

## PROTEZ PLAKLARINDAKİ CANDIDA ALBICANS AKTİVİTESİ ÜZERİNE ÇEŞİTLİ DEZENFEKTAN AJANLARIN ETKİLERİ

Dr. Hüseyin YAZICIOĞLU\*

Doç.Dr. Nilgün AYHAN\*\*

Prof.Dr.Aykut MISIRLIGİL\*\*\*

### IN VITRO STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THREE DISINFECTANTS ON THE GROWTH OF CANDIDA ALBICANS ON ACRYLIC RESIN SURFACES

#### SUMMARY

This study evaluated at the in vitro level the antifungal effectiveness of Endosporine, Betadine and Hibiscrub on the surface of acrylic resin disks. Hibiscrub (% 2 chlorhexidine digluconate) was found more effective in preventing Candida albicans growth on acrylic resin surfaces.

**Key Words:** Candida albicans activity, Disinfectants.

#### ÖZET

Protez plaklarındaki Candida albicans aktivitesi üzerine çeşitli dezenfektan ajanların etkilerini konu alan bu araştırmada, Endosporine, Betadine, Hibiscrub gibi üç dezenfektanın etkileri karşılaştırılmıştır. % 2'lik Chlorhexidine Digluconate içeren Hibiscrub diğer ajanlara nazaran en fazla etkili olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Candida albicans, Dezenfektan

#### GİRİŞ

Ağız mikroflorasına birçok faktörlerin nitelik ve nicelik yönünden etkinliği vardır. Yaş, beslenme ağız hijyeni, hastalık durumu, dişlerin çıkması, dişlerin eksilmesi, protez kullanımı<sup>8,9</sup> bu faktörler arasında başlıcalarıdır.

Ağıza yerleştirilen çeşitli protetik ve ortodontik tedavi materyalleri değişik mikroorganizmaların üzerinde yerleşmelerine uygun olan yapıtlardır.<sup>15,19</sup> Bu yapıtlardan protezler mekanik etkileri sonucu buldukları yerlerde doku zedelenmelerine neden olurlar.

Ayrıca protez kaide plakları ileri teknikle hazırlansalar bile artık monomer çıkardıklarından buldukları dokularda irritasyonlara neden olurlar. Her iki nedenle oluşan zedelenmiş dokulara yiyecek ve içeceklerle, ağız florasında olan mikroorganizmalar yerleşerek klinik sorunların oluşmasına yol açarlar.<sup>22</sup> Protez stomatiti oluştuğunda mevcut protezin kullanılma olanağı güçleşerek hastaya sıkıntı verecektir.

Protez stomatitinin oluşmasında değinilen nedenlerin yanında Candida'lar özellikle Candida albicans bir açıdan sorumlu tutulmaktadır.<sup>2,13</sup> Bu nedenden dolayı protez stomatitinin önlenmesi için Candida albicans'ı ortadan kaldıran protez temizleyici sistemlerin kullanılması gerekli ve önemli bir uygulamadır.<sup>6,17,12</sup>

Protezlerin temizlenmesinde genel olarak mekanik ve kimyasal olmak üzere iki yöntem uygulanmaktadır.<sup>5,9</sup> Mekanik temizleme yöntemleri mikrobiyolojik temizlikte pek yeterli olmadıklarından, kimyasal yöntemler daha çok tercih edilmektedir.<sup>6</sup>

Amacımız dezenfektan gruplara ait muhtelif solüsyonlardan olan Glutaral dehyde povidone iodine, Chlorhexidine Digluconate'nin protez kaide plakları üzerinde üretilen Candida albicans'm temizlenmesinde ne derece etkili olduğunu araştırmaktır.

#### MATERYAL VE METOD

Deney 20 mm x1 mm boyutlarında hazırlanmış daimi protez kaide maddelerine ait plaklarda gerçekleştirildi.

Bu plakların hazırlanması için pembe plak mumdan (modelling wax Detrey England) 40 adet 20 mm. boyutlarında örnek diskler hazırlandı. Bu mum örnekler toplamı 40 adet olmak üzere bilinen yöntemlerle ve üreticilerin önerilerine göre kaide maddesine (QC 20 De trey's England) dönüştürüldü. Hazırlanan bu disk plakların üzerinde hiç bir pürüz kalmayacak şekilde polisajları yapıldı. Polisajları yapılmış olan disk plaklar araştırmaya başlamadan önce bir beher içine konularak 121°C'de 1 atmosfer basıncında 15-20 dakika süre ile steril edildiler.

