

Üç Farklı Protetik Estetik Materyal Üzerinde *Candida Albicans* Yapışmasının Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi

Süleyman Agüloğlu, Remzi Niğiz

ÖZET

Bu araştırma, protetik estetik materyal olarak kullanılan üç farklı materyale mikroorganizma yapışmasının değerlendirilmesi için yapıldı. Çalışmamızda Yüksek ısı porseleni (Vita), Orta ısı porseleni (Vita) ve Akrilik rezin (Duropont) üzerine C.albicans yapışması karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda kullanılmak üzere protetik materyallerden 10 mm çapında ve 1 mm yüksekliğinde 10'ar örnek hazırlandı. Steril örnekler mikroorganizma yapışması, uygun sıvı besiyerlerinde 24 saat 37°C'de bekletilerek incelendi, örnekler üzerine yapışmış olan mikroorganizma sayısı ise, örnekler 100 ml tuzlu su içinde çalkalanıp sulandırılarak katı besiyerine yayılarak hesaplandı.

Çalışmamızın sonucunda Akrilik'in, Yüksek ısı porseleni ve Orta ısı porseleni'ne göre daha fazla mikroorganizma yapışmasına maruz kaldığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Dişhekimliğinde C. Albicans, Mikrobiyoloji ve Dişhekimliği

Investigation of the Comparison of the Candida Albicans Adherence to Three Different Prosthetic Materials

SUMMARY

This study was carried out in order to evaluate the adhesion of microorganisms to four different prosthetic esthetic materials. Experimental prosthetic materials are High-fused porcelain (Vita), Medium-fused porcelain (Vita) and Acrylic resin (Duropont); the microorganism that used was, C.albicans.

For our study, the experimental models of 10mm radius and 1mm height, 10 prosthetic materials were prepared. The adhesion of microorganisms to sterilised samples are investigated for 24 hours at 37°C in liquid culture dish that fits to characteristics of proliferation of the microorganisms, the number of adherent cells on experimental models were calculated in solid culture dish after shaken in 100 ml saline and diluted.

As a result of this study, it was determined that Acrylic resin had undergone more microorganisms adhesion when compared with High-fused porcelain and Medium-fused porcelain.

Key Words: C. Albicans in Dentistry, Dentistry and Microbiology

GİRİŞ

Ağız insan vücudunda, mukoza yüzeyleri ile beraber sert doku yüzeylerini de barındıran tek bölgedir. Çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelen diş kayıpları neticesinde hastaların fonksiyon, fonasyon ve estetik eksikliklerini tamamlamak için yapılan protezlerin periodontal dokular ile olan

ilişkileri, dişhekimliğinde çok uzun zamandan beri tartışma konusu olmuş ve bu konuda birçok araştırmalar yapılmıştır (1-3).

Mikroorganizma yapışması pürüzlü yüzeyler üzerinde daha fazla olduğundan, protetik materyallerde mümkün olduğunca düzgün yüzeylerin sağlanması istenir. Çünkü pürüzlü



bir yüzey, mikroorganizmaların yapışabilmesi ve üreyebilmeleri için elverişli bir ortam oluşturur. Bunun yanında kullanılan materyalin kimyasal yapısı da yapışmada çok önemli yer tutar (2-5).

Protetik diş tedavisindeki temel amaç fonksiyon, fonasyon ve estetiğin iadesi ile oral sağlığın devamının sağlanmasıdır. Oral sağlık açısından mevcut patojenleri uzaklaştırmakla beraber, ağız içinde konakçıya ortam oluşturmamak başlıca hedef olmalıdır. Protez kullanan kişilerde, mevcut restorasyonlardaki mikroorganizma tutuculuğunun doğal dokulara oranla daha hızlı ve daha fazla olduğu, bunun da daha hızlı plak birikimine, dolayısıyla kötü kokuya neden olduğu bilinmektedir. Protetik tedavide kullanılan estetik materyaller, metal destek yapı ile yeterli birleşimi sağlayacak dirençli, sert ve yumuşak dokular ile biyolojik uyumu yeterli olan, ağız hijyeni açısından üzerinde mikroorganizma yapışmasına ve üremesine imkan tanımayacak ve estetik gereksinimleri karşılayacak özellikleri taşımalıdır (3,6,7).

