h incubation of *C. albicans* with ProRoot White MTA as well as ProRoot Grey MTA. However, by increasing the incubation time, there was no growth at 24 or 72 h. *Bhardwai et al.*¹⁹ in their study found a direct correlation between the ProRoot MTA concentration and antifungal activity. *Hiremath et al.*³³ found that MTA Plus, ProRoot MTA, and Biodentine possess similar antifungal activity. According to *Bhavana et al.*,³⁴ Biodentine was more potent against *C. albicans* than Pro Root MTA. In the present study, antifungal activity of Biodentine was stronger after 48 hours but much weaker after 24 hours of incubation, as compared with Pro Root MTA. So far, no studies on the antifungal properties of MTA+ have been reported in the literature. A very weak antifungal activity of this material has been observed in this study.

*Ceci et al.*³² demonstrated the ProRoot MTA is characterized by higher pH than Biodentine. ProRoot MTA after 3h of incubation gave a pH

okołowierzchołkowych i jednocześnie niepowodzenie leczenia kanałowego jest grzyb z rodzaju *Candida albicans*.^{24,32}

Candida albicans uzyskuje wirulencję i odporność przez zdolność przystosowania komórki do różnych wartości pH poprzez zmianę ekspresji specyficznych genów, w odpowiedzi na zmiany w warunkach środowiskowych. Stwierdzono, że mechanizm przeciwgrzybiczego działania MTA jest związany z uwalnianiem jonów OH⁻, podobnie jak w przypadku wodorotlenku wapnia.^{11,18} Wodorotlenek wapnia, uwalniając jony hydroksylowe powoduje powstawanie wysoce alkalicznego środowiska, w którym drobnoustroje nie mogą przetrwać. Materiały te chemicznie uszkadzają błonę cytoplazmatyczną mikroorganizmu oraz hamują aktywność enzymów i metabolizm komórkowy.³

W niniejszym badaniu, wszystkie badane materiały wykazywały właściwości przeciwgrzybicze. Najlepszymi właściwościami grzybobójczymi charakteryzował się materiał MTA Plus. *Mohammadi i wsp.*¹⁸ oceniając zarówno ProRoot White MTA, jak i ProRoot Grey MTA, wykazał, że podczas godzinnej inkubacji w zawiesinie *C. albicans* następuje wzrost liczby grzybów. Jednakże, po wydłużeniu czasu inkubacji do 24 i 72 godzin, takiego wzrostu nie stwierdzono. *Bhardwai i wsp.*¹⁹ w swoich badaniach stwierdzili bezpośrednią korelację pomiędzy stężeniem materiału a aktywnością przeciwgrzybiczą ProRootMTA. *Hiremath i wsp.*³³ udowodnili, że materiały MTA Plus, ProRoot MTA i Biodentine mają podobne działanie antygrzybicze. Według *Bhavana i wsp.*³⁴ Biodentine wykazuje silniejsze właściwości przeciwko *C. albicans* niż Pro Root MTA. W badaniu własnym stwierdzono silniejsze właściwości bójcze Biodentine dopiero po 48 godzinach inkubacji, zaś po 24h działanie antygrzybicze było dużo słabsze niż ProRoot MTA. W piśmiennictwie brak jest doniesień na temat właściwości antygrzybiczych materiału MTA+. W badaniu własnym jego działanie grzybobójcze było niewielkie.

*Ceci i wsp.*³² udowodnili, że ProRoot MTA charakteryzuje się wyższym pH niż preparat Biodentine. ProRoot MTA po 3h inkubacji, wy-

of 12.48, Biodentine 10.66; after 24h, the values were 11.56 and 9.83, respectively. In the present study, pH after 3 hours in the case of ProRoot MTA (10.85) was higher than for Biodentine (10.67), but after 24 and 48 hours it was lower. After 3 hours of immersion, the pH of MTA Plus as measured by Gandolfi et al.²⁴ was 12, as opposed to 11.1 after the same time obtained in the present study.

It has been shown that MTA has a soluble fraction mainly composed of calcium hydroxide, and in contact with water it had a high alkaline pH ranging from 11.94 to 11.99.³⁵ In the present study, the pH of all tested solutions after 24 hours was significantly falling compared with the measurement at 3 hours. MTA Plus showed the strongest alkaline environment at all times of measurement. Despite good fungicidal properties, Pro Root MTA showed the lowest pH values at 48 hours.