\* G.Ü.Dişhek. Fak. Protetik Diş Ted.Anabilim Dalı Öğr.Gör.

\*\* A.Ü.Dişhek. Fak. Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Öğr.Üyesi

\*\*\* A.Ü.Dişhek. Fak. Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı Öğr.Üyesi.

Sterilizasyondan sonra bu diskler deney başlangıcına kadar oda sıcaklığında distile suda muhafaza edildiler.

*Candida albicans*'ı inhibe edici özelliklerini araştırmak üzere kullanılan dezenfektanlar Ankara'da kimyevi maddeler satan çeşitli firmalardan temin edilmiş ve şu çözeltilerde kullanılmıştır.

- A. Endosporine: Glutaraldehyde % 2  
Peters Laboratories.  
Cedex-France
- B. Betadine : Povidone-iodine % 10  
Kansuk Laboratuvarı.  
Sefaköy-İstanbul
- C. Hibiscrub : Chlorhexidine  
Dıgluconate % 2  
Zeneca-Abdi İbrahim İlaç  
San.Vefa-İstanbul

Ankara Refik Saydam Hifzısıhha Enstitüsünden temin edilen RE 455 kodlu standart *C. albicans* suşu, steril şartlar altında mikrobiyoloji laboratuvarında açılarak % 1 pepton, % 5 maya özü ve % 2 glukoz içeren 10 ml'lik sıvı besiyerinde (PYG) üretildi.

Distile su içinde iki gün boyunca saklanan sıcak akril disklerden 30 tanesi dilue edilerek ml'de  $5 \times 10^6$  koloni içerdiği saptanan saf *C.albicans* kültürleri içine atılarak 24 saat 37 °C'lik etüvde inkübe edildiler.

Yukarıda belirtilen konsantrasyonlardaki solüsyonlar 10'ar ml. olarak ayrı ayrı tüplere konuldu. İnkübasyonları sonucu etüvden çıkartılan ve *C.albicans* ile kontamine olmaları sağlanmış olan standart boylardaki sıcak akril diskleri, herbir solüsyon için 10'ar ayrı numune olacak şekilde bu tüpler içine bırakıldılar. Kontamine edilmeyen disklerden 10 tanesi ise kontrol amacı ile distile su içeren tüpler içine atıldılar.

Tüpler 37°C'lik etüvde yeniden 24 saat inkübasyona bırakıldılar. İnkübasyon süreleri sonucunda her tüpten ayrı ayrı alınan 0.1 ml'lik solüsyon örnekleri ayrı ayrı steril pipetler kullanılarak steril petri plaklarına damlatıldılar. Üzerlerine 50°C sıcaklığındaki Sabouraud'un deskroz agarı (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA), 20 ml kadar konup rotasyon yapılarak materyalin plağın her yönüne yayılması sağlanır. Açar donduktan sonra ekimi yapılmış petri plakları inkübasyonları için yeniden etüve konuldu ve 37 °C'de 48 saat bırakıldılar. Bu süre sonunda etüvden çıkartılan plaklarda üreme olup olmaması kaydedildi ve üreyen koloniler "Quebec Colony Counter"de (American Optical Corp.Buffalo,N.Y., USA) usulüne uygun olarak sayıldı ve koloni sayımı "Colony Forming Units (CFU)", klasik formülüne uygun olarak gerçekleştirildi.<sup>1,16</sup>

## BULGULAR

Deney başlangıcında her plak üzerine inkübe edilen  $5 \times 10^6$  koloniden araştırılan dezenfektan solüsyonlar içinde bırakıldıktan sonra, Sabouraud'un deskroz agarına ekilen ve etüvden inkübasyonları sonucu sayımları gerçekleştirilen kalan *Candida albicans* miktarları koloni/ml. olarak Tablo I'de verilmiştir.

