

# NÖTR VE ALKALİ pH'LARDAKİ KALSİYUM HİDROKSİT VE TİTANYUM DİOKSİT PATLARININ ANTİMİKROP ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ\*

Seçkin Dindar<sup>1</sup> Güven Külekçi<sup>2</sup> Hakan Özbaş<sup>3</sup> Fatma Turan<sup>4</sup>

Yayın kuruluşuna teslim tarihi : 19.10.1994

Yayına kabul tarihi : 21.11.1994

## Özet

Bu in vitro çalışmada farklı pH'lardaki titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) ve kalsiyum hidroksit (Ca (OH)<sub>2</sub>)'nin antimikrop etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. TiO<sub>2</sub> ve Ca (OH)<sub>2</sub> patları pH:7 ve pH:10 olmak üzere hazırlanmıştır. Patların antimikrop etkileri Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas fluorescens, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus sp., Lactobacillus sp., Fusobacterium sp., Porphyromonas gingivalis, Bacteroides fragilis, Clostridium sporogenes, Actinomyces naeslundii, Actinomyces viscosus, Candida albicans mikroorganizmaları üzerinde agar difüzyon tekniği kullanılarak test edilmiştir. TiO<sub>2</sub> patları herhangi bir mikroorganizma üzerine etki göstermemiştir. Bununla birlikte, nötr ve alkali pH değerlerindeki Ca(OH)<sub>2</sub> patları lactobacillus ve fusobacterium türleri ile P. gingivalis ve C. sporogenes üzerine etkisizken diğerlerine 0.5-3.5 mm arasında değişen inhibisyon zonları ile etkili bulunmuştur. Ca(OH)<sub>2</sub> patının farklı pH değerlerinde olması mikroorganizmalar için antimikrop etkilerinde belirgin bir fark göstermemiştir.

Anahtar sözcükler: Titanyum dioksit, kalsiyum hidroksit, antimikrop etki

## GİRİŞ

İnfekte kök kanallarıyla ilgili bakteri florası son yıllarda gelişen tekniklerle ayrıntılı olarak incelenmiştir. Kök kanalı infeksiyonları "polimikrobiyal" yani birden çok mikroorganizma çeşidi ile oluşan ve sıklıkla anaerob türlerin üstün olduğu infeksiyonlardır (17,18).

Çevresel faktörler, örneğin kök kanallarına yerleştirilen maddeler kanal florasını değiştire-

## COMPARISON OF ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF TITANIUM DIOXIDE AND CALCIUM HYDROXIDE PASTES AT NEUTRAL AND ALKALINE pHs

### Abstract

The purpose of this in vitro study was to compare the antibacterial effectiveness of different pH values of TiO<sub>2</sub> and Ca (OH)<sub>2</sub> TiO<sub>2</sub> and Ca(OH)<sub>2</sub> pastes either at pH:7 or pH:10 were prepared. The antibacterial effect of these pastes was tested by agar diffusion technique on S. epidermidis, S. aureus, P. fluorescens, E. coli, K. pneumoniae, S. mitis, S. mutans, S. sobrinus, Peptostreptococcus sp., Lactobacillus sp., Fusobacterium sp., P. gingivalis, B. fragilis, C. sporogenes, A. naeslundii, A. viscosus, C. albicans. TiO<sub>2</sub> pastes showed no inhibition zone with any of the test microorganisms. While Ca(OH)<sub>2</sub> pastes at pH:7 and pH:10 were found to be ineffective on Lactobacillus Sp., Fusobacterium Sp., P. gingivalis and C. sprogenes inhibition zones of 0.5-3.5 mm were detected with the other microorganisms. Ca(OH)<sub>2</sub> with different pH values showed no significant difference when the antimicrobial effects on microorganisms is concerned.

Key words: Titanium dioxide, calcium hydroxide, antimicrobial effect.

bilmektedir. Bazı araştırmacılar çeşitli bakteri türleri üzerine farklı metal ve metal tuzlarının etkilerini araştırmışlar ve metal tuzlarının eriyebilirliğine veya konsantrasyonuna bağlı olarak bakteri üremesi üzerine inhibitör etki yaptığını göstermişlerdir (2,9,20,24).

