



УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ – СКОПЈЕ

СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ – СКОПЈЕ

Катедра за детска и превентивна стоматологија

Александар Димков

**ХЕМИСКИ И МИКРОБИОЛОШКИ АСПЕКТИ НА  
ВГРАДУВАЊЕТО АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА  
ВО ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

ментор проф. д-р Снежана Иљовска

Скопје, 2011 година

## Наместо благодарности

Почитувани професори и колеги. Ми преиславува чести и задоволство што моето високо образование го остварив, а со овој труд, и ќе го заокружам на нашата факултет. Практичниот знаење, но и научно-истражувачкиот начин на работа во најголем дел го стекнав овде, учејќи од вас. Ви благодарам...

Голема чести и привилегија преиславува можноста да се работи со човек – научник во висок смисла. Идеите, насоките и начинот на работа, кои ми ги посочуваше Prof. dr John W. Nicholson, ми беа високостепенски показатели во остварувањето на целта. Се надевам дека научната соработка ќе продолжи уште многу години...

Високостепенска и тојла благодарност ја должам на мојата драга колешка Доц. др Елизабета Горгиевска која го иницираше моето на меѓународната соработка со Велика Британија и која ми ја даде првичната идеја за овој труд. Нејзиното меѓународно искуство, консултивниот совет, помошта и поддршката во многу придонесоа за конечниот изглед на овој труд.

Голема благодарност до мојата менторка Проф. др Снежана Иљовска за корисните забелешки, научните упатства и зборовите на поддршка во секој сегмент на мојата стручно-научна надградба.

Тојла и искрена благодарност до Проф. др Никола Пановски за безрезервната помош и даденото знаење во изработката на микробиолошкиот дел од овој труд.

Особено ја ценам помошта на асистент др Ана Кафтанџиева од Институтот за микробиологија и паразитологија, како и на dr Samantha Booth од Универзитетот во Гринвич.

Голема благодарност до Проф. др Розалинда Исијановска од Институтот за епидемиологија со биостатистика и медицинска информатика за помошта при статистичката обработка на податоците.

Им благодарам на колегите од Клиниката за детска и превентивна ситологија, а особено на колегите од "Лекарска 9" за приемот и разбирањето.

Благодарност за колежните докторанти од Универзитетот во Гринвич. Нивната ведрина, позитивна енергија и колежност ќе ми останаат во длабоко сеќавање.

Тојлината, љубовта и поддршката од фамилијата се бесценети. Љубовта и силата кои ги добивам од моите најсвиетни нешта, сојузата Искра и принцезите Јана и Неда, за сè во живојот нека ги заменат зборовите на благодарност, затоа што така зборови не постојат.

Мамо и тато, иако ова не го читаат, чувствувам дека го гледаат... Почнав додека бев со мене, завршувам без вас... Ви благодарам за сè... Бидете горди и само каде што сте...

*НА МОИТЕ РОДИТЕЛИ*

## СОДРЖИНА

Апстракт .....	i
Abstract .....	vi
I. УВОД .....	1
II. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД .....	6
1. Дентален кариес .....	7
1.1. Социјално-медицински аспекти на денталниот кариес .....	7
1.2. Што е денталниот кариес? .....	7
2. Микроорганизмите и денталниот кариес .....	10
2.1. Орална микробиолошка флора .....	10
2.1.1. Главни причинители на денталниот кариес – група на <i>viridans</i> стрептококи, <i>lactobacillus</i> и <i>actinomycetes</i> .....	11
2.1.1.1. Значењето на <i>streptococcus mutans</i> во настанувањето на денталниот кариес .....	14
2.1.1.2. Значењето на <i>streptococcus sobrinus</i> во настанувањето на денталниот кариес .....	16
2.1.1.3. Значењето на <i>lactobacillus species</i> во настанувањето на денталниот кариес .....	17
2.1.1.4. Значењето на <i>actinomyces</i> во настанувањето на денталниот кариес .....	18
3. Биолошки механизми за заштита на оралната празнина .....	19
3.1. Мукозно-емајлова бариера .....	19
3.2. Протективна улога на плунката .....	20
3.3. Улогата на плунката во реминерализацијата .....	20
3.4. Антимикробна улога на плунката .....	21
4. Антимикробни соединенија .....	21
4.1. Хлорхексидин .....	23
4.2. Квартарни амониумови соединенија .....	25
4.2.1. Цетилпиридиумхлорид .....	26
4.2.1.1. Физички и хемиски карактеристики на цетилпиридиумхлоридот .....	27
4.2.2. Бензалкониумхлорид .....	27
4.2.2.1. Физички и хемиски карактеристики на бензалкониумхлоридот .....	27
5. Глас-јономер цементи .....	28
5.1. Глас-јономер цементи – преглед .....	29
5.2. Идентификација и класификација на глас-јономер цементите .....	30
5.2.1. ГЦ-прашок .....	32
5.2.2. ГЦ-течност .....	32
5.2.3. Ацидо-базна реакција .....	33
5.3. Глас-јономер цементи – матрица за ослободување на антимикробни компоненти .....	33

5.3.1. Флуоридите како антими­кробни компоненти .....	33
5.3.2. Други антими­кробни соединенија .....	34
5.4. Дел од начините за хемиско-механичка анализа на глас-јономер цементите .....	37
5.4.1. ЈСЕ јон-селективна електрода .....	37
5.4.2. Ув-вид. спектрофотометрија .....	37
5.4.3. Сила на компресија .....	38
6. Атрауматски реставративен третман (АРТ) .....	41
III. ЦЕЛИ .....	44
IV. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД .....	47
1. Материјал .....	48
1.1. Комерцијално достапни глас-јономер цементи .....	48
1.1.1. Карактеристики и состав на глас-јономер цементот Fuji IX .....	49
1.1.2. Карактеристики и состав на ChemFlex .....	49
1.2. Експериментален глас-јономер цемент MP4 .....	50
1.3. Антими­кробни соединенија .....	51
1.3.1. Цетилпиридиниумхлорид (Cetylpyridinium Chloride) .....	51
1.3.2. Бензалкониумхлорид (Benzalkonium Chloride) .....	52
1.4. Колонии на микроорганизми .....	52
1.4.1. <i>Streptococcus mutans</i> .....	53
1.4.2. <i>Lactobacillus casei</i> .....	53
1.4.3. <i>Actinomyces viscosus</i> .....	53
1.5. Бактериски подлоги .....	54
2. Методи и техники .....	54
2.1. Хемиски анализи .....	54
2.1.1. Приготвување на примероците и инкорпорирање на антими­кробните компоненти .....	54
2.1.2. Одредување на јони со помош на јон-селективни електроди .....	58
2.1.2.1. Карактеристики на хлоридна јон-селективна електрода .....	58
2.1.2.2. Карактеристики на флуоридна јон-селективна електрода .....	59
2.1.3. УВ-спектрофотометриски анализи – одредување на антими­кробните соединенија .....	60
2.1.3.1. Карактеристики на ув/вид.-спектрофотометар .....	60
2.1.4. УВ-спектрофотометриски анализи – одредување на антими­кробните соединенија – со промена на медиум .....	63
2.1.5. Хемиски анализи со експерименталниот глас-јономер цемент MP4 .....	64
2.2. Физичко-механички анализи .....	65
2.2.1. Одредување на времето на врзување .....	65
2.2.2. Мерење на силата на компресија .....	66
2.3. Микробиолошки анализи .....	68
2.3.1. Подготвување на бактериски инокулум .....	68
2.3.2. Аплицирање на примероците .....	69

2.3.3.	Испитување на одложено дејство на антимикробните средства во примероците .....	70
2.3.4.	Одредување на антибактериското дејство на примероците .....	71
2.3.5.	Фази во подготовката на примероците за бактериолошки иследувања .....	71
3.	Статистичка обработка на податоци .....	72
V.	РЕЗУЛТАТИ .....	73
1.	Хемиски анализи .....	74
1.1.	Одредување на јони со јон-селективни електроди (ЈСЕ) .....	74
1.1.1.	Одредување на хлоридни (Cl <sup>-</sup> ) јони од глас-јономер цементи .....	74
1.1.2.	Одредување на флуоридни (F <sup>-</sup> ) јони од глас-јономер цементи .....	80
1.2.	Одредување на антимикробни соединенија – без промена на медиум (кумулятивен ефект) .....	90
1.3.	Одредување на антимикробни соединенија – со промена на медиум во одредени временски интервали .....	100
1.4.	Хемиски анализи со експериментален глас-јономер цемент МР4 .....	103
2.	Механички анализи .....	111
2.1.	Одредување на сила на компресија .....	111
2.2.	Одредување на време на врзување .....	114
3.	Микробиолошки анализи .....	115
3.1.	Одредување на зони на инхибиција .....	115
3.2.	Графички прикази на дејството на комбинациите од глас-јономер цементи со антимикробни соединенија врз испитуваните кариогени микроорганизми .....	135
3.3.	Графички прикази на ефектите врз испитуваните бактерии во зависност од концентрациите на антимикробните соединенија .....	141
3.4.	Графички прикази на вкупните просечни ефекти врз испитуваните кариогени микроорганизми .....	145
VI.	ДИСКУСИЈА .....	148
1.	Хемиски анализи .....	149
1.1.	Одредување на јони со јон-селективни електроди .....	149
1.2.	Одредување на антимикробни соединенија (Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride) – кумулативен ефект .....	155
1.3.	Одредување на антимикробни соединенија со промена на медиум во одредени временски интервали .....	161
1.4.	Хемиски анализи со експерименталниот глас-јономер цемент МР4 .....	163
2.	Механички анализи .....	166
2.1.	Одредување на сила на компресија .....	166
2.2.	Одредување на време на врзување .....	170
3.	Микробиолошки анализи .....	172
VII.	ЗАКЛУЧОЦИ .....	179
	Користена литература .....	184

## АПСТРАКТ

Со оглед на фактот дека современата стоматолошка наука го разгледува денталниот кариес како хронична развојна инфекција предизвикана пред сè од нормалната коменсална орална флора, со т.н. микробиолошка дефиниција, денталниот кариес се дефинира како локализирана деструкција на денталните ткива под влијание на микроорганизмите. Од превентивен аспект постојат огромен број производи, комерцијални или професионални, кои во својот состав имаат вградено една или повеќе различни антимикробни компоненти, како што се: флуорот, хлорхексидинот, цетилпиридиниумхлоридот, бензалкониумхлоридот, триклозанот, листеринот и ксилитолот. Цетилпиридиниумхлоридот, како активна состојка на оралните антисептици, има широк антимикробен спектар со силен бактерициден ефект врз *Gram*<sup>+</sup> патогеници и фунгициден ефект врз габите. Неговата ефикасност против *Gram*<sup>-</sup> патогеници и микобактериите не е докажана. Бензалкониумхлоридот претставува главно антиминобно средство во голем број паста за заби и плакначи за уста, со силен антимикробен ефект врз голем број микроорганизми.

Поради релативно честата појава на рекурентниот кариес по реставративниот третман, како и поради огромниот број кариогени микроорганизми присутни во оралната празнина, а кои претставуваат потенцијален ризик-фактор за настанување на нови кариозни лезии, сè поголемо внимание се насочува и кон превентивните и кон терапевтските антимикробни аспекти на реставративните материјали. Покрај ослободувањето на флуоридните јони, а за зголемување на антимикробните особини, ГЈЦ-и потенцијално можат да бидат искористени како матрици за ослободување на други активни антимикробни состојки. За жал, постојат многу мал број литературни податоци за инкорпорација на други антимикробни компоненти во ГЈЦ-ите. Иако дел од нив имаат потврден ефект во редукцијата на кариогената саливарна флора, употребени во плакначите за уста или во пастите за заби, сепак резултатите за нивно вградување во глас-јономерните цемента се сè уште оскудни.

Оттука, мотивот на докторската дисертација беше добивање на антимикробен глас-јономер цемент кој ќе ги задоволува сите особини на глас-јономер цементите, но ќе дејствува и антимикробно врз кариогената флора.

Поставената цел беше реализирана преку следниве биохемиски, механички и микробиолошки анализи:

- Инкорпорирање на различни концентрации на антимикробни соединенија во комерцијални глас-јономер цемента и во експериментален глас-јономер цемент;
- Одредување на ефектите од инкорпорираниите антимикробни компоненти врз физичките карактеристики на комерцијалните глас-јономер цемента преку одредување на времето на врзување;
- Одредување на ефектите од инкорпорираниите антимикробни компоненти врз механичките карактеристики на комерцијалните глас-јономер цемента преку одредување на силата на компресија;

- Мерење на нивото на ослободени флуоридни (F<sup>-</sup>) и хлоридни (Cl<sup>-</sup>) јони од комерцијалните ГЈЦ-и, во медиум од дејонизирана вода во различни временски периоди со помош на јон-селективни електроди (кумулятивен ефект);
- Мерење на ниво на ослободени флуоридни (F<sup>-</sup>) и хлоридни (Cl<sup>-</sup>) јони од комерцијалните ГЈЦ-и, во медиум од дејонизирана вода во различни временски периоди со помош на јон-селективни електроди, но со промена на медиумот пред секој мерен период;
- Мерење на нивото на ослободени хлоридни (Cl<sup>-</sup>) јони од експериментален ГЈЦ, во медиум од дејонизирана вода во различни временски периоди со помош на јон-селективни електроди;
- Мерење на количината на ослободените антимикуробни компоненти од комерцијалните глас-јономер цементи како и од експерименталниот глас-јономер цемент, со претходно инкорпорирани различни проценти на антимикуробни соединенија, со помош на ултравиолетова видлива спектрофотометрија;
- Одредување и споредба на зоните на инхибиција на глас-јономер цементите со инкорпорирани антимикуробни соединенија;
- Меѓусебна компарација на антимикуробните ефекти на комерцијално достапни ГЈЦ-и.

За реализирање на поставените цели беа користени: конвенционални, комерцијално достапни глас-јономер цементи (Fuji IX и ChemFlex); експериментален глас-јономер цемент (MP4); антимикуробни соединенија (Cetylpyridinium Chloride и Benzalkonium Chloride); колонии на микроорганизми и бактериски подлоги. Во микробиолошките анализи беа користени референтни соеви на *Streptococcus mutans* – ATCC 25175, *Lactobacillus casei* – ATCC 4646 и *Actinomyces viscosus* – ATCC 19246. Како бактериски подлоги беа користени: мозочно срцев инфузионен бујон, готови подлоги за освежување на лиофилизираните соеви, за подготовка на бактериски инокулум и супкултивирање на соевите – вкупно 96 подлоги; Шедлеров агар со додаток на овнешка крв, готови подлоги разлиени во Петриеви плочи со дијаметар од 90 мм. Вкупно за агар дифузиониот тест беа употребени 144 цврсти подлоги.

Примероците од ГЈЦ-и без инкорпорирано антимикуробно средство беа приготвени со мешање на одредена количина на прашок и течност на стаклени плочки за мешање, користејќи метална шпатула (според упатствата на производителите). Свежо замешаната паста се ставаше во специјални метални модли со димензии од 6 мм висина и 4 мм дијаметар. Модлите од обете страни се затвораа со метални плочки и се ставаа во специјални стеги. Потоа примероците беа ставени во инкубатор на 37°C во времетраење од еден час (време на матурација). По вадењето од инкубатор, примероците беа вадени од стегите и модлите и ставани во претходно означени пластични лабораториски туби со по 5 ml дејонизирана вода. Антимикуробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride прво со мешање се вградуваа во полиакрилатната киселина од глас-јономер цементите, а потоа постепено, порција по порција, во киселината со замешаното антимикуробно соединение беше додаван прашокот, мешајќи ги до потполно заситување. Беа додавани строго одредени количини на антимикуробната компонента, почнувајќи од 1%, 2% и 3% од тежината на самиот цемент. Според анализите, 1% е еквивалентен на 0,0022 г; 2% се еквивалентни на 0,0044 г и 3% се еквивалентни на 0,0066 г од глас-јономер цементот ChemFlex, додека пак за ГЈЦ Fuji IX употребен во анализите, процентуалната вредност на вградените антимикуробни соединенија во грами е: за 1%

– 0,0032 г; за 2% – 0,0064 г и за 3% – 0,0128 г од вкупната маса на цементот. Вкупно за хемиските анализи беа подготвени 300 примероци.