Elde edilen kolonisayım sonuçlarına göre istatistiki değerlendirme yapılmış ve bu değerlendirmede 3 solüsyon tipi arasında korelasyon anazili yapılmıştır. Ancak kontrol amacı ile ekimi yapılan ve kontamine edilmeyen akril disklerden alınan örneklerde diğerlerine göre çok az sayıda koloniler saptanmış ve istatistiki açıdan bir anlam taşımadığı için değerlendirmeye tabi tutulmamıştır.

Betadine, Endosporine ve Hibiscrub solüsyonlarında elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. Ancak bilimsel olarak etkinlikleri incelendiğinde, en etkin dezenfektan solüsyonunun Hibiscrub daha sonra Endosporine, en az etkili olan ise Betadine'nin olduğu saptandı.

Endosporine-Betadine  $r=0.15$ ,  $p>0.05$

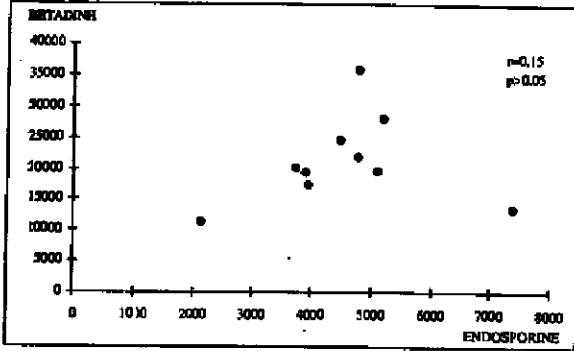
Betadine-Hibiscrub,  $r=0.43$   $p>0.05$

Endosporine-Hibiscrub,  $r=0.46$ ,  $p>0.05$

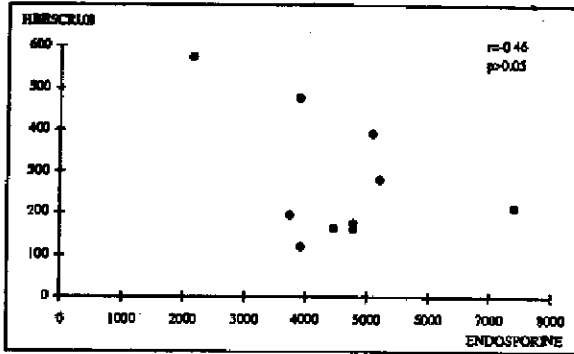
Bu grupların birbirleri arasındaki ilişkiyi gösteren saçılım Grafik 1,2,3'de sunulmaktadır.

Tablo I. Dezenfektanlarla muameleden sonra kalan *C.albicans* miktarı (Kol ml).

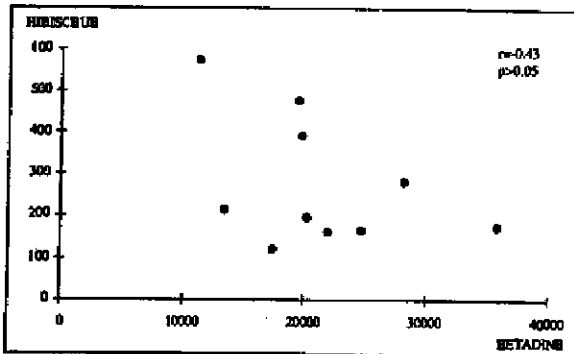
Dezenfektan Türü	Endosporine	Betadine	Hibiscrub
Plak 1	2150	11270	570
Plak 2	7400	13400	210
Plak 3	5090	19800	390
Plak 4	3940	17500	120
Plak 5	4800	22000	160
Plak 6	3750	20250	195
Plak 7	3900	19540	475
Plak 8	4480	24700	165
Plak 9	5200	28125	280
Plak 10	4790	36000	175
Grup Ortalaması $\bar{x}$	4550	21259	274
Standart Sapma $\pm$	1340	7138	153



Grafik 1. Endospirine ile Betadine arasındaki ilişkiyi gösteren saçılım.



Grafik 2. Endospirine ile Hibiscrub arasındaki ilişkiyi gösteren saçılım.



Grafik 3. Betadine ile Hibiscrub arasındaki ilişkiyi gösteren saçılım.

