

## YUMUŞAK KAİDE MATERYALLERİNE CANDIDA ALBICANS'IN YAPIŞMASININ İNCELENMESİ\*

Doç. Dr. Nuran YANIKOĞLU\*\*

Yrd. Doç. Dr. Esin AKTAŞ\*\*\*

Doç. Dr. Zeynep YEŞİL DUYMUŞ\*\*

Yrd. Doç. Dr. Saip DENİZÖĞLU\*\*

Prof. Dr. Ahmet AYYILDIZ\*\*\*

### EVALUATION OF CANDIDA ALBICANS ADHERENCE TO SOFT DENTURE- LINING MATERIALS

#### ÖZET

Bu çalışma, dört değişik marka yumuşak kaide materyaline *Candida albicans*'ın yapışmasının tespit edilmesi amacıyla yapıldı.

Yumuşak kaide materyallerinin her birinden 10'ar örnek, üretici firma önerilerine uygun olarak, düzgün yüzeyli ve üniform boyutlarda hazırlandı. Yeast nitrojen base medium besiyerine yerleştirildi. Yapışan *Candida* miktarı BCA protein analiz ayırıcı yöntemi kullanılarak değerlendirildi.

Verilerin değerlendirilmesinde, varyans analizi kullanıldı. Yumuşak akrilik türünün çok önemli ( $p < 0.001$ ) olduğu istatistiksel olarak saptandı. En az yapışmanın Ufi Gel P'de olduğu görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Yumuşak kaide maddeleri, *Candida albicans*.

#### ABSTRACT

In the study, the adherence of *Candida albicans* to four commercial soft denture- lining materials was studied in vitro BCA protein assay reagent.

Samples of four commercial soft denture lining materials were processed according to the manufacturer's instructions and each of them ten samples were prepared to uniform size with smooth surfaces and samples were immersed in yeast nitrogen base medium. The amount of adherence *Candida albicans* was evaluated with BCA protein assay reagent.

In the evaluation of data obtained, variance analysis method was used. Type of soft denture lining materials were found to be significant statistically ( $p < 0.001$ ). The adherence of *Candida albicans* was found less in Ufi Gel P.

**Key Words:** Soft denture- lining materials, *Candida albicans*.

#### GİRİŞ

Yumuşak astar maddeleri, esneklik ve yumuşaklıkları nedeniyle, tam ve bölümlü protezlerde, sert protez kaide maddelerinin mukoza ve destek dokular üzerindeki olumsuz etkilerini önlemek veya en aza indirmek amacı ile kullanılmaktadırlar. Bu maddeler ayrıca, diş hekimliğinin diğer dallarında da (periodontoloji, ortodonti, cerrahi gibi) çeşitli şine ve plakların hazırlanmasında, yapay dişeti yapımında (özellikle çene-

yüz protezlerinde), obtüratör ve epitezlerin hazırlanmasında geniş uygulama alanı bulmaktadırlar.<sup>1,2</sup>

Yumuşak astar maddelerinin en büyük dezavantajı ise temiz tutulmalarındaki güçlüğüdür. Bu maddelerin etkin temizliği, sadece kozmetik ve sosyal sebeplerden dolayı değil,<sup>3</sup> aynı zamanda ve daha önemlisi protez stomatitinde lokal etyolojik faktör olan mikroorganizma gelişimi için uygun çevre yaratmalarından dolayı gereklidir.<sup>3,4</sup>

\*: 9. Uluslararası Diş Hekimliği Kongresi, 18-22 Haziran 2002, İzmir, Poster Olarak Sunuldu

\*\* : Atatürk Üniv Diş Hekimliği Fakültesi, Protetik Diş Tedavisi A.B.D., Öğretim üyesi

\*\*\*: Atatürk Üniv Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji A.B.D., Öğretim üyesi

Protez stomatiti, protezin oturduğu mukozada mikrobiyal faktörlerin özellikle de *Candida albicans* ve benzer *Candida* türlerinin neden olduğu eritamatöz patojenik bir durumdur.<sup>5-8</sup> *Candida* türlerinin esas birikim yeri üst total protezlerin doku yüzeyidir.<sup>9</sup> Konak hücrelere ya da inert yüzeylere kolonizasyon, *Candida albicans* yapışması için önemli bir ilk adım olarak tanımlanır. Bu yüzeyler, daha sonra patogenezin başlangıç yeri olacaktır.<sup>10</sup> *Candida albicans*, yumuşak kaide maddeleri üzerinde kolaylıkla kolonize olarak ciddi enfeksiyonlar oluşturduğu tespit edilmiştir.<sup>11</sup>