Количините на ослободените хлоридни и флуоридни јони беа одредени во поден медиум со помош на специфични јон-селективни електроди во следниве временски периоди: веднаш, по 15, 30, и 45 мин., 1, 2, 3, 4, 24, 48 часа, како и по 4, 5, 6 и 7 дена.

Одредувањето на количината на антимицробните соединенија (Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride) се изведе со помош на УВ/вид.-спектрофотометар, сетран со брановата должина на максималната апсорпција за Benzalkonium Chloride од 214 nm, и за Cetylpyridinium Chloride од 259 nm. Мерењата се спроведоа во 9 последователни временски интервали и тоа: 15, 30, 45 мин., 1, 2, 3, 4, 24 часа, и 7 дена. За време на тој период дејонизираната вода во која се складирали примероците не се менуваше (кумулативен ефект).

Одредувањето на антимицробните соединенија со промена на медиумот, т.е. дејонизираната вода, се изведе на репрезентативни примероци (по шест примероци со два проценти антимицробни соединенија) во осум последователни периоди, т.е. по 15 минути, потоа на секој час, до четири часа, двапати по 24 часа и по 48 часа.

Одредувањето на времето на врзување се изведе со помош на Гилмор (Gilmore) игла.

Примероците за одредување на силата на компресија беа приготвени на истиот начин како и примероците за биохемиските анализи. По приготвувањето, примероците беа складирали во медиум од дејонизирана вода во означени пластични лабораториски туби, во период од 24 часа на температура од 22 до 25°C. Силата на компресија беше мерена со помош на Универзална тест машина со крос-хед брзина од 1 мм/мин.

Анализите со експерименталниот ГЈЦ МР4 беа спроведени на репрезентативни примероци од по шест во група со додавање на 2% антимицробни соединенија. Се анализираше ослободувањето на хлоридни јони, како и ослободувањето на антимицробните соединенија.

Линофилизираните референтни соеви се инокулираат во ВНВ (Brain Heart Infusion Broth), и се инкубираат во анаеробна атмосфера на 37°C, 48 часа. Од пораснатите бактерии во течната подлога турбидиметриски се сетира густината на инокулумот соодветна на Mc Farland 2 стандардот. Потоа на претходно обележениот Шедлеров агар се разливаат со помош на брис 350 µL од бактериската суспензија рамномерно низ целата подлога. По инокулацијата се чека 15 минути да се впије бактериската суспензија во подлогата и со помош на стерилни пластични цевчиња се прават бунарчиња во подлогата, длабоки 3 мм и широки 3,5 мм. Вкупно се прават по 7 бунарчиња на една подлога, 6 на периферијата и едно во центарот. Растојанието помеѓу секое соседно бунарче е точно 30 мм, а помеѓу бунарчињата на периферијата и ѕидот на плочата 15 мм. На секоја плоча се аплицираат по три примероци од ГЈЦ со по 1, 2 и 3% цетилпиридиниумхлорид и по три примероци од истиот ГЈЦ со по 1, 2 и 3% бензалкониумхлорид, а во центарот се вметнува примерокот без додаток на антимицробно средство, односно контролата. Подлогите се оставаат на собна температура 30 минути и потоа се инкубираат во анаеробна атмосфера, 48 часа на 37°C. Првото читање на инхибиторното дејство се означува како дејство во нулто време. Зоната на инхибиција беше одредувана со мерење на нејзиниот пречник во милиметри, со специјален инструмент. Во ширината на зоната беше земен предвид и дијаметарот на самиот примерок од 4 мм. Вкупниот број изготвени примероци изнесуваше 252.

Ослободувањето на хлоридни јони од двата анализирани глас-јономер цемента инкорпориран со антимикробните соединенија е право пропорционално со порастот на концентрацијата на соединенијата. Глас-јономер цементите без вградено антимикробно соединение ослободуваат хлоридни јони, но со помали вредности. При споредба на исти концентрации на антимикробни соединенија, поголемо ослободување на хлоридни јони од ГЈЦ-ите даваат комбинациите: 1% Benzalkonium Chloride, и 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride, вградени во ChemFlex и сите три концентрации со Benzalkonium Chloride вградени во Fuji IX. Од глас-јономер цементот Fuji IX се ослободуваат просечно повеќе хлоридни јони отколку од цементот ChemFlex, додека најголемо поединечно ослободување на хлоридни јони помеѓу сите комбинации, дава комбинацијата ChemFlex + 3 % Cetylpyridinium Chloride.

Ослободувањето на флуоридни јони од двата анализирани глас-јономер цемента инкорпориран со антимикробните соединенија е обратно пропорционално со порастот на концентрацијата на соединенијата, освен кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride. Глас-јономер цементите без вградено антимикробно соединение ослободуваат флуоридни јони, со поголеми вредности. При споредба на исти концентрации на антимикробни соединенија, поголемо ослободување на флуоридни јони од ГЈЦ-ите даваат комбинациите: 1% и 2% Cetylpyridinium Chloride, и 3% Benzalkonium Chloride, вградени во ChemFlex, и сите три концентрации со Benzalkonium Chloride вградени во Fuji IX. Од глас-јономер цементот ChemFlex се ослободуваат просечно повеќе флуоридни јони отколку од цементот Fuji IX. Глас-јономер цементот Fuji IX без инкорпорирано антимикробно соединение, просечно ослободува повеќе хлоридни јони, додека ГЈЦ ChemFlex просечно ослободува повеќе флуоридни јони.

Антимикробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride континуирано се ослободуваат од ГЈЦ-ите со вредности коишто се право пропорционални и со времето и со концентрацијата, со исклучок на комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride. При споредба на исти концентрации, просечно поголемо ослободување кај ChemFlex дава 1% и 2% Benzalkonium Chloride, и 3% Cetylpyridinium Chloride, додека кај Fuji IX поголемо просечно ослободување кај сите концентрации дава Benzalkonium Chloride. Просечно поголемо ослободување на антимикробни соединенија постои кај комбинациите со ГЈЦ Fuji IX во однос на ГЈЦ ChemFlex, а поединечно најголемо ослободување се јавува кај 1% Benzalkonium Chloride вграден во ГЈЦ-от Fuji IX, додека најмало ослободување постои кај соединението 1% CPC во комбинација со истиот цемент.

Добиените вредности од ослободувањето на антимикробните соединенија при промена на медиум се во просек помали од вредностите добиени при анализа на кумулативниот ефект. Најголеми вредности во одредени периоди дава комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, додека најголемо просечно ослободување на антимикробни соединенија дава комбинацијата ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride.

Глас-јономер цементот MP4 во комбинација со антимикробните соединенија ослободува високи нивоа на хлоридни јони, кои во комбинација со Benzalkonium Chloride во просек се поголеми отколку со CPC. Во споредба со конвенционалните цемента, MP4 дава сигнификантно поголемо ослободување и на хлоридни јони и на антимикробни соединенија.

Силата на компресија опаѓа со зголемување на концентрацијата на антимикробните соединенија, освен кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium

Chloride. Комбинациите и на двата ГЛЦ-и со Benzalkonium Chloride покажуваат просечно поголема сила на компресија во однос на комбинациите со Cetylpyridinium Chloride. Просечно најголема сила на компресија има комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride, а најслаба комбинацијата ChemFlex + CPC.

Со зголемување на концентрацијата на антимикробните соединенија се зголемуваат и просечните зони на инхибиција кон трите анализирани микроорганизми. Глас-јономер цементите без вградени антимикробни соединенија или формираат многу мали или воопшто не формираат зони на инхибиција. Од согледаниот ефект на антимикробните соединенија врз испитуваните бактерии, можеме да заклучиме дека врз бактеријата *Streptococcus mutans* и *Actinomyces viscosus* најдобро дејствува комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, а најслабо дејство има комбинацијата Fuji IX + CPC. Врз бактеријата *Lactobacillus casei*, исто така најдобро дејствува комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, но најслабо дејство има комбинацијата ChemFlex + CPC. Антимикробното соединение Benzalkonium Chloride има поголем антимикробен ефект од Cetylpyridinium Chloride, а ГЛЦ ChemFlex има поголемо ослободување на антимикробни соединенија отколку Fuji IX, од што може да се заклучи дека генерално најдобро дејство врз сите испитувани кариогени микроорганизми има комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, а најслабо Fuji IX + CPC.

## ABSTRACT

With respect to the fact that contemporary dental science considers dental decay to be a chronically developing infection caused, above all, because of normal commensally oral flora, the microbiological definition defines the dental decay as a localized destruction of dental tissues caused by microorganisms. Antimicrobial agents are chemical compounds or substances that kill microorganisms or inhibit their growth. From a preventive viewpoint there is an enormous number of products, both commercial and professional, which have in their structure one or several different antimicrobial components. As main examples we could cite fluorine, chlorhexidine, Cetylpyridinium Chloride, Benzalkonium Chloride, Triclosan, Listerine, and xylitol. Cetylpyridinium Chloride (CPC), as an active component of oral antiseptics, has a broad antimicrobial spectrum with a strong bactericidal effect on *gram*<sup>+</sup> pathogenics and a fungicidal effect on fungi. Its effectiveness against *gram*<sup>-</sup> pathogenics and mycobacterium is questionable. Benzalkonium Chloride is the major antimicrobial means in numerous toothpastes and rinses with strong antimicrobial effect against large number of microorganisms.

Because of the relatively frequent occurrence of recurrent caries after a restorative treatment, and because of the huge number of cariogenic microorganisms present in the oral cavity, which present a potential risk-factor regarding the development of new carious lesions, attention has increasingly been directed toward therapeutic antimicrobial effects of restorative materials. In addition to the release of fluoride ions, GICs can potentially be used as templates for the release of other active antimicrobial components. Unfortunately, there is a very low number of data in the literature referring to the incorporation of other antimicrobial components in GICs. Although a part of them have a confirmed effect in the reduction of cariogenic salivary flora when used in rinses or toothpastes, the results regarding their incorporation in glass-ionomer cements are still scarce.

This was the very motivation for the dissertation – to obtain an antimicrobial glass ionomer cement which will satisfy all characteristics of glass-ionomer cements, but will also act in an antimicrobial manner on the cariogenic flora.

The assigned goal was realized with the following biochemical, mechanical and microbiological analysis:

- Incorporating various concentrations of antimicrobial components into commercial glass-ionomer cements and into an experimental glass-ionomer cement;
- Determining the effects of incorporated antimicrobial components on the physical characteristics of the commercial glass-ionomer cements through measurements of the setting time;
- Determining the effects of incorporated antimicrobial components on the mechanical characteristics of the commercial glass-ionomer cements through determination of the compressive strength;
- Determining the level of release of fluoride and chloride ions from commercial glass-ionomer cements in a medium of deionised water in different time periods using ion selective electrodes (cumulative effect);

- Determining the level of release of fluoride and chloride ions from commercial glass-ionomer cements in a medium of deionised water in different time periods using ion selective electrodes, while changing the medium before each measurement period;
- Determining the level of release of chloride ions from experimental glass-ionomer cement in a medium of deionised water in different time periods using ion selective electrodes;
- Measuring the quantity of released antimicrobial components from the commercial and from the experimental glass-ionomer cements previously incorporated with different concentrations of antimicrobial agents, using UV visible spectrophotometry;
- Determining and comparison of the inhibition zones of glass-ionomer cements incorporated with antimicrobial agents on cariogenic microorganisms (*Streptococcus mutans*, *Lactobacillus species* and *Actinomyces viscosus*);
- Mutually comparing the antimicrobial effects of commercially available GICs.

To accomplish the set goal, we used: conventional commercially available glass-ionomer cements, experimental glass-ionomer cement, antimicrobial compounds, factory prepared colonies of microorganisms and bacterial growth mediums. The conventional glass-ionomers were ChemFlex and Fuji IX, while the experimental cement was MP4. The used antimicrobial agents were Cetylpyridinium Chloride and Benzalkonium Chloride. In the microbiological analysis we used *Streptococcus mutans* (ATCC - 25175), *Lactobacillus casei* (ATCC - 4646) and *Actinomyces viscosus* (ATCC - 19246). As bacterial growth mediums we used Brain Heart Infusion broth, ready to use growth medium for lyophilize stocks refreshing, for preparing the bacterial inoculums and for the subcultivation of the species - 96 growth mediums in total; Shaedler agar with addition of sheep blood, ready to use Petri dishes with a diameter of 90 mm. For the agar diffusion test we used 144 hard growth mediums.

The specimens of GICs without antimicrobial agents were prepared by mixing certain amount of powder and liquid on mixing glass plates by means of a metal trowel (according to the manufacturers' instructions for each of the glass-ionomer cements used). The freshly mixed paste was put into 6 mm high metal molds having 4 mm in diameter. The molds had been closed by metal plates on both sides, placed in special clamps and then placed in an incubator at 37°C for one hour (maturation time). After their removal from the incubator, the specimens were taken out from the clamps and molds, and stored individually in separate marked plastic tubes with 5 ml deionized water at a temperature of 22-24°C and at an air humidity of 40-50%. The antimicrobial compounds Benzalkonium Chloride and Cetylpyridinium Chloride were first incorporated into the glass-ionomer cement's polyacrylic acid by mixing, and then the powder was added gradually, to the previously prepared acid and antimicrobial compound mixture, and they were mixed together until complete saturation. The antimicrobial agents were added in strict portions of 1, 2 and 3 % of the weight of the cement. Preceding analyses had determined the concentrations of 1, 2 and 3% of Benzalkonium Chloride to be equivalent to 0.0022 g, 0.0044 g and 0.0066 g, respectively, and the concentrations of 1%, 2% and 3% of Cetylpyridinium Chloride to be equivalent to 0.0032 g, 0.0064 g and 0.0128 g of the whole cement mass. For the chemical analysis 300 specimens were prepared in total.

The quantities of released chloride and fluoride ions were determined in a medium of deionised water using specific ion-selective electrodes at various time intervals as follows: immediately, after 15 minutes, after 30 minutes, 45 minutes, and after 1, 2, 3, 4, 24 and 48 hours, and after 4, 5, 6 and 7 days.

The determination of the quantity of the antimicrobial agents was done by a UV-vis Spectrophotometer, set to a detection wavelength of maximal absorption (214 nm) for

Benzalkonium Chloride, and 259 nm for Cetylpyridinium Chloride. The measurements were conducted in 9 consequent time intervals: after 15 minutes, after 30 minutes, 45 minutes, and after 1, 2, 3, 4, 24 and after 7 days. During the entire period, the deionized water, where the samples had been stored, was not changed (cumulative effect).

The determination of the quantity of the antimicrobial agents in the case when the medium was being changed was done on the representative specimens (by six specimens with 2% antimicrobial agents), in 8 consequent periods i.e. after 15 minutes, on every hour until four hours, twice an 24 hours and after 48 hours.

The determination of the setting time was done using a Gilmore needle.

The specimens for the compressive strength determination were prepared in the same way as the specimens for the chemical analysis, described previously. After preparation, the specimens were stored individually in separate marked plastic tubes with 5 ml deionized water at a temperature of 22-24°C for 24 hours. The compressive strength was measured with the Instron Universal Testing Machine, with a cross-head speed of 1 mm /min.

The analysis with the experimental GIC MP4 were conducted on representative specimens in clusters of six by addition of 2% antimicrobial agents. Releasing of chloride ions, as well as releasing of antimicrobial agents were analyzed.