## TARTIŞMA

Protez kullanan hastaların büyük bir kısmında oluşan protez stomatitleri, protez travmasına bağlı olarak iyi temizlenemeyen ve herhangi bir ajanla iyi dezenfekte edilemeyen protezlerin kullanımına bağlı olarak oluşmakta, hastalara rahatsızlık vermekte hatta protezi kullanamama gibi bir durumla karşı karşıya bırakmaktadır.<sup>5,17</sup> Bu nedenle protezlerde yapılacak uygun bir temizleme yolu ile mikroorganizmalar akril kaideler üzerinden uzaklaştırılacak ve plak üzerinde yaşayan patojen bakteri kolonileri sayısında büyük bir düşüş görülecektir.

Protez temizleyici maddeler genellikle, Alkalin peroksitler, Alkalin hipokloritler, organik ve inorganik asitler, dezenfektanlar ve enzimler olarak 5 ayrı grupta toplanırlar.<sup>14</sup>

Herhangi bir dezenfektanla protez yüzeyinin temizlenmesindeki amaç, protez yüzeyindeki mikroorganizmaların elimine edilerek hastanın kullanımına hijyenik bir protez sunmaktır. Bu dezenfeksiyonu yaparken dezenfektan maddelerin protez üzerinde herhangi bir fiziksel, kimyasal veya mekanik değişikliğe yol açmaması gerekir.<sup>3</sup> Bazı dezenfektan maddeler gerek ısı ile polimerizasyon, gerek otopolimerizasyonla elde edilen kaide maddeleri üzerinde zararlı etkiler göstererek yüzey morfolojisini bozarlar. Bu nedenle bakteri popülasyonunun, özellikle patojenlerin eliminasyonu amacıyla kullanılan dezenfektanların seçiminin çok iyi yapılması gerekmektedir.<sup>4</sup> Örneğin formaldehitler kötü bir koku bırakarak cildi tahriş etmekte, iyodoflar ve sodyum hipokloridler ise kaide materyalinin renginin değişmesine ve lekelenmesine neden olmaktadır. % 5'lik fenol solüsyonu içine bırakılan protezlerin kaide maddeleri üzerinde de yumuşama şeklinde bozukluklar oluşmaktadır.

Glutaraldehitler ise bilhassa yumuşak astar materyalleri üzerinde ve guttaperchaların dezenfeksiyonunda etkili olmakla beraber uzun süreli muamelelerden sonra kaide materyali üzerinde asitli bir yüzey oluşturmaktadır.<sup>18</sup>

Biz çalışmamızda, kullandığımız dezenfektan maddelerin, protez kaide plağı üzerinde sık görülen ve popülasyonu çok olan *C.albicans*'lara etkinliğini araştırdık. Karşılaştığımız dezenfektan maddeler içinde en etkili olarak % 2'lik Chlorhexidin içeren Hibiscrub'u bulduk. Daha sonra glutaraldehidi % 2 içeren endospirine'i en az etkin olarakta iodine'i % 10 içeren Betadin'i bulduk.

Spicchowicz ve arkadaşları,<sup>20</sup> C.albicans üzerinde yaptıkları araştırmada Chlorhexidine'in diğer kullanılan dezenfektanlara göre daha kısa sürede ve etkili olduğunu bulmuşlardır. Türköz ve arkadaşları,<sup>21</sup> yaptıkları benzer çalışmada test edilen dezenfektanlar içinde en etkilisinin Chlorhexidine glukonat olduğunu saptamışlardır. Bütün bu çalışmalar bizim sonuçlarımızı destekler mahiyettedir.

Henderson ve arkadaşları,<sup>11</sup> protez kaide materyalleri dezenfeksiyonunu inceledikleri bir araştırmada % 2'lik glutaraldehid içeren sporisin ve % 5, 25'lik sodyum hipocloride göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmamızda kullandığımız % 2'lik glutaraldehit içeren endosporin, etkinlik dereceleri bakımından ikinci sırayı almaktadır.

Diğer test edilen dezenfektanlara nazaran araştırmamızda saptanan Chlorhexidin diglucanete'in yüksek Candida albicans aktivitesini inhibe edici özelliği; chlorhexidinin akrilik kaide materyalleri yüzeyine bağlanması ve böylelikle C.albicans hücrelerinin akrilik kaide plağı yüzeyindeki çizikler ve çukurlar içinde üremesine engel olması ile uzun süreli fungusidal aktivite göstermesine bağlıdır.