Bu çalışma, dört değişik marka yumuşak kaide materyaline *Candida albicans* yapışmasının değerlendirilmesi amacıyla yapıldı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, Tablo I' de gösterilen 4 değişik marka yumuşak kaide materyali kullanıldı. Mollosil Plus, Ufi gel P ve Fixo-gel'in her birinden 10 örnek olacak şekilde 30 örnek, 15 mm. çapında 1.5 mm. kalınlığında paslanmaz çelik kalıp kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. Örnek yüzeylerinin düzgün olması amacıyla, çelik kalıbın alt ve üst kısmına cam levhalar koyuldu. Molloplast B ise, çelik kalıptan elde edilen 10 adet mum örneğin muflaya alınarak ısı ile polimerize edilmesiyle hazırlandı. Dört yumuşak kaide materyalinden toplam 40 örnek elde edildi.

Tablo I. Çalışmada kullanılan yumuşak kaide maddeleri.

Materyal	Özelliği	Üretici Firma
Molloplast B	Silicone-based heat-curing	Detax GmbH( Co. KG Postfach 100225. 76256 Ettlingen- Germany
Ufi Gel P	Silicone-based cold-curing	Veco, Cuxhaven. postfach 767, Germany
Mollosil Plus	Silicone-based cold-curing	Detax GmbH&Co. KG Postfach 100225. 76256 Ettlingen- Germany
Fixo- Gel	Silicone-based	Fortex, England

Mikroorganizmaların hazırlanması: *Candida albicans* suşu Yeast nitrojen base medium besiyerinde çoğaltılarak elde edildikten sonra steril distile su ile 2 defa yıkandı. Daha sonra Mc Farland 05 bulanıklığına eşdeğer şekilde steril distile su içinde süspansiyon hazırlandı. (*Candida* için Mc Farland 05 bulanıklığı= 1.5x10<sup>6</sup>/ml CFU).

**Yapışma Deneyi:** 4 değişik yumuşak kaide maddesinden hazırlanan disklerden her biri bir tüp içinde olacak şekilde (toplam 40 tüp) 2 cm çaplı tabanı düz, polistren tüp içine konularak üzerine *Candida* süspansiyonundan 2 ml eklendi. Tüplerin ağzları parafilmle kapatıldı. Oda sıcaklığında 1 gece bekletildikten sonra santrifüjde (Sanyo, Harrier 18/80, UK) 3.000 devirde 5 dakika çevrildi. Böylece, *Candida* hücrelerinin astar malzemesi üzerine yapışması sağlandı. Bu işlemten sonra diskler, tüplerden çıkarıldı. Steril distile su içinde birkaç defa çalkalamak suretiyle yıkandı. Yapışmamış durumdaki *Candida* hücreleri yüzeyden uzaklaştırıldı. Daha sonra, her bir disk steril boş bir tüp içine konulup üzerine 1 ml steril distile su ilave edilerek sonik hücre parçalayıcısında (Transsonic 460/H, Elma, Germany) 30 dakika bekletildi ve yüzeye yapışmış olan maya hücrelerinin parçalanıp sıvı içine dağılması sağlandı. Bu sıvılarda, Bradford yöntemi ile protein tayini yapılarak yüzeye yapışmış olan *Candida* hücre sayısı hesaplandı. Örnek sıvılardaki *Candida* sayısının hesabında kullanılmak üzere ve kontrol amacıyla Mc Farland 05 bulanıklığındaki *Candida* süspansiyonunda da yukarıda anlatıldığı şekilde protein analizi yapıldı.

İstatistiksel değerlendirme için varyans analizi ve student's t testi kullanıldı. Ortalama ve standart sapmalar hesaplandı. LSD (Least Significant Difference) çoklu karşılaştırma testi yapıldı.<sup>12</sup>

## BULGULAR

Protein miktarının maya hücrelerinin pek çoğu ile direkt olarak ilişkili olduğu yapılan student's t testi ile (p<0.001) istatistiksel olarak saptandı.