The bacterial strains were inoculated into BHIB, and incubated in the anaerobic atmosphere at 37°C for 48h. In the liquid growth mediums, the density of the inoculums were adjusted equivalent on McFarland 2 standard. In previously marked Shaedler agar, 350 µL bacterial suspension were equally spread, using smear. After inoculation, and after a waiting period of 15 minutes for the agar plate to absorb the bacterial suspension, sterile plastic tubes were used to make wells, 3 mm deep and 3.5 mm wide, into the agar plate. A total of 7 wells were prepared on each dish, 6 along the perimeter and one in the center. The distance between the wells was 30 mm, and the distance between the wells and wall of the dish was 15 mm. On each dish, three specimens having 1, 2 and 3% of CPC, respectively, and another three samples having the corresponding percentages of Benzalkonium Chloride were applied, along with one control sample in the center. The Petri dishes were left for 30 min at room temperature, and incubated anaerobically at 37°C for 48 hours. The first reading of the inhibitory effect was denoted as the effect at zero time. The sizes of the inhibition zones were calculated by subtracting the diameter of the specimen (4 mm) from the diameters of the zones of inhibition produced around the specimens, which were measured with a special instrument. A total of 252 specimens were prepared.

The releasing of chloride ions from both glass-ionomer cements incorporated with antimicrobial compounds is proportional to the increase in their concentration. GICs without antimicrobial agents release chloride ions, but in lower amounts. Comparing the same concentrations of the antimicrobial agents from GICs, higher chloride release is found out from 1% Benzalkonium Chloride, and from 2% and 3% - Cetylpyridinium Chloride, incorporated in ChemFlex, and all Benzalkonium Chloride concentrations incorporated in Fuji IX. Glass-ionomer cement Fuji IX in average releases more chloride ions than ChemFlex, while the highest individual release of the same ions among all combinations, are seen from ChemFlex + 3% CPC.

The releasing of fluoride ions from both analyzed glass-ionomer cements incorporated with antimicrobial compounds, is reciprocal to the increase in their concentration, except in ChemFlex + Benzalkonium Chloride. GICs without incorporated antimicrobial agents, release fluoride ions in higher amounts. Comparing the same concentrations of the antimicrobial agents from GICs, higher fluoride release is found out from 1% and 2% Cetylpyridinium Chloride and from 3% Benzalkonium Chloride incorporated in ChemFlex, and from all Benzalkonium Chloride

concentrations incorporated in Fuji IX. Glass-ionomer cement ChemFlex in average releases more fluoride ions than Fuji IX. Comparing both glass-ionomer cements without antimicrobial agents, in average, Fuji IX releases more chloride but, ChemFlex releases more fluoride ions.

The glass-ionomers continuously released both antimicrobial agents with amounts which were proportional to the periods, and the concentrations respectively, with the exception of Fuji IX + Benzalkonium Chloride. Comparing the equal concentrations of the antimicrobial agents, ChemFlex exhibits a higher release of 1% and 2% Benzalkonium Chloride, and 3% of CPC in average, while Fuji IX demonstrates a higher amount of Benzalkonium Chloride in all concentrations. Comparing both combinations of glass-ionomer cements/antimicrobial agents, Fuji IX releases more antimicrobial compounds than ChemFlex, in average. GIC Fuji IX for 1% Benzalkonium Chloride exhibits the highest individual release, while the same cement for 1% CPC exhibits the lowest release of the agents.

The values obtained for the release of antimicrobial agents with changing medium are lower than the values obtained from the analysis of the cumulative effects, in the average. The combination of ChemFlex + Benzalkonium Chloride exhibits the highest values for the certain periods, while the highest release of antimicrobial agents are shown for the combination ChemFlex + CPC, in the average.

The combinations of experimental GIC MP4 and antimicrobial agents, released a high level of chloride ions. The average values are higher for the combination with Benzalkonium Chloride than CPC. When compared with the conventional cements, MP4 exhibits a significantly higher release of chloride ions and antimicrobial agents.

The increase in the antimicrobial agents concentration leads to a decrease in the specimens compressive strength, except for the ChemFlex/Benzalkonium Chloride combinations. The combinations of both GICs with Benzalkonium Chloride exhibit higher compressive strengths than the combinations with CPC in the average. Fuji IX + Benzalkonium Chloride gives the highest average value of compressive strength among all combinations, while the weakest compressive strength is seen for the combination of ChemFlex + CPC.

Higher concentrations of the antimicrobial agents cause larger inhibition zones for all three analyzed microorganisms. Glas-ionomer cements without antimicrobial agents produce either very small inhibition zones or none at all. On the basis of the effect of antimicrobial agents on analyzed bacteria, the following can be concluded: ChemFlex/Benzalkonium Chloride has the best effect on *Streptococcus mutans* and *Actinomyces viscosus*, while Fuji IX/CPC has the worst. ChemFlex/Benzalkonium Chloride also has the best effect on *Lactobacillus casei*, but in this case the worst combination is ChemFlex/CPC. The antimicrobial compound Benzalkonium Chloride has a stronger effect than Cetylpyridinium Chloride, but GIC ChemFlex has a higher antimicrobial compound release than Fuji IX, that, and in general we can conclude that the combination ChemFlex/Benzalkonium Chloride has the strongest effect on all cariogenic microorganisms, while the combination Fuji IX/CPC has the weakest one.

## I. УВОД

Сè до пред два века прашањата за и околу денталниот кариес не биле поставувани на научни темели. Првите теории за настанокот на денталниот кариес базирани на научни основи потекнуваат од почетокот на XIX век. Оттогаш наваму постојат голем број теории кои помалку или повеќе потенцираат различни фактори инволвирани во појавата на денталниот кариес, во согласност со степенот на научните достигнувања за соодветниот период. Поголемиот број теории, особено оние кои произлегле од втората половина на XX век, се базираат на мултикаузалната причина за појава на кариесот. Кај најголемиот број од нив, меѓу другите причини, се споменува инфективната природа на заболувањето. Сепак за вистински и конкретни тези базирани врз научни основи, докажани со најсовремени дијагностички методологии, се сметаат оние кои во научниот свет се промовираат кон крајот на минатиот век. Оттука веќе не се зборува за теории, туку за научно докажани факти.

Она што е заедничко кај сите современи сфаќања за појавата на денталниот кариес е фактот дека денталниот кариес претставува *инфективна болест* што резултира со деструкција на забната структура, а е предизвикана од микроорганизми, пред сè од мутанс стрептококите. Со оглед на тоа дека современата стоматолошка наука го разгледува денталниот кариес како хронична развојна инфекција предизвикана пред сè од нормалната коменсална орална флора, една од најновите дефиниции за кариесот е т.н. *микробиолошка дефиниција*, според која денталниот кариес се дефинира како локализирана деструкција на денталните ткива под влијание на микроорганизмите.

Во оралната празнина се согледуваат особености кои условуваат разновидност на микробната флора. Забите, гингивалниот сулкус, образната лигавица и плунката сочинуваат посебни ентитети со одредени видови на микроорганизми кои меѓусебно дејствуваат и се подложни на промени во

текот на животот. Оралната празнина е физиолошки септична средина во која се наоѓаат микроорганизми и продукти од нивното распаѓање. Доколку на ова би се додале и остатоците од храната во интерденталните простори и фисурите на оклузалните површини од забите, очигледно е дека оралната празнина изобилува со богат антиген материјал. Сепак, оралната празнина има систем на одбрана и адаптација. Најважната протективна улога ја има плунката и таа се гледа во нејзините физички, хемиски и антимикуробни карактеристики.

Еден од најважните механизми на одбрана кои ги поседува плунката е т.н. клиренс на флуориди, кои имаат способност на врзување со тврдите дентални ткива од кои се испуштаат долг временски период. Постепеното ослободување на привремено врзаните флуориди, што придонесува за нивно континуирано присуство во плунката, го потенцира нивното кариостатско дејство.

Од друга страна, флуоридите учествуваат во одржување на динамичниот еквилибриум, односно присуството или отсуството на јони во плунката. Презаситеноста на плунката со јони претставува бариера за процесот на деминерализација и неопходен предуслов за процесот на реминерализација. Оваа рамнотежа најмногу ја одржуваат токму флуоридите, коишто ја редуцираат деминерализацијата, а ја потенцираат реминерализацијата.

Со оглед на фактот дека бактериската флора е веројатно најбитната алка во синџирот на појава и развој на денталниот кариес, оправдан е стремежот за изнаоѓање на различни средства со чија помош би дошло до намалување на бројот на бактериите и, следствено, кинење на тој синџир.

*Антимикуробни соединенија* се супстанции кои ги убиваат микроорганизмите (бактерии, фунги, протозои) или го инхибираат нивниот раст.

Од превентивен аспект постојат огромен број производи, комерцијални или професионални, кои во својот состав имаат вградено една или повеќе различни антимикуробни компоненти. Тука, главно, би ги споменале флуорот,

хлорхексидинот, цетилпиридиниумхлоридот, бензалкониумхлоридот, трикло-санот, листеринот и ксилитолот.

Поради релативно честата појава на рекурентниот кариес по реставративниот третман, како и поради огромниот број кариогени микро-организми присутни во оралната празнина, а кои претставуваат потенцијален ризик-фактор за настанување на нови кариозни лезии, сè поголемо внимание се насочува кон превентивните и терапевтските антимикробни аспекти на реставративните материјали.

Реминерализацијата на забната структура со ослободување на флуориди е многу важна и добро документирана, меѓутоа потенцијалниот антибактериски ефект на реставративните материјали би бил уште една многу битна карактеристика, бидејќи инактивацијата на бактериите значи директна стратегија кон ерадикацијата на причинителот на денталниот кариес.

Како најприфатливи реставративни материјали, кои ги поседуваат позитивните особини на флуорот во процесот на реминерализација и неговото антимикробно дејство, се истакнуваат глас-јономер цементите.

Во огромен број студии е потврден фактот дека и глас-јономер цементите и смолесто-модифицираните глас-јономер цементи поседуваат капацитет за бавно и стабилно ослободување на флуориди во тек на долг временски период.

Со оглед на тоа дека флуорот поседува антимикробни својства, на глас-јономер цементите може слободно да им се додаде уште една многу битна карактеристика – антимикробно дејство.

Покрај ослободувањето на флуоридните јони, а заради зголемување на антимикробните особини, ГЛЦ-ите потенцијално можат да бидат искористени како матрици за ослободување на други активни антимикробни состојки.

Најмногу користено антимикробно соединение кое е додавано во глас-јономер цементите во различни концентрации и процентуални соодноси е хлорхексидинот. Со оглед на неговото потврдено позитивно дејство и како самостоен препарат и како додаток во плакначи на уста, голем е бројот на

студии кои го потврдуваат позитивниот ефект од неговото вградување во глас-јономер цементите, пред сè ефектот на редукција на кариогената саливарна флора со помал или поголем атак врз биохемиските и физичките својства на така формулираните цементи.

За жал, постојат многу мал број литературни податоци за инкорпорација на други антимикробни компоненти во ГЈЦ-ите. Иако дел од нив имаат потврден ефект во редукцијата на кариогената саливарна флора, употребени во плакначите за уста или во пастите за заби, сепак резултатите за нивно вградување во глас-јономер цементите се сè уште оскудни. Најчесто, тие се додавани во цементите во кои е додаван и хлорхексидинот за да се направи споредба на нивниот ефект во однос на ефектот на хлорхексидинот.

Додавањето на антимикробни компоненти во глас-јономер цементите и анализата на нивните физички својства се многу важни особено при користење на тие материјали при атрауматскиот реставративен третман (АРТ).

Во науката постојат одреден број методи и техники за анализа на физичко-хемиските особини на глас-јономер цементите како на фабрички добиените, така и на оние експерименталните, во случајов со додадени антимикробни соединенија.

Додавањето на антимикробни соединенија не треба да ги наруши нормалните физички/механички особини на глас-јономер цементите, напротив овие цементи треба да претставуваат бенефит во реставративната стоматологија.

Потенцијалот на антимикробните глас-јономер цементи е огромен, голем дел од превентивната стоматологија, особено во детската возраст, може да се базира токму на нив, но спроведувањето на понатамошни *in vivo* студии е неопходен предуслов за нивна широка примена.

## **II. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД**

## 1. ДЕНТАЛЕН КАРИЕС

### 1.1. СОЦИЈАЛНО-МЕДИЦИНСКИ АСПЕКТИ НА ДЕНТАЛНИОТ КАРИЕС

Кариесот е болест којашто го следи човекот уште од неговиот настанок. Некаде до XVII век, распространетоста на кариесот се одржувала на ниско ниво, за од XVIII век, а особено во XIX и XX век, нагло да се зголеми. Во втората половина на XX век, распространетоста на кариесот го достигнува максимумот, така што повеќе од 90 % од популацијата на Земјата боледува од оваа болест. Причините за ваквиот тренд се добро познати. Поради тоа многумина сè уште сметаат дека кариесот е „болест на цивилизацијата”, односно „симптом на цивилизациска дистрофија” (Klaussmann). Тогаш кариесот почесто се јавувал во развиените земји, додека пак во неразвиените, како и во земјите во развој, неговата распространетост била значително пониска.

Денес се смета дека проблемот со денталниот кариес во развиените земји е веќе решен, додека пак во неразвиените и во земјите во развој тој е и понатаму во пораст. Причините за тоа треба да се бараат во брзите промени на навиките и условите на живот коишто не се придружени со адекватни социјални, општествени и здравствени промени.

### 1.2. ШТО Е ДЕНТАЛНИОТ КАРИЕС?

Според класичната дефиниција, кариесот е локална, патолошка деструкција на тврдиите забни ткива, предизвикана од надворешни причинители, со прогресивен тек и иреверзибилна природа, којашто од емајлот или цементиот на забот се шири во дентинот, зафаќајќи ја подоцна и пулпата, со можни најопасни компликации во интерденталните ткива,

загрозувајќи ги понекогаш и оддалечениите ѝкива, дури и живојот на човекој.

Некои современи сфаќања го дефинираат денгалниот кариес како мултикаузално, мултифазно реверзибилно заболување од инфективна природа, директно зависно од исхраната. Според оваа дефиниција, кариесот е болест на микросредината која може да постои во устата со месеци, некогаш и со години, пред да се појави кавитет на површината на забот, без јасно видливи симптоми кои би ја сигнализирале болеста (температура, болки, непријатност од друг вид и сл.).

Во модерната литература сè почесто се смета дека денгалниот кариес е повеќе резултат на нарушувањето на еколошкиот баланс на оралната флора, отколку дека е резултат на лоша или погрешна исхрана, односно на недоволна орална хигиена [4].

Според тоа, денгалниот кариес секогаш се развива во следниве случаи:

- кога агресивните фактори стануваат доминантни, а одбраната останува на исто ниво;
- кога силата на агресивните фактори продолжува, а одбраната станува сè послаба;
- кога обата фактора работат заедно.

Постои и друга теорија наречена кариес-баланс теорија базирана на превласт на патогените или на протективните фактори. Според оваа теорија, постојат три главни (патогени) фактори инволвирани во настанувањето на денгалниот кариес: патогени микроорганизми, неправилна исхрана и ксеростомија, како и неколку заштитни (протективни) фактори: плунка, залевање на фисурите, употреба на антимицробни средства, флуориди и правилна исхрана. Патогените фактори од една страна и протективните од друга, се наоѓаат во една постојана рамнотежа која варира и динамички се менува во текот на денот. Во зависност од промената на еквилибриумот, доаѓа или не доаѓа до појава на денгален кариес [143].

И покрај тоа што научните кругови сè уште се обидуваат да ја дадат вистинската дефиниција за денгалниот кариес, без микроорганизми нема денгален кариес. Ова е општо прифатено мислење коешто се темели врз голем број научно докажани факти. Одредени микроорганизми од усната флора можат да предизвикаат експериментален денгален кариес во *in vitro* услови; експериментални животни одгледани во стерилни услови, и покрај кариогената диета, не заболуваат од кариес; од кариозната лезија можат да се изолираат одредени бактерии кои хистолошки и микробиолошки можат да се докажат во кариозниот емајл, дентинот и во дентинските каналчиња [42].

Она што е заедничко кај сите современи сфаќања за појавата на денгалниот кариес е дека тој претставува *инфективна болест* што резултира со деструкција на забната структура, а е предизвикана од микроорганизми, пред сè од мутанс стрептококите [4,140]. Тие се шират од човек на човек на ист начин како и другите инфективни клици. Според тоа, денгалниот кариес одговара на описот на инфективно заболување со следниве постулати воспоставени од Koch, а модифицирани од Socransky:

- заболувањето е поврзано со присуството на бактеријата;
- елиминацијата на бактеријата ја намалува или елиминира болеста;
- организмот реагира на бактеријата;
- бактеријата предизвикува заболување и кај експерименталните животни;
- бактеријата поседува вирулентни фактори [4].

