

# Güncel Restoratif Materyallerin Oral Biyofilme Etkileri

## Effects of Different Current Restorative Materials on Oral Biofilm: Review

Özgü İlkcan ORÖZÜ,<sup>a</sup>  
Berk KARADAĞLIOĞLU,<sup>a</sup>  
Nuran ULUSOY<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Restoratif Diş Tedavisi AD,  
Yakın Doğu Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
Lefkoşa

Geliş Tarihi/Received: 08.02.2017  
Kabul Tarihi/Accepted: 28.02.2017

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Özgü İlkcan ORÖZÜ  
Yakın Doğu Üniversitesi  
Diş Hekimliği Fakültesi,  
Restoratif Diş Tedavisi AD, Lefkoşa,  
KKTC/TRNC  
dtozguoruzu@gmail.com

**ÖZET** Ağız boşluğunun en sık rastlanan hastalıklarından biri olan çürük; karbonhidratlar, diş yüzeyi, zaman ve mikrofloranın bir araya gelmesi ile oluşan bir süreç sonucunda ortaya çıkan bir oluşum olup, diş yüzeyi ile plak sıvısı arasındaki demineralizasyon ve remineralizasyon döngüsünün bozulması sonucu meydana gelmektedir. Karyojenik bakteriler, biyofilm adı verilen bir tabaka içinde organize olarak demineralizasyon işlemini gerçekleştirmektedir. Temizlenmenin ardından diş yüzeyi, tükürükten gelen proteinlerle pelikül adı verilen hücresiz bir tabaka ile kaplanmaktadır. Sağlıklı ağız ortamında bu tabaka diş için koruyucu bir görev üstlenmektedir. Mine yüzeyindeki iyonik etkileşimler sebebiyle bakteriler ve peliküllü kaplanmış yüzey arasında bakteriyel adezyon meydana gelmektedir. Biyofilmin yapısı pek çok faktörden etkilenmekte ve ağız değişik bölgelerinde farklı özellikler gösterebilmektedir. Yeterli düzeyde temizlenmeyen diş yüzeyinde oluşan plakta, zaman ilerledikçe patojen bakteri kolonizasyonu artmakta ve bu durum çürük oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Dental biyofilm oluşumunda tükürük proteinlerinin yanı sıra, birikimin meydana geldiği yüzeyin serbest yüzey enerjisi, antibakteriyel özellikleri, yüzey pürüzlülüğü, kimyasal kompozisyon gibi fiziksel ve kimyasal özellikleri önem taşımaktadır. Bu nedenle, dental restorasyonlarda kullandığımız materyallerin tipleri biyofilm oluşumunu geniş kapsamda etkilemektedir. Çok sayıda por ve defekt içeren, pürüzlü ve iyi cilalanamayan materyaller plak birikimine sebep olmaktadır. Restoratif diş tedavisinde kullanılan materyallerin özellikleri ve uygulama hataları nedeni ile dişlerde sekonder çürük gelişebilmektedir. Bu nedenle, seçilen materyalin biyofilm oluşumuna etkisi dikkatli bir şekilde incelenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Biyofilmler; diş restorasyonu, kalıcı

**ABSTRACT** Caries is caused by a process in the presence of tooth surface, time and microflora and forms as a result of the deterioration of the demineralization and remineralization cycle between the tooth surface and the plaque fluid and carbohydrates. Cariogenic bacteria are organized in a layer called biofilm to carry out the demineralization process. After cleaning, cell-free layer called pellicle is formed on the tooth surface by proteins from the saliva and performs a protective function for the tooth in the healthy oral environment. Due to the ionic interactions on the surface of the enamel, bacterial adhesion occurs between bacteria and pellicle-coated surface. The biofilm structure is influenced by many factors that may show different properties in different regions of the mouth. Pathogen bacterial colonization increases in the plaque by time when the tooth surface is not adequately cleaned providing a basis for caries formation. In the formation of dental biofilm; saliva proteins are important as well as the free surface energy, antibacterial properties, surface roughness, chemical composition including the physical and chemical properties of the surface. For this reason, the types of materials used in dental restorations effect biofilm formation in a wide range. Rough and poorly polished materials containing large number of pores and defects can cause plaque accumulation. The characteristics of the materials used in restorative dental treatment and failures in their application may give way to secondary caries development. For this reason, the effect of the selected material on biofilm formation should be carefully examined.

**Keywords:** Biofilms; dental restoration, permanent

**D**ental restorasyonlar; yüzey enerjisi, kimyasal kompozisyon ve yüzey pürüzlülüğü açısından mineden farklı özellikler sergilemektedir.<sup>1-3</sup> Çoğu erişkin en az bir dental restorasyona sahip olduğu için primer oral enfeksiyonların sebebinin biyofilmden ya da restorasyondan mı kaynaklandığı kolayca ayırt edilememektedir<sup>4</sup>. Restorasyonların yüzey özellikleri ve mikroorganizmalardan daha ziyade biyofilm içeriğindeki değişim hastalıklara sebep olmaktadır.

## BIYOFİLM

**Temel Kriterleri:** Biyofilmin karakteristiği; otopotez (kendilerini organize edebilme yetenekleri), homeostaz (çevrede meydana gelen değişikliklere karşı dirençli olmaları), sinerji (topluluk içinde bireysel özelliklerine göre daha etkili olmaları) ve komünite (çevresel değişikliklere birim olarak yanıt vermeleri) şeklinde dört başlıkla açıklanmıştır.<sup>5</sup>

