

## ПРОЦЕНКА НА АНТИБАКТЕРИСКАТА АКТИВНОСТ НА ДВА ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ И ДВА ДЕНТИН АДХЕЗИВИ

Ренцова В., Апостолска С.

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ - Скопје, Клиника за болести на забите и ендодонтот

*Цел на ова истражување е да се одреди антибактерискиот ефект на четири различни реставрациони материјали, аплицирани директно на Петриеве плочи со засадени колонии на *Lactobacillus acidophilus*, како и влијанието на денитноста на нивниот антибактериски ефект. За првиот дел од истражувањето два ГЈЦ (Fuji IX и Fuji Lining LC) и два адхезивни системи (Prime&Bond и Unifil Bond), ги аплициравме на Петриеве плочи засадени со *Lactobacillus acidophilus*. За вториот дел од истражувањето реставрационите материјали ги аплициравме преку денитински дискови со дебелина од 0,5 мм. Антибактерискиот ефект го одредувавме со мерење на зоната на инхибиција на растот на микроорганизми околу материјалот.*

*Резултатите кои ги добивме покажуваат дека сите истражувани материјали имаат антибактериско дејствување при директен контакт со *Lactobacillus acidophilus*. ГЈЦ Fuji IX и Fuji Lining LC покажаа подобар антибактериски ефект во споредба со денитин адхезивите. При индиректна апликација ниеден од материјалите не продуцираше зона на инхибиција.*

**Клучни зборови:** антибактериски, глас-јономер цементни, денитин адхезиви

Развојот на науката и на техниката води кон производство на нови композитни адхезивни системи, со кои се овозможува изработка на естетски реставрации со сила на врзување за дентинот поголема од 20 МПа

мерено *in vitro*. Еден од главните недостатоци на овие материјали е појавата на контракција при полимеризација, што е една од основните причини за формирање на микропукнатина меѓу кавитетот и полнењето. Присуството на микропукнатина претставува предилекционо место за колонизација на микроорганизми од саливата, што понатаму може да резултира со појава на секундарен кариес и инфламација на пулпното ткиво. Друг извор на бактерии е некомплетното отстранување на кариозните маси. *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus acidophilus* се главните микроорганизми, кои се одговорни за појавата, како на примарниот, така и на секундарниот кариес. Присуството или отсуството на бактерии по отстранувањето на кариозните маси објективно не може да се детерминира. Кариес маркерите како објективен метод за одредување на присуството на кариозните маси не го рефлектира и статусот на преостанатите микроорганизми во дентинот (3). Истражувањата на Anderson (1) и на List (12) укажуваат на тоа дека подлабоките слоеви од кавитетот, и покрај контролата со кариес маркери, сè уште содржат живи микроорганизми.

Имајќи го предвид претходно кажаното, направени се повеќе обиди да се произведе реставрационен материјал, кој ќе има и антибактериски ефект.

Централно место во кариес превентивната програма секако имаат флуоридите, било преку топикална апликација, било

преку нивното ослободување од денталните материјали. Инкорпорирањето на флуорот во денталните материјали е еден од начините да се влијае на растот и на развојот на микроорганизмите (6,10). Антибактерискиот ефект на глас-јономер цементите, е испитуван во повеќе *in vitro* студии и добиени се позитивни резултати (7, 8, 20). Покрај флуоридите сè почесто се спомнуваат и адхезиви кои не содржат флуор, а поседуваат антибактериски ефект (14). Според Imazato и сор. (9), самите мономери преку нискиот рН или, пак, преку адиција на антибактериските групи можат да продуцираат антибактериски ефект. Некои од комерцијалните *self etching* прајмери имаат рН вредности кои се доволно ниски за да го растворот денталниот супстрат и да ги уништат или да ги инактивираат преостанатите микроорганизми (5).

Со цел да се делува на преостанатите микроорганизми во дентинските тубули, од реставрационите материјали се очекува да имаат антибактериско делување не само на контактната површина, туку и во подлабоките слоеви на дентинот.

Имајќи го предвид претходно кажаното, цел на ова наше истражување беше да го испитаме влијанието на четири различни реставрациони материјали врз растот и развојот на *Lactobacillus acidophilus*, аплицирани директно и да го испитаме влијанието на дентинот врз нивното антибактериско дејствување.