## 2. МИКРООРГАНИЗМИТЕ И ДЕНТАЛНИОТ КАРИЕС

Со оглед на тоа дека современата стоматолошка наука го разгледува денталниот кариес како хронична развојна инфекција предизвикана пред сè од нормалната коменсална орална флора, една од најновите дефиниции за кариесот е т.н. *микробиолошка дефиниција*, според која денталниот кариес се дефинира како локализирана деструкција на денталните ткива под влијание на микроорганизмите [109].

### 2.1. ОРАЛНА МИКРОБИОЛОШКА ФЛОРА

Првите сознанија за влијанието на оралните микроорганизми во појавата на денталниот кариес датираат од почетокот на XIX век, кога се јавува мислењето дека кариозниот процес претставува воспаление. Притоа, американскиот автор Abbott особено го нагласил влијанието на микрококите и на лептотриксот [120].

Во оралната празнина се согледуваат особености кои условуваат разновидност на микробната флора. Забите, гингивалниот сулкус, образната лигавица и плунката сочинуваат посебни ентитети со одредени видови на микроорганизми коишто меѓусебно дејствуваат и се подложни на промени во текот на животот. Пред раѓањето, усната празнина на детето е стерилна. За време на раѓањето, во неа се населуваат микроорганизми кои потекнуваат од вагината на мајката и од непосредната околина, меѓутоа таа флора е минлива. Обично тоа е мешавина на лактобацили, *corinebacteria*, стафилококи, микрококи, колиформи, габи и стрептококи. Од стрептококите присутни се ентерококи, микроаерофилни и анаеробни видови. Бројот на овие микроорганизми се намалува во текот на првите 2 до 5 дена по раѓањето, а потоа, за време на цицањето, овие типови микроорганизми се заменуваат со типовите на бактерии присутни во устата на мајката, негувателката или на медицинската сестра. Најчесто се изолирани *Streptococcus salivarius*,

*Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria species* и *Veillonella species*, коишто ја сочинуваат првобитната микробна заедница.

Со никнувањето на забите се менува и микробната флора на устата, па така *Str. sanguis*, *Str. mutans* и другите бактерии од вириданс групата стануваат нејзини редовни жители. Промените се предизвикани и со бројот на никнатите заби и со начинот на исхрана. Во сè поголем број се населуваат анаероби, актиномицети и лактобацили. По еруптирањето на забите и создавањето на гингивалните вратови, каде што концентрацијата на кислород е помала од 0,5%, се јавува анаеробната флора. Неа ја сочинуваат: *Bacteroides melaninogenicus*, *Treponema*, *Fusobacterium*, *Clostridium* и *Peptostreptococcus*. Многу од овие организми се задолжително анаеробни и умираат на повисоки концентрации на кислород.

Кулминација во бројот, видот и меѓусебните односи на микроорганизмите се случува во периодот на адолесценција (никнати се сите заби, меѓузабните простори се големи, постојат и пародонтални џебови). Бактериските плаки што се развиваат на забите можат да содржат и до  $10^{11}$  стрептококи во грам, како и актиномицетите, веилонелите и бактериодес. Од квасниците, *Candida* и *Geotrichum* се наоѓаат кај 10–15% од популацијата. Секоја промена (дентален кариес, пародонтопатија, орални болести, губење на заби, ортодонтски апарати, протетски помагала) влијае врз односот на микробната флора во устата [46,109,117,141].

### 2.1.1. Главни причинители на денталниот кариес – група на viridans стрептококи, lactobacillus и actinomycetes

Во литературата, под поимот мутанс стрептококи се подразбираат неколку различни вириданс стрептококи, но во вообичаените клинички испитувања се разгледуваат само *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus* [4]. Вириданс групата (т.е. групата индиферентни стрептококи) ја сочинуваат орални стрептококи кои можат да се поделат во четири главни родови и повеќе видови, а кои опфаќаат околу една четвртина од вкупната

култивабилна флора од супрагингивалниот и гингивалниот плак и една половина од изолатите од плунката и јазикот [109,141].

Постојат повеќе видови орални стрептококи. Во групата на *Streptococcus mutans* спаѓаат: *Strep. mutans*, *Strep. sobrinus*, *Strep. rattus* и други. Во групата на *Streptococcus salivarius* спаѓаат два вида: *Strep. salivarius* и *Strep. vestibularis*. Групата на *Streptococcus milleri* ја сочинуваат: *Strep. constellatus*, *Strep. intermedius* и *Strep. anginosus*, додека пак во групата на *Streptococcus oralis* влегуваат: *Strep. sanguis*, *Strep. oralis*, *Strep. mitis* и други [109].

Дел од овие стрептококи се прикажуваат како високоасоцијативни со денталниот кариес кај луѓето [20]. Заедно со *Lactobacillus species*, се сметаат за најзначајни одонтопатогеници [93,109]. Поради нивната асоцијација со денталните заболувања, проценувањето на бројот на мутанс стрептококите во плунката и во плакот може да помогне во дијагностицирањето на кариесната активност [20].

Мутанс стрептококите се среќаваат кај различни цицачи. *Streptococcus mutans* (со серотиповите c, e, f) и *Streptococcus sobrinus* (со серотиповите d и g) се среќаваат само кај човекот. *Streptococcus cricetus* (со серотипот a) се среќава кај човекот и кај животните, *Streptococcus rattus* (*rattus*) (со серотипот b) се среќава кај човекот и кај глодачите, а *Streptococcus ferus* се среќава само кај стаорецот. *Streptococcus downei* (со серотипот h) и *Streptococcus macacae* се среќаваат само кај мајмуните.

Мутанс стрептококите имаат неколку карактеристики кои придонесуваат за нивната кариогеност:

- транспорт и користење на шеќери;
- производство на киселини (ацидогеност);
- толерирање на киселините (ацидуритет);
- производство на екстрацелуларни полисахариди (EPS);
- производство на интрацелуларни полисахариди (IPS).

Под поимите *ацидогеност* и *ацидуриитет* се подразбира способноста на микроорганизмите да произведуваат киселини дури и при ниска pH-

вредност [4,5]. Добиените резултати од одредени истражувања говорат дека ацидогеноста не е само кариоген фактор, туку е и фактор за унапредување на колонизацијата на оралните површини со мутанс стрептококите, пред сè со *Streptococcus mutans*, особено кај лица со висока фреквенција на конзумирање шеќери [102].

Постојат различни мислења за тоа кога точно доаѓа до колонизација со овие микроорганизми. Според досегашните сознанија, мутанс стрептококите можат да бидат пренесени единствено преку плунката. Во повеќето случаи, извор на инфекцијата е мајката или медицинската сестра (цуцли лажалки, лажички и др.) [4,109]. Според некои автори [4], „населувањето“ се случува во детството, меѓу 2 и 4-годишна возраст, со константно зголемување на бројот на бактерии во наредните години од животот. Други, пак, сметаат дека „трансферот“ од мајката на детето се случува уште на десетмесечна возраст [29]. Колку порано настанала инфекцијата, толку порано мутанс стрептококите се способни да ги колонизираат забите и порано ќе се развие дентален кариес. Она што денес со сигурност е потврдено е дека *Streptococcus mutans* е бактерија којашто е трансферабилна. Современите генетски техники им овозможуваат на истражувачите детално да ја испитаат оваа појава. Со анализата на ДНК преку различни техники (рестрикција, мерење на должината на фрагментот, полиморфизам), може да се диференцираат родовите на бактерии, да се спореди генетскиот материјал на две бактерии од ист вид, да се споредат разликите во примероците на исечените фрагменти на ДНК (со специфични рестриktivни ензими) и со тоа да се одреди потеклото на бактериите [114].

Времето и брзината на колонизација на емајловата површина со различни бактериски видови се различни. Први ја колонизираат емајловата површина бактериите од групата *Streptococcus viridans*, а потоа и грам-позитивните анаероби и микроаерофилните бацили, пред сè од родот на *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и други [48].

Во однос на квантитетот (густина на раст), исто така доминираат стрептококите од вириданс групата (*S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitis*, *S. salivarius*) [48].

Хуманата дентиција е природно живеалиште на мутанс стрептококите. Една од главните особини во нивната екологија е и локализираността на растење. Ова подразбира дека некои забни површини може да се колонизирани со микроорганизми, додека други, иако блиску до тие површини, остануваат без микроорганизми. Истражувањата покажуваат дека ризикот од појава на дентален кариес е многу повисок кај забните површини со присутни мутанс стрептококи, во споредба со слични површини, во исто орално окружение, но без присуство на овие микроорганизми [4,70].

При појава на иницијален дентален кариес, т.н. *macula alba*, евидентно е присуството како на бактерии од типот на мутанс стрептококите така и на лактобацилите. Овие видови се изолирани и од некариозни места [12].

За да растат, на мутанс стрептококите им е потребна „џврда“ површина, како што е забот. Тие, исто така, можат да живеат на забните протези или на други материјали кои се користат во стоматологијата. Во нормални случаи, надвор од устата тие умираат по неколку часа. Мутанс стрептококите живеат подолго на селективни подлоги, како што се Dentocult стриповите [4,74].

#### 2.1.1.1. Значењето на *Streptococcus mutans* во настанувањето на денталниот кариес

Најголемиот број трудови во последниве неколку децении сè уште го потенцираат *Streptococcus mutans* како главен одонтопатоген микроорганизам во појавата на денталниот кариес. *Str. mutans* стекна „лош глас“ во 60-тите години, кога се покажа дека предизвикува експериментален дентален кариес кај животни кои беа орално инокулирани со овој организам. Името 'mutans' е резултат на честата промена од фаза на кок во кокобациларна фаза [78,109].

*Streptococcus mutans* претставува грам-позитивен кок кој формира колонии во вид на синџири, тој е  $\alpha$ -хемолитички на крвен агар и е катализа

негативен. Растењето не може да се инхибира со оптохин. Комерцијално достапните китови се многу корисни во лабораториската идентификација [109].

Посебна карактеристика на *Streptococcus mutans* како *Gram*<sup>+</sup> бактерија, е производството на сопствени антибиотици наречени *муџацини*, кои го инхибираат растењето на други стрептококи и на многу други *Gram*<sup>+</sup> микроорганизми. Последните истражувања покажуваат дека мутацините дејствуваат со сосема нов антибиотски механизам: ги сопираат основните функции на ензимите и го спречуваат создавањето и развојот на аденозинтрифосфатот (АТР) [114].

Постои јасна и позитивна корелација меѓу постоењето, односно детекцијата, на *Streptococcus mutans* во *џлункаџа* на испитаниците и појавата на денталниот кариес [4,23,50,72,109,130,134,144]. Одредени подолгорочни студии покажуваат дека испитаниците со висока колонизација на *Streptococcus mutans* на почетокот на испитувањата, подоцна развиваат дентален кариес [6,100].

Од извршените споредби на клиничките податоци што се однесуваат на оралниот статус (*КЕП-индексот*) и бројот на *Streptococcus mutans*, се гледа дека тој број е поголем кај испитаниците со висок КЕП-индекс [26,82,121].

Испитувањата на микробиолошкиот состав и кариогениот потенцијал на плакот покажуваат дека *Streptococcus mutans* (*c, e, f*) е доминантен меѓу мутанс стрептококите [79,130,134,144]. Со имунофлуоресцентни испитувања е потврдено дека *Streptococcus mutans* најпрво колонизира специфични места во рамките на апроксималниот плак. Тие места најчесто се гингивалните рабови [12].

Присуството на *Streptococcus mutans* (серотип *c*) е во многу блиска врска со раните кариозни лезии [12]. Микробиолошката анализа на местата со хистолошки докажана деминерализација покажува највисок процент на *Streptococcus mutans* [87].

### 2.1.1.2. Значењето на *Streptococcus sobrinus* во настанувањето на денталниот кариес

Втор најчесто изолиран вид од групата на мутанс стрептококите е *Streptococcus sobrinus* (d, g) [5]. Тој е неподвижна, каталаза негативна, Gram<sup>+</sup> бактерија. Како што се гледа и од името, овој микроорганизам се јавува во парови или синџири на коки. Како постојан жител на човечката орална флора, оваа факултативно анаеробна бактерија е поврзана со појавата на денталниот кариес. *Str. sobrinus* се лепи за денталните површини под дејство на ензимот glycosyl transferase. Овој ензим се врзува со шеќерите, овозможувајќи им на бактериите да се прикачат на денталната пеликула. Така прикачени, бактериите со помош на ензимот ја метаболираат гликозата произведувајќи млечна киселина, која со ниската pH-вредност ја започнува деминерализацијата на емајлот. Овој стрептокок многу често е во сооднос со *Streptococcus mutans*. И покрај тоа што двата микроорганизма се разликуваат со помош на лабораториски тестови, имаат иста морфологија, фактори на вирулентност и симптоми на болеста [113].

Присуството на *Streptococcus sobrinus* (серотип d) е исто така во блиска врска со раните кариозни лезии [12]. Некои испитувања тврдат дека преваленцијата на *Streptococcus sobrinus* во плунката е многу повеќе поврзана со идната кариозна активност, особено на мазните површини, отколку преваленцијата на *Streptococcus mutans* [66,93]. Споредбата на кариогеноста и ацидогеноста меѓу *Streptococcus sobrinus* и *Streptococcus mutans* оди во прилог на *Streptococcus sobrinus* – поголем број напреднати дентински лезии во фисурите и побрзо производство на киселина при вредност на pH меѓу 6,5 и 5,0 [40].

За да се испита кариогениот потенцијал и на други микроорганизми од групата на стрептококи во оралната празнина, како што се: *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus vestibularis* и *Enterococcus (streptococcus) faecalis*, направена е споредба со веќе познатите и докажани кариогени микроорганизми: *Streptococcus mutans* и *Streptococcus sobrinus*, при што е користен специфичен *in vitro* модел. Резултатите потврдуваат дека најголем кариоген потенцијал имаат *Streptococcus mutans* и *Streptococcus*

*sobrinus*, среден – *Streptococcus vestibularis*, а најмал кариоген потенцијал е забележан кај *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis* и *Enterococcus faecalis* [32].

### 2.1.1.3. Значењето на *Lactobacillus species* во настанувањето на денталниот кариес

Родот *Lactobacillus* се *Gram*<sup>+</sup>, факултативно анаеробни или микроаерофилни бактерии и се состои од преку 125 видови. Тие се најглавниот дел од групата на млечнокиселински бактерии, наречени така бидејќи најголемиот број од нив ја претвораат лактозата и другите шеќери во млечна киселина. Многу се чести и обично бенигни. Во човечката популација присутни се во вагината и во гастроинтестиналниот тракт, каде што живеат во симбиоза и во мали концентрации претставуваат стомачна флора. Производството на млечна киселина ја прави околината кисела, што го инхибира растот на некои штетни бактерии.

Лактобацилите ја сочинуваат втората група на многу важни кариогени микроорганизми. Тие, исто како и мутанс стрептококите, продуцираат киселини кои можат да ги раствораат забите при многу ниски рН-вредности (ацидогеност и ацидуритет). Често се наоѓаат на ретенционите места, како што се: фисурите, пукнатините меѓу забот и пломбата и др. Најдени се и во длабоките делови на кариозните лезии, каде што рН-вредноста е кисела. Како и да е, поранешните научни сознанија ги потенцирале лактобацилите како главен кариоген агенс, а тоа тврдење одело дотаму што 'бројот на лактобацили' во плунката бил земен како индикатор за кариозна активност. Лактобацилите се под силно влијание на јаглехидратите од исхраната и внесот на шеќери. Испитувањата покажуваат дека доколку лицето ја редуцира високата сахарозна консумација, се редуцира и нивото на лактобацили [4]. Лактобацилите се сапрофити во овошјето и во животинските продукти, како што е млекото. Од оралната празнина обично се изолираат два вида на лактобацили – *Lactobacillus casei* и *L. rhamnosus*. *L. acidophilus* е најбитниот вид од овој род, и многу често е изолиран од длабоките кариозни лезии. Расте под

микроаерофилни услови во присуство на јаглероддиоксид и кисела рН-средина (6,0) [109].