**Kompozisyonu:** Gelişimini tamamlamış bir biyofilm; sert yüzey üzerinde mikrobiyal hücrelerin heterojen düzenlenmesi olarak tanımlanmaktadır.<sup>6</sup> Temel yapısal birim, yüzeye tutunan bakteri hücrelerinin oluşturduğu mikrokoloniler veya hücre kümeleri tarafından meydana getirilmektedir. Temel kompozisyonun %15'i hücrelerde oluşmakta iken; %85'i proteinleri, polisakkaritleri, nükleik asitleri ve tuzları içermektedir.<sup>7,8</sup> Biyofilm olgun hâle geçtiğinde; yapısı ve kompozisyonu, büyüme koşulları, sıvı hareketlerinin doğasındaki özellikler, substratların fizikokimyasal özellikleri, beslenme gibi çevresel şartlara göre modifiye edilmektedir.<sup>9</sup> Ayrışma süreci boyunca biyofilm hücreleri, polimerleri ve çökeltileri biyofilmden biyofilm sıvısına aktarmaktadır. Bu durum, olgun biyofilmin özelliklerinin ve yapısının şekillendirilmesinde önemlidir.<sup>10</sup> Biyofilm aracılı mineralizasyon; uygun ortam varlığında, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup> içeren metal iyonlarının biyofilme bağlanarak çökelmeleriyle meydana gelmektedir.<sup>11</sup>

**Karakteristiği:** Organik maddeler, biyofilm mikroorganizmalarını çevrelemekte ve öncelikle karbondhidratlar, proteinler ve lipitleri içermektedir. Biyofilm içerisindeki inorganik elementler arasında kalsiyum, fosfor, magnezyum ve florür bulunmaktadır.

dır.<sup>12</sup> Biyofilm içerisindeki bakteriler, zorlu çevresel koşullarda hayatta kalabilmektedir. Biyofilm bakterilerinin bu eşsiz yetenekleri, aynı ve/veya farklı türdeki bakteriler arasındaki metabolik iş birliğinin biyofilm yapısına izin vermesi sebebiyle yerleşik düzendeki bakterilerin çevresel tehditlerden korunması, iç kompartmanların her bir bakteri türünün farklı büyüme gereksinimlerini karşılayacak birimler sergilemesi ve biyofilm topluluğundaki bakteri hücrelerinin genetik materyalleri paylaşarak ve bunları değiştirerek yeni nitelikler kazanması gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır.<sup>13</sup> Bakteriyel biyofilm; yerleşmiş olan bakteri hücrelerinin birbirleri ile iletişim kurması için ortam sağlamaktadır. *Quorum sensing*, biyofilm içerisindeki bu bakteri hücreleri arasındaki iletişimi sinyal molekülleri aracılığıyla kuran bir süreçtir.<sup>14,15</sup>

Dental tedaviler ağız boşluğundaki mekanik, fizyolojik ve kimyasal koşulları değiştirecek biyomateriyalleri içermektedir. Bu değişimin derecesi restorasyonun kalitesi ve boyutuna bağlıdır; bu da ağız boşluğundaki mikroorganizmaları etkileyecektir. Ağız içindeki bütün yüzeyler temizlemeden sonra saniyeler içinde tükürükten gelen glikoproteinlerin plağı ile kaplanmaktadır.<sup>16,17</sup>

## ORAL BIYOFİLM

İnsan ağız boşluğunda yaşayan mikroorganizmalar, diş yüzeyindeki dental plak gibi ağız yüzeylerini kaplayan ince bir tabaka-biyofilm hâlinde organize olmuş, kompleks topluluklarda yaşamaktadır.<sup>16,17</sup> Temizlemenin hemen ardından, tükürükten gelen proteinler diş yüzeylerini bir film tabakasıyla kaplamaktadır. Bu film tabakasına bakteri tutulumu, hücre duvarlarındaki mikrofilamentler yardımıyla olmaktadır. Bakterilerin sayısı arttığında salgıladığı sinyal molekülleri ile iletişim kurabilecek ve topluluk yaratabilecektir.<sup>16,18</sup>

Bakteriler; tükürükten gelen protein ve besin içeriklerine ek olarak; protein, polisakkarit, nükleik asit ve diğer ekstraselüler matriks bileşenlerini salgılamaktadır. Bu matriks biyofilmin yapıstırıcısıdır. Matriksin içindeki mikroorganizmalar, tükürük içinde serbestçe yüzen bakterilerden farklı davranmaktadır. Biyofilm toplumu, çevresel deği-

şikliklere karşı tek bir bakteri yanıtı verecek bir birim olarak davranmaktadır. Bu matriks, içindeki mikroorganizmaları antibakteriyel ağız gargaraları gibi planktonik bakteriler için öldürücü olabilen kimyasal tedavilerden korumaktadır.<sup>19</sup> Diş yüzeyindeki derin çatlaklar ve dişler arasındaki erişimin sınırlı olması nedeni ile oral plağı tamamen uzaklaştırmak zordur. Dental restorasyonlardaki boşluklar, restorasyon ile diş dokusu arasında oluşan aralıklar ve restorasyonların kenar özellikleri durumu daha da karmaşık bir hâle getirmektedir. Sağlıklı bireylerin dişleri üzerinde bulunan biyofilm, diş minesinin çözünmesine neden olabilecek asitler gibi, yiyeceklerdeki kimyasallardan ve yabancı mikroorganizmalardan koruyucu bir kalkan görevi görecektir.<sup>20</sup>

Biyofilmin yapısı ve kalınlığı; pH, besinler, oksijen, en son temizlemenin üzerinden geçen süre ve tutunmanın meydana geldiği yüzeyin cinsi gibi pek çok faktörden etkilenmektedir.<sup>17,21-26</sup> Bu nedenle ağız boşluğundaki biyofilm, yanaklarda ya da dişler arasında olduğu gibi farklı bölgelerde değişiklikler göstermektedir. Biyofilm, mekanik olarak uzaklaştırılan ve günlük olarak yenilenen biyofilmden farklı bir kompozisyonda büyümeye devam edebilmektedir.<sup>17</sup>

Bakteriler, çevrelerindeki organizmaların gen regülasyonları yardımıyla matrikse tutunmaktadır. Biyofilm oluşumu, yapay kalp kapakçıkları, yapay ses telleri ve inkübasyon tüpleri gibi nemli ortamlarda bulunan tüm medikal biyomateryaller için büyük problemdir.<sup>27,28</sup>