Oral florada candida türlerine sık rastlanmaktadır, bunun sebebi hem ağızda çok sayıda bulunmaları, hem de yüzeysel ve derin enfeksiyonlar yapabilen fırsatçı patojen mantarlar olmalarıdır. Bu parazitler arasında en önemli patojen tür, *Candida albicans*'tir. Ağız moniliasis'i veya akut pseudomembranlı candidiasis'in pamukçuk denen ağız boşluğunda ki enfeksiyonunun etkeni *C.albicans*'tir. Kronik hiperplastik candidiasis, klinik olarak lökoplaziden ayrılamayan, pamukçuktan tamamen ayrı bir klinik tablodur (1,8).

Dudaklardaki candidiasis, güneş ya da rüzgar etkisiyle mukoza zarar gördüğünde görülür. Lezyonlarda her zaman karışık bir flora yer alır. Anguler chelitis denilen durumda, ağız köşeleri *C.albicans* enfeksiyonu sonucu yarıma ve çatlama ile karakterizedir. Protez stomatiti'nde tam protezin altını döşeyen mukozada yaygın iltihap vardır. İltihap parçalar halinde olabilir veya protezin kapladığı tüm alana yayılabilir. *C.albicans* ile solunum yolu enfeksiyonları, bronkopulmoner veya pulmoner şekilde olabilir. Bronkopulmoner candidiasis, bronşit belirtileri verir. Enfeksiyon bronşlarda yerleşir. Pulmoner candidiasis'te hastalık akciğer dokusuna

yerleşir. Devamlı öksürükle beraber balgam çıkarılır (9-11).

Mikroorganizmaların protetik materyallere yapışmasında, burun-ağız sekresyonları ile mikroorganizmaların spesifik etkileşimleri ve materyallerin yüzey özellikleri etkili olmaktadır. Mikroorganizmaların protetik materyallerde birikmesi ağız dokularının sağlığının korunması açısından çok önemlidir ve bu birikimin en aza indirgenebilmesi için uygun materyalin kullanılması istenir (1).

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız, Dicle Üniversitesi Araştırma-Proje Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. Örnek materyaller Ankara İlkiz Diş Laboratuvarı'nda hazırlatılıp, mikrobiyolojik çalışma ve değerlendirmeler Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji Araştırma Laboratuvarı'nda, istatistiksel hesaplamalar ise Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

Çalışmamızda, 10 mm çapında Yüksek ısı porseleni (Vita), Orta ısı porseleni (Vita), Akrilik rezin (Duropont-Kulzer) örnekleri ve *Candida albicans* ATCC 10231 suşları kullanıldı. *Candida albicans* suşları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edildi. *Candida albicans* için nutrient agar katı besiyeri kullanıldı. Nutrient Agar'lı besiyeri (1000 ml için),

Bacto agar	15 g
Nutrient Broth	25 g
Distile su	1000 ml

şeklinde hazırlandı

Karışım 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı. Petri kutularına aktarıldı.

Deneyin Yapılışı

Bir mikroorganizma kültüründeki canlı hücrelerin sayımı; seyreltilmiş (dilüsyon) kültürden alınan mikroorganizma örneği agarlı uygun besi yerine ekim yapılarak, inkübasyon süresi sonunda koloni oluşturan hücrelerin hesaplanması ile gerçekleştirilir. *C. albicans* için YEPD besiyeri ve Nutrient agar, besiyerlerine ekim yapılarak mikroorganizma kültürü elde edildi(12).