Литературата укажува на постоење на позитивна корелација меѓу бројот на лактобацилите во плунката, плакот и денталниот кариес [5,12,22,23,72,94,109].

Од некои анализи може да се заклучи дека дентинот од кариозната лезија е одговорен за саливарна хиперконтаминација со лактобацилии [94]. Во апроксималниот плак, на гингивалните рабови, како и на места со рана деминерализација, *Lactobacillus species* е ретко изолиран и обично се наоѓа заедно со бактериите од групата на мутанс стрептококи [12,87]. Тој никогаш не е изолиран од здрави површини [87].

#### 2.1.1.4. Значењето на *Actinomyces* во настанувањето на денталниот кариес

Името на бактеријата *Actinomyces* потекнува од грчкиот збор 'actino' што значи габичка, и е од родот на actinobacteria. Сите се *Gram*<sup>+</sup> и обично се опишуваат како да наликуваат на сулфурни гранули. Можат да бидат или анаеробни или факултативно анаеробни. Видовите на *Actinomyces* не формираат ендоспори, и додека бактериските единки се во облик на прачки, колониите на *Actinomyces* формираат мрежи од хифи налик на гранките на габите. Многу од видовите *Actinomyces* се опортунно патогени за луѓето и други цицачи, особено во оралната празнина. Во поретки случаи бактеријата може да предизвика актиномикоза, болест што се карактеризира со формирање на апсцеси во устата, белите дробови или во гастроинтестиналниот тракт [109,113,136]. Поретко, *Actinomyces israelii* може да предизвика и бактериски ендокардитис [136].

Актиномицетите претставуваат главна компонента на денталниот плак, особено на апроксималните страни на забите, предизвикувајќи гингивитис. Опишана е поврзаност на појавата на кариес на површината на коренот на забот со актиномицетите. Од оралната празнина се изолирани поголем број видови *Actinomyces*. Тука спаѓаат: *A. israelii*, *A. odontolyticus*, *A.*

*naeslundii*, *A. myeri* и *A. georgiae*. Постои поврзаност на *A. odontolyticus* со почетниот стадиум на кариес на емајлот. Сепак најважен хуман патоген од оваа група е *A. israeli*. Овој микроорганизам расте бавно во анаеробни услови на крвен или глюкоза-серум агар на 37°C. По околу една недела, на крвниот агар се појавуваат мали, бело-кремасти, атхерентни колонии. Тие личат на лебни трошки на површините на моларите.

### 3. БИОЛОШКИ МЕХАНИЗМИ ЗА ЗАШТИТА НА ОРАЛНАТА ПРАЗНИНА

#### 3.1. МУКОЗНО-ЕМАЈЛОВА БАРИЕРА

Оралната празнина, како почетен дел од дигестивниот тракт, претставува специфична средина која е од исклучителна важност за нормалниот развој на секоја единка. Нејзината улога во биохемиската подготовка на нутритивните состојки е незаменлива, без оглед што не ги поседува особините на другите делови на дигестивниот систем – желудникот и цревата. Доколку храната не се подготви во оралната празнина (да се иситни и да се раствори со плунка), нејзините нутритивни состојки се во *макро-молекуларна* форма и во останатиот дел од дигестивниот систем може да се третираат како антиген, што би претставувало аларм за организмот пред сè поради нарушувањето на изоструктурата. Тоа би го придвижило имуниот систем, би дошло до синтеза на антитела, со цел отстранување на макромолекулите.

Од друга страна, оралната празнина е физиолошки септична средина во којашто се наоѓаат микроорганизми и продукти од нивното распаѓање. Доколку на ова би се додале и остатоците од храната во интерденталните простори и фисурите на оклузалните површини на забите, очигледно е дека оралната празнина изобилува со богат антиген материјал. Сепак, оралната празнина има систем на одбрана и адаптација. Оваа бариера ја сочинуваат повеќе или помалку сите ткива во оралната празнина, вклучувајќи ја и

плунката, и на тој начин го обезбедуваат т.н. биолошки механизам на заштита, односно орална хомеостаза.

### 3.2. ПРОТЕКТИВНА УЛОГА НА ПЛУНКАТА

Протективната улога на плунката се гледа во нејзините физички, хемиски и антимикуробни карактеристики.

Физичката заштита на плунката се базира најмногу врз функцијата на чистење (плакнење) на оралната празнина. Ефектите од овој вид заштита главно зависат од содржината на вода во исхраната, како и од физичките карактеристики на плунката, односно степенот на излучување и вискозноста. Покрај улогата на плунката во заштитата на тврдите и меките ткива од оралната празнина, плунката поседува и улога на клиренс. Од превентивен аспект, во литературата се споменува клиренс на јаглехидрати и клиренс на флуориди. Клиренсот на флуориди е многу побавен од клиренсот на шеќери, бидејќи флуоридите имаат способност на врзување со тврдите ткива од кои се испуштаат долг временски период. Постепеното ослободување на привремено врзаните флуориди и нивното континуирано присуство во плунката, го потенцираат нивното кариостатско дејство.

### 3.3. УЛОГАТА НА ПЛУНКАТА ВО РЕМИНЕРАЛИЗАЦИЈАТА

Реминерализацијата е во директна зависност од присуството на јони во плунката. Во текот на секрецијата плунката претставува презаситен раствор на калциум и фосфати и е т.н. „течен емајл“. Степенот на презаситеност во плакот е уште поизразен, особено во екстрацелуларната течна фаза која е во директен контакт со забната површина. Во таквиот динамичен еквилибриум, презаситеноста на плунката претставува бариера за процесот на деминерализација и неопходен предуслов за процесот на реминерализација. Оваа рамнотежа најмногу ја одржуваат флуоридите коишто ја редуцираат

деминерализацијата, а ја потенцираат реминерализацијата. Презаситеноста на плунката се намалува штом рН-вредноста во плакот ќе падне на ниско ниво и концентрациите на хидроксилни и фосфатни јони ќе се редуцираат под критичните вредности.

### 3.4. АНТИМИКРОБНА УЛОГА НА ПЛУНКАТА

Антимикробната активност на плунката се одвива благодарейќи на супстанциите кои се излучуваат преку плунковните жлезди или преку хуморалните состојки на одбраната на организмот кои влегуваат во плунката од гингивалниот сулкус. Водечка улога во антимикробната протективна активност на плунката имаат органските компоненти, и тоа првенствено протеините, а помалку липидите. Антимикробните особини на плунката потекнуваат главно од две групи на антимикробни протеини – вродени (неимуноглобулински) и стекнати (имуноглобулински).

## 4. АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА

Со оглед на фактот дека бактериската флора е веројатно најбитната алка во синџирот на појава и развој на денталниот кариес, оправдан е стремежот за изнаоѓање на различни средства со чија помош би дошло до намалување на бројот на бактериите и, следствено, кинење на тој синџир.

Општо познато е дека антимикробната ера започнува со Joseph Lister и Louis Pasteur. Нивната интелектуална и научна соработка станува база за хируршката антисепса, кога Lister во 1885 г., поттикнат од Pasteur-овата бактериска теорија на болестите, ја воведува употребата на карболната киселина. Главниот пропагатор на оралната антисепса во XIX век е Dayton Miller од Универзитетот во Берлин, чијшто главен интерес била употребата на антисепсата во профилактичкиот третман на денталниот кариес [85].

Врз микроорганизмите за кои се сметало дека предизвикуваат дентален кариес се дејствувало експериментално, и тоа со антибиотици, кариес вакцина и ензимски инхибитори. Антибиотиците уживале теоретска подлога, но за поширока употреба не ги оправдале очекувањата. И покрај големиот број експерименти, сè уште е под знак прашање сигурноста на употребата на вакцината и нејзината примена во хумани цели [21,108]. Сепак, најновите истражувања говорат за скорешно промовирање на инхалациона имунизација [109,127,127]. Што се однесува, пак, до ензимските инхибитори, иако без поширока употреба, како делотворни се покажале саркозинатите. Тие имаат афинитет спрема плакот, подолго можат да се задржат во него и да доведат до инхибиција на продукцијата на киселини [76].

*Антимикробни соединенија* се супстанции коишто ги убиваат микроорганизмите (бактерии, фунги, протозои) или го инхибираат нивниот раст. Во основа антимикробните соединенија се делат на: антибиотици, антивирусни соединенија, фунгициди и антипаразитици. Постои уште една група на антимикробни соединенија наречена нефармацевтски антимикробни соединенија. Ова е голема група на хемиски и природни антимикробни соединенија во која се вбројуваат органските киселини (млечна, лимонска, оцетна киселина), есенцијални масла, катјони и хемиски елементи.

*Антисептици* (од грчки *anti* – ‘против’ + *σηπτικός* – ‘кој е предизвикан од гниење’) се антимикробни соединенија коишто се употребуваат на живи ткива намалувајќи ја можноста од инфекција, сепса или распаѓање. Антисептиците обично се разликуваат од антибиотиците, коишто се во можност да се пренесуваат со лимфниот систем и да ги уништуваат бактериите во телото, како и од дезинфициенсите коишто ги уништуваат микроорганизмите од предметите. Некои антисептици се вистински гермициди, способни да ги уништат микроорганизмите (бактерициди), додека пак други се бактериостатици и само го спречуваат или го инхибираат растот на микроорганизмите. Антибактериските соединенија се всушност антисептици со докажана способност за дејство против бактерии. Микробициди кои убиваат вирусни честички се наречени вироциди или антивирусни

соединенија. Постојат неколку групи на антисептици: алкохол, квартарни амониумови соединенија, борна киселина, хлорхексидин глуконат, хидроген пероксод, јод, фенол, соединенија на натриум и други.

Од превентивен аспект постојат огромен број производи, комерцијални или професионални, кои во својот состав имаат вградено една или повеќе различни антимикуробни компоненти. Тука главно би ги навеле флуорот, хлорхексидинот, цетилпиридиниум хлоридот, бензалкониум хлоридот, триклосанот, листеринот и ксилитолот.

Флуорот се употребува од 1940 година поради неговите познати антикариес ефекти, кои главно се однесуваат на процесот на деминерализација/реминерализација. Меѓутоа, и супстанциите што содржат флуор, исто така покажуваат антимикуробни особини во редукцијата на нивоата на саливарните кариогени микроорганизми, и влијаат врз нив на различни начини, што пред сè зависи од концентрацијата на флуорот [7,142]. Оралните плакнати што содржат комбинација на флуориди со некое друго антимикуробно соединение, помагаат во превенцијата на денталниот кариес, особено кај деца во тек на фиксноортодонтски третман [22,61,120].

#### 4.1. ХЛОРХЕКСИДИН

Поделбата на антимикуробните соединенија според хемиските карактеристики, го вбројува хлорхексидинот во групата на катјонски антимикуробни соединенија, заедно со квартарните амониумови соединенија, металните јони и sanguinaria-та. Според поделбата во оваа студија, хлорхексидинот е хемиски антисептик. Дејствува како на *Gram*<sup>+</sup> така и на *Gram*<sup>-</sup> бактерии, но со помала ефикасност кон некои *Gram*<sup>-</sup> бактерии. Поседува и бактерицидно и бактериостатско дејство. Механизмот на дејство врз бактериската клетка се состои во прекин на нејзината мембрана, а не АТФ-азна инактивација, како што порано се мислело. Дејствува и против квасници, како и против некои вируси, но ова сè уште не е целосно испитано.

Хлорхексидинот е синтетизиран кон крајот на 40-тите години. Хемиски тој е 1,6-di-4-chlorphenyl-diguanido-hexan [17]. Неговите ефекти за првпат се опишани од Davies *et al.* во 1954 г., а како супстанција за инхибирање на плакот за првпат е употребен од Løe и Schiøtt во 1970 год. Тој претставува т.н. 'златен стандард' за антибактериска апликација. Хлорхексидинот се состои од молекули со хидрофилични и хидрофобични особини. Една од позитивните особености на хлорхексидинот е неговата способност да се врзе за оралните површини, од каде што потоа во бактериостатски концентрации постепено се испушта во плунката. Во тие концентрации, хлорхексидинот може да го намали производството на киселини во плакот [3,8].

Направени се голем број истражувања во кои е испитувано дејството на хлорхексидинот во различни форми, различна процентуална застапеност и во комбинации со други соединенија, за да се утврди најдобриот начин за негова примена во редуцијата на оралната кариогена флора во плунката и во плакот [3,33,53,86,95].

Добиени се позитивни резултати со употребата на 1% хлорхексидин гел за миене на забите [20,123,124,133] и за апликација во специјално адаптирани лажици [51]. Реставрациите со глас-јономер цементи, комбинирани со Chlorhexidine Gluconate, го намалуваат бројот на мутанс стрептококите во плакот и во плунката [53,69]. Употребен како 0,12% алкохолен или безалкохолен плакнач, хлорхексидинот дава намалено релативно микробно растење [47]. Силно супресивно дејство врз мутанс стрептококите е забележано кога е употребен во вид на 1% хлорхексидин-тимол лак – Cervitex [8,51,69,124,125,126], потоа хлорхексидин лак – Chlorizon [55], или кога е во форма на 3% лак, но во специјални вакуум адаптирани штитници за уста [2,64]. Во овој случај и нивоата на *Actinomyces viscosus* покажуваат сигнификантна редуција веднаш по третманот [65]. Редуција на кариогената флора е забележана и при употреба на 0,4% хлорхексидин паста во тек на 1 месец [125]. Кај имуносупресивни пациенти и кај пациенти третирани со радиотерапија кои страдаат од ксеростомија, а кај кои оралните нивоа на *Streptococcus mutans*,

*Lactobacillus*, а пред сè на *Candida*, се многу високи, мора особено да се истакне користа од употреба на хлорхексидин [52].

Подолготрајната употреба на хлорхексидин, и тоа најчесто 0,2% плакнач, може да предизвика несакани дејства: обојување на забите, јазикот и протетските реставрации, повремена чувствителност на оралната лигавица и повремено реверзибилно нарушување на сетилото за вкус [4,8,17,109,117]. Ниските дози од 0,06% раствор се идеален помошник во подолготрајното спроведување на оралнохигиенските мерки [67].

Хлорхексидинот, без сомнение, е антимикубно средство кое треба да се избере кога е потребна редуција на високите нивоа на мутанс стрептококите. Поради веќе споменатите нус-појави, неговата примена мора да се одвива под строго професионален надзор, особено кога станува збор за деца [3,8,17].

#### 4.2. КВАРТАРНИ АМОНИУМОВИ СОЕДИНЕНИЈА

Во групата на антисептици, односно катјонски антимикубни средства, спаѓаат и квартарните амониумови соединенија. Иако постојат повеќе етапи во историскиот развој на овие соединенија, постои општа согласност за две вистински историски насоки. Првите испитувања се извршени од Jacobs *et al.* некаде во почетокот на XX век, кога се откриени структурата, создавањето и антимикубните ефекти. Browning во 1926 година ја опишал бактериската активност на квартарните деривати на пиридинот, квинолинот и другите прстенести структури. Hartman и Kagi во 1928 година ја изнесуваат антибактериската активност на квартарните амониумови соединенија на алкилните диамини. Во 1935 година Domagk ја опишува антибактериската активност на квартарните амониумови соли од долги синцири, што претставува втор и најважен патоказ за етаблирањето на антимикубните квартарни амониумови соединенија. По откритието на Domagk за бактерицидниот ефект на агенсите со активна катјонска површина, беа

развиени повеќе генерации на структурно различни квартарни амониумови антимиробни соединенија од комерцијална важност. Структурата на овие соединенија е составена од голем број јаглеродни синџири поставени во различна положба. Степенот на бактерицидната активност е детерминиран од позицијата, карактерот и бројот на групите супституирани во бензоевото јадро. Развојот и усовршувањето на овие соединенија се одвивале низ три генерации, почнувајќи од основниот бензалкониумхлорид со алкилна дистрибуција, преку алкилдиметилетилбензил амониумхлорид со алкилна дистрибуција, до т.н. BTC2125M со супериорни микробиолошки перформанси [17].

