

**FARKLI DENTİN BAĞLAYICI SİSTEMLERİN ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN  
in vitro DEĞERLENDİRİLMESİ**

**THE IN VITRO ASSESMENT OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF DIFFERENT DENTIN  
BONDING SYSTEMS**

**Alev ATEŞAĞAOĞLU KAYA\***

**Hüma ÖMÜRLÜ\*\*  
Bilge SİPAHİOĞLU<sup>+</sup>**

**Nedim SULTAN<sup>#</sup>**

**ÖZET**

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, antibakteriyel monomer (methacryloyloxydo-decylpyridinium bromide, MDPB) içeren yeni geliştirilmiş bir dentin bağlayıcı sistem ile farklı özelliklere sahip diğer bazı dentin bağlayıcı sistemlerin, çürük lezyonlarında bulunan farklı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkilerinin incelenmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada farklı özelliklere sahip dentin bağlayıcı sistemlerin (Clearfil Protect Bond, Clearfil SE Bond, SL Bond, i-Bond) *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* ve *Candida albicans* üzerine antimikrobiyal aktiviteleri in vitro olarak agar disk difüzyon testi ve bakterisid aktivite testi ile karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Antibakteriyel monomer içeren Clearfil Protect Bond primeri, *S. mutans* ve *C. albicans*'a karşı diğer dentin bağlayıcı sistemlerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur ( $p < 0,05$ ). *L. casei* için SL Bond en geniş inhibisyon zonu oluşturmuş, Clearfil Protect Bond primer ise ikinci en etkili bağlayıcı sistem olarak tespit edilmiştir. Bakterisid aktivite testi sonuçlarına göre Clearfil Protect Bond primerin MİK/MBK değerleri diğer dentin bağlayıcı sistemlerden anlamlı derecede daha düşüktür.

**Sonuç:** Çalışma sonuçları antibakteriyel monomer içeren dentin bağlayıcı sistemin *S. mutans*, *L. casei* ve *C. albicans*'a karşı güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Dentin bağlayıcı sistemler, MDPB, antimikrobiyal aktivite

**SUMMARY**

**Objective:** The aim of this study was to investigate the antimicrobial effects of a newly developed dentin bonding system incorporating the antibacterial monomer (MDPB) and the other dentin bonding systems with different properties, against the bacteria in carious lesions.

**Material and method:** The antimicrobial activity of dentin bonding systems were compared by in vitro agar disc diffusion test and bactericidal activity test.

**Results:** Clearfil Protect Bond primer that contains the antibacterial monomer, produced significantly greater inhibition zones against *S. mutans* and *C. albicans* than the other dentin bonding systems ( $p < 0,05$ ). SL Bond produced the largest inhibition zone for *L. casei*, Clearfil Protect Bond is the second effective system for *L. casei*. According to the results of bactericidal activity test, the MIC/MBC values of Clearfil Protect Bond primer were found to be significantly less than the other dentin bonding systems.

**Conclusion:** The results of this study indicate that the primer containing MDPB exhibit strong antimicrobial effects against *S. mutans*, *L. casei* and *C. albicans*.

**Key words:** Dentin bonding systems, MDPB, antimicrobial activity

**Makale Gönderiliş Tarihi : 24.03.2008**

**Yayına Kabul Tarihi : 20.10.2008**

\* D.S.İ. Genel Müdürlüğü, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Uzmanı

\*\* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı, Profesör

# Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Profesör

+ Mikrobiyoloji Uzman Hekim

## GİRİŞ

Son yıllarda bağlayıcı sistemlerin geliştirilmesi ile yaygın kavite preparasyonları yerini enfekte dentini dik-katli bir şekilde uzaklaştırarak sağlam diş dokusunu koru-mayı amaçlayan daha konservatif tekniklere bırakmıştır<sup>37</sup>.

Kompozit reçine ve dentin bağlayıcı sistemlerdeki son gelişmelere rağmen polimerizasyon bütülmeleri sonucu diş ile restorasyon maddesi birleşimindeki aralıkta meydana gelen bakteri kolonizasyonu halen diş hekimliğinin önemli bir sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca minimal preparasyon tekniğinde dentinin rengi ya da kıvamına bakılarak subjektif bir şekilde yapılan çürük uzaklaştırma işlemi kavitede rezidüel bakteri kalmasına neden olabilmektedir<sup>34</sup>.

Kompozit rezin restorasyonlar in vivo ve in vitro ko-sullarda mineden daha fazla oranda bakteri kolonizasyo-nuna eğilimlidir<sup>23</sup>.

Kavite içinde kalan ya da mikrosızıntı yoluyla koloni-ze olan bakterilerin antimikrobiyal özellik taşımayan res-torasyon maddelerinin altında uzun süre canlı kalarak ço-ğaldıkları ve tekrarlayan çürük, pulpa yangısı gibi isten-meyen etkilerin gelişmesinde önemli rol oynadıkları bi-linmektedir<sup>24,39</sup>.