Kalsiyum hidroksit diş hekimliğinde ilk defa Nygren tarafından uygulanmış (14,23) ve günümüzde klinik endodontinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu madde tamir

\* "European Society of Endontology, Sixth Biennial" Kongresinde poster olarak sunulmuştur. Londra 1993

1 Doç Dr İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Bilim Dalı  
2 Doç Dr İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı  
3 Dr İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Bilim Dalı  
4 Dt İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Bilim Dalı

dentini yapımının uyarılmasında (28), kök perforasyonlarında kalsifiye set oluşumunun sağlanmasında (11), apeksifikasyon olayının gerçekleştirilmesinde (10), iltihaplara bağlı kök rezorbsiyonlarının kontrol altına alınmasında (1), kök kanallarındaki eksüdanın durdurulmasında (15) ve kök kırıklarının tedavisinde (19) kullanılmaktadır. Kalsiyum hidroksitin yüksek pH'larda komşu dokularda bazik bir ortam sağlayarak iyileşme için iyi bir koşul sağladığı ileri sürülmüştür (26,27). Bu maddenin kullanılmasına bağlı olarak klinik başarılı sonuçlar bildirilmesine karşın bu araştırmaların çoğu vaka bildirisi ve hasta gruplarının izlenmesi şeklinde yapılmıştır. Bu araştırmalarda elde edilen bulgular benzer bir materyal ile karşılaştırılmadığından, başarılı sonuçların sadece kalsiyum hidroksit patlarına bağlı olup olmadığı konusunda tartışmalar vardır (6). Bu nedenlerden dolayı biyolojik uyumu, korozyona direnci ve biyolojik fonksiyonlara uygun olması nedeniyle diş hekimliğinde her geçen gün daha fazla kullanılmaya başlanan titanyumdioksit (4,5,8,25) alternatif bir madde olarak ele alınmıştır. Kalsiyum hidroksit ve titanyumdioksitin kimyasal stabilitelerinin incelendiği bir çalışmada her iki maddenin zamana bağlı olarak değişim göstermediği ve kimyasal olarak stabil materyaller olduğu saptanmıştır (7). Klinik çalışmalar titanyumun sert ve yumuşak dokulara yapışmasının mükemmel olduğunu göstermiştir (5,8). Ancak titanyum bileşiklerinin mikroorganizmalar ve ağız florası üzerine biyolojik etkileri konusunda çok detaylı bilgiler yoktur (9,16,20). Bunun yanında kalsiyum hidroksitin mikroorganizmalar üzerine antimikrop etkileri hakkında literatürde pekçok araştırma vardır.

Bu araştırmanın amacı, nötr ve alkali pH değerlerindeki titandioksitin antimikrop etkilerini aynı pH'lardaki kalsiyum hidroksit ile karşılaştırmalı olarak incelemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

*Test materyalleri:* Çalışmada dört grup oluşturulmuştur.

TiO<sub>2</sub>\* + pH: 7 tampon madde\*\*\*

TiO<sub>2</sub> + pH: 10 çözeltisi\*\*\*\*

Ca(OH)<sub>2</sub>\*\* + pH: 7 tampon madde

Ca(OH)<sub>2</sub> + distile su

\* Merck 805 ekstra pure (saflığı %99)

\*\* GR Merck 2047 (saflığı % 96)

\*\*\* NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (sodyum primer fosfat-sodyum sekonder fosfat)

\*\*\*\* 10<sup>4</sup> Molarlık Na (OH) (sodyum hidroksit) çözeltisi.)