Summary and conclusions

In conclusion, the results show that all materials studied in this work had antifungal properties. The magnitude of antifungal activity was the highest for MTA Plus, followed by ProRoot MTA, Biodentine, and MTA+, respectively. Considering the antifungal effect, all evaluated biomaterials are recommendable in endodontic treatment.

kazywał pH na poziomie 12,48, Biodentine 10,66, a po 24h odpowiednio 11,56 i 9,83. W badaniu własnym po 3h pH roztworu ProRoot MTA (10,85) było wyższe w odniesieniu do Biodentine (10,67), zaś po 24 i 48h niższe. Według Gandolfi i wsp.²⁴ pH MTA Plus po 3h przechowywania w wodzie wynosiło 12, zaś w badaniu własnym, po tym samym czasie, 11,1. Wykazano, że MTA ma rozpuszczalną frakcję składającą się głównie z wodorotlenku wapnia i w kontakcie z wodą wykazuje wysoko zasadowe pH w zakresie od 11,94 do 11,99.³⁵ W niniejszym badaniu pH roztworów wszystkich ocenianych materiałów po 24 godzinach, w porównaniu z pomiarem po 3 godzinach znacznie się zmniejszało. MTA Plus wykazał najsilniejszy odczyn zasadowy przez cały czas pomiaru. Pomimo dobrych właściwości grzybobójczych, ProRoot MTA charakteryzował się najniższymi wartościami pH po 48 godzinach.

Podsumowanie i wnioski

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że każdy z ocenianych materiałów wykazuje właściwości grzybobójcze. Najsilniejszym działaniem grzybobójczym charakteryzował się MTA Plus, następnie ProRoot MTA, Biodentine, a najsłabszym MTA+. Biorąc pod uwagę działanie przeciwgrzybicze, wszystkie oceniane biomateriały są godne polecenia w leczeniu endodontycznym.

References

1. Vaghela DJ, Kandaswamy D, Venkateshbabu N, Jamini N, Ganesh A: Disinfection of dentinal tubules with two different formulations of calcium hydroxide as compared to 2% chlorhexidine: As intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2011; 14: 182-186.
2. Delgado RJ, Gasparoto TH, Sipert CR, Pinheiro CR, de Moraes IG, Garcia RB, et al.: Antimicrobial activity of calcium hydroxide and chlorhexidine on intratubular *Candida albicans*. *Int J Oral Sci* 2013; 5: 32-36.
3. Chua EG, Parolia A, Ahlawat P, Pau A, Amalraj FD: Antifungal effectiveness of various intracanal medicaments against *Candida albicans*: an ex-vivo study. *BMC Oral Health* 2014; 13: 53.
4. Shaik J, Garlapati R, Nagesh B, Sujana V, Jayaprakash T, Naidu S: Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of triple antibiotic paste and calcium hydroxide using chitosan as carrier against *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2014; 17: 335-339.
5. Al-Nazhan S, Al-Judai A: Evaluation of antifun-