Yapılan varyans analizi sonucunda; yumuşak kaide maddesi tipinin, maya hücrelerinin yapışmasında önemli olduğu ( $p < 0.001$ ) saptandı (Tablo II).

Örneklerin dağılım ve LSD (Least Significant Difference) testi sonuçları Tablo III'de görülmektedir.

Tablo II. Varyans analiz tablosu.

Varyasyon Kaynakları	S.D.	K.T.	K.O.	F
Yumuşak kaide maddeleri	3	116.492	38.831	3296.94***
Hata	36	0.424	0.0182	

Tablo III. İncelenen örneklere ait örnek sayısı, ortalama ((g/ml) ve standart sapma ve LSD testi sonuçlarını gösteren tablo.

Yumuşak Kaide Maddeleri	N	X*	SD
Molloplast B	10	6.4000 <sup>a</sup>	0.1155
Ufigel-P	10	1.8000 <sup>d</sup>	0.1265
Fixo-Gel	10	5.2000 <sup>b</sup>	0.1155
Mollosil Plus	10	4.2000 <sup>c</sup>	0.0667

\*: Bir ana faktörde farklı harfle gösterilen ortalamalararasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

Protein analizinde protez kaide materyallerinin komponentlerinin oluşturabileceği etkileri minimize etmek için substratların her bir örneğinin içinde mevcut olan BCA'nın standart konsantrasyonları için kalibrasyon eğrileri yapıldı ve maya kolonilerinin miktarı tespit edildi. En az maya yapışmasının Ufigel'de (1.8 (g/ml), en fazla maya yapışmasının ise, Molloplast B'de (6.4 (g/ml) olduğu tespit edildi.

## TARTIŞMA

Protein ve candida albicans arasındaki çapraz ilişkiye göre; maya hücrelerinin çoğu sığır serum albumininin standart kalibrasyon eğrisi kullanılarak yapılan BCA protein analiz ayırıcı yöntemiyle saptanan protein miktarı ile tamamen uyumluluk göstermektedir.

Çoğu araştırma, *Candida albicans*'ın plastik, protez kaidesi yada astar maddesi gibi yüzeylere yapışmasını aydınlatmak üzerine yapılmıştır.<sup>13-15</sup> Bazı araştırmacılar, plastik yüzeylere mantarların yapışmasının hidrofobik etkileşime bağlı olarak oluştuğunu varsaymışlar,<sup>13,15,16</sup> bazıları ise bu yapışmayı bir yere kadar statik etkileşime bağlamışlardır.<sup>15</sup> Nikawa ve arkadaşları,<sup>17</sup> hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin, hem saf hem de mantarlı yüzeylerin fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Mikroorganizmaların yüzeye yapışması iki safhali bir işlem olarak düşünülür. İki yüzey arasındaki ikinci faz her ne kadar spesifik moleküller arası etkileşimlere sebep olsa da, ilk etkileşim non-spesifik ve geri dönüşümlüdür. Mikroorganizmalar ve yüzeylerin serbest yüzey enerjisi sebebiyle yüzeye mikroorganizmaların yapışmasını tanımlayan termodinamik yaklaşımı içeren bir çok yaklaşım, mikroorganizmaların ilk yapışmasının açıklanmasında kullanılmaktadır. Yapışma işleminin ikinci fazı olan spesifik yapışma, reseptör etkileşimini içerir. Bu safha, kolonizasyona müsaade eder. Mikroorganizmaların yüzeye sıkı bağlanması geri dönüşümü olmayan etkileşimler için gereklidir.<sup>14</sup>

Mayanın yüzeye yapışması ile ilgili diğer faktörler; yüzey pürüzlülüğü, tükürük proteinlerinin ve diğer yapışkan mikroorganizmaların varlığı, konsantrasyon, maya hücrelerinin canlılığı, kültür şartları gibi faktörlerdir.<sup>18</sup> Burns ve arkadaşları<sup>19</sup> ile Graham ve arkadaşları,<sup>20</sup> invivo ve invitro olarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında kolonizasyon ve/veya Candida üremesini destekleyen yada ilerleten doku düzenleyicilerinin bulunduğunu göstermişlerdir.