## Материјал и метод

Директното влијание на испитуваните материјали врз растот и развојот на кариогените бактерии *Lactobacillus acidophilus* го одредуваеме со примена на агар-дифузионот метод. Бактериските соеви беа инокулирани во 3 мл декстрога бујон и инкубирани во текот на ноќта на температура од 37°C. Бактериските клетки беа ресуспендирани во физиолошки раствор до заматеност од 0,5 McFarland ( $10^8$  cfu/ml) мерени со спетрофотометар. Петриеви плочи со 13 мл крвен агар

беа инокулирани со 0,05 мл од микробиолошката суспензија и размачкани со стерилен инструмент, со цел да се добие конфлуентен раст.

На стерилни дискови од филтер хартија со дијаметар од 5 мм аплициравме по една капка од Prime&Bond (Dentsply De Trey) и Unifil bond (GC, Tokio, Japan) и ги поставивме на Петриеви плочи со инокулирани соеви на *L. acidophilus*. Глас-јономер цементите Fuji Lining LC (GC, Tokio, Japan) и Fuji IX (GC, Tokio, Japan), со оглед на нивната конзистенција, ги аплициравме директно на плочите. Зоната на инхибиција продуцирана околу материјалот ја меревме по инкубација од 48 часа.

За да испитаме какво е влијанието на дентинот врз антибактерискиот ефект на испитуваните материјали подготвивме дентински дискови од моларни заби. Со дијамантски борер, под водено ладење, исековме дентински дискови со дебелина од 0,5 мм и дијаметар од 5 мм. За отстранување на размачканиот слој од површината на дисковите користевме 15% EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid). Потоа примероците ги испиравме со физиолошки раствор и ги стерилизиравме во автоклав (121°C за 25 минути). На еден од нив аплициравме Fuji IX, на вториот Fuji Lining LC, на третиот Prime&Bond, а на четвртиот Unifil Bond. Вака подготвените примероци, со страната на која го аплициравме денталниот материјал, ги ставивме на Петриеви плочи инокулирани со кариогени микроорганизми и ги инкубиривме на температура од 37°C за период од 48 часа. При апликацијата на материјалот се раководеме според препораките на производителот.

Третиот дел од испитувањето го направивме само кај оние дентални материјали, кои покажаа антибактериско делување. Со цел да го испитаме бактерицидниот ефект на адхезивното средство врз преостанатите микроорганизми во дентинските тубули на дентински дискови, подготвени на претходно опишаниот начин, го аплициравме материјалот кој покажал антибактериско делување. Вака подготвените дентински дискови со страната спротивна од онаа на која го

аплициравме денталниот материјал ги ставивме во Петриеви садови, инокулирани со кариогени микроорганизми на температура од 37°C за период од 48 часа.

Микробиолошките испитувања, како и проценката на зоната на инхибиција околу денталните материјали, беа направени на Институтот за микробиологија и паразитологија при Медицинскиот факултет во Скопје.

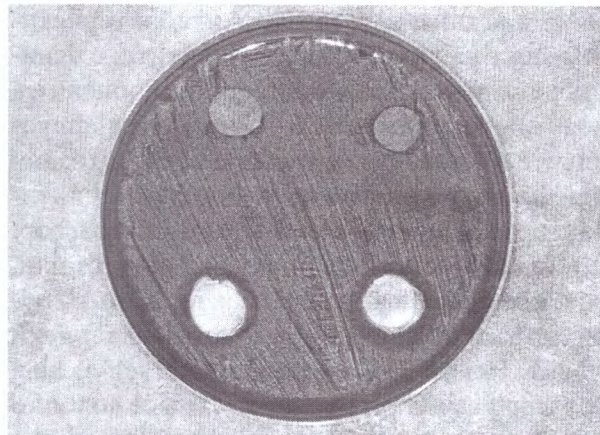
## Резултати

Резултатите од агар дифузиониот тест покажаа дека три од испитуваните дентални материјали имаат антибактериско делување на испитуваниот сој на микроорганизми (слика 1). При директна апликација на испитуваните материјали на инокулирани Петриеви плочи, за Fuji IX и Fuji Lining LC беше измерена зона на инхибиција од 9 мм, 6 мм за Unifil bond, додека Prime & Bond не продуцираше зона на инхибиција за испитуваниот сој на микроорганизми (табела 1).