#### KAYNAKLAR

1. Akman M. Plak yöntemi ile jerm sayımı konusunda önerilen bazı kurallar. Mikrobiyol Bül 1974; 8 (1): 87-96.
2. Anderson JN. Applied Dental Materials 5 ed. Blackwell scientific Pub Ltd London 1976: 191-9.
3. Asad T, Watkinson AC, Huggett R. The effect of disinfection procedures on flexural properties of denture base acrylic resins. J Prosthet Dent 1992; 68: 191-5.
4. Assery M, Sugrue PC, Graser GN, Hiscenberg AD. Control of microbial contamination with commercially available cleaning solutions. J Prosthet Dent 1997; 67: 275-7.
5. Bell JA, Brockmann SI., Sackovich DA. The effectiveness of two disinfectants on denture base acrylic resin with an organic load. J Prosthet Dent 1989; 61: 580-3.
6. Budtz J, Orgensen E. Materials and methods for cleaning dentures. J Prosthet Dent 1979; 42(6): 619-23.
7. Chamberlain BB, Bernier SH, Bloem TS, Razzoog MH. Denture plaque control and influenza in the edentulous patient. J Prosthet Dent 1985; 54(1): 78-80.
8. Davenport JC. The oral distribution of Candida in denture stomatitis. Br Dent J 1970; 129: 151-6.
9. Douglas WH, Walker DM. Nystatin in denture liners an alternative treatment to denture stomatitis. Br Dent J 1973; 135: 55-8.
10. Giwinnet AJ, Caputo J. The effectiveness microscope study. J Prosthet Dent 1983; 50(1): 20-5.
11. Henderson CW, Schwartz RS, Herbold ET, Muihew RB. Evaluation of the barrier system, an infection control system for the dental laboratory. J Prosthet Dent 1987; 58(4):517-21.
12. Laubert JP, Koldstad R. Effect of benzoic acid-detergent germicide on denture-borne Candida albicans. J Prosthet Dent 1986; 55(6): 699-700.
13. Mocan A, Yumul C, Çölök G, Mısırlıgil A. Protez stomatitlerinde klinik ve mikrobiyolojik araştırma. A Ü Diş Hek Fak Derg 1980; 7: 21-25.
14. Moore TC, Smith DE, Kenny GF. Sanitization of dentures by several denture hygiene methods. J Prosthet Dent 1984; 52(2): 158-63.
15. Nolte WA. Oral microbiology. 3rd ed. CV Mosby Co St Louis, 1978: 610-11.
16. Payzın S, Özsan K, Ekmen H, Fişek N. Sağlık hizmetlerinde mikrobiyoloji. I. Genel Mikrobiyoloji A Ü Tıp Fak Yayınları 1965, No: 153, A Ü Basımevi, Ankara 1965: 62-70.
17. Santarpia RP, Renner RP, Pollok JJ, Giwinnet AJ. Model system for the invitro testing of a synthetic histidine peptide against candida species grown directly on the denture surface of patients with denture stomatitis. J Prosthet Dent 1988; 60(1): 62-70.
18. Shen C, Javid NS, Colarizzi PA. The effect of glutaraldehyde base disinfectants on denture base resins. J Prosthet Dent 1989; 61: 583-9.
19. Shkda JL, Mazzerella MA. Salivary microbial changes as a result of full mouth extraction. Dental Research Facility, Illinois 1960.
20. Spicchowicz E, Santarpia RP, Pollack JJ, Robert PR. In vitro study on the inhibiting effect of different agents on the growth of candida albicans on acrylic resin surfaces. Quintess Int 1990; 21: 35-40.
21. Türköz Y, Karaağaçoğlu L, Mısırlıgil A. Muhtelif kimyasal protez temizleyici maddelerin protez plaklarındaki Candida albicans aktivitesine etkileri. A Ü Diş Hek Fak Derg 1988; 15(1): 47-52.
22. Yumul Ç, Yavuzalmaz H, Hakkıdener Y, Hasanreisioğlu U, Can G, Mısırlıgil A. Total protezlerin uygulanma öncesi ve uygulanma sonrası ağız mikroflorasının aerob değerlendirilmesi. A Ü Diş Hek Fak Derg 1981; 8(1): 13-7.