Başarılı bir tedavi elde etmek için kavitede kalan ve invaziv bakterilerin zararlı etkilerinden korunmak önem-lidir. Bu yüzden hazırlanan kavite yüzeyine direkt olarak uygulanan dentin bağlayıcı sistemlerde bakterilere etkili inhibitör özellik taşıyan, biyoaktif fonksiyonlu bir yapı gerekli görülmüştür<sup>14,34,36,37</sup>.

Dentin bağlayıcı sistemlerin içeriğine, antibakteriyel bir monomer olan methacryloyloxydo-decylpyridinium bromide (MDPB) katılarak, ışık uygulama öncesi ve son-rasında antimikrobiyal aktivite elde edilmesi hedeflen-miştir<sup>8,12-14,16-18</sup>.

Biyofilm içinde çürük lezyonuyla ilişkili pek çok bak-teri izole edilmesine rağmen streptokok ve laktobasillerin temel patojen oldukları bildirilmiştir<sup>2,5,6,21,22,25,28,31,35</sup>. Ayrıca dentine olan invazyon afinitesinden dolayı dentinofilik bir mikroorganizma olarak tanımlanan *C. albicans*'ın dentin çürüğü lezyonunda sıklıkla görüldüğü yapılan ça-

lışmalarla gösterilmiştir<sup>26</sup>. İlave olarak çeşitli dentin bağ-layıcı sistemlerin farklı ağız mikroorganizmaları üzerin-de in vitro antibakteriyel etkinliği gösterilmiştir<sup>27,30</sup>.

Bu çalışmanın amacı antibakteriyel monomer MDPB içeren dentin bağlayıcı sistem ile farklı özelliklerdeki di-ğer sistemlerin çürük lezyonlarından sıklıkla izole edilen *S. mutans*, *L. casei* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkilerinin karşılaştırılmasıdır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Agar Disk Difüzyon Testi

Çalışmada, farklı özelliklerde dentin bağlayıcı sistem-lerin Clearfil Protect Bond (Kuraray; Osaka, Japonya), Clearfil SE Bond (Kuraray; Osaka Japan ), i-Bond (Hera-eus Kulzer; Hanau, Almanya), SL Bond (Swiss-Tec; Col-tene, İsviçre) diş çürüklerinde rolü olduğu bilinen *Lacto-bacillus casei* (ATCC 4646), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Streptococcus mutans*'a (NCTC10449) karşı antimikrobiyal özellikleri agar disk difüzyon testi ile de-ğerlendirilmiştir.

Mikroorganizmalar deney gününe kadar -30°C'de saklanmıştır. Deney gününden önce mikroorganizmalar derin dondurucudan çıkartılarak Beyin Kalp İnfüzyonu (BHI, BBL-Becton Dickinson, USA), sıvı besiyerine pa-saj yapılarak canlandırılmıştır. *L.casei* ve *S.mutans* %7 CO<sub>2</sub> içeren, *C.albicans* normal etüvde 37°C'de inkübe edilmiştir. Sıvı besiyerinde üreyen mikroorganizmalar B-HI agara pasajlanmıştır ve deneylerde bu agardan toplana mikroorganizmalar kullanılmıştır.

### Disklerin hazırlanması

Disk difüzyon testinde kullanılmak üzere 1,5 mm ka-lınlığındaki kâğıt tabakalardan (3M) 6 mm çapında disk-ler kesilmiştir. Hazırlanan diskler 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Test edilecek maddelerin her birinden 20 µl alınarak deneyden hemen önce birer diske emdirilmiştir. Deney-lerde % 2'lik klorheksidin pozitif kontrol, steril serum fizyolojik negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan 0.5 McFarland (Bio Me'rivex, Fransa) eşeline göre BHI sıvı

besiyerinde süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan steril pamuk uçu eküvyon ile 350 µl alınarak, BHI agar yüzeyine yayılmıştır. Deneyden hemen önce hazırlanmış olan, test edilecek madde emdirilmiş diskler agar yüzeyine yerleştirilmiştir. *S. mutans* ve *L. Casei*'ye ait plaklar %7 CO<sub>2</sub> içeren etüvde (SHEL LAB, Kanada), *C.albicans*'a ait plaklar normal etüvde (Dedeoğlu, Türkiye) 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda diskler etrafındaki inhibisyon zon çapları ölçülmüştür.

#### Bakterisid Aktivite Testi

#### Mikrodilüsyon testi

Mikroorganizmaların minimal inhibitör konsantrasyonlarının (MİK) ve minimal bakterisid konsantrasyonlarının (MBK) hesaplanması için mikrodilüsyon yöntemi uygulanmıştır. Çalışmada 96 kuyucuklu alt kısmı U şeklinde olan mikro plaklar kullanılmıştır.