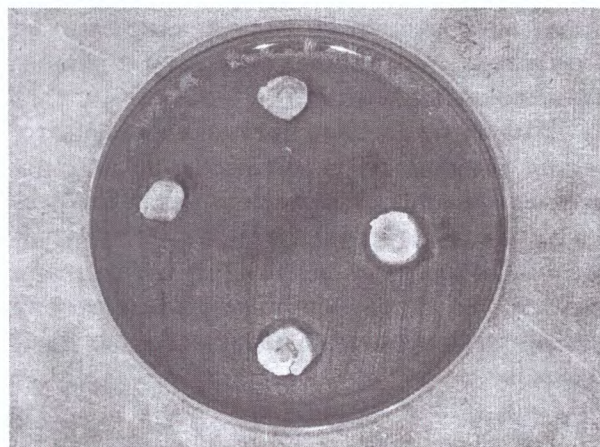
Резултатите кои ги добивме кај вториот дел од испитувањето укажуваат на незначително намалување на зоната на инхибиција кај трите испитувани примероци (слика 2). Зоната на инхибиција измерена кај Fuji IX и Fuji Lining LC изнесуваше 8 мм, кај Unifil Bond 5,5 мм (табела 1).

Кај третиот дел од испитувањето ниеден од испитуваните материјали не покажа фор-

мирање на зона на инхибиција за испитуваниот сој на кариогени микроорганизми (табела 1).



**Слика 1.** Макроскопски изглед на зоната на инхибиција при директна апликација на денталните материјали врз Петриеви плочи, инокулирани со *Lactobacillus acidophilus*



**Слика 2.** Макроскопски изглед на зоната на инхибиција по апликацијата на дентални материјали на дентински дискови, а потоа поставени со страната на која е аплициран материјалот врз инокулирани Петриеви плочи

**ТАБЕЛА 1.** ДИЈАМЕТАР НА ЗОНАТА НА ИНХИБИЦИЈА (ВО МИЛИМЕТРИ) ВО ЗАВИСНОСТ ОД НАЧИНОТ НА АПЛИКАЦИЈА НА ДЕНТАЛНИОТ МАТЕРИЈАЛ

	Директна апликација	По апликација на дентин	Индицирно преку дентин
Fuji IX	9	8	0
Fuji Lining LC	9	8	0
Prime & Bond	0	0	0
Unifil Bond	6	5,5	0

## Дискусија

Денес со сигурност се знае дека еден од главните етиолошки фактори за појава и развој на кариесот се микроорганизмите и тоа *S mutans*, *S sobrinus* и *Lactobacillus acidophilus*.

Отстранувањето на кариозниот дентин обично е субјективно и, главно, се базира на конзистенцијата и бојата на дентинот.

Според Kidd и сор. (11), овие едноставни критериуми во голем процент корелираат со микробиолошките наоди. Тие сметаат дека и дисколорираниот и необоениот дентин содржат мало количество од микроорганизмите, што може да се оцени како минимално инфективна.

Сепак, овие оптички и тактилни наоди не се соодветен критериум за оценка на присуството или на отсуството на бактерии во кавитетот.

Оттука, се јавува потреба од аплицирање на реставрационен материјал, кој ќе има бактерицидно влијание на преостанатите микроорганизми.

Примената на материјали кои содржат и ослободуваат флуор, аплицирани директно на дентинот, можат да имаат влијание, како на микроорганизмите кои доаѓаат од плунката, така и на преостанатите бактерии во дентинските тубули (8).

Добиените резултати од ова наше истражување покажуваат дека три од испитуваните материјали имаат одреден антибактериски потенцијал, аплицирани директно на инокулирани Петриеви плочи. Единствено кај Prime & Bond не беше забележано формирање на зона на инхибиција на растот на *L acidophilus*, што е во согласност со резултатите прикажани од Shmalz и сор. (18).

ГЈЦ Fuji Lining LC и Fuji IX продуцираа поголема зона на инхибиција, споредено со Unifil Bond.

Woesch и сор. (2) во своето *in vitro* истражување дошле до заклучок дека и двата испитувани ГЈЦ (едниот смолесто модифициран, а другиот конвенционален) предизвикуваат значителна редукција на растот и развојот на кариогени микроорганизми, додека композитниот материјал, и покрај присуството на флуор, не покажува антибактериски ефект. Ова најверојатно се должи на фактот дека ГЈЦ ослободуваат поголемо количество флуориди од композитните материјали, особено за време на врзувањето на материјалот.