Deneyde kullanılan 3 ayrı protetik materyalden onar adet denendi. Katı besi yerine ekilmiş

olan mikroorganizma örneklerinden 20 ml sıvı besi yeri içeren erlenlere birer öze olarak ekim yapıldı. Kültür, 100 rpm.lik çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı. Soğutmalı santrifüjde santrifüjlenen mikroorganizma kültürlerinin spektrofotometre de 600 nm.de absorbansları ölçüldü. Absorbansları yaklaşık 0.1 olan *C. albicans* gecelik kültüründen 1 ml alınarak 100 ml'lik uygun sıvı besi yerlerine aktarıldı. Protetik materyaller steril pensler yardımı ile ilave edilerek 37 °C'de 175 rpm.de çalkalamalı olarak 24 saat inkübe edildi.

100 ml besiyeri içeren erlenlere üç protetik materyalden birer adet ilave edilerek çalışıldı. Bu işlemler 10'ar kez tekrarlandı.

Yirmidört saatlik mikroorganizma kültürleri çalkalamalı su banyosundan alınarak protetik materyaller yine steril pensler ile dikkatlice çıkarıldı, fazla sıvıları dikkatlice süzdürülerek %0.9'luk tuzlu su çözeltisine 3 kez daldırılıp çıkartıldı. Böylece protetik materyallerin yıkanması sağlanmış oldu. Örnekler steril tuzlu su içeren tüplere alınarak yüzeylerine yapışmış olan mikroorganizmaların ayrılması ve homojen olarak sıvı içine dağılması amacı ile 1 dakika süreyle vortekste karıştırıldı. Elde edilen homojen karışımdan 1 ml alınarak 9 ml steril tuzlu su içeren tüplere ilave edilmek suretiyle bir seri tüpte seyreltildi. Bu durumda 1 no'lu tüpteki mikroorganizma 1:10=10⁻¹ kez seyreltilmiş oldu. Seyreltme işlemine 10⁻⁴'e kadar devam edildi. Her bir seyreltme aşamasından sonra mikropipetle 100 µl alınarak 1 ml yumuşak agar içeren tüplere aktarıldı ve nutrient agarlı katı besi yeri içeren petri kutularına yayıldı. Ekim yapılmış besi yerleri 37°C'de etüvde 24 saat süreyle inkübe edildi. Bütün işlemler alev karşısında steril olarak yapıldı. Ertesi gün etüvden alınan besi yerleri yüzeyinde oluşan mikroorganizma kolonileri sayılarak canlı hücre sayımı gerçekleştirildi. Çalışmamızda 3 farklı protetik materyal üzerinde mikroorganizma yapışmasını saptamak amacıyla, kültürel sayım yöntemlerinden koloni sayımı yöntemi kullanıldı (13). Bu

yöntemin prensibi mikroorganizmanın katı besi yerinde koloni oluşturması, bu kolonilerin sayılarak örnekteki mikroorganizma sayısının hesaplanmasıdır.

Bir bakteri kültüründeki canlı hücrelerin sayımı, seyreltilmiş kültürden alınan belli miktardaki bakteri örneğinin agar ortamlarına ekimi ile gösterilir. Ekim yapılan örnekten belirli inkübasyon sonunda koloni oluşturan hücreler canlı hücreler olup, bunların sayımı ile kültürümüzdeki canlı hücrelerin sayısını belirleyebiliriz.

Katı besiyerlerine seyrek olarak ekim yapıldığında mikroorganizmalar besiyeri üzerine tek tek düşerler. Her bir bakteri ürettiğinde ayrı bir küme oluşur ki bu kümelere koloni denir. Mililitredeki canlı hücre sayısı;

Canlı Hücre Sayısı (ml): Sulandırma Faktörü X Plaktaki Koloni Sayısı X 10² (/ml) yukarıdaki formülle hesaplandı.

İstatistiksel Analiz

Araştırmamızda üç farklı protetik materyal (Yüksek Isı Porseleni, Ota ısı porseleni, Polimetil metakrilat) üzerine *Candida albicans* yapışması karşılaştırmalı olarak hesaplanmıştır.