## ORAL BİYOFİLM OLUŞUMU

Mikroorganizmaların bulunduğu yüzey, organik materyalin de bulunduğu sıvı bir ortamda ise (örneğin; deniz suyu, süt, gözyaşı, idrar, kan veya tükürük) saniyeler içerisinde yüzeye tutunmuş bir organik molekül tabakası ile kaplanmaktadır.<sup>29</sup> Oral kavitede oluşan ve pelikül denen bu tabaka, oral yüzeylerdeki bakteri içermeyen başlangıç tabakası olarak tanımlanmaktadır. Pelikül; glikoproteinler (müsünler), prolinden zengin proteinler, fosfoproteinler (örneğin; staterin), histidinden zengin proteinler, enzimler (örneğin; alfa-amilaz) ve bakteri

için adezyon bölgesi görevi yapabilecek diğer molekülleri içeren çok sayıda bileşenden oluşmaktadır. Pelikül öncül proteinleri olarak adlandırılan, hidroksi-patite yüksek afiniteye sahip fosfoproteinler olup, diş yüzeyine ilk tutunanlardır. Bakteriyel adezyon, pelikulla kaplanmış bakteri ile pelikulla kaplanmış yüzey arasında meydana gelmektedir.

Pelikülün fizikokimyasal yüzey özellikleri, alttaki sert yüzeyin fiziksel ve kimyasal doğasına büyük ölçüde bağlıdır. Bu nedenle, alttaki sert yüzeyin özellikleri pelikül tabakaları boyunca iletilir ve böylece başlangıç bakteri adezyonunda etkisi olur.<sup>29</sup>

Bakteriyel adezyon için kabul edilen iki teori vardır:<sup>29</sup>

1. Spesifik biyokimyasal mekanizma,
2. Non spesifik fizikokimyasal mekanizma.

**1. Spesifik Biyokimyasal Mekanizma:** Bakteri ve pelikül arasındaki bağlantı çoğunlukla organizmadaki spesifik ekstraselüler proteinimsi bileşenler (adezinler) ve yüzeydeki tamamlayıcı reseptörler (örneğin; proteinler, glikoproteinler veya polisakaritler) tarafından oluşturulmaktadır ve türlerimize özgüdür. Çoğu bakteri, tutunma için farklı spesifik mekanizmalara sahiptir. Yüzeyde tek bir katman oluştuktan sonra, tutunan türlerin çoğalması ve/veya yeni türlerin tutunmasıyla biyofilm oluşumu başlayabilmektedir. Bu aşamadan sonra ortama yeni mekanizmalar da eklenmektedir.<sup>29-31</sup>

**2. Non spesifik Fizikokimyasal Mekanizma:** Oral kavitede olduğu gibi, sıvı ortamda bulunan sert yüzeyde biyofilm oluşumu dört aşama olarak tanımlanmıştır.<sup>29</sup>

**Faz 1 (yüzeye tutunma):** Bakterinin yüzeye ilk yaklaşması, ortalama yer değiştirme hızı 40 µm/saat olan Brownian hareketi, bakterinin çözeltideki sedimentasyonu, sıvı akışı veya kemotaktik aktivite aracılığıyla meydana gelmektedir.<sup>29</sup>

**Faz 2 (başlangıç adezyonu):** Bu aşamada, bakterilerin yüzey ile belirli bir uzaklıktaki (50 nm) uzun ve kısa mesafeli etkileşimleri aracılığıyla, zayıf ve geriye dönebilir bir bağlantı oluşmaktadır. Farklı non spesifik etkileşim kuvvetlerinin bileşkesine bağlı olarak, bu organizmalar yüzey tarafından çekilmekte veya itilmektedir.<sup>29</sup>

**Faz 3 (bağlantı):** Bakteri ve yüzey arasında temas sağlandıktan sonra, doğrudan ya da bakteri uzantılarının (fimbria) yardımıyla kovalent, iyonik veya hidrojen bağları gibi özel etkileşimler tarafından bakteri ve yüzey arasında sıkı bir ankraj kurulabilmektedir.<sup>29</sup>

**Faz 4 (kolonizasyon/plak maturasyonu):** Sıkı bağlanmış mikroorganizmalar büyümeye başladığında ve yeni oluşan hücreler de bağlandığında biyofilmler gelişebilmektedir. Pürüzlü yüzeyde bakteriler makaslama kuvvetlerinden daha iyi korunduğu için, geri dönebilir bağlantıdan geri dönemez bağlantıya geçiş daha kolay ve sık meydana gelmektedir.<sup>29</sup>

### BIYOFİLM OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

**Pelikül:** Tükürükle kaplanmış yüzeyde zamanla meydana gelen değişimler ve bu değişimlerden yüzeye tutunan mikroorganizmaların da etkilenmesi sebebiyle tükürük oldukça önemlidir. Tükürük proteinlerinin bakterinin cinsine bağlı olarak yapışmayı etkileyeceği belirtilmiştir.<sup>32</sup>

**Serbest Yüzey Enerjisi ve Yüzey Pürüzlülüğü:** Biyofilm; düşük yüzey enerjisine sahip yüzeylere, yüksek yüzey enerjili yüzey enerjisine sahip benzer yüzeylere göre daha az adezyon göstermektedir.<sup>33</sup> Artmış yüzey pürüzlülüğü ve karmaşık topografi mikroplara düzgün yüzeylerden daha yüksek afinite göstermektedir ve daha sonrasında biyofilmi mekanik fırçalamayla tamamen uzaklaştırmak daha zor olacaktır.<sup>24,33-35</sup> Yapılan çalışmalarda, pürüzlü yüzeydeki bakteri adezyonunun iyi cıalanmış yüzeyden fazla olduğu belirtilmiştir. Fakat, yüzey pürüzlülüğünün yalnızca genç biyofilm adezyonunu etkilediği ve olgunlaşma sonrası yüzey pürüzlülüğünün biyofilme etkisinin olmadığı belirtilmiştir.<sup>36</sup>

**Materyalin Antibakteriyel Özelliği:** Yüzeyinde biyofilm oluşan restoratif materyallerde, pürüzlülüğün artması ve materyallerin mikrosertliklerinin azalması nedeni ile yüzey bozulmaları gözlenmiştir. Ayrıca, yüzey pürüzlülüğünün kompozit restorasyonların kenar bütünlüklerini ve aşınmalarını da olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir.<sup>37,38</sup> Dental materyallere %5, %10, %15 ve %30'a kadar çıkan oranlarda antimikrobiyel bileşik ya da madde eklenmesi önerilmiştir,<sup>25,29,39-42</sup> fakat yüksek oranda

antimikrobiyal ajan kullanımını, biyoyoumluluk ve dayanıklılık gibi önemli faktörler üzerinde materyalin dayanıklılığını azaltan bir durumdur.