Shmalz и сор. (18) го испитувале инхибиторниот ефект на Prime & Bond врз растот на *S mutans*, *L acidophilus* и *S sobrinus* и забележале антибактериска активност на овој адхезив единствено кон *S sobrinus*.

Loyola-Rodriguez (13) дошле до заклучок дека *S sobrinus* е почувствителен на инхибиторната активност на флуоридите, ослободени од реставрациониот материјал, за разлика од другите кариогени микроорганизми.

Истражувањата на повеќе автори говорат дека полимеризацијата на реставрационите материјали, исто така, има влијание на нивниот антибактериски ефект (4, 18). Botelho и сор. (4) дошле до заклучок дека Fuji IX не покажува антибактериска активност, испитуван со агар дифузиониот метод кога се аплицира во врзана состојба.

Во нашето испитување Unifil Bond покажа подобра антибактериска активност споредено со Prime & Bond и покрај присуството на флуор во неговиот состав.

Според Imazato и сор. (9), самите мономери преку нискиот рН или, пак, преку адиција на антибактериски групи, можат да продуцираат антибактериски ефект. Некои од комерцијалните self etching прајмери имаат рН вредности доволно ниски за да го растворот денталниот супстрат и да ги уништат или да ги инактивираат преостанатите микроорганизми.

Според Meiers и Miller (15), инхибиторниот ефект на смолесто модифицираниот глас-јономер цемент е резултат не само на ослободениот флуор, туку и на нискиот рН при врзување на материјалот и во некои случаи може да биде и поголем во споредба со инхибиторниот ефект на конвенционалниот ГЈЦ.

Друг фактор кој може да влијае на антибактерискиот ефект на реставрационите материјали е и дентинот. Имено, дентинот делува како бариера која го спречува навлегувањето на супстанците од кавитетот кон пулпата, а во некои случаи и да ги инактивира антибактериските супстанции (17). Според некои автори, по аплицирањето, откако ќе се импрегнира во подлабоките слоеви од ден-

тинот, прајмерот се раствора, а со тоа неговиот антибактериски ефект се намалува (9).

Исто така, дентинот може да делува како пуфер, кој може да го намали рН ефектот на материјалот (19). Во нашето истражување не забележавме значителна разлика во зоната на инхибиција меѓу материјалите аплицирани директно на Петриевите плочи и оние кои претходно беа аплицирани на дентински дискови, што говори дека самата апликација на материјалот на дентин нема значително влијание на неговата антибактериска активност. Она што е значајно е дека кај сите испитувани материјали аплицирани индиректно, преку дентин со дебелина од 0,5 мм не се создаде зона на инхибиција за испитуваните соеви на микроорганизми. Резултатите кои ги добивме се во согласност со резултатите прикажани од Schmalz и сор. (18) Истите автори во своето *in vitro* истражување покажуваат дека дентинот со дебелина од 200  $\mu\text{m}$  ја редуира зоната на инхибиција за повеќе од 60%, додека дентинските дискови со дебелина од 500  $\mu\text{m}$  целосно го спречуваат антибактериското влијание на адхезивните системи. Сепак, битно е да се каже дека навлегувањето на адхезивните средства преку дентинот во голема мерка ќе зависи и од вискозноста на супстанцата.

Во ова наше истражување го испитувавме антибактерискиот ефект на денталните материјали непосредно по нивното замешување, во неполимеризирана состојба. Останува да се испита какво ќе биде антибактериското делување на овие материјали во *in vivo* услови, по нивното врзување или полимеризацијата.

## ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF TWO GLASS-IONOMER CEMENTS AND TWO DENTIN BONDING AGENTS

Renzova V., Apostolska S.

### Summary

The aim of this study was to test the antibacterial effect of Fuji IX, Fuji Lining LC, Prime&Bond and Unifil Bond against *Lactobacillus Acidophilus* using agar diffusion method with and without dentin disks (0,5mm thickness) placed between the bacteria and the dental material. Without dentin disks all tested materials showed growth inhibition for *L Acidophilus*. Glass ionomer cements Fuji IX and Fuji Lining LC showed better antibacterial effect compared with dentin bonding agents Prime&Bond and Unifil Bond. In our research dentin disks at 0,5 thickness, completely reduced the growth inhibitory effect of all tested materials compared with direct application.