Mikro plaklardaki her bir kuyucuğa 50 µl BHI sıvı besiyeri dağıtılmıştır. Test edilecek maddelerden alınarak 50 µl ilk kuyucuğa eklenmiştir ve daha sonra, kuyucuklardaki maddelerin konsantrasyonunu ikişer kat azaltacak şekilde, seri dilüsyon yapılmıştır. Çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan 0,5 McFarland eşeline göre BHI sıvı besiyerinde süspansiyon hazırlanmıştır. Bu süspansiyonlar 50 kat seyreltilerek son konsantrasyonu 2x10<sup>6</sup> C-FU/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Final süspansiyondan mikropipetle (Labmate HT, 10–100 µl'lik) 50µl alınarak tüm kuyucuklara eklenmiştir. Deneylerde %2'lik klorheksidin pozitif kontrol, steril serum fizyolojik negatif kontrol olarak kullanılmıştır. *S. mutans* ve *L. casei*'ye ait mikro plaklar %7 CO<sub>2</sub> içeren, *C. albicans*'a ait mikro plaklar normal etüvde 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük konsantrasyon maddelere ait MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Üremenin görülmediği kuyucuklardan 10 µl alınarak BHI agara ekim yapılmış ve plaklar disk difüzyon testinde anlatılan koşullarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda plaklarda üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon, MBK değeri olarak kabul edilmiştir. Deneyler üçer kez tekrarlanmıştır.

Agar disk difüzyon testinde bütün deneyler 3 kez tek-

rarlanmış ve ortalama inhibisyon zon çapları standart sapma ile birlikte hesaplanmıştır. Her bir test maddesinin antimikrobiyal etkisi istatistiksel olarak ANOVA ve Fisher's PLSD testlerine göre p< 0,05 güvenlik seviyesinde belirlenmiştir. Maddeler arası ikili karşılaştırma Scheffe's F- Testi ile yapılmıştır. İstatistiksel olarak farklılık p< 0,05 güvenlik seviyesinde tespit edilmiştir.

## BULGULAR

Test maddeleri ile pozitif ve negatif kontrolün, *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm olarak) ortalama değer ± standart sapmaları ile Tablo I'de gösterilmiştir.

**Tablo I.** *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans*'a karşı dentin bağlayıcı sistemler ile negatif kontrol (SF) ve pozitif kontrolün (klorheksidin) oluşturduğu ortalama inhibisyon zon çapları (mm ± standart sapma).

Maddeler	<i>L. casei</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. mutans</i>
Serum fizyolojik	0	0	0
Klorheksidin	25,6 ±0,57	15 ±1,0	25,3 ±1,15
Clearfil SE Bond primer	0	0	19 ±1,0
Clearfil SE Bond bağlayıcı	0	0	9,3 ±1,15
SL Bond	50 ±1,15	15,3 ±1,15	20 ±0,20
i-Bond	10,6 ±1,15	9,33 ±1,15	10,6 ±1,15
Clearfil Protect Bond primer	28,6 ±1,15	29 ±2,30	37,6 ±0,57
Clearfil Protect Bond bağlayıcı	0	0	0

Clearfil SE Bond primer ve bağlayıcı, *L. casei* ve *C. albicans* türlerine karşı etkisiz kalmış herhangi bir inhibitör etki gösterememiştir. *S. mutans*'a karşı oluşturduğu inhibisyon ise zayıf bir inhibisyonudur. SL Bond, tek şişe bağlayıcı sistem her üç bakteri türüne karşı antimikrobiyal etki göstermekle birlikte, *L. casei*'ye karşı diğer bakterilerden istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla inhibisyon (ortalama inhibisyon zon çapı=50±1,15 mm) göstermiştir (p< 0,05).

i-Bond'un test edilen bakterilere olan inhibitör etkisi çok zayıf olup istatistiksel olarak da anlamlı değildir (p>0,05).

Clearfil Protect Bond sistemde antimikrobiyal monomer MDPB katılmış olan primeri, her üç mikroorganizma türüne karşı güçlü inhibitör etki göstermiştir. Clearfil Protect Bond primer tarafından oluşturulan inhibisyon zon çapı *S. mutans* (ortalama inhibisyon zon çapı=28,6±1,15 mm)

ve *C. albicans* (ortalama inhibisyon zon çapı=29±2,30 mm) için diğer test edilen tüm bağlayıcı sistemlerden, istatistiksel olarak belirgin bir şekilde daha fazladır ( $p<0,05$ ). Clearfil Protect Bond bağlayıcı ise, her üç mikroorganizma türüne karşı inhibisyon etkisi göstermemiştir.

Çalışmada test edilen bağlayıcı sistemlerin *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans*'a karşı minimal inhibitör değerleri Tablo II'de gösterilmiştir. Bu değerler orijinal solüsyona (BHI) yüzde oranı olarak ( $\mu\text{g/mL}$ ) hesaplanmıştır.

**Tablo II. Bağlayıcı sistemlerin, *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans* için MİK=MBK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ).**

Maddeler	<i>L. casei</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. mutans</i>
Clearfil SE Bond primer	0,5	0,0625	0,125
Clearfil SE Bond bağlayıcı	0,0625	0,5	0,5
SL Bond	0,25	0,0313	0,25
i- Bond	0,125	0,0625	0,0625
Clearfil Protect Bond primer	0,0156	0,0078	0,0078
Clearfil Protect Bond bağlayıcı	0,5	0,5	0,5

Çalışma sonuçlarına göre minimal inhibitör konsantrasyon değerleri ile minimal bakterisid konsantrasyon değerleri birbirine eşittir. (MİK=MBK)

Clearfil SE Bond primer, *C. albicans* için düşük MBK değeri (0,0625  $\mu\text{g/mL}$ ) gösterirken, Clearfil SE Bond bağlayıcı ise *L. casei* için en düşük MBK değerine (0,0625  $\mu\text{g/mL}$ ) sahiptir.