## RESTORATİF MATERYALİN BİYOFİLM ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE GÖZ ÖNÜNE ALINAN FAKTÖRLER

### İNCELENEN BİYOFİLM ÖZELLİKLERİ İLE İLGİLİ ARAMETRELER

- Biyofilm kalınlığı,
- Biyofilmdeki bakterilerin canlılık oranı,
- Yüzeyi kaplayan biyofilmin oranı,
- Tükürük proteinleri.<sup>40,43-46</sup>

0,2 mikronun üzerinde bir kalınlığa sahip olan biyofilmin bakteri içerebileceği belirlenmiştir.<sup>47</sup> 2001 yılında yapılmış olan in vivo bir çalışmada, ince olan dental biyofilmde cansız mikroorganizmaların yoğunluğunun fazla olduğu saptanmıştır. Olgun plağın en alt tabakalarına doğru organizma canlılığının azaldığı, canlı mikroorganizmaların çoğunun ise bu cansız mikroorganizma tabakası üzerinde lokalize olduğu bulunmuş ve cansız mikroorganizmaların biyofilm oluşumunun ilk safhasında önemli olarak canlı bakterilerin gelişimine katkıda bulunduğu saptanmıştır.<sup>48</sup>

### KULLANILAN RESTORATİF MATERYAL İLE İLGİLİ PARAMETRELER

**Yüzey Enerjisi ve Yüzey Pürüzlülüğü:** Yüzey pürüzlülüğündeki değişiklikler, pek çok olguda yüzey enerjisini de değiştirecektir. Bu nedenle iki faktör arasında ayırım yapmak oldukça zordur. Yüzey pürüzlülüğünün, yüzey enerjisinden daha önemli bir rol oynadığı söylenebilir, çünkü pürüzlü yüzey bakteri kolonizasyonu için uygun yüzey alanını artırmaktadır.<sup>29</sup>

Yüzey pürüzlülüğünün aritmetik ortalamasını  $R_a$  değeri göstermektedir. Topografileri ve maksimum pik düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunan materyaller aynı  $R_a$  değerine sahip olabilmektedir. Bakteri retansiyonu için eşik değer olarak  $R_a=0,2$  belirtilmiştir.<sup>35</sup> Bu değer altında retansiyonda bir azalma gözlenmemiştir. Bu değer yüzey

rinde ise pürüzlülüğünün artmasıyla birlikte biyofilm birikimi de artmaktadır.<sup>35</sup> İn vitro modeller de nanoölçekli morfolojiler, daha sonraki proteinlerin adezyonunun etkileri ve biyofilm formasyonunu gösterebilmektedir.<sup>49</sup> Tüm materyaller için klinik olarak anlamlı olan kesin bir eşik değeri tespit edilememesine rağmen klinik uygulanabilirlik seviyesi hakkında genel bir bilgi elde edilebilmektedir. Ağız içerisindeki çoğu materyalin yüzey pürüzlülüğü zamanla artmaktadır.

**Kimyasal Kompozisyon:** Dental materyallerin kimyasal kompozisyonları, proteinlerin ve mikroorganizmaların Van der Waals kuvvetleri, asit-baz reaksiyonları ya da elektrostatik etkileşimler; bakterilerin materyalin bileşenlerine çekilmeleri ya da kimyasal tutunmaları ile birlikte bakteri adezyonunu etkileyecektir.<sup>50</sup> Çok sayıda hastada, aynı anda ağız içerisinde bulunan çok sayıda farklı materyal, genel olarak biyofilm oluşumunu engelleyebilmektedir. Materyal ve mikroorganizmalar arasındaki kimyasal etkileşimler, zamanla yüzey özelliklerinde değişikliğe yol açabilmektedir.

**Dental Restorasyonlar:** Dental restorasyonlarda kullanılan biyomateryalin tipi, biyofilm oluşumunu önemli oranda etkileyebilmektedir.<sup>25</sup> Kronlar ve köprüler genellikle seramik, metal ya da her ikisinin de kombinasyonundan üretilmektedir. Seramik materyaller, düzgün ve kolayca temizlenebilen, cilalı yüzeylere sahip olduğu için, biyofilmin günlük olarak uzaklaştırılabilmesi için oldukça avantajlıdır. Bazı seramik kronların kenarları, üretim prosedürleri nedeni ile çok pürüzlüdür ve çok sayıda küçük defekt içeren bu kenarlara, pürüzsüz kenarlara oranla daha çok bakteri ve plak tutacaktır. Cilalanabilen metallerin büyük bir kısmı; bazı alaşımlardan daha yüksek bakteri afinitesine sahip olmasına rağmen, çok daha az biyofilm retansiyonuna maruz kalmaktadır.<sup>40</sup>

## FARKLI MATERYALLER KULLANILARAK YAPILAN RESTORASYONLARLA İLGİLİ BİYOFİLM ÇALIŞMALARI

2013 yılında yapılmış olan bir çalışmada; iki kompomer (Twinky Star, Voco GmbH, Cuxhaven, Almanya ve Dyract Extra, Dentsply Detrey GmbH,