## Mikroorganizmalar

Staphylococcus epidemidis, Staphylococcus aureus (ATCC 6538), Pseudomonas fluorescens, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli (ATCC 8730), Streptococcus mitis (CCUG 7976), Streptococcus sobrinus (B13), Streptococcus mutans (KPSK 2), Peptostreptococcus sp., Lactobacillus sp., Actinomyces viscosus (CCUG 18310), Actinomyces naeslundii (CCUG 14476), Fusobacterium sp., Porphyromonas gingivalis, Bacteroides fragilis, Clostridium sporogenes ve Candida albicans (ATCC 10231).

Bu mikroorganizmalar ATCC: Amerikan Doğu ve Kültür Koleksiyonlarından, CCUG Göteborg Üniversitesi Kültür Koleksiyonlarından ve KPSK 2 ile B13 Lunds Üniversitesi Diş hekimliği Fakültesinden sağlanmış, diğerleri İ Ü Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Biriminde klinik örneklerden izole edilmiş suşlardır.

## Kültür ortamı

Areop ve fakültatif mikroorganizmaların kültürleri beyin kalp infüzyon buyyonunda, anaerop mikroorganizmaların kültürleri 5 mg/ml. maya ekstratı, 5 g/µl. hemin ve 0.1 g/µl. vitamin K1 eklenerek hazırlanan beyin-kalp infüzyonunda yapılmıştır.

Aeroplara için (S. epidermidis, S. aureus, P. fluorescens, K. pneumoniae, E. coli, C. albicans) Müller-Hinton Agar besiyeri; S. mitis, S. sobrinus, S. mutans için % 5 koyun kanlı jeloz besiyeri ve Lactobacillus sp. için Rogosa SL Agar besiyeri kullanılmıştır.

Anaerop mikroorganizmalar için CDC anaerop kanlı agar (maya ekstratı 5 g/l, hemin 5 µg/ml, vitamin K1 0,1 µg/ml. ve % 5 defibrine koyun kanlı jeloz ile zenginleştirilmiş trypticase soy agar) kullanılmıştır.

Streptokoklar ve laktobasil cinsinden bakteriler ve actinomycesler % 10 CO<sub>2</sub>'li ortamda, anaeroplara Gas Pak kavanozunda (Gas Generation Kit, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, England) %80 N<sub>2</sub>, % 10 CO<sub>2</sub> ve % 10 H<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir.

## Duyarlılık deneyi

Test materyallerinin antimikrop etkileri agar difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Suşların 10<sup>4</sup> cfu/ml'lik süspansiyonlarından 0,1 ml'si steril eküvyonlarla besiyerlerine yayılmıştır. Test materyalleri 2 g. toz ve 1 ml. likit karıştırılarak hazır-

lanmış ve 5 mm. çaplarında hazırlanarak mikroorganizma yayılan besiyeri yüzeylerine yerleştirilmiştir.

Test materyalleri çevresinde inhibisyon zonu oluşumu, duyarlılık işareti olarak kabul edilmiş ve yarıçap milimerik olarak ölçülmüştür.

## BULGULAR

Çalışmada kullanılan test materyallerinin toplam 17 mikroorganizma üzerine etkileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Ca(OH)<sub>2</sub> pH 7 grubunda K. pneumoniae (3.5 mm); E.coli, S. aureus, S.mitis, C. albicans (3 mm); B. fragilis (1.5 mm); S. epidermidis, Peptostreptococcus P. fluorescens, A. naeslundii ve A. viscosus (1 mm) ile inhibisyon zonları görüldükçe diğerlerinde zon görülmemiştir.

Ca(OH)<sub>2</sub> pH 10 grubunda ise S. aureus, S. mitis, C. albicans (3 mm); Peptostreptococcus ve P. fluorescens (2 mm); S. epidermidis, E.coli, S. mutans, S. sobrinus, A. naeslundii ve A. viscosus (1 mm), B. fragilis (0.5 mm) ile duyarlı iken diğerlerine karşı bir etki görülmemiştir.