SL Bond, *L. casei* ve *S. mutans* için aynı MBK değerine (0,25  $\mu\text{g/mL}$ ) sahipken, *C. albicans* için çok daha düşük MBK değerine sahiptir (0,0313  $\mu\text{g/mL}$ ).

i-Bond, *C. albicans* ve *S. mutans* için düşük (0,0625  $\mu\text{g/mL}$ ) MBK değerine sahipken, *L. casei* için bu değer daha yüksektir (0,125  $\mu\text{g/mL}$ ).

Clearfil Protect Bond primer, *L. casei* (0,0156  $\mu\text{g/mL}$ ), *C. albicans* (0,0078  $\mu\text{g/mL}$ ) ve *S. mutans* (0,0078  $\mu\text{g/mL}$ ) için diğer bağlayıcı sistemlere göre en düşük MBK değerine sahiptir. Ayrıca Clearfil Protect Bond primer'in, *C. albicans* ve *S. mutans* için MBK değeri pozitif kontrol grubu olarak kullanılan klorheksidinden (0,0625  $\mu\text{g/mL}$ ) de düşüktür.

Clearfil Protect Bond bağlayıcı, her üç mikroorganizma için de yüksek (0,5  $\mu\text{g/mL}$ ) MBK değerine sahiptir.

*C. albicans* ve *S. mutans* için test edilen tüm bağlayıcı etkenler arasından en fazla fungusid/bakterisid etkili olan bağlayıcı sistem en düşük MBK değeri (0,0078  $\mu\text{g/mL}$ ) ile Clearfil Protect Bond primer olarak tespit edilmiştir.

## TARTIŞMA

Çürük ile periodontal hastalığın esas nedeni olan, diş ile restorasyon maddesi yüzeyi üzerine yapışan, polisakarit matriks, ağız bakterileri ve onların metabolik ürünlerinden oluşan diş biyofilm tabakası ve bunun yanı sıra restorasyon maddesi altında bırakılan ya da restorasyon maddesi ile diş aralığındaki mikro boşluklardan sızan bakteriler, sekonder çürük oluşumuna yol açtığı gibi pulpaya da zarar verebilir. Başarılı bir tedavi ve ağız sağlığı için kavitede kalan ve invaziv bakterilerin zararlı etkilerinden korunmak önemlidir. Bu yüzden diş restorasyon maddelerinin antimikrobiyal etkinliğinin olması onlardan beklenen önemli bir özelliktir<sup>14,37</sup>.

Kompozitlerin temel bileşenleri olan Bis-GMA, TEGDMA ya da sıklıkla kullanılan UDMA'nın ağız bakterilerine karşı çok az bakteriyostatik/bakterisid etki gösterdiği ya da hiç etki göstermediği bildirilmiştir<sup>11</sup>. Kompozit ve içeriklerinin antimikrobiyal etkileriyle ilgili 1977'den beri, pek çok çalışma yapılmaktadır<sup>20</sup>. Son yıllarda reçine komponentleri geliştirmek için yapılan önemli bir girişim de, reçine matriks içine antimikrobiyal komponentin sabitlenmesidir. Bu amaçla salım yapmayan, antimikrobiyal özellikte yeni bir monomer olan 12-methacryloyloxydodecyl-pyridinium bromide (MDPB), dördü amonyum ve methacryloyl grubun birleştirilmesi ile elde edilip kompozit reçine içine katılmıştır<sup>16,18</sup>. MDPB içeren kompozitlerin etkisi antimikrobiyal etken salımı yapan maddeler kadar yoğun değildir<sup>11</sup>. Ebi ve arkadaşları<sup>8</sup> hızlı renk değişiminin MDPB içerikli kompozitlerde değerlendirilmesi gereken önemli bir olumsuzluk olduğunu bildirmişlerdir.

Bu problemler, restorasyonun yerleştirilmesi esnasında kavitede kalan bakterileri etkisiz hale getirebilecek, antimikrobiyal özellikte dentin bağlayıcı sistemler üzerine çalışmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu yüzden bu çalışmada antimikrobiyal etkisi olduğu ileri sürülen kendinden asitli bağlayıcı sistem (Clearfil Protect

Bond) ile farklı özelliklerdeki sistemlerin (Clearfil SE Bond, SL Bond, i-Bond), çürük ile yakın ilişkili olan ağız bakterilerine (*L. casei*, *C. albicans*, *S. mutans*) karşı antimikrobiyal etkisi agar disk difüzyon testi ve seri mikrodilüsyon testi olmak üzere iki farklı deney üzerinde gerçekleştirilmiştir.