Cuxhaven, Almanya), bir akışkan üniversal nano-hibrid kompozit (Grandio SO Flow, Voco GmbH, Cuxhaven, Almanya), üç rezin modifiye cam iyonomer siman [resin-modified glass ionomers (RMGI)] (Ionolux AC, Voco GmbH, Cuxhaven, Almanya, GC Fuji II LC Capsule, GC Europe N.V. Leuven, Belçika ve Photac-Fil Quick Aplicap, 3M ESPE, Seefeld, Almanya), iki cam iyonomer siman (GC Fuji IX GP Capsule, GC Europe N.V. Leuven, Belçika ve Ionofil Molar, Voco GmbH, Cuxhaven, Almanya), bir üniversal nanohibrit kompozit (Grandio SO, Voco GmbH, Cuxhaven, Almanya), bir giomer (Beautifil II, Shofu Inc., Kyoto, Japonya) ve bir amalgam (ANA 2000 Capsule, Nordiska Dental, Angelholm, İsveç) kullanılarak materyaller üzerindeki *Candida albicans* ve biyofilm adezyonu incelenmiştir. Amalgam, kontrol materyali olarak kullanılmıştır. *C. albicans* adezyonunun incelenmesi için örnekler, agar plak üzerinde hazırlanan kültürlerde bekletilmiş, biyofilm adezyonunu incelemek için ise XTT (2,3-bis (2-metoksi- 4-nitro-5-sülfenil)-5 [(fenilamin) carbonil]-2H-tetrazolium hidroksit) kolorimetrik tekniğe başvurulmuştur. Taramalı elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerin de ardından, en yüksek XTT değeri amalgamda, en düşük biyofilm oluşumu ise Ionofil Molar'da saptanmıştır. *C. albicans* adezyonu; RMGI siman (Ionolux AC) ve cam iyonomer siman (Fuji IX GP) örneklerin yüzeyinde anlamlı oranda daha az, sırasıyla iki kompomer (Twinky Star, Dyract Extra) ve kompozit (Grandio SO) örneklerinde ise daha fazla gözlenmiştir.<sup>51</sup>

Yeni geliştirilen bonding ajanlarla, biyofilmde yer alan canlı hücreler önemli oranda azaldığı için restorasyon kenarlarında yeni çürük oluşumunun azaldığı belirtilmiştir.<sup>52</sup> Yapılan araştırmalarda, antibakteriyel bir monomer olan 12-metakiloksidesilpiridinyum bromür (MDPB) güçlü bir bakterisit olduğu ve çeşitli rezin bazlı biyomalzemelerde kullanılmaya potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir.<sup>53</sup> 2012 yılında yapılmış olan bir çalışmada; "self-etch" adeziv sistemlerden, primerinde antibakteriyel bir monomer olan MDPB, 10-me takriloksidesildihidrojen fosfat (MDP), hidroksietil metakrilat (HEMA) ve su bulunan (Clearfil Protect Bond, Kuraray, Tokyo, Japonya)

ve primerinde MDPB bulunmayan; MDP, HEMA, dikamforokinon, N,N-dietanol pitoluidin ve su içeren bonding ajan (Clearfil SE Bond, Kuraray, Tokyo, Japonya) ve kontrol grubu olarak da serum kullanılmış ve yüzey de biyofilm oluşumu değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda MDPB'nin biyofilm oluşumunu azalttığı ortaya konulmuştur.<sup>54</sup>

Zhang ve ark. tarafından 2016 yılında yapılmış bir çalışmada, rezin kompozitlerin amalgam ve cam iyonomerlere oranla daha fazla oral plak birikimine sebep olup olmadığı araştırılmıştır.<sup>55</sup> Araştırmacılar, bisfenol-A-glisidil dimetakrilat (Bis-GMA) ve trietilen glikol dimetakrilatı (TEGDMA) 1:1 oranlarında karıştırarak %0,2 kamforokinon ve %0,8 etil 4-N ekleyerek ve BT adını verdikleri bir rezin materyal oluşturmuşlardır. Bu materyale protein uzaklaştırıcı ajan olarak yan zincirinde metakrilat bulunan metakriloksietil fosforilkolin [methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)] (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) tozu ilave edilmiştir. Araştırmacı tarafından, kontrol grubuna MPC tozu ile BT rezin karışımı konulmamış, diğer gruplara ise bu karışım %10 oranında eklenmiştir. 1,4 um ortalama partikül boyutuna sahip baryum boroalüminosilikat camı da (Caulk/Dentsply, Milford, DE, ABD) %4 3-metakriloksipropiltrimetoksilan ve %2 n-propilamin ile silanize edilmiştir. Cam partikülleri her bir rezine kütlece %70 oranında karıştırılmıştır. Resin kütle fraksiyonu %30 olduğu için, kontrol grubuna ilave yapılmamış, diğer gruplara %3 oranında MPC ilavesi yapılmıştır.

Doldurucu oranı %66,7 olan ve 40-200 nm partikül boyutlarında silika iterbiyum-triflorür nano doldurucu içeren Heliomolar (Ivoclar, ON, Kanada) ile buna ek olarak, fluorolüminosilikat camdan ve ışığa duyarlı polialkenoik asitten oluşan bir RMGI siman (Vitremer, 3M, St. Paul, MN, ABD) kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Ayrıca %30-60 cıva, %10-30 gümüş ve %10-30 bakırdan oluşan yüksek bakırlı bir karıştırılmış (dispersed phase) amalgamın (Coutour, Kerr, Orange CA, ABD) da kontrol grubu olarak test edilmiştir. Bu amalgam %70'i küresel, %30'u ise talaş hâlindeki partiküllerden oluşmuştur.