Öncelikle elde edilen sonuçlara Varyans Analizi (ANOVA) yapıldı. Yapılan Varyans Analizi sonucunda gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğu anlaşıldı. Daha sonra grupların birbirleri arasındaki farkı belirlemek için Tukey HSD (Çoklu karşılaştırma testi) yapıldı (Tablo 2).

BULGULAR

Araştırmamızda, üzerine yapışan mikroorganizma miktarını karşılaştırdığımız 10'ar adet protetik estetik materyal diski (Yüksek ısı porseleni, Orta ısı porseleni, Akrilik rezin (Polimetil metakrilat) hazırlandı, analizler standart mikrobiyolojik yöntem kullanılarak yapıldı. Protetik materyaller arasında en fazla mikroorganizma yapışmasının sırasıyla Akrilik rezin (Polimetil metakrilat), Yüksek ısı porseleni ve Orta ısı porseleni'nde olduğu tespit edildi.



Tablo 1. *Candida albicans*'ın Yüksek ısı porseleni, Orta ısı porseleni ve Akrilik materyalleri üzerine yapışma miktarları.

Örnek no	Yüksek ısı porseleni'ne yapışan maya miktarı	Orta ısı porseleni'ne yapışan maya miktarı	Akrilik'e yapışan maya miktarı
1	7.2 x10 ⁴	6.2 x10 ⁴	4.5 x10 ⁶
2	7.5 x10 ⁴	6.1 x10 ⁴	4.1 x10 ⁶
3	7.9 x10 ⁴	5.8 x10 ⁴	3.8 x10 ⁶
4	9.3 x10 ⁴	4.7 x10 ⁴	4.6 x10 ⁶
5	8.6 x10 ⁴	5.3 x10 ⁴	4.1 x10 ⁶
6	8.2 x10 ⁴	6.0 x10 ⁴	3.5 x10 ⁶
7	9.5 x10 ⁴	4.9 x10 ⁴	3.3 x10 ⁶
8	7.9 x10 ⁴	5.1 x10 ⁴	4.3 x10 ⁶
9	7.5 x10 ⁴	5.5 x10 ⁴	3.8 x10 ⁶
10	8.7 x10 ⁴	5.9 x10 ⁴	5.1 x10 ⁶
M	8.2 x10 ⁴	5.6 x10 ⁴	4.1 x10 ⁶
+/- sd	8.2 x10 ⁴	5.6 x10 ⁴	4.1 x10 ⁶

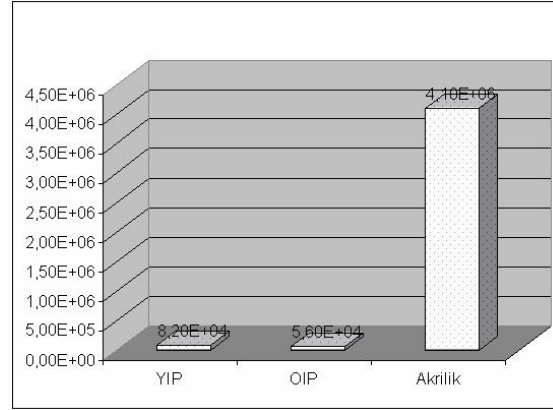
Yapılan Varyans Analizi Testi'ne göre gruplar arasında belirgin farklar mevcuttur (p<0.001). Burdan yola çıkarak Tukey HSD (Çoklu karşılaştırma testi) yapıldı.

Tablo 2. Çoklu karşılaştırma (Tukey HSD) testi

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	p
YIP- <i>C.albicans</i> x OIP- <i>C.albicans</i>	p>0.05
YIP- <i>C.albicans</i> x Polimetil metakrilat- <i>C.albicans</i>	p<0.001*
OIP- <i>C.albicans</i> x Polimetil metakrilat- <i>C.albicans</i>	p<0.001*

Farklı materyallere, mayanın yapışma miktarları karşılaştırıldı ve (*) işaretli olan gruplar arasındaki farkın önemli olduğu anlaşıldı.