*S. mutans* ve laktobasiller en temel diş patojeni olarak kabul edilmektedir<sup>7,21</sup>, ayrıca *C. albicans* ile kuron ve kök çürüğü arasındaki ilişki pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir<sup>1,4,6,10,26,29,31,32</sup>.

Agar disk difüzyon testinin bu çalışmada uygulanma nedeni, Başeren ve arkadaşlarının<sup>3</sup> da belirttiği gibi, bu yöntemin dentin bağlayıcılar gibi çözünebilir maddelerin testine imkan tanıyan bir yöntem olmasıdır. Tobias<sup>36</sup>, agar disk difüzyon testinin diş restorasyon maddelerinin antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmede en sık kullanılan yöntem olduğunu, agar disk difüzyon testini etkileyen değişkenler dikkatli bir şekilde kontrol edildiğinde tutarlı ve tekrar edilebilir sonuçlar elde etmenin mümkün olduğunu belirtmiştir. Fraga ve arkadaşları<sup>9</sup>, agar disk difüzyon testinin farklı ekim büyüklüklerini ve besiyeri manipülasyonundaki farklılıkları elimine etmesi ve maddeler arasında etkili bir karşılaştırma yapmaya olanak sağlama-sı gibi önemli avantajları olduğunu belirtmiştir.

Bununla beraber, bu test yönteminde inhibitör zon genişliğinin mikroorganizma duyarlılığı ve etken maddenin çözünebilirliğine bağlı olması ve in vitro ile in vivo antimikrobiyal etkinlik arasında kesin bir ilişki kurulamaması gibi dezavantajları göz önünde bulundurularak bu çalışmada, her bir bağlayıcı sistemin MİK ve MBK değerleri yapılan seri mikrodilüsyon testleri ile de tespit edilmiştir.

Bu çalışma sonuçlarına göre, antimikrobiyal monomer içermeyen, kendinden asitli sistem olan Clearfil SE Bond primer ve bağlayıcı kısmı, agar disk difüzyon testinde *S. mutans*'a karşı zayıf bir inhibisyon oluştururken, *L. casei* ve *C. albicans*'a karşı ise etkisiz bulunmuştur. Benzer olarak Imazato ve arkadaşları<sup>13</sup>, bazı kendinden asitli primerlerin, kavite test modeli ya da süspansiyon içinde incelendiklerinde, *S. mutans*'ları öldürebildiğini bulmuşlardır. Bu etki, kendinden asitli primerlerin pH'sı 3'ün altında olan, asidik monomerleri fazla oranda içermeleriyle

ilişkilendirilmiştir. Ancak düşük pH'a sahip bu bağlayıcıların bakterisid aktiviteleri, laktobasil gibi aside toleranslı bakteriler karşısında etkisiz kalmaktadır. Imazato ve arkadaşları<sup>13</sup>, LB primer de dâhil, 1,3 oranda pH'a sahip kendinden asitli primerlerin asiditelerine bağlı olarak antimikrobiyal etki gösterdiklerini, fakat bu etkilerinin dentin kavitesi içindeki bakterileri etkisiz hale getirmek için yeterli şiddette olmadığını bildirmişlerdir.

Kendinden asitli primerlerin bu çalışmadaki MİK/MBK ölçümlerine göre, aside dirençli bakteri türü olan *L. casei* için, Clearfil SE Bond primer yüksek konsantrasyonda (0,5 µg/mL) etkili iken, antimikrobiyal monomer içeren Clearfil Protect Bond primer ise çok düşük konsantrasyonda (0,0156 µg/mL) etkili bulunmuştur. Bu farklılığın primerlerin asiditelerinden kaynaklanmayıp antimikrobiyal monomer ilavesinden ileri geldiği kanısındayız. Bu bulgular, Imazato ve arkadaşları<sup>17</sup> tarafından, mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan MİK/MBK ölçümleri sonucu, DBS'lerin antimikrobiyal etkinliklerinin, içerdikleri komponentlerin asiditeleri ile ilişkili olmadığını gösteren sonuçlarıyla paraleldir.

Kendinden asitli primerlerin asiditesi dentinle temasa geçtiğinde tamponlanıp, dentin sıvısı ile dilüe olmasının da antibakteriyel etkisini azalttığı bildirilmiştir<sup>15,34</sup>.

Itou ve arkadaşları<sup>19</sup>, primerin pH'sının dentin yüzeyiyle temasa geçtiğinde arttığını, primer solüsyonun lezyonun derin bölgelerine ulaştıkça dilüe olduklarını ve antibakteriyel etkisinin zayıfladığını böylece uygulanan primerin planktonik hücrelere olan etkisinin beklenenden çok daha az olduğunu bildirmişlerdir. Bu yüzden, başarılı bir restorasyon için, içinde antibakteriyel özellik barındıran kendinden asitli primer kullanmanın faydalı olacağı öne sürülmüştür.

Çehrelî ve arkadaşları<sup>7</sup> da, kendinden asitli, iki aşamalı sistemlerin bağlayıcılarının, *S. mutans* için farklı derecelerde, zayıf antimikrobiyal etki gösterdiğini, fakat aside dirençli laktobasil türüne karşı etkisiz olduklarını bildirmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda Clearfil SE Bond için elde edilen sonuçları desteklemektedir.