Bazı araştırmacılar tarafından invitro çalışmalarında, Coe Comfort gibi doku düzenleyicilerin, *Candida* üremesini önemli miktarda azalttığı tespit edilse de<sup>21-23</sup> Graham ve arkadaşları,<sup>20</sup> oral kavitenin mikroorganizmaların beslenmesi açısından zengin bir ortama sahip olmasının bu materyallerin inhibitör etkisini azaltabileceğini belirtmişlerdir.

Nikawa ve arkadaşları,<sup>24,25</sup> yumuşak kaide materyalleri içindeki bir kaç faktörün kandidanın üremesinde etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Waters ve arkadaşları,<sup>18</sup> yaptıkları çalışma sonucunda, *Candida albicans*'ın yapışma seviyesi ve materyalin serbest yüzey enerjisi arasında bir ilişki olmadığını, tükürük ile kaplanmasının yapışmayı engellediğini, deneysel yumuşak kaide maddelerine yapışmanın akrilik rezin protez kaide materyali ve ticari yumuşak kaide materyalinden daha az olduğunu saptamışlardır.

Okita ve arkadaşları,<sup>26</sup> yaptıkları invivo çalışma sonucunda, 4 doku düzenleyici, 1 yumuşak astar ve 1 akrilik rezinin mikrobiyolojik özellikleri arasında fark bulamamışlar, plak formasyonun da kişiye bağlı bir eğilim olduğunu saptamışlar. Yumuşak kaide materyalinin kompozisyonunun fungusidler çekici etki gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Nikawa ve arkadaşları,<sup>27</sup> fungal kolonizasyonun yumuşak kaide materyalinin tipine bağlı olarak farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir.

Waters ve arkadaşları,<sup>18</sup> maya yapışmasının yumuşak kaide materyalinin tipine bağlı olarak farklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Bu çalışmada, fungal kolonizasyonun, yumuşak kaide materyalinin tipine göre farklılık gösterdiği tespit edildi. Bu sonuç, Nikawa ve arkadaşlarının,<sup>27</sup> Waters ve arkadaşlarının,<sup>18</sup> bulgularıyla uyum göstermektedir. Kullanılan yumuşak kaide maddeleri içerisinde en az yapışmanın, Ufigel'de en fazla yapışmanın ise Molloplast B'de olduğu bunu Fixogel'in takip ettiği saptandı. Bu sonucun, Molloplast örneklerin, polimerizasyon şekillerinin diğerlerinden farklı olmasına bağlı olarak ortaya çıkan farklı yüzey karakterinden dolayı olabileceği düşünüldü.

Bu çalışmada kullanılan materyallerin yüzeylerinin, diğer katı yüzeylerden farklı olarak pek çok mikro kavite içermesinden dolayı, hücre yapışmasının tespitinde, tecrübe edilen zorluklardan kaçınmak için basitleştirilmiş bir metot olan proteinlerin kantitatif analizleri için yüksek hassasiyetli BCA protein analiz ayracı yöntemi kullanıldı.

Olan Rodriguez ve arkadaşları,<sup>28</sup> sealarlı ve sealarsız yumuşak linerler arasında farklılık olduğunu tespit etmişler ve sealarlı materyalin bakteri kolonizasyonunu azalttığını belirtmişlerdir.

Nikawa ve arkadaşları,<sup>29</sup> serum pelikülları ve tükürüğün, yumuşak kaide materyallerine fungal yapışmayı azalttığını ifade etmişlerdir.

Imai ve Tamaki,<sup>4</sup> tükürük proteinlerinin *Candida* yapışmada önemli rol oynadığını saptamışlardır.

#### KAYNAKLAR

1. Turlaner M, Kutay Ö. Günümüzde protezler için kullanılan yumuşak astar maddeleri. Marmara Üniv Diş Hek Fak Derg 1987; 3: 50-60.
2. Çalikkocaoğlu S. Tam Protezler. İstanbul, 1998: 677-88.
3. Davenport JC, Wilson HJ, Spence D. The compatibility of soft lining materials and denture cleansers. Br Dent J 1986; 161: 13-7.
4. Imai Y, Tamaki Y. Measurement of adsorption of salivary proteins onto soft denture lining materials. J Prosthet Dent 1999; 82: 348-51.
5. Cawson RA. Denture sore mouth and angular cheilitis. Oral candidiasis in adults. Br Dent J 1963; 115: 441-9.
6. Budtz-Jørgensen E. The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. Scand J Dent Res 1974; 82: 151-90.
7. Olsen I. Denture stomatitis. Occurrence and distribution of fungi. Acta Odontol Scand 1974; 32: 329-33.

8. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC. Oral Candida: clearance, colonization or candidiasis? *J Dent Res* 1995; 74: 1152-61.
9. Davenport JC. The oral distribution of Candida in denture stomatitis. *Br Dent J* 1970; 129: 151-6.
10. Segal E. Pathogenesis of human mycoses: role of adhesion to host surfaces. *Microbiol Sci* 1987; 4: 344-7.
11. Allison RT, Douglas WH. Micro- colonization of the denture fitting surface by *Candida albicans*. *J Dent* 1973; 1: 198-201.
12. Yıldız N, Akbulut Ö, Bircan H. İstatistiğe Giriş. Uygulamalı Temel Bilgiler Çözümlü ve Cevaplı Sorular. Erzurum, 1999.
13. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infect Immun* 1985; 47: 11-4.
14. Samaranyake LP, McCourtie J, Mac Farlane TW. Factors affecting the in-vitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Arch Oral Biol* 1980; 25: 611-5.
15. Klotz SA, Drutz DJ, Zagic JE. Factors governing adherence of *Candida* species to plastic surfaces. *Infect Immun* 1985; 50: 97-101.
16. Miyake Y, Fujita Y, Minagi S, Suninaka H. Surface hydrophobicity and adherence of *Candida* to acrylic surfaces. *Microbios* 1986; 46: 7-14.
17. Nikawa H, Sadamori S, Hamada T, Okuda K. Non specific adherence of *Candida* species to surface-modified glass. *J Med Vet Mycol* 1989; 27: 269-71.
18. Waters MG, Williams DW, Jagger RG, Lewis MA. Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. *J Prosthet Dent* 1997; 77: 306-12.
19. Burns DR, Burns DA, DiPietro GJ, Gregory RL. Response of processed resilient denture liners to *Candida albicans*. *J Prosthet Dent* 1987; 57: 507-12.
20. Graham BS, Jones DW, Burke J, Thompson JP. In vivo fungal presence and growth on two resilient denture liners. *J Prosthet Dent* 1991; 65: 528-32.
21. Douglas WH, Walker DM. Nystatin in denture liners- An alternative treatment of denture stomatitis. *Br Dent J* 1973; 135: 55-9.
22. Thomas CJ, Nutt GM. The in vitro fungicidal properties of viscogel, alone and combined with nystatin and amphotericin B. *J Oral Rehabil* 1978; 5: 167-72.
23. Wright PS. The effect of soft-lining materials on the growth of *Candida albicans*. *J Dent* 1980; 8: 144-51.
24. Nikawa H, Yamamoto T, Hayashi S, Nikawa Y, Hamada T. Growth and/ or acid production of *Candida albicans* on soft lining materials in vitro. *J Oral Rehabil* 1994; 21: 585-94.
25. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T, Kumagai H. Effects of salivary or serum pellicles on the *Candida albicans* growth and biofilm formation on soft lining materials in vitro. *J Oral Rehabil* 1997; 24: 594-604.
26. Okita N, Orstavik D, Orstavik J, Ostby K. In vivo and in vitro studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. *Dent Mater J* 1991; 7: 155-60.
27. Nikawa H, Hamada T, Makihira S, Kumagi H, Murata H. Interaction between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part II. Effects on fungal colonization. *J Oral Rehabil* 2000; 27: 214-30.
28. Olan- Rodriguez L, Minah GE, Driscoll CF. *Candida albicans* colonization of surface- sealed interim soft liners. *J Prosthodont* 200; 9: 184-8.
29. Nikawa H, Hamada T, Makihira S, Kumagi H, Murata H. Interaction between denture lining materials, protein pellicles and *Candida albicans*. *Arch Oral Biol* 1993; 38: 631-4.

**Yazışma Adresi:**

**Nuran Yanıkoğlu**

Atatürk Üniv Diş Hek Fak  
Protetik Diş Tedavisi A.B.D.  
Erzurum

Tel: 0 442 2311780

E mail: ndinçkal@atauni.edu.tr