Bu sonuçlara göre *C.albicans* yapışması, akrilik'te diğer bütün materyallere (p<0.001), göre sayıca fazla olup, buna karşılık yüksek ısı porseleni ve orta ısı porseleni arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (p>0.05).

**Grafik 1.** Örnekler üzerine maya yapışma miktarı

TARTIŞMA

Yapılan protezlerde kullanılan protetik materyaller mikroorganizmaların üzerlerinde yerleşmeleri için uygun yapılarıdır. Bu yapılar üzerine yerleşen mikroorganizmalar ağız içinde periodontal yıkımlara sebep olabilecekleri gibi, ağızdaki herhangi bir çürük lezyonundan, periodontal cepten veya çekim yeri ve mukozal travma gibi açık yaralardan kana da karışabilirler (3,14).

Araştırmamızda protetik diş tedavisinde estetik materyal olarak kullanılan Yüksek ısı porseleni, Orta ısı porseleni ve Akrilik rezin (Polimetil metakrilat)'e yapışma miktarlarını karşılaştırmak amacıyla *C.albicans*, kullanıldı.

Baysan ve arkadaşları çalışmalarında protez kaynaklı ağız stomatitinin sistemik ve sistemik olmayan birçok nedeni olduğunu, bunların sistemik olmayan nedenler arasında ilk sıraları bakteriler, mayalar ve kötü ağız hijyeninin aldığını belirtmişlerdir. Rohler ve Bulard ise otoklavlanamayan protetik materyallerin mikrodalga ile sterilizasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, protezleri kontamine eden mikroorganizmalardan en önemli ikisinin *C.albicans* ve *S.aureus* olduğunu belirtmişlerdir (15).

Nikawa ve arkadaşları, maksillo-fasiyal protezler üzerinde *candida* kolonizasyonunu değerlendirdikleri çalışmada, protez üzerinde biriken plaklardan aspire edilen mikroorganizmaların hiç beklenmedik enfeksiyonlara yol

açabileceğine değinmişlerdir. Ayrıca *candida*'nın akrilik veya farklı protetik materyallere yapışmasının kolonizasyon ve plak formasyonunda ilk basamak olduğunu, ikinci basamağın ise yapışan hücrelerin büyümesi ve farklı mikroorganizmaların mevcut mikroorganizmalara yapışıp gelişmesi olduğunu belirtmişlerdir (16).

Çalışmamız yapılırken standart mikrobiyolojik yöntemler kullanıldı. Bir mikroorganizma kültüründeki hücre sayımı Elektronik Koloni Sayaçları, Thoma Lamı ile Mikroskopik Sayım ve Spektrofotometrik Sayım gibi tekniklerle yapılabilir. Fakat bu yöntemlerle yapılan sayım sonucu elde edilen veri ya toplam hücre sayısının, ya da hücre kütlelerinin (cell mass) ortaya çıkmasını sağlar. Bu yöntemlerle elde edilen toplam hücre sayısı, canlı hücre sayısı değildir. Örneğin Thoma Lamı ile mikroskopta sayılan toplam bakteri hücrelerinden bir kısmı ölü olabilir. Gerçek anlamda canlı hücreler, Agarlı besiyerlerine yapılan ekim sonucunda gözlenen kolonilerdir. Bu nedenle çalışmamızda kültürel sayım yöntemlerinden olan koloni sayım yöntemi kullanıldı.

C.albicans'ın daha önce yapılan çalışmalarda Saboraud broth, Nutrient broth ve YEDP besiyerlerinde üretildiği fakat çalışmamızda bu besiyerleri denenerek, en iyi üremenin YEDP'de olduğu tespit edildi (12). Ayrıca Eschrich'in yaptığı çalışmada *C.albicans* 37°C'de 48 saat süreyle üretilmiştir. Buna karşılık çalışmamızda üremenin 24. saatte maksimuma ulaştığı ve en iyi çalışmanın 24. saatte yapılabileceği tespit edildi (12).