Deneyde kullanılan materyaller beş gruptur;

1. %30 BT reçinesi+%70 cam dolgu maddesi (%0 MPC'ye sahip kompozit);
2. %27 BT reçinesi+%3 MPC+%70 cam dolgu maddesi (%3 MPC'ye sahip kompozit);
3. Heliomolar marka kompozit (Ticari kompozit);
4. Vitremer marka RMGI;
5. "Coutour" marka amalgam (Amalgam)

Bu beş grupta protein adsorpsiyonu, plakta biyofilm oluşumu, laktik asit üretimi ve biyofilmde oluşan koloni sayısı ölçülmüştür. Değişkenlerin anlamlı etkilerini saptamak için tek yönlü ve iki yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Verilerin 0,05 p değerinde karşılaştırılması için Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Araştırma sonuçları; RMGI siman ve amalgam üzerinde, Heliomolar ve MPC içermeyen (%0 MPC) 1. Gruptaki kontrol kompozitinden anlamlı derecede daha az protein adsorpsiyonu ( $p<0,05$ ) olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuçların ışığı altında kompozit içine %3 MPC ilavesinin, heliomolar ile 1. Gruptaki kontrol bileşiğine kıyasla protein adsorpsiyon miktarını büyük ölçüde azalttığı anlaşılmıştır. MPC içeren kompozitlerde laktik asit üretimi ve biyofilm oluşumu azalmıştır. %3 MPC içeren kompozitin, RMGI'ya ve amalgama benzer biyofilm koloni oluşturma birimi sayısına sahip olduğu saptanmıştır.

Üç akışkan kompozit (Filtek Flow, 3M, St. Paul, MN, ABD; Tetric Flow, Ivoclar AG, Liechtenstein; Arabesk Flow, VOCO, Cuxhaven, Almanya) üç mikrohibrid kompozit (Clearfil APX, Kuraray, Osaka, Japonya; Solitaire 2, Heraeus Kulzer, Dormagen, Almanya; Z250, 3M, St. Paul, MN, ABD), iki cam iyonomer materyal (Fuji IX, GC, Tokyo, Japonya; Fuji IX fast, GC, Tokyo, Japonya), kompomer (F2000, 3M, St. Paul, MN, ABD), ormoser rezin (Admira, VOCO, Cuxhaven, Almanya) ve kontrol materyali olarak seçilen, polistren yüzeyine *Streptococcus mutans* adezyonunun araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. Materyaller adezif özelliklerine göre azdan çoğa doğru sırasıyla; akışkan kompozitler, mikrohibrid kompozitler, cam iyonomerler, kompomer ve ormoser rezin olarak sıralanmıştır. Adezif özellikleri düşük olan materyallerde biyo-

film oluşumunun daha az olduğu saptanmıştır. Biyofilm oluşum riskinin fazla olduğu bilinen ara yüz ve diş eti bölgelerinde, biyofilm oluşumu için düşük adeziv özelliğe sahip restoratif materyallerin tercih edilmesi gerektiği bildirilmiştir.<sup>56</sup>

## BIYOFİLM ÇALIŞMALARININ GELECEĞİ

Dental materyallerdeki biyofilm oluşumu ile ilgili problemler nedeni ile, kullanılan materyallerin geliştirilmesi için çaba harcanmaktadır. Klinik olarak ilişkilerinin saptanması zor olmasına rağmen, kompozitlerde polimerizasyon büzülmesinin azalması, diş ve restorasyon arasındaki aralıklardan geçen mikroorganizma sızıntılarının azalmasına ve böylece sekonder çürük oranlarının da azalmasına yol açtığına inanılmaktadır.<sup>57</sup> Cam iyonomerlerden salınan florid, sement dokusuna komşu mine ve dentindeki demineralizasyonunun azalmasına neden olmaktadır.<sup>58</sup> Diğer polimerlerden salınan florid, aynı oranda başarılı bulunamamıştır. Daha sonraları, biyofilm oluşumunu azaltmak amacıyla, materyallerin kimyasal kompozisyonlarının değiştirildiği çok sayıda çalışma yapılmıştır.<sup>49-61</sup> Biyofilm oluşumunun azalmasını sağlamak için, yüzey özellikleri değiştirilerek başlangıçtaki bakteri adezyonunun ya da kimyasal bileşenler tarafından tutunan bakterilerin canlılıklarının azaltılması gibi farklı stratejiler kullanılmaktadır.<sup>60</sup>

Bazı dental materyaller, antibakteriyel eluvalı monomerler içermektedir.<sup>62</sup> Klorheksidin ya da gümüş nanopartiküller gibi antibakteriyel kimyasallar; rezin örtücü, akrilik, fissür örtücü ya da simanların içerisinde nanopartiküller hâlinde gömülebilmektedir.<sup>63,64</sup> Materyalden yavaşça çözünen nanopartiküller, materyalin yüzeyine tutunmuş biyofilmdeki bakterileri yok etmektedir. Son yıllarda Uluslararası Dental Araştırmalar Birliği'nin (IADR) dünya çapında yapmış olduğu toplantılarda, her yıl dental restoratif materyallerin antibakteriyel etkilerine ilişkin 50'den fazla çalışma sunulduğu belirtilmektedir.<sup>4</sup>

Yüzey örtücülerin ya da yavaş salınan partiküllerin uzun dönem etkileri hakkında henüz tamamen aydınlatılmamış bazı belirsizlikler vardır. Yüzey örtücüleri yıpranarak aşınmakta ve zaman geçtikçe pürüzlenerken yeterli mekanik özelliklere

sahip olamamaktadır. Partiküllerin kademeli olarak salınımı materyalin yüzey özelliklerinde değişikliklere neden olacaktır. Bu şekilde meydana gelen salınım, korozyon ile karşılaştırılabilmektedir. Korozyon; yüzey pürüzlülüğünde artmaya ve madde kaybına neden olmaktadır. Bu nedenle bakteri retansiyonu artmaktadır.<sup>4</sup>

Nanopartiküllerin salınımının uzun dönemde materyalin kırılma direncini, yüzey sertliğini ve aşınma direncini azaltması olası bir durumdur. Diş ve restorasyon arasındaki antimikrobiyal bir tabaka, başlangıç ve uzun dönemde dişle restorasyon arasındaki kimyasal adezyondaki değişikliklere bağlı olarak meydana gelen retansiyonu azaltabilmektedir. Bu potansiyel yan etki hakkında çok az sayıda araştırma yapılmıştır. Antibakteriyel kimyasal ajanların etkisi doza bağlı olarak değişmektedir. Salınan parçacıkların, antibakteriyel materyalin dozunu azaltmaksızın etkili ve yeterli olduğundan emin olmak zor olacaktır. Etkinin zamanla azalacağı varsayılmaktadır.<sup>4</sup> Ek olarak, salınan partiküllere çok dirençli bakterilerin gelişmesi ya da başka olumsuz reaksiyonların ortaya çıkması ciddi bir problemdir.<sup>65-67</sup>