Ca(OH)<sub>2</sub> patı pH:7 değerinde S. mutans ve S. sobrinus üzerine etkisiz olmasına karşın pH:10 değerinde 1'er mm'lik inhibisyon zonları oluşmuştur. Ca(OH)<sub>2</sub> patları her iki pH değerinde de Lactobacillus sp., Fusobacterium sp., P.gingivalis ve C. sporogenes üzerine etkisiz kalmıştır. Ca(OH)<sub>2</sub>'in pH:10 patında hiç zon oluşmamıştır. Ca(OH)<sub>2</sub> patının pH: 7 ve pH: 10 değerlerinde olması incelenen mikroorganizmalara antimikrop etkilerinde belirgin bir fark yaratmamıştır.

TiO<sub>2</sub> her iki pH grubunda da incelenen hiçbir mikroorganizma üzerine etkili bulunmamıştır.

## TARTIŞMA

Mikroorganizmalar genellikle nötr bir ortamda ürerler ve asit veya alkali değişimlere duyarlıdır. Örneğin uyarılmış karışık tükürüğün pH'sı 6.75-7.25 arasında olup mikroorganizma üremesi için ideal bir ortam oluşturur (22). Bazı bakteriler düşük pH'ları tolere edebilirler, örneğin sık sık şekerli diyet alındığında ağız ortamında pH düşmesi sonucu S. mutans ve lactobacillus türleri artar ve diş çürükleri ortaya çıkar (22). Buna

karşın, periodontal hastalıklarda konak iltihabı yanıtlarında subgingival bölgede pH daha alkale olur. Sağlıklı dişeti oluk sıvısı pH'sı 6.9 kabul edilmektedir. İltihaplı bölgelerde pH 8.5 olmaktadır. Bu değerler dişeti oluşu mikroflorasının değişmesine neden olmaktadır. Özellikle bu yüksek pH'lı ortam periodontopatojen mikroorganizmaların üremesi için idealdir (22). Bu düşüncelerden yola çıkarak TiO<sub>2</sub> ve Ca(OH)<sub>2</sub> pH 10'da hazırladığımız patlarının antimikrop etkileri araştırılmıştır.

Byström ve arkadaşlarına göre (3) Ca(OH)<sub>2</sub>'inde antibakteri etkisi hidrosil iyonu konsantrasyonuna bağlıdır. Kalsiyum hidroksit çözülme zamanı, Ca<sup>++</sup> ve OH<sup>-</sup> iyonlarına ayrılır. Bu araştırmacılar, kalsiyum hidroksitin çözünürlüğünün düşük olması

Tablo : 1 Farklı pH'lardaki TiO<sub>2</sub> ve Ca (OH)<sub>2</sub> patlarının antimikrop etkileri (mm: inhibisyon zonu yarı çapı)

Mikroorganizmalar	TiO <sub>2</sub> Patı (pH=7)	TiO <sub>2</sub> Patı (pH=10)	Ca(OH) <sub>2</sub> Patı (pH=7)	Ca(OH) <sub>2</sub> Patı (pH=10)
Staphylococcus epidermidis	-	-	1 mm	1 mm
S.aureus (ATCC 6538)	-	-	3 mm	3 mm
Pseudomonas fluorescens	-	-	1 mm	2 mm
Escherichia coli (ATCC 8730)	-	-	3 mm	1 mm
Klebsiella pneumoniae	-	-	3.5 mm	-
Streptococcus mitis (CCUG 7976)	-	-	3 mm	3 mm
Streptococcus mutans (KPSK 2)	-	-	-	1 mm
Streptococcus sobrinus (B13)	-	-	-	1 mm
Peptostreptococcus sp.	-	-	1 mm	2 mm
Lactobacillus sp.	-	-	-	-
Fusobacterium sp.	-	-	-	-
Porphyromonas gingivalis	-	-	-	-
Bacteroides fragilis	-	-	1.5 mm	0.5 mm
Clostridium sporogenes	-	-	-	-
Actinomyces naeslundii (CCUG 18310)	-	-	1 mm	1 mm
Actinomyces viscosus (CCUG 14476)	-	-	1 mm	1 mm
Candida albicans (ATCC 10231)	-	-	3 mm	3 mm

na rağmen, hidroksil iyon konsantrasyonlarının test yapılan bakterilerin çoğunu öldürmeye yeterli olduğunu belirtmişlerdir (3).