Chan (4), gingival ve diğer oral dokuların sağlığının ağızdaki plak miktarına bağlı olduğunu belirtmiş ve buna bağlı olarak yaptıkları araştırmada kullandıkları dört farklı dental materyal arasından seramometal kronların mikroorganizma açısından mine de dahil olmak üzere en az, akrilik veneer kronların ise en yüksek yapışma katsayısına sahip olduğu sonucuna varmışlardır. Bunu da, akrilik rezinin oldukça gelişmesine rağmen cila ve bitirme işleminden sonra bile pürüzlü bir yüzeye sahip olduğu, bu yüzden yapışmanın fazla olduğu sonucuna bağlamışlardır. Bu çalışma da sonuç olarak bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak, Protetik materyaller arasında en fazla yapışmanın Akrilik rezin (Polimetil metakrilat)'de, Yüksek ısı porseleni ve en az yapışmanın da Orta ısı porseleni'nde olduğu tespit edildi. Mikroorganizma yapışma miktarının Orta ısı porseleninde daha az olması rağmen istatistiksel analizler sonucunda Yüksek ısı porseleni ile arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Böylece dişhekimliğinde porselen materyalinin, akrilik rezinden çok daha güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1.Derviş N Emel: Obturatör Protez Yapımında Kullanılan Üç Farklı Protetik Materyal Üzerine Mikroorganizma Yapışmasının Değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri, İstanbul 1996
2. Wise M D, Dykema R W: The plaque retaining capacity of four dental materials. Journal of Prosthetic Dentistry 1975;33: 178-190
3. Yavuzyılmaz Hüsnü: Metal Destekli Estetik (Veneer-Kaplama) Kronlar. Ankara 1996
4. Chan C: Plaque retention on teeth restored with full ceramic crowns. Journal of Prosthetic Dentistry 1986; 56: 666-671
5. Kawai K, Urano M: Adherence of plaque components to different restorative materials. Operative Dentistry 2001; 26: 396-400
6. Taylor R L, Verran J, Lees G C, Ward A J P: The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. Journal of Materials Science: Materials in Medicine 1998; 9: 17-22
7. Willershausen B, Callaway A, Ernst C P: The influence of oral bacteria on the surfaces of resin-based dental restorative materials-an in vitro study. International Dental Journal 1999; 49: 231-239
8. Waters M G, Williams J W, Jagger R G: Adherence of candida albicans to experimental denture soft lining materials. Journal of Prosthetic Dentistry 1997; 77: 306-318
9. Anğ Özdem: Ağız Mikrobiyolojisi. İstanbul 1990



10. Nikawa H, Jin C, Hamada T, Makihira S: Candida albicans growth on thermal cycled materials for maxillofacial prosthesis. Journal of Oral Rehabilitation 2001; 28: 755-765

11. Erganiş Osman, Öztürk Adnan: Oral Mikrobiyoloji & İmmünoloji. 2003

12. Eschrich D, Kötter P, Entian K D: Glucogenesis in candida albicans. FEMS Yeast Research 2002; 2: 315-325

13. Özçelik S: Genel Mikrobiyoloji Uygulama Kılavuzu. Isparta 1998

14. Güven Orhan: Ağız Hastalıkları ve Çene Cerrahisinde İmmünoloji. Ankara 1995

15. Baysan A, Whiley R, Wright P S: Use of microwave energy to disinfect a long-term soft lining material contaminated with *C.albicans* or *S.aureus*. J. of Prosthetic Dentistry 1998; 79: 454-462

16. Nikawa H, Chen J, Hamada T: Candida albicans colonization on thermal cycled maxillofacial polymeric materials in vitro. Journal of Oral Rehabilitation 2001; 28: 526-533

Yazışma Adresi

Süleyman AGÜLOĞLU
Dicle Üniv. Dişhekimliği Fak. Protetik Diş Tedavisi
A.D. / Diyarbakır
E-mail: sagul@dicle.edu.tr