## SONUÇ

Diş, restorasyon ve biyofilm arasındaki ilişki dinamik ve birbirlerinden etkilenmektedir. Restoratif materyaller üzerinde yapılacak düzenlemeler biyofilme bağlı gelişecek sekonder çürüğü önlemede umut vadetmektedir. Bu nedenle, yapılan restorasyonların uzun ömürlü olması ve biyofilmin önlenmesi konusundaki çalışmaların sürdürülmesi ve daha fazla klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

### Çıkar Çatışması

*Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.*

### Yazar Katkıları

*Fikir/kavram, tasarım, veri toplama ve/veya işleme, analiz ve/veya yorum, kaynak taraması, makalenin yazımı; Özgü İlkcan Orözü, veri toplama ve/veya işleme ve kaynak taraması; Berk Karadağlıoğlu, tasarım, denetleme/ danışmanlık, analiz ve/veya yorum ve eleştirel inceleme alanlarında Prof.Dr. Nuran Ulusoy katkıda bulunmuştur.*

## KAYNAKLAR

1. Adamczyk E, Spiechowicz E. Plaque accumulation on crowns made of various materials. *Int J Prosthodont* 1990;3(3):285-91.
2. Addy M, Bates JF. Plaque accumulation following the wearing of different types of removable partial dentures. *J Oral Rehabil* 1979;6(2):111-7.
3. Chan C, Weber H. Plaque retention on teeth restored with full-ceramic crowns: a comparative study. *J Prosthet Dent* 1986;56(6):666-71.
4. Øilo M, Bakken V. Biofilm and dental biomaterials. *Materials* 2015;8(6):2887-900.
5. Caldwell DE, Atuku E, Wilkie DC, Wivcharuk KP, Karthikeyan S, Korber DR, et al. Germ theory vs. community theory in understanding and controlling the proliferation of biofilms. *Adv Dent Res* 1997;11(1):4-13.
6. Wingender J, Neu TR, Flemming HC. What are bacterial extracellular polymeric substances? In: Wingender J, Neu TR, Flemming HC, eds. *Microbial Extracellular Polymeric Substances: Characterization, Structure and Function*. 1st ed. Berlin: Springer; 1999. p.1-19.
7. Nivens DE, Ohman DE, Williams J, Franklin MJ. Role of alginate and its O acetylation in formation of *Pseudomonas aeruginosa* microcolonies and biofilms. *J Bacteriol* 2001;183(3):1047-57.
8. Whitchurch CB, Tolker-Nielsen T, Ragas PC, Mattick JS. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science* 2002;295(5559):1487.
9. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(2):167-93.
10. Stewart PS, Peyton BM, Drury WJ, Murga R. Quantitative observations of heterogeneities in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol* 1993;59(1):327-9.
11. McLean RJ, Fuqua C, Siegele DA, Kirkland BL, Adams JL, Whiteley M. Biofilm growth and an illustration of its role in mineral formation. In: Bell C, Brylinsky M, Johnson-Green PC, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, eds. *Microbial Biosystems: New Frontiers: Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on Microbial Ecology*. 1<sup>st</sup> ed. Canada: Halifax, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology; 2000. p.255-61.
12. Tronstad L, Sunde PT. The evolving new understanding of endodontic infections. *Endod Top* 2003;6(1):57-77.
13. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(4):999-1007.
14. Spratt D, Pratten J. Biofilms and the oral cavity. *Rev Environ Sci Bio* 2003;2(2-4):109-20.
15. Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 2002;56(1):187-209.
16. Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol* 2009;28(8):405-11.
17. Filoche S, Wong L, Sissons CH. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J Dent Res* 2010;89(1):8-18.
18. Sbordone L, Bortolotta C. Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clin Oral Invest* 2003;7(4):181-8.
19. Marsh PD. Plaque as a biofilm: pharmacological principles of drug delivery and action in the sub-and supragingival environment. *Oral Dis* 2003;9(1):16-22.
20. Bartlett DW. The role of erosion in tooth wear: aetiology, prevention and management. *Int Dent J* 2005;55(4 Suppl 1):277-84.
21. von Fraunhofer JA, Loewy ZG. Factors involved in microbial colonization of oral prostheses. *Gen Dent* 2009;57(2):136-43.
22. Sachdeo A, Haffajee AD, Socransky SS. Biofilms in the edentulous oral cavity. *J Prosthodont* 2008;17(5):348-56.
23. Paranhos Hde F, da Silva CH, Venezian GC, Macedo LD, Souza RF. Distribution of biofilm on internal and external surfaces of upper complete dentures: the effect of hygiene instruction. *Gerodontology* 2007;24(3):162-8.
24. Morgan TD, Wilson M. The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *J Appl Microbiol* 2001;91(1):47-53.
25. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *J Dent Res* 2010;89(7):657-65.
26. Palmer RJ Jr. Supragingival and subgingival plaque: paradigm of biofilms. *Compend Contin Educ Dent* 2010;31(2):104-6.
27. Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2001;7(2):277-81.
28. Francolini I, Donelli G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010;59(3):227-38.
29. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res* 2006;17 Suppl 2):68-81.
30. Kolenbrander PE, Ganeshkumar N, Cassels FJ, Hughes CV. Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J* 1993;7(5):406-13.
31. Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE. Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996;50(1):513-52.
32. Steinberg D, Mor C, Dogan H, Zacks B, Rotstein I. Effect of salivary biofilm on the adherence of oral bacteria to bleached and non-bleached restorative material. *Dent Mater* 1999;15(1):14-20.
33. Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hammerle CH. Biofilm on dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24(4):616-26.
34. Aykent F, Yoldem I, Ozyesil AG, Gunal SK, Avunduk MC, Ozkan S. Effect of different finishing techniques for restorative materials on surface roughness and bacterial adhesion. *J Prosthet Dent* 2010;103(4):221-7.
35. Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater* 1997;13(4):258-69.
36. Dezelic T, Guggenheim B, Schmidlin PR. Multi-species biofilm formation on dental materials and an adhesive patch. *Oral Health Prev Dent* 2009;7(1):47-53.
37. İlday NÖ, Erdem V, Bayındır YZ. [The effect of various finishing/polishing procedures on the surface roughness of three different resin materials]. *Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg* 2008;18(1):19-24.
38. Pereira-Cenci T, Cenci MS, Fedorowicz Z, Marchesan MA. Antibacterial agents in composite restorations for the prevention of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;8(3):CD007819.
39. Allaker RP, Ren G. Potential impact of nanotechnology on the control of infectious diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008;102(1):1-2.
40. Auschill TM, Arweiler NB, Brex M, Reich E, Sculean A, Netuschil L. The effect of dental restorative materials on dental biofilm. *Eur J Oral Sci* 2002;110(1):48-53.
41. Chen HM, Wang Y, Su LH, Chiu CH. Nontyphoid salmonella infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatr Neonatol* 2013;54(3):147-52.
42. Imazato S. Bio-active restorative materials with antibacterial effects: new dimension of innovation in restorative dentistry. *Dent Mater J* 2009;28(1):11-9.