Gökay ve arkadaşları (13) saf kalsiyum hidroksitin sudaki solüsyonlarının anaeroplardan *Bacteroides fragilis*, *Prophyromonas gingivalis*, *Peptostreptococcus anaerobius* ve *Clostridium perfringens* üzerine 5,15,30 dakikalık sürelerle etkili olduğunu göstermişlerdir. Gençoğlu ve Külekçi (12) Calacept'in *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Fusobacterium nucleatum*'a 10 ve 15 dakikalık sürelerle etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Lactobacillus*, *Fusobacterium* türleri, *Porphyromonas gingivalis* ve *Clostridium sporogenes* suşlarında kalsiyum hidroksitin her iki pH'daki patı ile inhibisyon zonu oluşmamıştır. Bu durum yöntem farklılığına bağlanabilir.

Metallerin ve bileşimlerinin ağız bakterileri üzerine etkileri hakkında birçok araştırma yapılmıştır. Joshi ve Elley (20) titanyum implantların ağız mikroflorası üzerine in vitro etkisini diğer metal bileşiklerle karşılaştırdıkları çalışmalarında titanyumun bakteriler üzerine inhibitörü etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Bundy ve arkadaşları (2) ise titanyumun *Streptococcus mutans* üzerine antibakteri etkisi olduğunu saptamışlardır. Kaynar ve Külekçi (21) *Streptococcus mutans*'ın

sakkarozlu ortamda titanyum yüzeyine adezyonunun in vitro incelenmesinde, titanyum metalinin *Streptococcus mutans* üzerine antibakteri etkisi olmadığını ve üremeyi de stimüle etmediğini bildirmişlerdir. Elagli ve arkadaşları (9) *Streptococcus sanguis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Veillonella* türleri, *Neisseria mucosa*, *Lactobacillus* türleri, *Actinomyces israelii* ve *Fusobacterium nucleatum* üzerine titanyum tozlarının bakteristatik bir etkisinin olmadığı gibi üremeyi de stimüle etmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da stafilokoklar, streptokoklar, gram negatif çomaklar, actinomycesler, laktobasiller, anaerop gram pozitif kok ve çomaklar ile *Candida albicans*'dan oluşan 17 mikroorganizma suşu üzerine titanyumdioksitin farklı pH'larda hazırlanan patlarının antimikrop etkisi olmadığı saptanmıştır.

## SONUÇLAR

Çalışmanın bulgularından elde edilen sonuçlara göre  $TiO_2$  patı her iki pH'da da hazırlandığında hiç bir mikroorganizma üzerine etki göstermemiştir. pH: 7 ve pH: 10'da hazırlanan  $Ca(OH)_2$  patları *Lactobacillus* ve *Fusobacterium* türleri ile *P. gingivalis* ve *C. sporogenes* üzerine antimikrop etki göstermezken diğer mikroorganizmalara etkili oldukları saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