#### 4.2.1. Цетилпиридиниумхлорид

Цетилпиридиниумхлоридот (Cetylpyridinium Chloride – CPC), како активна состојка на оралните антисептици, има широк антимикробен спектар со силен бактерициден ефект врз *Gram*<sup>+</sup> патогеници и со фунгициден ефект врз габите. Неговата ефикасност против *Gram*<sup>-</sup> патогеници и микобактериите е дискутабилна. Апликацијата на CPC во концентрација од 0,05% во плакначите резултира со непосредна редукција на бактериските броеви. Употребата на CPC во оваа концентрација не го менува составот на нормалната орална флора и не резултира со појава на неорални и потенцијално патогени бактерии во устата [104]. Во споредба со хлорхексидинот, CPC има помалку резидуални ефекти, но резултат на тоа е послабото дејство против плакот и гингивитисот. Комбинацијата на CPC со хлорхексидин и цинклактат дава најголема редукција и на анаеробните и на аеробните микроорганизми спречувајќи ја појавата на лош здив [131]. Исто така, потврдена е и ефикасноста на CPC против орофарингеалната кандидијаза [103].

#### 4.2.1.1. Физички и хемиски карактеристики на цетилпиридиниумхлоридот

Цетилпиридиниумхлоридот е со формула  $C_{21}H_{38}NCl$  и на собна температура и во чиста форма е во цврста агрегатна состојба. Точката на топење е  $77^{\circ}C$  како анхидрат, или  $80-83^{\circ}C$  како монохидрат. Не е растворлив во ацетон, оцетна киселина и во етанол. Има мирис на пиридин. Запаљлив е. Концентрираните раствори се деструктивни за слузниците. Токсичен е ако се проголта, и многу токсичен ако се инхалира [17,136].

#### 4.2.2. Бензалкониумхлорид

Бензалкониумхлоридот (Benzalkonium Chloride), познат и како *alkyldimethylbenzylammonium chloride* претставува мешавина на различен парен број на долги алкилни синџири. Ова средство е азотен, катјонски, површинско-дејствувачки агенс, кој ѝ припаѓа на групата квартарни амониумови соединенија. Има тројно дејство: биоцидно, како катјонски сурфактант и како агенс за етапно пренесување во хемиската индустрија.

##### 4.2.2.1. Физички и хемиски карактеристики на бензалкониумхлоридот

Бензалкониумхлоридот е лесно растворлив во етанол и во ацетон. Иако растворливоста во вода е бавна, водените раствори се лесни за ракување и затоа се претпочитаат. Растворот би требало да е неутрален до слабо алкален, со боја од безбоен до слабо жолт. При протресување растворот силно пени, има горчлив вкус и слаб мирис на бадем, што е и единствено забележливо кај концентрирани раствори.

Стандардните концентрации се произведени како 50% и 80% w/w раствор, и се продаваат под заштитени имиња, како BC50, BC80, BAC50, BAC80. Педесетпроцентниот раствор е целосно воден раствор, додека пак за спречување на растечката вискозност или формирањето на гел состојба во услови на ниска температура, поконцентрираните раствори бараат додавање на модификатори (алкохол, полиетилен гликол и др.).

Бензалкониумхлоридот е силен биолошки агенс со умерено долго дејство. Дејствува против бактерии и некои вируси, фунги и протозои. Се смета дека бактериските спори се резистентни. Растворите се бактериостатски и бактерицидни во зависност од нивната концентрација. *Gram*<sup>+</sup> бактерии се повеќе чувствителни отколку *Gram*<sup>-</sup> бактерии. Активноста на бензалкониумхлоридот не е под влијание на рН-вредноста, но значително се зголемува на повисока температура и при продолжена изложеност [17,136].

Официјалната фармакопеја на Соединетите Американски Држави го прифаќа бензалкониумхлоридот како помошно антимикробно средство [17]. Во голем број пасти за заби и плакначи тој е главното антимикробно средство.

## 5. ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ

Поради релативно честата појава на рекурентниот кариес по реставративниот третман, како и поради огромниот број кариогени микроорганизми присутни во оралната празнина, а кои претставуваат потенцијален ризик-фактор за настанување на нови кариозни лезии, сè поголемо внимание се насочува кон терапевтските антимикробни аспекти на реставративните материјали. Реминерализацијата на забната структура со ослободување на флуориди е многу важна и добро документирана, меѓутоа потенцијалниот антибактериски ефект на реставративните материјали би бил уште една многу битна карактеристика, бидејќи инактивацијата на бактериите значи директна стратегија кон ерадикацијата на причинителот на денталниот кариес.

Како најприфатливи реставративни материјали кои ги поседуваат позитивните особини на флуорот во процесот на реминерализација и неговото антимикробно дејство, се истакнуваат глас-јономер цементите.

Според Mazzaoui [88] постојат две главни причини кои ги прават ГЈЦ-ите многу популарни. Тие се: перманентната јонска врска со забната структура, и

нивниот капацитет да ослободуваат флуориди, што ги чини корисни во замената на дентинот кога се користат како подлоги кај длабоки кавитети.

### 5.1. ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ – ПРЕГЛЕД

Глас-јономерите во реставративната стоматологија се употребуваат повеќе од четириесет години. Настанати се како резултат на раните студии на Alan Wilson и Brian Kent во Laboratory of the Government Chemist во Лондон кон крајот на 60-тите години на минатиот век [97]. Во 1972 година Wilson и Kent го произведуваат првото стакло со висок процент на флуор (G-200). Овој цемент беше наречен ASPA (Alumino-Silicate Polyacrylic Acid). Во производство влегува како ASPA I од компанијата De Trey Division, Dentsply International. Заради неговите карактеристики (бавно време на врзување, чувствителност на влага за време на врзувањето, како и многу ниска транслуценција), наоѓа ограничена примена од клиничарите. Подоцна се јавуваат поусовршени облици на ГЈЦ-и како ASPA II (додаток на тартарна киселина) – Wilson и Crisp, 1972 г., ASPA III (метилалкохол во полиакрилна киселина) – Wilson и Crisp, 1974 г., како и ASPA IV (кополимер од акрилна и итаконична киселина) – Crisp и Wilson, 1977 г. Овој глас-јономер цемент претставува прв комерцијален глас-јономер цемент иако има многу поинфериорни особини споредени со материјалите кои се употребуваат денес [96,97,129]. Оригинаалните глас-јономер цемента се составени од воден раствор од поли(акрилна)киселина во концентрација од околу 45% којашто влегува во реакција со прашок составен од калциум флуоралуминосиликатно стакло. Ова стакло е од истиот генерички тип и е употребувано во старите дентални силикатни цемента [15, 90, 96, 97, 112].

## 5.2. ИДЕНТИФИКАЦИЈА И КЛАСИФИКАЦИЈА НА ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИТЕ

Терминот глас-јономер цемент би требало да се употребува само за материјали кај кои доаѓа до киселинско-базна реакција како дел од нивната реакција на врзување, и кои поседуваат можност за континуирано ослободување на флуориди. Глас-јономер цементите можат да се поделат според неколку критериуми, од кои за нас најважна е поделбата според хемизмот.

Според таа поделба глас-јономер цементите најчесто се делат во пет главни типови:

- Конвенционални глас-јономер цемента

Настануваат од водена полиалкеноична киселина, како што е полиакрилната киселина, и стаклени компоненти кои обично се флуор-алуминосиликати. При мешањето на течноста со прашокот настапува ацидобазна реакција.

- Смолесто модифицирани глас-јономер цемента

Тоа се конвенционални глас-јономер цемента со додаток на НЕМА (hydroxyethylmethacrylate).

- Хибридни јономер цемента (познати и како двојно-врзувачки глас-јономер цемента)

Ја спојуваат ацидобазната реакција на традиционалните ГЈЦ-и со само-врзувачка полимеризациона реакција. Овие светлосно-полимеризирачки системи беа развиени со додавање на полимеризирачки метакрилатни групи со фотоиницијатор. Развиени во 1992 г., тие се многу покомплексни материјали, настанати со модификација на полиалкеноичната киселина со странични синџири кои можат да се полимеризираат со светло.

- Тројноврзувачки глас-јономер цемента

Системи кои имаат вградена хемиско-врзувачка терциерно-амино-пероксидна реакција за полимеризирање на метакрилатните дупли врски заедно со фотоиницијација и ацидо-базна реакција.

- Глас-јономер цементи модифицирани, односно зајакнати со метал – цермети

Глас-јономер цементите зајакнати со метал за првпат беа претставени во 1977 год. Додавањето на прашковидна легура од сребрен амалгам на конвенционалните материјали ја зголемува физичката сила на цементите и обезбедува рендгенконтрасност.

Хемизмот на глас-јономер цементите во основа е еднаков за сите категории, но постојат варијации во односот прашок/течност, како и во големината на честичките кои се приспособуваат за саканата намена. ГЈЦ-ите имаат одредени особености кои ги прават атрактивни за стоматолозите. Тие атхезивно се врзуваат со емајлот и дентинот, ослободуваат флуориди во тек на долг временски интервал, биокompatibilни се и имаат приближно ист коефициент на термичка експанзија како онаа на забните структури.

И покрај овие предности, конвенционалните ГЈЦ-и имаат и недостатоци, како што се: кусо време на работа и доста долго време на врзување, кршливост, слаба цврстина, лоша отпорност кон абразија. Исто така, во раните фази на врзување, чувствителни се на влага или на исушување (дехидратација). Дел од овие недостатоци се подобрани кај најновите генерации глас-јономер цементи. Добро е познато дека механичките и физичко-хемиските карактеристики, како и времето на работа и на врзување на ГЈЦ-ите многу зависат од неколку фактори, како што се: составот на алуминосиликатното стакло и полиакрилната киселина, големината на партиклите во стаклениот прав, пропорцијата на составните елементи (стакло/полиакрилна киселина/тартарна киселина/вода), како и процесот на мешање. Во процесот на производство се контролираат речиси сите процеси, освен процесот на мешање [15, 16, 34, 35, 90, 96, 97, 112, 115].

Дефиницијата со која се карактеризираат глас-јономер цементите е: *цементи чија основа е стакло и кисел полимер, кои влегуваат во ацидо-базна реакција.*

### 5.2.1. ГЈЦ-прашок

Прашокот е киселинско-растворливо калциум флуороалумино-силикатно стакло слично на она што се употребува во силикатните цементи, но со повисок алуминосиликатен сооднос, што ја зголемува неговата реактивност со течноста. Флуоридот дејствува како т.н. „керамички флукс“. При контактот со разблажена киселина се ослободуваат јони, најчесто  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Al}^{3+}$  и евентуално  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{La}^{2+}$  или  $\text{Zn}^{2+}$  во зависност од составот. Рендгенконтрасноста ја обезбедуваат лантанот, стронциумот, бариумот или цинкоксидот. Со загревање на температури од  $1100^{\circ}\text{C}$  до  $1500^{\circ}\text{C}$  суровите материјали се спојуваат во еднообразно стакло. Стаклото се меле како прашок со честички чијашто големина се движи од 15 до 50  $\mu\text{m}$  [90,136]

### 5.2.2. ГЈЦ-течност

Вообичаено, течностите за ГЈЦ-ите се водени раствори на полиакрилната киселина во концентрација околу 40 до 50%. Течноста е слабо вискозна со тенденција да премине во гел со тек на времето. Во повеќето од сегашните цементи, киселината е во форма на кополимер со итаконична, малеична или трикарбоксилна киселина. Овие киселини придонесуваат кон зголемување на реактивноста на течноста, намалувајќи ја вискозноста и редуцирајќи ја тенденцијата за премин во гел форма. Тартарната киселина е исто така присутна во течноста. Таа ги подобрува манипулативните карактеристики и го продолжува времето на работа, но го скусува времето на врзување. Вискозноста на цементите кои содржат тартарна киселина главно не се менува по истекот на нивниот рок на траење. Но сепак, таа може да се смени доколку цементите се употребуваат надвор од рокот на важност.

Со цел да се продолжи времето на работа, кај некои глас-јономер цементи, киселината е во форма на замрзнато исушен прашок кој се наоѓа во исто шишенце заедно со стаклениот прашок. Течноста е вода или вода со тартарна киселина. При мешање на прашоците со вода, киселинскиот прашок

се раствора до течна киселина и овој процес е следен со киселинско-базна реакција.

### 5.2.3. Ацидо-базна реакција

Ацидо-базната реакција се дефинира како цементно-формирачка реакција, односно како промена на почетната вискозна смеса во цврста структура, при што кај вистинските глас-јономер цементи оваа реакција се одвива во клинички прифатливо време, т.е. за неколку минути [15,34,35,90, 96,97,112].

## 5.3. ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ – МАТРИЦА ЗА ОСЛОБОДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИ КОМПОНЕНТИ

Глас-јономер цементите најчесто се користат за реставрации на неретентивни и цервикални кавитети и на кавитети на млечни заби. Нивната употреба е детерминирана од својството да ослободуваат флуор [11,16,43,137, 138] и да учествуваат во механизмот на инхибиција при појавата на секундарен кариес [15,90,96,97]. Истовремено тие дејствуваат и на бактериите од околината преку редуција на кариогените микроорганизми [36,63,107,132].

### 5.3.1. Флуоридите како антимикробни компоненти

Флуорот како хемиски елемент, како и неговата редуцирана форма – флуоридниот анјон ( $F^-$ ), поседуваат антимикробни особини. Анализирани и испитувани се различни концентрации на флуориди што би довеле до инхибиција како на денталниот плак така и на чиста култура на орални микроорганизми. Според Tatevossijan [119], концентрација од 0,005 ml/l е способна да го редуцира создавањето на дентален плак. Duguid и Senior [45] испитуваа повеќе култури на *Streptococcus sanguis*, при што флуоридна концентрација под 0,005 ml/l има помал ефект кон испитуваната бактерија.

Растот на бактериските клетки се редуцира со концентрации помеѓу 0,01 и 0,05 ml/l, а е комплетно инхибиран при концентрации од 0,1 ml/l флуорид. Bowden потврди дека флуоридите можат да убијат стрептококи во *in vitro* услови со концентрација во опсег од 0,16 до 0,31 ml/l [20].

Во огромен број студии е потврден фактот дека и глас-јономер цементите и смолесто модифицираните глас-јономер цемента поседуваат капацитет за бавно и стабилно ослободување на флуориди во тек на долг временски период [39,41,56,60,62,116,140].

Според литературата, количините на ослободените флуориди во дејонизирана вода во текот на 28 дена кај некои конвенционални ГЈЦ-и се движат меѓу 100 ppm до помалку од 10 ppm. Тие вредности кај смолесто-модифицираните цемента се во опсег од 50 до 7 ppm. Вредностите пак за ослободените флуориди кај некои флуор-смолести композити изнесува околу 1 ppm или помалку, до вредности кои не можат да се измерат (помалку од 0,02 ppm) [9,75,116]. Според Mazzaoui [88], кумулативните вредности на ослободените F<sup>-</sup> јони од ГЈЦ Fuji IX во времетраење од 28 дена изнесува 24,4 ppm по истекот на мерениот интервал.

Со оглед на тоа дека флуорот поседува антимикуробни својства, на глас-јономер цементите може слободно да им се додаде уште една многу битна карактеристика – антимикуробно дејство.

Покрај ослободувањето на флуоридните јони, ГЈЦ-ите потенцијално можат да бидат искористени како матрици за ослободување на други активни антимикуробни состојки.

### 5.3.2. Други антимикуробни соединенија

За да се подобрат антимикуробните својства како на конвенционалните така и на смолесто-модифицираните ГЈЦ-и, во составот на цементите се додавани антимикуробни соединенија. Во најголем број од студиите најчесто анализирано антимикуробно соединение е хлорхексидинот. Тој е опишан како златен стандард за антибактериска апликација [81]. Во овој дел од

литературниот преглед направен е кус осврт кон дел од неговите позитивни особини кога е вграден во глас-јономер цементите.