- gal activity of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2003; 29: 826-827.
6. Al-Hezaimi K, Al-Hamdan K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I: Effect of white-colored mineral trioxide aggregate in different concentrations on *Candida albicans* in vitro. *J Endod* 2005; 31: 684-686.
 7. Al-Hezaimi K, Naghshbandi J, Oglesby S, Simon JH, Rotstein I: Comparison of antifungal activity of white-colored and gray-colored mineral trioxide aggregate (MTA) at similar concentrations against *Candida albicans*. *J Endod* 2006; 32: 365-367.
 8. Mohammadi Z, Khademi AA, Ezoddini Ardakani F: In vitro evaluation of antifungal effects of mineral trioxide aggregate and portland cement on *Candida albicans*. *Iran Endod J* 2006; 1: 137-140.
 9. Dohaihem A, Al-Nasser A, Al-Badah A, Al-Nazhan S, Al-Maflehi N: An in vitro evaluation of antifungal activity of bioaggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011; 112: 27-30.
 10. Mohammadi Z, Giardino L, Palazzi F: Evaluation of the antifungal activity of four solutions used as a final rinse in vitro. *Aust Endod J* 2013; 39: 31-34.
 11. Ozcan E, Yula E, Arslanoglu Z, Inci M: Antifungal activity of several root canal sealers against *Candida albicans*. *Acta Odontol Scand* 2013; 71: 1481-1485.
 12. Alsalleeh F, Chung N, Stephenson L: Antifungal activity of endosequence root repair material and mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2014; 40: 1815-1819.
 13. Mozayeni MA, Hadian A, Bakhshaei P, Dianat O: Comparison of antifungal activity of 2% chlorhexidine, calcium hydroxide, and nanosilver gels against *Candida Albicans*. *J Dent (Teheran)* 2015; 12: 109-117.
 14. Waltimo TM, Sirén EK, Orstavik D, Haapasalo MP: Susceptibility of oral *Candida* species to calcium hydroxide in vitro. *Int Endod* 1999; 32: 94-98.
 15. Ashwini TS, Hosmani N, Patil CR, Yalgi VS: Role of mineral trioxide aggregate in management of external root resorption. *J Conserv Dent* 2013; 16: 579-581.
 16. Johnson SAM, Guzman MG, Agurlera CT: *Candida* (Monilia) *albicans*. Effect of amino acids, glucose, pH, chlortetracycline (aureomycin), dibasic sodium and calcium phosphate and anaerobic and aerobic conditions on its growth. *AMA Arch Derm Syphilol* 1954; 70: 49-60.
 17. Mohammadi Z, Khademi A, Toodehzaeim MH: An evaluation of dentin's effect on the antifungal activity of MTA cements. *Iran Endod J* 2007; 2: 1-4.
 18. Mohammadi Z, Modaresi J, Yazdizadeh M: Evaluation of the antifungal effects of mineral trioxide aggregate materials. *Aust Endod J* 2006; 32: 120-122.
 19. Bhardwaj A, Bhardwaj A, Rao N: Evaluation of antifungal activity of white-colored mineral trioxide aggregate on different strains of *Candida albicans* in vitro. *J Conserv Dent* 2014; 17: 276-279.
 20. Chang SW, Bae WJ, Yi JK, Lee S, Lee DW, Kum KY, et al.: Odontoblastic differentiation, inflammatory response, and angiogenic potential of 4 calcium silicate-based cements: Micromega MTA, ProRoot MTA, RetroMTA, and experimental calcium silicate cement. *J Endod* 2015; 41: 1524-1529.
 21. Camilleri J, Formosa L, Damidot D: The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. *Int Endod J* 2013; 46: 831-840.
 22. Camilleri J: Staining Potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and Biodentine Used for Pulpotomy Procedures. *J Endod* 2015; 41: 1139-1145.
 23. Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM, et al.: Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and experimental calcium silicate-based cements in human osteoblast-like cells. *Int Endod J* 2015. doi: 10.1111/iej.12589.
 24. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C: Ion release, porosity, solubility, and bioactivity of MTA Plus tricalcium silicate. *J Endod* 2014; 40: 1632-1637.
 25. Nowicka A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, et al.: Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2013; 39: 743-747.
 26. Kenchappa M, Gupta S, Gupta P, Sharma P: Dentine in a capsule: clinical case reports. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2015; 33: 250-254.
 27. Koruyucu M, Topcuoglu N, Tuna EB, Ozel S, Gencay K, Kulekci G, et al.: An assessment of antibacterial activity of three pulp capping materials on *Enterococcus faecalis* by a direct contact test: An in vitro study. *Eur J Dent* 2015; 9: 240-245.
 28. Nanjappa AS, Ponnappa K, Nanjamma K, Ponappa M, Girish S, Nitin A: Sealing ability of three root-end filling materials prepared using an erbium: Yttrium aluminium garnet laser and endosonic tip evaluated by confocal laser scanning microscopy. *J Conserv Dent* 2015; 18: 327-330.
 29. Nowicka A, Wilk G, Lipski M, Kolecki J,

- Buczkowska-Radlińska J:* Tomographic evaluation of reparative dentin formation after direct pulp capping with Ca(OH)₂, MTA, Biodentine, and dentin bonding system in human teeth. *J Endod* 2015; 41: 1234-1240.
30. Clinical applications of cement MTA. Available at: http://www.ukdentistry.co.uk/pdf/MTA_clinical_applications.pdf
31. *Możyńska J, Kaczor K, Metlerski M, Nowicka A:* Ocena gęstości optycznej materiałów służących do wypełniania kanałów z szerokim otworem wierzchołkowym. *Dental Forum(Pozn)* 2014; 1: 23-28.
32. *Ceci M, Beltrami R, Chiesa M, Colombo M, Poggio C:* Biological and chemical-physical properties of root-end filling materials: A comparative study. *J Conserv Dent* 2015; 18: 94-99.
33. *Hiremath GS, Kulkarni RD, Naik BD:* Evaluation of minimal inhibitory concentration of two new materials using tube dilution method: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2015; 18: 159-162.
34. *Bhavana V, Chaitanya KP, Gandhi P, Patil J, Dola B, Reddy RB:* Evaluation of antibacterial and antifungal activity of new calcium-based cement (Biodentine) compared to MTA and glass ionomer cement. *J Conserv Dent* 2015; 18: 44-46.
35. *Fridland M, Rosado R:* Mineral trioxide aggregate solubility and porosity with different water – to-powder ratios. *J Endod* 2003; 29: 814-817.

Address: 70-111 Szczecin, al. Powstańców Wlkp. 72
Tel.: +4891 4661648
e-mail: zstzach@pum.edu.pl

Received: 20th September 2016

Accepted: 23rd April 2017