43. Carlén A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 2001;22(5):481-7.
44. Hahn R, Weiger R, Netuschil L, Bruch M. Microbial accumulation and vitality on different restorative materials. *Dent Mater* 1993;9(5):312-6.
45. Netuschil L, Reich E, Unteregger G, Sculean A, Brex M. A pilot study of confocal laser scanning microscopy for the assessment of undisturbed dental plaque vitality and topography. *Arch Oral Biol* 1998;43(4):277-85.
46. Steinberg D, Eyal S. Early formation of *Streptococcus sobrinus* biofilm on various dental restorative materials. *J Dent* 2002;30(1):47-51.
47. Larson TD. Why do we polish? Part one. *Northwest Dent* 2010;90(3):17-22.
48. Auschill TM, Artweiler NB, Netuschil L, Brex M, Reich E, Sculean A. Spatial distribution of vital and dead microorganisms in dental biofilms. *Arch Oral Biol* 2001;46(5):471-6.
49. Singh AV, Vyas V, Patil R, Sharma V, Scopelitti PE, Bongiorno G, et al. Quantitative characterization of the influence of the nanoscale morphology of nanostructured surfaces on bacterial adhesion and biofilm formation. *PLoS One* 2011;6(9):e25029.
50. Sakaguchi R, Powers J. *Craig's Restorative Dental Materials. The Oral Environment*. 13<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. p.19.
51. Kara NB, Reis AK, Yılmaz Y, Tosun İ. [In vitro study of *Candida albicans* adhesion and biofilm formation on various dental restorative material surfaces: a pilot study]. *Acta Odontol Turc* 2013;30(3):123-7.
52. Melo MA, Cheng L, Weir MD, Hsia RC, Rodrigues LK, Xu HH. Novel dental adhesive containing antibacterial agents and calcium phosphate nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2013;101(4):620-9.
53. Izutani N, Imazato S, Nakajo K, Takahashi N, Takahashi Y, Ebisu S, et al. Effects of the antibacterial monomer 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB) on bacterial viability and metabolism. *Eur J Oral Sci* 2011;119(2):175-81.
54. Carvalho FG, Puppini-Rontani RM, Fúcio SB, Negrini T de C, Carlo HL, Garcia-Godoy F. Analysis by confocal laser scanning microscopy of the MDPB bactericidal effect on *S. mutans* biofilm CLSM analysis of MDPB bactericidal effect on biofilm. *J Appl Oral Sci* 2012;20(5):568-75.
55. Zhang N, Melo MA, Weir MD, Reynolds MA, Bai Y, Xu HH. Do dental resin composites accumulate more oral biofilms and plaque than amalgam and glass ionomer materials? *Materials* 2016;9(11):888.
56. Montanaro L, Campoccia D, Rizzi S, Donati ME, Breschi L, Prati C, et al. Evaluation of bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* on dental restorative materials. *Biomaterials* 2004;25(18):4457-63.
57. Sarrett DC. Clinical challenges and the relevance of materials testing for posterior composite restorations. *Dent Mater* 2005;21(1):9-20.
58. Wiegand A, Buchalla W, Attin T. Review on fluoride-releasing restorative materials--fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater* 2007;23(3):343-62.
59. Beyth N, Farah S, Domb J, Weiss EI. Antibacterial dental resin composites. *React Funct Polym* 2014;75:81-8.
60. Hasan J, Crawford RJ, Ivanova EP. Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. *Trends Biotechnol* 2013;31(5):295-304.
61. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent Mater* 2014;30(2):e1-16.
62. Weng Y, Howard L, Guo X, Chong VJ, Gregory RL, Xie D. A novel antibacterial resin composite for improved dental restoratives. *J Mater Sci Mater Med* 2012;23(6):1553-61.
63. Cheng L, Weir MD, Xu HH, Kraigsley AM, Lin NJ, Lin-Gibson S, et al. Antibacterial and physical properties of calcium-phosphate and calcium-fluoride nanocomposites with chlorhexidine. *Dent Mater* 2012;28(5):573-83.
64. Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*. *Restor Dent Endod* 2014;39(2):109-14.
65. Gnanadhas DP, Marathe SA, Chakravorty D. Biocides--resistance, cross-resistance mechanisms and assessment. *Expert Opin Inv Drug* 2013;22(2):191-206.
66. Wataha JC. Predicting clinical biological responses to dental materials. *Dent Mater* 2012;28(1):23-40.
67. Ahamed M, Alsalthi MS, Siddiqui MK. Silver nanoparticle applications and human health. *Clin Chim Acta* 2010;411(23-24):1841-8.