Вградувањето на chlorhexidine dihydrochloride и chlorhexidine diacetate во глас-јономер цементите придонесува кон зголемување на антимицробните ефекти на глас-јономерите без сериозно да ги наруши нивните физички карактеристики [73,105]. Меѓутоа, додавањето на chlorhexidine gluconate, иако го инхибира растот на *Streptococcus mutans*, резултира со намалување на физичките карактеристики на материјалот. Намалувањето на физичките карактеристики на диглуконатот од СНХ е поврзано со фактот дека тој е течност и истекува многу побрзо отколку прашокот на диацетатот [110].

Комбинацијата на СНХ diacetat и СНХ dihidrohlorid во ГЈЦ-прашок резултира со инхибиција на *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* и *Actinomyces naeslundii*, но големината на зоната на инхибиција и концентрацијата на ослободениот СНХ не е во директен однос со содржината на СНХ [118]. Меѓутоа, според Ribeiro и Ericson [105], повисоки концентрации на хлорхексидин даваат подолготраен антимицробен ефект врз *S. mutans*.

Неколку студии го опишуваат мерењето на количеството на ослободениот СНХ од ГЈЦ-и во функција на време. Ribeiro и Ericson [105] признаваат само две концентрации (13,3 и 6,65%) вградени во комерцијалниот лутинг цемент (аквацем), следејќи го бактерицидниот ефект од ослободената концентрација [101].

Хлорхексидинот е додаван во концентрации од 0,5% до 13% од тежината на ГЈЦ-ите. Целиот мерлив хлорхексидин е ослободен во период од 22<sup>1/2</sup> часа, иако тоа е помалку од 10% од вкупната маса инкорпорирана во примероците. Процентуалното зголемување на СНА инкорпорирано во прашокот дава и зголемено ослободување во околината. Сепак, најголемиот дел од СНА останува врзан во цементот [101].

Резултатите од испитувањата на Sanders [110] говорат дека додавањето на 5% на СНХ во смолесто-модифицираниот ГЈЦ (Photac-fil) доведува до сигнификантно поголема редукција на *S. mutans* споредено со ГЈЦ без додаток на СНХ.

Додавањето на различни концентрации (1/0, 2/0, 3/0, 1/1 и 2/2% w/w) од комбинација на хлорхексидин диацетат и хлорхексидин дихидрохлорид во конвенционален ГЈЦ (Fuji IX), покажа дека експерименталниот ГЈЦ со додаден 1% на СНХ е оптимално ефикасен во инхибирањето на кариогените микроорганизми без нарушување на физичките и бондинг карактеристики и претставува материјал на избор при АРТ [118].

*In vivo* пилот-студијата на Frencken *et al.* [57] покажа дека додавањето на хлорхексидин доведува до сигнификантна редукција на аеробните и анаеробните бактериски броеви во инфицираниот и деминерализираниот дентин во период од седум дена.

За жал, постои многу мал број литературни податоци за инкорпорација на други антимикробни компоненти во ГЈЦ-ите. Иако дел од нив имаат потврден ефект во редукцијата на кариогената саливарна флора, употребени во плакначите за уста или во пастите за заби [7,17,32,33,38,54,80,95,103,104], сепак резултатите за нивно вградување во глас-јономер цементите се сè уште оскудни. Најчесто, тие се додавани во цементите во кои е додаван и хлорхексидинот за да се направи споредба на нивниот ефект во однос на ефектот на хлорхексидинот.

Интересен е експериментот со кој е направена компаративна анализа на ефектите од различни антимикробни агенси додадени во конвенционалниот глас-јономер – Fuji IX. Покрај хлорхексидин хидрохлорид, беа додадени цетилпиридиниумхлорид, цетримид и бензалкониумхлорид во концентрации од 0, 1, 2, и 4% од тежината. Антимикробните примероци на ГЈЦ-ите покажаа сигнификантна инхибиција која се намалува во различни временски периоди за време на испитувањето. Додавањето на антимикробни агенси во Fuji IX создава ГЈЦ-ен материјал со сигнификантна *in vitro* антимикробна активност која зависи од концентрацијата и типот на антимикробниот агенс, и е во сооднос пред сè со неговото ослободување од површинскиот слој на примероците [19].

## 5.4. ДЕЛ ОД НАЧИНИТЕ ЗА ХЕМИСКО-МЕХАНИЧКА АНАЛИЗА НА ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИТЕ

### 5.4.1. Јон-селективна електрода ЈСЕ (ІСЕ)

Една од најкористените методи за одредување на елементи и соединенија во течен медиум е јон-селективната електрода (ЈСЕ). Позната и како специфична јон-електрода (СЈЕ), таа претставува трансдуктор (или сензор) кој ја претвора активноста на специфичниот јон растворен во растворот во електричен потенцијал, кој може да се измери со волтметар или со рН-метар.

Осетливиот дел на електродата обично претставува јон-специфична мембрана, исто како и референтната електрода. Јон-селективните електроди се користат во биохемиски и во биофизички истражувања, каде што се бараат мерења на јонската концентрација во воден раствор, обично во реално време. Постојат четири главни типа на јон-селективни мембрани кои се користат кај јон-селективните електроди: стаклени, цврсти, базирани на течност и сложени (комбинирани) електроди [13,14,25,99,106].

### 5.4.2. УВ-вид. спектрофотометрија (UV-vis spectrophotometry)

Ултравioletовата видлива спектроскопија/спектрофотометрија се однесува на апсорционата спектроскопија во ултравioletовото видливо подрачје. Тоа значи дека таа користи светлина во видливиот опсег и во соседните опсези (блиску до ултравioletовиот опсег и блиску до инфрацрвениот опсег). Апсорпцијата во видливиот опсег директно влијае врз перципираната боја на хемикалиите што учествувале во процесот. Во ова подрачје на електромагнетниот спектар молекулите трпат електронски премини. Оваа техника е комплементарна со флуоресцентната спектроскопија.

УВ/вид.-спектроскопијата рутински се користи во квантитативното одредување на раствори на јони на преодни метали и силно конјугирани органски соединенија.

Покрај растворите на јони на преодни метали, органските соединенија, особено оние со висок степен на конјугација, исто така апсорбираат светлина во УВ или во видливото подрачје од електромагнетниот спектар. Средствата за растворање за овие анализи најчесто се водата за водено-растворливите соединенија, или етанолот за органско-растворливите соединенија. Поларитетот на средството за растворање, како и неговата рН-вредност, можат да влијаат врз апсорпциониот спектар на органските соединенија.

#### 5.4.3. Сила на компресија

По дефиниција, силата на компресија на материјалот е онаа вредност на стрес при компресија по една оска која е достигната кога материјалот целосно се крши. Обично силата на компресија се добива експериментално со помош на тест на компресија.

Додавањето на антимицробни соединенија не треба да ги наруши нормалните физички особини на глас-јономер цементите, напротив овие цемента треба да претставуваат бенефит во реставративната стоматологија. За да се разберат физичките карактеристики на ГЛЦ-ите, покрај други методи, најексплоатирана е методата на одредување на силата на компресија.

За спроведување на анализите, некои испитувачи прифаќаат стандарди и спецификации за денталните материјали, инструменти и дентален прибор. Постојат повеќе валидни стандарди за одредување на силата на компресија на глас-јономер цементите. Еден од нив е Спецификацијата №. 66 од 1987 година, според која за одредување на силата на компресија се употребуваат примероци со димензии 12 мм висина x 6 мм дијаметар. Друга спецификација е онаа што е во согласност со Британскиот стандард (BS 6039: 1981) [37] или пак ISO спецификацијата (7489: 1986) [71] со која се дефинираат димензиите на примероците на 6 мм висина и 4 мм дијаметар. Следејќи ја оваа спецификација, односно димензиите на примероците, Williams и Billington [139] ја анализираат силата на компресија на ГЛЦ-ите во периоди од 30 минути, 1 час и 24 часа. Досегашните испитувања говорат дека во период од 24 часа до 4

месеци некои материјали, особено оние базирани на полиакрилна киселина, ја одржуваат, дури покажуваат и благо зголемување на цврстината, додека пак други цемента базирани на кополимери од акрилна киселина прво ја зголемуваат цврстината, но подоцна појавуваат влошување. Модерните глас-јономер материјали прикажани од Williams и Billington [139] поседуваат сила на компресија која прогресивно се зголемува во тек на 24 часа со карактеристични вредности од 170 до 220 МПа по 24 часа. Слично на оваа студија, Cattani-Lorente *et al.* [28] и McComb [89] го следат ISO 7489: 1986 стандардот [71] за водено-базирани ГЈЦ-и. Спротивно пак на овие студии, Gerdullo *et al.* [59] и Drummond *et al.* [44] за одредување на силата на компресија на ГЈЦ-ите ја препорачуваат методата со употреба на примероци со 12 мм висина и 6 мм дијаметар следејќи го ANSI/ADA стандардот N° 66 за денталните цемента. Покрај деталите за двата теста, односно двете димензии на примероци, беше опсервирано дека 24-часовен период на складирање на примероците е најприфатлив, со оглед на тоа што најголемиот број на овие материјали ја постигнуваат цврстината во рамките на тој период, што е во согласност со Британскиот стандард (BS 6039: 1981) [37] и со Меѓународниот стандард специфициран од ISO (7489: 1986) [71]. Според тоа, за одредување на силата на компресија на глас-јономер цементите можат да бидат применети различни методологии следејќи ги стандардите за димензии на примероците. Како и да е, сè уште постојат сомнежи со оглед на разликите кои се јавуваат при тестирањата на примероците со различни димензии и со различен состав на материјали, од комерцијалните или смолесто-модифицираните ГЈЦ-и [84].

Со цел да се испита ефектот на вметнатиот СНА врз карактеристиките на цементот, беа анализирани силата на компресија, како и времето на врзување и работа. Хлорхексидинот додаван во концентрации од 0,5% до 13% од тежината на ГЈЦ-ите покажа дека силата на компресија опаѓа во директен сооднос со количината на додадениот СНА, додека времето на работа и врзување расте [101]. Додавање на 5% СНХ во смолесто-модифицираниот ГЈЦ (Photac-fil) не влијае врз физичките карактеристики за време од 24 часа [110].

Turkun *et al.* [122] ги анализираат ефектите од додавањето на 0,5, 1,25 и 2,5% хлорхексидин диацетат и хлорхексидин диглуконат на силата на компресија на ГЈЦ ChemFil употребувајќи примероци со димензии од 4 мм дијаметар и 6 мм висина, замешани во прашокот од цементот.

Анализа на силата на компресија има правено и Takahashi *et al.* [118], кој додава хлорхексидин диацетат со 1, 2 и 3%, комбинации од хлорхексидин диацетат 1% и хлорхексидин дихидрохлорид 1%, како и хлорхексидин диацетат 2% и хлорхексидин дихидрохлорид 2% од тежината на Fuji IX, при што доаѓа до заклучок дека силата на компресија сигнификантно опаѓа кај концентрации од 2% или поголеми.

Од целокупната користена литература во оваа студија, можеби најопсежни анализи за можностите за инкорпорирање на антимикробни соединенија во ГЈЦ-и има правено Botelho [18]. Меѓу останатите, врши и анализа на силата на компресија на глас-јономер цементот Fuji IX со додаток на 1, 2 и 4% антимикробни соединенија хлорхексидин хидрохлорид, цетилпиридиниумхлорид, цетримид – додавани во прашокот, и бензалкониумхлорид додаван во течноста на цементот. Според авторот, додавањето на антимикробните соединенија во сите концентрации ја редуцира силата на компресија на ГЈЦ-от Fuji IX.

## 6. АТРАУМАТСКИ РЕСТАВРАТИВЕН ТРЕТМАН (АРТ)

Додавањето на антимикуробни компоненти во глас-јономер цементите и анализата на нивните физички својства се многу важни особено при користење на тие материјали при atraumatскиот реставративен третман (АРТ). АРТ претставува пристап со минимална интервенција при што распаднатото дентално ткиво се отстранува со употреба на мануелни инструменти и кавитетот се реставрира со употреба на ГЈЦ-и. Нема потреба од довод на струја или употреба на локална анестезија, а се отстранува инфицираниот, денатуриран дентин, при што се обезбедува здравување на деминерализираниот дентин.

Оваа процедура беше развиена бидејќи милиони луѓе во индустриски неразвиените земји, како и некои групи луѓе, како бегалци и луѓе од сиромашни заедници, не можат да добијат современа реставративна дентална грижа. Кај оваа популација појавата на денталниот кариес и неговиот прогресивен развој води до екстракција на забот како единствена опција за третман на кариозните заби [77]. Овие луѓе не го чувствуваат бенефитот од развојот кој го носи развиената орална здравствена заштита во индустријализираниот свет. Немањето струја, како и уверувањето дека реставративната дентална грижа секогаш бара специфична стоматолошка опрема, беа главните причини за губењето заби. За разлика од ова, АРТ нуди третман на кавитети и за луѓе кои живеат во региони кои немаат струја, односно во региони кои се снабдени со струја но каде што заедницата не може да си дозволи скапа стоматолошка опрема [58,10].

Атрауматскиот реставративен третман е развиен во средината на осумдесеттите години од минатиот век во Танзанија. Во текот на следните години вршени се голем број опсежни теренски студии, главно во неразвиените земји или во нивни делови. Вршени се споредби на АРТ со традиционалната метода (Тајланд 1991, Зимбабве 1993). Според анализата на резултатите, постојаноста на реставрациите изведени со помош на АРТ е многу висока: студија Зимбабве – 85% од едноповршинските реставрации во

трајната дентиција беа во добра или прифатлива состојба по три години [58], студија Мексико – 66% од реставрациите и 35% од залевачите беа задржани по две години [83]; студија Египет – 88% од реставрациите по 17 месеци се во добра состојба [49].

Резултатите од евалуацијата на искуствата за прифатливоста на АРТ за превенција и третман на денталниот кариес се во голема мера задоволителни. Во студијата Мексико – 85% од пациентите не пријавиле болка, а 93% биле задоволни од реставрациите [83].

Многу важен момент кај примената на АРТ е појавата на секундарен кариес. Испитувањата прикажуваат дека преваленцијата на секундарниот кариес кај реставрациите со примена на АРТ кај трајната дентиција во период од 3 до 6 години е 1,5–2,4%.

АРТ наоѓа сè поширока примена и во развиениот свет. Третманот се базира на модерните знаења за минималната интервенција, минималната инвазивна метода, како и на минималната препарација на кавитетите. Бидејќи оваа процедура се смета за „пријателска процедура“, постојат големи можности за нејзина примена кај децата [111], како и кај плашливи возрасни пациенти [27]. Оваа постапка, исто така, нуди реставративни можности и за некои посебни групи од општествената заедница, како што се физички и ментално хендикепирани лица, лица во старечки домови, како и за стари лица врзани за своите домови [58].

Основен материјал кој се користи за затворање на кавитетите кај atraуматскиот реставративен третман се глас-јономер цементите [10,24,36,49,58, 83,91,92,107,111].

Подобрувањето на својствата на материјалите за затворање на кавитетите би ги решило проблемите со некомплетното отстранување на инфицираниот дентин, што во иднина би претставувало бенефит за поголем успех и на atraуматскиот реставративен третман. Меѓутоа, инкорпорирањето на антимикробни соединенија многу често резултира со промени на физичките карактеристики на реставративните материјали. Со оглед на тоа дека употребата на ГЈЦ-и е индицирана за кавитети на млечни заби во

постериорната регија, битно е реставративниот материјал да покажува доволно добри физички карактеристики за да одолее на оклузалниот притисок [98,118]. Антимикробните ГЦ-и коишто би се употребувале во педодонцијата бараат оптимална количина на антимикробни соединенија, кои нема да ги загрозат основните карактеристики на матичните материјали и ќе претставуваат бенефит во борбата против кариогените микроорганизми и следствено ќе доведат до намалување на инциденцата на денталниот карлес.