Bu çalışma sonuçlarına göre, tek şişe sistem, SL Bond her üç mikroorganizma türü için inhibisyon oluştururken

en fazla antimikrobiyal etkiyi *L. casei* için göstermiştir. Schmalz ve arkadaşlarının<sup>33</sup>, yaptıkları bir çalışmada tek şişe sistem, Prime&Bond NT (florid içeren) *S. sobrinus*'a karşı kontrole oranla % 40 oranında antimikrobiyal etki gösterirken, florid içermeyen aynı madde herhangi bir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bu farklılığın tek şişe sistemlerin içerdiği farklı komponentlerden ve bakterilerin bu komponentlerin antimikrobiyal etkilerine karşı gösterdikleri duyarlılığın değişken olmasından kaynaklandığı kanısındayız.

Imazato ve arkadaşları<sup>15</sup>, tek şişe sistemlerden Single Bond'un, (SI Bond), *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı inhibisyon oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da tek şişe sistem SL Bond *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı antimikrobiyal etki göstermiş, özellikle *L. casei* için çok geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur. SL Bond, asitli sistemlerin tersine asit solüsyonla dağlama ve su ile yıkama sonrası kaviteye uygulanan, aseton esaslı bir tek şişe sistemdir. Asidik özellikte olmayan bu sistemlerin geniş inhibisyon zonu oluşturmaları, antimikrobiyal etkide asiditenin rol oynamadığını göstermektedir. SI ve SL Bond'un *L. casei*'ye karşı oluşturduğu inhibisyondan sorumlu içeriği tam olarak netleştirmek zor olmakla beraber, monomer ya da katalizörlerin bakteriyostatik ya da bakterisid olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmadaki tek şişe sistem, SL Bond'un *L. casei* için daha fazla inhibisyon göstermesinin, içeriğindeki bakteriyostatik/bakterisid etkileri bilinen dimetakrilat monomerler Bis-GMA, BPDM ve HEMA'nın yüksek oranda difüzyon kabiliyetinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Başeren ve arkadaşları<sup>3</sup>, yaptıkları çalışmada, tek şişe sistem olan Single Bond'u, *S. mutans* ve *L. casei*'ye karşı etkisiz bulmuştur. Bunun nedeninin bağlayıcı sistemin içeriğinden ya da düşük asidik özellikte olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir. Fakat bu çalışmada düşük asidik özellikteki, tek şişe sistem, SL Bond, *S. mutans* ve *L. casei* üzerinde inhibitör etki göstermiştir. Çalışmalar arasındaki bu farklılığın bağlayıcı sistemlerin içeriğindeki farklı maddelerin gösterdiği antimikrobiyal aktivitelerinden kaynaklanabileceği, asiditenin etkili olmadığı kanısındayız.

Bu çalışmada test edilen 7. kuşak, tek şişe dentin bağlayıcı sistem olan i-Bond, agar disk difüzyon testine göre her üç mikroorganizma üzerine çok zayıf bir inhibisyon oluşturmuştur. Çalışmada mikrodilüsyon testinde ise *S. mutans* için bakterisid ve *C. albicans* için fungusid etkili (MİK/MBK=0,0625 µg/mL) iken *L. casei* için yüksek MİK/MBK değeri ile etkili değildir (MİK/MBK= 0,125 µg/mL). Benzer sonuçlar Schmalz ve arkadaşlarının<sup>33</sup> Xeno CF II ile yaptıkları çalışmada da elde edilmiş, bizim çalışmamızda olduğu gibi streptokok türü için antimikrobiyal etki gösterirken, aside dirençli laktobasil türüne karşı etkisiz bulunmuştur. Bunun nedeninin sistemin, orta derecede asidik özellikte, kendinden asitli bir sistem oluşu ve içerdiği farklı komponentlerin gösterebileceği antimikrobiyal etkilerden kaynaklandığı kanısındayız. Total asitleme ve total bağlanma tekniklerinin tersine dentin tübüllerini tam olarak açmayan bu sistemde smear tabakası eritilip, i-Bond'un hidrofilik özelliklerine dayanarak tübüllerin ve peritübüler dentinin içine penetrasyon ve reçine uzantısı oluşumu sağlandığı bildirilmiştir. i-Bond'un mine olgularında arttırdığı yüzey alanıyla gelişmiş mine bağlantısı sağlandığı iddia edilmekle beraber, antimikrobiyal özellik beklentisi yüksek olan klinik olgularda, bu sistemin zayıf antimikrobiyal etkinliğinin göz ardı edilmemesi gerekmektedir.