**Key words:** Antibacterial, Glass ionomer cements, Dentin bonding agents

### Литература

1. Anderson Mh., Loeshe WJ., Charbeneau GT. Bacteriologic study of a basic fuchsin caries-disclosing dye. *Journal of Prosthetic Dentistry* 1985; 54:51-55
2. Boeckh C., Schumacher E., Podbielski A., Haller B. Antibacterial Activity of Restorative Dental Biomaterials *in vitro*. *Caries Res* 2002;36:101-107

3. Boston DW, Graver HT(1989). Histological study of an acid red caries- disclosing dye. *Operative dentistry* 14:186-192
4. Botelho MG. Inhibitory Effects on selected Oral Bacteria of Antibacterial Agents Incorporated in a Glass Ionomer Cement. *Caries Res* 2003;37:108-114
5. Cehreli ZC. Antimicrobial Properties of Self-Etching Primer-Bonding Systems. *Operative Dentistry*, 2003,28-2,143-148
6. Dijkman G, Arends J. Secondary caries in situ around fluoride releasing light-curing composites: A quantitative model investigation on four materials with a fluoride content between 0 and 26 vol%. *Caries Res* 1992;26:351-357
7. Duque C., Negrini TC., Hebling J., Spolidorio DMP. Inhibitory Activity of Glass-Ionomer Cements on Cariogenic Bacteria. *Operative Dentistry*, 2005,30-5,636-640
8. Herrera M., Castilo A., Bravo M., Liebana J., Carrion P. Antibacterial Activity of Resin-Adhesives, Glass Ionomer And Resin-Modified Glass Ionomer Cements with Dentin Caries Samples. *Operative Dentistry*,2000,25,256-269
9. Imazato S., Ebisu S., Tarumi H., Kinomoto Y., Takeshige F. Development of antibacterial adhesive system: efficacy of new self-etching primer containing antibacterial monomer. *Advanced Adhesive Dentistry 3<sup>rd</sup> International Kuraray Symposium December 1999*
10. John Hicks, DDS, MS, PhD, Md; Franklin Garcia-Godoy, DDS, MS; Kevin Donly, DDS, MS; and Catherine Flait, DDS, MS. Fluoride-Releasing Restorative Materials and Secondary Caries. *Journal of the California Dental Association*(2003)
11. Kidd EAM, Ricketts DNJ, Beighton D (1996). Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical and microbiological study. *British Dental Journal* 180:287-291.
12. List G, Lommel TJ., Tilk M., Murdoch Hg. Use of a dye in caries identification. *Quintessence International*(1987);18:343-345
13. Loyola-Rodriguez JP, Garcia Godoy F. Antibacterial activity of fluoride release sealants on mutans streptococci. *J Clin Pediatr Dent* 1996; 20:109-11
14. Manuel Toledano, Raquel Osorio. Surface characteristic and bacterial attachment on resin based dental materials. *Advanced Adhesive Dentistry, 3<sup>rd</sup> International Kuraray Symposium, 3-4 December 1999 Granada*
15. Meiers JO&Miller GA(1996) Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers and polyacid-modified composite resins. *Operative Dentistry*21(6)257-264
16. MLG Pin, RCC Abdo, MAAM Machado, SMB da Silva, A Pavarini, SN Marta. In Vitro Evaluation of the Cariostatic Action of Esthetic Restorative Materials in Bovine Teeth Under Severe Cariogenic Challenge. *Operative Dentistry*, 2005,30-3,368-375
17. Portenier I., Haapasalo H., Ostavik D., Yamauchi M., Haapasalo M., Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide an chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat- killed microbial whole cells. *J Endodon* 1996;2002:28:634-7
18. Schmalz G., Ergucu Z., Hiller K. A. Effect of Dentin on the Antibacterial Activity of Dentin Bonding Agents. *Journal of Endodontics* vol.30, No.5, May 2004
19. Schmalz G., Schuster U., Koch A., Schweikl H. Cytotoxicity of low pH dentin bonding agents in a dentin barrier test in vitro. *J Endodon* 2002;28:188-92
20. Vermeersch G., Leloup G., Delmee M., Vreven J. Antibacterial activity of glass-ionomer cements and resin composites: relationship between acidity and material setting phase. *Journal of Oral Rehabilitation* Vol 32; Issue 5, Page 368, May 2005