- 1- Anderson JO, Hjarting-Hansen E: Replantation of teet. I. Radiographic and clinical study of 110 human teeth replanted after accidental loss. *Acta Odontol Scand* 1966;24:263-83.
- 2- Bundy KJ, Butler MF, Hochman RF: An investigation of the bacteriostatic properties of pure metals. *J Biomedical Materials Res* 1980;14:653-63.
- 3- Byström A, Claesson R, Sundquist G: The antibacterial effect of camphorated prachlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:170.
- 4- Breme J and Wadewitz V: Comparison of titanium-tantalum and titanium-niobium alloys for application as dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1989;4:113-8.
- 5- Breme J: Titanium and titanium alloys, biomaterials of preference, Memories et Etudes Scientifiques. *Revue de Metallurgie* 1989; Octobre:625-38.
- 6- Concoran JF, Ellison RL, Zillich MR, Jeffrey LA, LaTurno SAL: Endodontics II. The University of Michigan Dental Publication 1986:p:24.
- 7- Dindar S, Erçağ E, Özbaş H, Turan F: Comparison of chemical stability of titanium dioxide and calcium hydroxide of European Society Endodontology, Sixth Biennial Congress, London, UK November 1993, Poster Presentation.
- 8- Elagli K, Hildebrand HF and Hamme G: Biocompatilite du titane et de ses alliages. *Chir Dent France* 1989;457:35-9.
- 9- Elagli K, Neut C, Romond C, Hildebrand HF: In vitro effects of titanium powder on oral bacteria, *Biomaterials* 1992;13:25-7.
- 10- Frank AL: Therapy for the divergent pulpless tooth by continued apical formation. *J Am Dent Assoc* 1966;72:87-93.
- 11- Frank AL: Resorptions, perforations and fractures. *Dent Clin North Am* 1974;18:465-87.
- 12- Gençoğlu N, Külekçi G: Antibacterial efficacy of root canal medicaments, *J Nihon Univ Sch Dentistry*, 1992;34:233-7.
- 13- Gökay N, Çalışkan MK, Kantarcı G, Eltem R: Kalsiyum hidroksit preparatlarının antibakteriyel etkileri, *EÜ Dışheş Fak Derg* 1992; 13:57-61.
- 14- Hermann BW: Dentinobliteration der wurzenkanale nach der behandlung mit calcium. *Zahnaerztl Rund* 1930;39:888-9.

15- Heithersay GS: Periapical repair following conservative endodontic therapy. *Aust Dent J* 1970;15:511-8.

16- Heimdahl A, Kondell PA, Nord CE, Nordenram A: Effects of insertion of osseointegrated prosthesis on the oral microflora. *Swedish Dent J* 1983:199-204.

17- Hardie JM: Dental and oral infection in: Duerden BI, Drasar BS, eds. Anaerobes in human disease, London, 1991:p.245-67.

18- Haapasalo M: Black-pigmented Gram-negative anaerobes in endodontic infections, *FEMS Immunol Med Microbiol* 1993;6:213-7.

19- Jacobson I, Kerekes K: Diagnosis and treatment of pulp necrosis in permanent anterior teeth with root fracture. *Scand J Dent Res* 1980;88:370-6.

20- Joshi RI, Eley A: The in vitro effect of a titanium implant on oral microflora: Comparison with other metallic compounds, *J Med Microbiol*, 1988;27:105-7.

21- Kaynar A, Külekçi G: Sterptococcus mutans'ın sakkarozlu ortamda titanium yüzeyine adhezyonunun in vitro incelenmesi, *İÜ Dişhek Fak Derg* 27:328-331.

22- Marsh P, Martin M: Oral Microbiology 3rd ed. Chapman & Hall, London, 1992:p.16-8.

23- Nygren JA: Rådgrioe angående bästa sättet att verda och bevåra tånternas friskhet, Stockholm, 1938.

24- Riley TV, Mee BJ: Susceptibility of Bacteriodes Spp. to heavy metals, *Antimicrobial Agent. Chemother.* 1982;p.889-92.

25- Simpson JP: The electrochemical behaviour of titanium and titanium alloys with respect to their use as surgical implant materials, in Biological and Biochemical Performance of Biomaterials (Eds P. Christel, A. Meunier and A.J.C. Lee) Elsevier Publishers BV. Amsterdam, The Netherlands 1986:63-8.

26- Tronstad I, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I: pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981;7:17-21.

27- Terence MG and Joel BA: Influence on pH level of two calcium hydroxide root canal sealers in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1986;61:624-8.

28- Zander HA: Reaction of the pulp to calcium hydroxide. *J Dent Res* 1939;18:373-9.

**Yazışma adresi:**

Doç Dr Seçkin Dindar  
İ Ü Diş Hekimliği Fak  
Endodonti Bilim Dalı  
34390 Çapa - İstanbul