% 1–2 klorheksidin solüsyonları kavite dezenfeksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada da antimikrobiyal etkisi bilinen, % 2 klorheksidin solüsyonu pozitif kontrol grubu olarak kullanılmış, agar disk difüzyon testi sonuçları ve MİK/MBK ölçümlerine göre test edilen üç bakteri türüne karşı güçlü bakterisid etkili bulunmuştur. Bununla birlikte bu etkisi antibakteriyel monomer içeren Clearfil Protect Bond primerden anlamlı derecede daha düşüktür. Türkün ve arkadaşları<sup>38</sup>, Clearfil Protect Bond ile üç farklı kavite dezenfektanının (klorheksidin glukonat esaslı Consepis, benzalkonium klorid esaslı Tubulicid Red ve %3'lük hidrojen peroksit) *S. mutans*'a karşı antibakteriyel etkilerini agar disk difüzyon testi ile karşılaştırdıkları çalışmada, Clearfil Protect Bond primerin diğer kavite dezenfektanlarından anlamlı derecede fazla inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir (p<0,05). Bu sonuçlar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Çalışmada yapılan birinci deneyin sonucunda elde edilen agar disk difüzyon testi verileri ve MİK/MBK değerlerine göre test edilen *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans*, bakteri türlerine karşı en güçlü bakteriyostatik/bakterisid etkiyi, antimikrobiyal monomer MDPB ilave edilmiş Clearfil Protect Bond bağlayıcı sistemin primer kısmı göstermiştir. Başarılı bir tedavi elde etmek için doğru restorasyon maddesi seçimi büyük öneme sahiptir. Bu yüzden, bu çalışma ile de güçlü antimikrobiyal etkisi kanıtlanan, kavite içinde kalan ve invaziv bakterilere karşı güçlü inhibitör etki gösterebilecek bir bağlayıcı sistemin kullanımının faydalı olabileceği görüşüdeyiz.

### SONUÇ

Bu çalışma sonucuna göre test edilen dentin bağlayıcı sistemler arasında her üç bakteri türüne karşı en fazla inhibisyon zon çapı % 95 güvenlik seviyesine göre, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ortalama  $31,889 \pm 0,314$  mm'lik çap değeri ile Clearfil Protect Bond primer tarafından oluşturulmuştur.

Çalışmada test edilen maddeler bakterilere karşı oluşturdukları ortalama inhibisyon zon çaplarına göre büyükten küçüğe şu şekilde sıralanabilir; Clearfil Protect Bond primer ( $31,889 \pm 0,314$  mm) > SL Bond ( $28,44 \pm 0,314$  mm) > i-Bond ( $10,22 \pm 0,314$  mm) > Clearfil SE Bond primer ( $6,33 \pm 0,314$  mm) > Clearfil SE Bond bağlayıcı ( $3,11 \pm 0,314$  mm) > Clearfil Protect Bond bağlayıcı (0 mm).

Çalışma sonuçlarına göre minimal inhibitör konsantrasyon değerleri ile minimal bakterisid konsantrasyon değerleri birbirine eşittir. (MİK=MBK) *L. casei*, *C. albicans* ve *S. mutans* için en düşük konsantrasyonda inhibitör etki gösteren bağlayıcı sistem Clearfil Protect Bond primer'dir.

Bu çalışmada tasarlanan 2 deneyin sonuçları, test edilen dentin bağlayıcı sistemlerden, antimikrobiyal monomer içeren Clearfil Protect Bond primerin, klinikteki etkili uygulama dozlarında, güçlü antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

### KAYNAKLAR

1. Ainamo J, Etemadzadeh H, Kallio P. Comparability and discriminating power of 4 plaque quantifications. J Clin Periodontol 20: 244–249, 1993.
2. Aydın M. Candida Cinsi Mantarlar: Cengiz AT. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004, 1110–1116.
3. Başeren M, Yazıcı R, Özalp M, Dayangaç B. Antibacterial activity of different generation dentin-bonding systems. Quint Int 36: 339–344, 2005.
4. Bighton P, Lynch E. Comparison of selected microflora of plaque and underlying carious dentine associated with primary root caries lesions. Caries Res 29: 154–158, 1995.
5. Cabezas GC, Gregory RL, Stookey G.K. Distribution of three cariogenic bacteria in secondary carious lesions around amalgam restorations. Caries Res 33: 357–365, 1999.
6. Colter WA, Murray SD. The use of a concentrated oral rinse culture technique to sample oral candida and lactobacilli in children, and the relationship between candida and lactobacilli levels and dental caries experience: a pilot study. Int J Pediatr Dent 3: 17–21, 1993.
7. Çehreli ZC, Atac AS, Sener B. Antimicrobial Properties of Self-Etching Primer-Bonding Systems. Oper Dent 28: 143–148, 2003.
8. Ebi N, Imazato S, Noiri Y, Ebisu S. Inhibitory effects of resin composite containing bactericide-immobilized filler on plaque accumulation. Dent Mater 17: 485–491, 2001.
9. Fraga RC, Siqueira JS, Uzeda M. In vitro evaluation of antibacterial effects of photo-cured glass ionomer liners and dentin bonding agents during setting. J Prosthet Dent 76: 483–486, 1996.
10. Hossain H, Ansari F, Schulz-Weidner N, Wetzel W-E, Chakraborty T, Domann E. Clonal identity of *Candida albicans* in the oral cavity and the gastrointestinal tract of pre-school children. Oral Microbiol 18: 302–308, 2003.
11. Imazato S. Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. Dent Mater 19: 449–457, 2003.
12. Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell RRB, Kaneko T, Ebisu S. Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. Biomater 20: 899–903, 1999.
13. Imazato S, Kaneko T, Takahashi Y, Noiri Y, Ebisu S. In Vivo Antibacterial Effects of Dentin Primer Incorporating MDPB. Oper Dent 29: 369–375, 2004.
14. Imazato S, Kinomoto H, Tarumi H, Russell RRB, McCabe JF. Incorporation of Antibacterial Monomer MDPB into Dentin Primer. J Dent Res 76: 768–772, 1997.
15. Imazato S, Kuramoto A, Kaneko T, Ebisu S, Russell RRB. Comparison of antibacterial activity of simplified adhesive systems. Am J Dent 5: 356–360, 2002.
16. Imazato S, Tarumi H, Kato S, Ebisu S. Water sorption and colour stability of composites containing the antibacterial monomer MDPB. J Dent 27: 279–283, 1999.
17. Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebisu S. Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. J Oral Rehabil 28: 314–319, 2001.

18. Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RRB. Incorporation of Bacterial Inhibitor into Resin Composite. *J Dent Res* 73: 1437–1443, 1994.
19. Itou K, Torii Y, Suzuki K, Nakai H, Inoue K. Adhesion of restorative resin to tooth-adhesion promoted by Liner Bond II. *Adhesive Dent* 12: 174–181, 1994.
20. Kawai K, Tsuchitani Y. Effects of composite components on glucosyltransferase of cariogenic bacterium. *J Biomed Mater Res* 51: 123–127, 2000.
21. Marsh PD. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dent Clin North Am* 43: 599–614, 1999.
22. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*. 3rd edition, London: Chapman & Hall; 1992.
23. Miller MB. Self-etching adhesives: solving the sensitivity conundrum. *Pract Proced Aesthet Dent* 14: 406–411, 2002.
24. Mjor IA. Frequency of secondary caries at various anatomical locations. *Oper Dent* 10: 88–92, 1985.
25. Morinushi T, Murayama M, Kinjo S. Mutans streptococci, lactobacilli in saliva and acidity from organisms in dental plaque: changes after restorative treatment. *J Clin Pediatr Dent* 28: 327–332, 2004.
26. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T. Denture plaque-past and recent concerns. *J Dent* 26: 299–304, 1998.
27. Ohmori K, Maeda N, Kohno A. Evaluation of antibacterial activity of three dentin primers using an in vitro tooth model. *Oper Dent* 24: 279–285, 1999.
28. Öztürk C. *Lactobacillus: Cengiz A.T. Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2004, 599–604.
29. Pienihakkinen K. Caries prediction through combined use of incipient caries lesions, salivary buffering capacity, lactobacilli and yeasts in Hungary Community. *Dent Oral Epidemiol* 15: 325–328, 1987.
30. Prati C, Fava F, Di Gioia D, Selighini M, Pashley DH. . Antibacterial effectiveness of dentin bonding systems. *Dent Mater* 9: 338–343, 1993.
31. Russell JJ, Macfarlane TW, Aitchison TC, Stephen KW, Burchell CK. Prediction of caries increment in Scottish adolescents. *Community Dent Oral Epidemiol* 19: 74–77, 1991.
32. Scheinin A, Peinihakkinen K, Tiekso J, Holmberg S. Multifactorial modeling for root caries prediction. *Community Dent Oral Epidemiol* 20: 35–37, 1992.
33. Schmalz G, Ergücü Z, Hiller KA. Effect of Dentin on the Antibacterial Activity of Dentin Bonding Agents. *J Endod* 30: 352–358, 2004.
34. Tagami J, Toledano M, Prati C. *Advanced Adhesive Dentistry*. 3rd International Kuraray Symposium; 1999, Granada, Italy. Crimido: Grafiche Erredue; 2000.
35. Tanner J. Adhesion of oral microbes to dental fiber reinforced composites. With emphasis on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. Doktora Tezi, Turku: Institute of Dentistry, University of Turku, Department of Prosthetic Dentistry; 2003.
36. Tobias RS. Antibacterial properties of dental restorative materials: a review. *Int Endod J* 21: 155–160, 1988.
37. Türkün ŞL. Clinical evaluation of a self-etching and a one-bottle adhesive system at two years. *J Dent* 31: 527–534, 2003.
38. Türkün M, Türkün LS, Ergücü Z, Ates M. Is an antibacterial adhesive system more effective than cavity disinfectants? *Am J Dent*, 19: 166–170, 2006
39. van Dijken A clinical evaluation of anterior conventional, microfiller and hybrid composite resin fillings. *Acta Odontol Scand* 44: 357–367, 1986.

#### Yazışma Adresi

Dr. Alev ATEŞAĞAOĞLU KAYA

D.S.İ. Genel Müdürlüğü Sağlık Servisi, Diş Hekimliği

Yüceetepe/ANKARA,

Tel: 414 83 00/ 24 04

e-posta: aatesagaoglu@yahoo.com