### **III. ЦЕЛИ**

Тргувајќи од фактот дека микроорганизмите се главниот причинител за настанување на денталниот кариес, дека глас-јономер цементите се материјал на избор пред сè во детската стоматологија и дека тие можат потенцијално да се искористат како медиум за бавно ослободување на активни антимикуробни компоненти, како и од сознанието дека испитувањата за вградување на антимикуробни соединенија во глас-јономер цементите се сè уште оскудни, ја дефиниравме главната цел на докторската дисертација:

- добивање на антимикуробен глас-јономер цемент кој ќе ги задоволува сите особини на глас-јономер цементите, но ќе дејствува и антимикуробно врз кариогената флора.

Поставената цел се реализираше преку хемиски, механички и микробиолошки анализи:

- ❖ Инкорпорирање на различни концентрации на антимикуробни соединенија во комерцијални глас-јономер цемента и во експериментален глас-јономер цемент;
- ❖ Одредување на ефектите од инкорпорираните антимикуробни компоненти врз физичките карактеристики на комерцијалните глас-јономер цемента преку одредување на времето на врзување;
- ❖ Одредување на ефектите од инкорпорираните антимикуробни компоненти врз механичките карактеристики на комерцијалните глас-јономер цемента преку одредување на силата на компресија;
- ❖ Мерење на нивото на ослободени флуоридни (F) и хлоридни (Cl) јони од комерцијални ГЈЦ-и, во медиум од дејонизирана вода во различни временски периоди (кумулативен ефект);
- ❖ Мерење на нивото на ослободени флуоридни (F) и хлоридни (Cl) јони од комерцијални ГЈЦ-и, во медиум од дејонизирана вода во

различни временски периоди, но со промена на медиум пред секој мерен период;

- ❖ Мерење на нивото на ослободени хлоридни (Cl<sup>-</sup>) јони од експериментален ГЈЦ, во медиум од дејонизирана вода во различни временски периоди;
- ❖ Мерење на количината на ослободените антимикуробни соединенија од комерцијалните глас-јономер цементи како и од експерименталниот глас-јономер цемент, со претходно инкорпорирани различни проценти на антимикуробни соединенија;
- ❖ Одредување и споредба на зоните на инхибиција на глас-јономер цементите со инкорпорирани антимикуробни соединенија кон кариогените микроорганизми;
- ❖ Меѓусебна компарација на антимикуробните ефекти на комерцијално достапните глас-јономер цементи.

## **IV. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД**

## 1. МАТЕРИЈАЛ

За реализација на поставените цели, во студијата се користеа следниве материјали:

- ❖ Комерцијално достапни глас-јономер цементи;
- ❖ Експериментален глас-јономер цемент;
- ❖ Антимикробни соединенија;
- ❖ Колонии на микроорганизми;
- ❖ Бактериски подлоги.

### 1.1. КОМЕРЦИЈАЛНО ДОСТАПНИ ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ

Комерцијално достапните глас-јономер цементи употребени во анализите се FUJI IX и ChemFlex, материјали кои наоѓаат широка примена во реставративната, пред сè детска стоматологија.

Табела 1. Состав на конвенционалните глас-јономер цементи

МАТЕРИЈАЛ	КЛАСИФИКАЦИЈА	СОСТАВ	ПРОИЗВОДИТЕЛ
Fuji IX GP	<i>Конвенционален глас-јономер цемент</i>	силициум, алуминиум, натриум, флуор, фосфор, стронциум	GC Int., Tokyo, Japan
ChemFlex	<i>Конвенционален глас-јономер цемент</i>	стронциум, алуминиум, флуорид, силикат, тартарна киселина, пигменти, полиакрилна киселина	DENTSPLY DeTrey, Konstanz, Germany

### 1.1.1. Карактеристики и состав на глас-јономер цементот Fuji IX

Фабричкото име на овој цемент е **GC Fuji IX GP**, рендген контрастен глас-јономер цемент за реставрации во постериорна регија.

Слика 1. Глас-јономер цемент Fuji IX



Составот на глас-јономер цементот Fuji IX е прикажан во табела 1.

Стандардниот прашок-течност сооднос е 3,6 г : 1,0 г (едно лопатче прашок се меша со една капка течност. Времето на мешање е од 25 до 30 секунди. Времето на работа е две минути од почетокот на мешањето на температура од 23°C. (Повисока температура го скусува времето на работа). Времето на врзување е две минути и 20 секунди. Се препорачува употреба на пластични шпатули.

Се дистрибуира во пакувања од 15 грама прашок и 8 грама (6,4 мл) течност, и содржи лопатче за прашокот, подлога за мешање (No. 22) и пластична шпатула.

### 1.1.2. Карактеристики и состав на ChemFlex

Фабричкото име на овој цемент е **ChemFlex™ Dentsply DeTrey** глас-јономер реставрационен материјал со голема цврстина.

Слика 2. Глас-јономер цемент ChemFlex



Составот на глас-јономер цементот ChemFlex е прикажан во табела 1.

Стандардниот прашок-течност сооднос е едно лопатче прашок и една капка течност. Стандардното пакување доаѓа со две лопатчиња. Црвеното лопатче се користи за погуста конзистенција во сооднос 3,8 : 1; зеленото лопатче за поретка конзистенција во сооднос 3,3 : 1 и тој сооднос не е погоден за оклузални површини кои трпат силен притисок. Вкупното време на мешање би требало да е 20 секунди. Времето на работа е околу 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> минута за погустата, односно околу 2 минути за поретката конзистенција. Времето на врзување од почетокот на мешањето е пет минути за погустата и седум минути за поретката конзистенција. Се препорачува употреба на челична не'рѓосувачка или ахатна шпатула и мешање на стаклена плочка или на фабричка подлога за мешање.

## 1.2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТ МР4

Во анализите беше користен експериментален глас-јономер цемент – МР4 развиен од Pilkingtons Ltd, UK. Карактеристично за овој цемент е тоа дека не содржи калиумови и флуоридни јони. Стаклото се добива како фино сомелен прашок кој се меша со полиакрилна и тартарна киселина во пропорции такви што кога ќе се помеша со вода во однос 7 : 1 м:м, цементната смеса (стакло-киселина и вода) е слична на комерцијалните глас-јономер цемента. Времето на врзување на овој глас-јономер цемент е во опсегот

специфициран за таквите цемента (EN 29917: 1994). Составот на МР4 глас-јономер цементот е даден во табела 2.

Табела 2. Состав на експерименталниот глас-јономер цемент МР4

МАТЕРИЈАЛ	ХЕМИСКИ КОМПОНЕНТИ	% НА ХЕМИСКИТЕ КОМПОНЕНТИ	ПРОИЗВОДИТЕЛ
МР4	силициум (SiO <sub>2</sub> )	28	Pilkingtons Ltd.
	алуминиум (Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	35	
	калциумоксид (CaO <sub>2</sub> )	26	
	натриумоксид (NaO)	11	

### 1.3. АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА

Антимикробните соединенија употребени во анализите се: Cetylpyridinium Chloride и Benzalkonium Chloride.

#### 1.3.1. Цетилпиридиниумхлорид (Cetylpyridinium Chloride)

Слика 3. Cetylpyridinium Chloride – хемиска формула



*Карактеристики:*

Молекуларна формула: C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>ClN

Моларна маса: 339,99 g mol<sup>-1</sup>

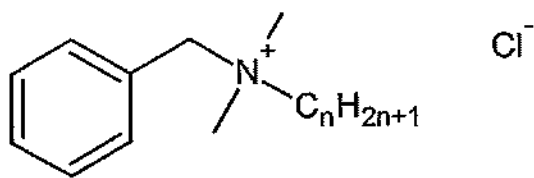
Изглед: цврста агрегатна состојба

Точка на топење: 77°C, 350K, 171°F

Антимикробното соединение цетилпиридиумхлорид употребено во овие анализи е производ на компанијата Sigma – Aldrich Co. со фабричко име Cetylpyridinium Chloride C0732.

### 1.3.2. Бензалкониумхлорид (Benzalkonium Chloride)

Слика 4. Benzalkonium Chloride – хемиска формула



$n = 8, 10, 12, 14, 16, 18$

*Карактеристики:*

**Молекуларна формула:** променлива

**Моларна маса:** променлива

**Изглед:** бел и жолт прашок; во вид на желатински грукци; безбојни раствори

**Густина:** 0,98 g/cm<sup>3</sup>

**Растворливост во вода:** многу растворлив

**Температура на палење:** 250°C

Антимикробното соединение бензалкониумхлорид употребено во овие анализи е производ на компанијата Fluka Chemical Corporation Milwaukee, WI, USA, со фабричко име Benzalkonium Chloride 12660.

### 1.4. КОЛОНИИ НА МИКРООРГАНИЗМИ

Користени се референтни соеви во лиофилизирана форма произведени од American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA.

*Streptococcus mutans* – ATCC 25175

*Lactobacillus casei* – ATCC 4646

*Actinomyces viscosus* – ATCC 19246

#### 1.4.1. *Streptococcus mutans*

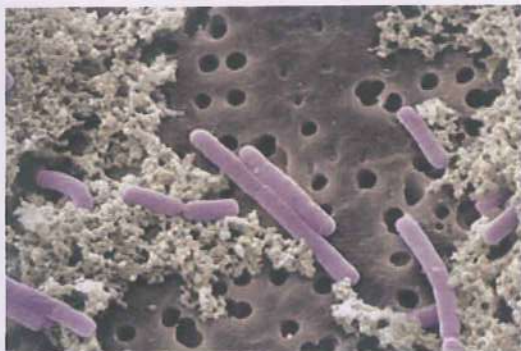
Слика 5. *Streptococcus mutans*



**Царство:** Bacteria  
**Коло:** Firmicutes  
**Класа:** Cocci  
**Ред:** Lactobacillales  
**Фамилија:** Streptococcaceae  
**Род:** *Streptococcus*  
**Вид:** *mutans*

#### 1.4.2. *Lactobacillus casei*

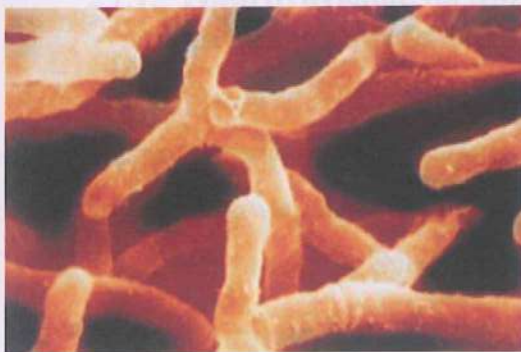
Слика 6. *Lactobacillus casei*



**Царство:** Bacteria  
**Коло:** Firmicutes  
**Класа:** Bacilli  
**Ред:** Lactobacillales  
**Фамилија:** Lactobacillaceae  
**Род:** *Lactobacillus*  
**Вид:** *L. Casei*

#### 1.4.3. *Actinomyces viscosus*

Слика 7. *Actinomyces viscosus*



**Царство:** Bacteria  
**Коло:** Actinobacteria  
**Класа:** Actinobacteria  
**Ред:** Actinomycetales  
**Фамилија:** Actinomycetaceae  
**Род:** *Actinomyces*  
**Вид:** *A. viscosus*

## 1.5. БАКТЕРИСКИ ПОДЛОГИ

- Мозочно-срцев инфузионен бујон - ВНІВ (Brain Heart Infusion Broth) Oxoid, Wesel, Germany, готови подлоги во епрувети од 10 мл, за освежување на лиофилизираните соеви, за подготовка на бактериски инокулум и суп-култивирање на соевите. Вкупно се употребени 96 подлоги.
- Шедлеров агар со додаток на овнешка крв – Schaedler +SB, Oxoid, Wesel, Germany, готови подлоги различни во Петриеви плочи со дијаметар од 90 мм. Вкупно за агар дифузиониот тест беа употребени 144 цврсти подлоги.
- Создавање на анаеробна атмосфера за култивирање – анаеробни лонци, со атмосфера од 10% јаглероддиоксид и 90% азот со употреба на анаеробен систем – Microbiology Anaerocult A, MERCK, Darmstadt, Germany.

## 2. МЕТОДИ И ТЕХНИКИ

Во испитувањата беа вклучени: хемиски, физичко-механички и микробиолошки анализи.

### 2.1. ХЕМИСКИ АНАЛИЗИ

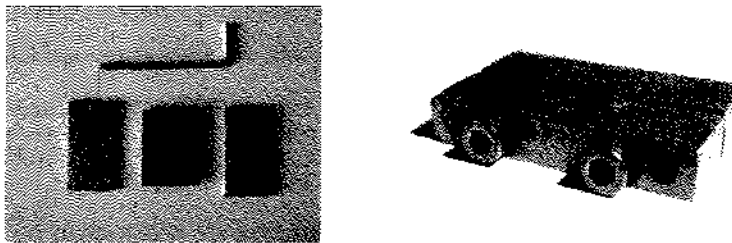
#### 2.1.1. Приготвување на примероците и инкорпорирање на антимицробните компоненти

Примероците се приготвуваа во согласност со Спецификацијата на ден-талните глас-јономер цементи на Британскиот институт за стандарди (1989) (British Standards Institution Specifications for Dental Glass Ionomer Cements 1989).

Примероците на глас-јономер цементи без инкорпорирано антимицробно средство беа приготвени со мешање на одредена количина на прашок и течност на стаклени плочки за мешање, употребувајќи метална шпатула

(според упатствата на производителите). Свежо замешаната паста се ставаше во специјални метални модли со димензии од 6 мм висина и 4 мм дијаметар. Модлите од обете страни се затвораа со метални плочки и се ставаа во специјални стеги. Потоа примероците беа ставени во инкубатор на 37°C во времетраење од еден час (време на матурација). По вадењето од инкубатор, примероците беа вадени од стегите и модлите и ставани во претходно означени пластични лабораториски туби со по 5 ml дејонизирана вода.

Слика 8. Метални модли за подготовка на примероци



Антимикробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride прво се вградуваа во полиакрилната киселина од глас-јономер цементите со мешање, а потоа постепено, порција по порција, беше додаван прашокот во киселината со замешаното антимикробно соединение, мешајќи ги до целосно заситување. Беа додавани строго одредени количини на антимикробната компонента, почнувајќи од 1% преку 2%, па сè до 3% од тежината на самиот цемент. Одредувањето на тежината на глас-јономер цементите ChemFlex и FujiIX, како и концентрацијата (тежината) на антимикробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride, се изведе со мерење на аналитичка вага Mettler AE 200 со можност за грешка помала од 0,00001 г. Прво се одреди тежината на глас-јономер цементот ChemFlex, а потоа се одредуваше процентуалниот тежински однос на антимикробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride кои ќе бидат вградени во глас-јономер цементот. Според анализите, 1% е еквивалентен на 0,0022 г; 2% се еквивалентни на 0,0044 г и 3% се еквивалентни на 0,0066 г од глас-јономер цементот ChemFlex. Што се однесува до другиот

глас-јономер цемент употребен во анализите – Fuji IX, процентуалната вредност на вградените антиминобни соединенија во грамови е: за 1% – 0,0032 г; за 2% – 0,0064 г. и за 3% – 0,0128 г од вкупната маса на цементот. Потоа, исто како и за примероците без вградено антиминобно средство, примероците беа ставени во инкубатор на 37°C во времетраење од еден час (време на матурација). По вадењето од инкубатор, примероците беа вадени од стегите и модлите и ставани во претходно означени пластични лабораториски туби со по 5 мл дејонизирана вода.

За секоја хемиска и механичка анализа беа изготвувани посебни примероци и тоа:

1. За одредување на јони со помош на јон-селективни електроди беа приготвени вкупно 84 примероци и тоа:

- По шест примероци од конвенционалниот глас-јономер цемент Fuji IX со додавање на различни концентрации на антиминобни соединенија – 1%, 2% и 3% посебно Cetylpyridinium Chloride и посебно Benzalkonium Chloride – вкупно 36 примероци, како и 6 примероци од комерцијалниот глас-јономер цемент FUJI IX без додавање на антиминобни соединенија – контролна група;

- По шест примероци од комерцијалниот глас-јономер цемент ChemFlex со додавање на различни концентрации на антиминобни соединенија – 1%, 2% и 3% посебно Cetylpyridinium Chloride и посебно Benzalkonium Chloride – вкупно 36 примероци, како и 6 примероци од комерцијалниот глас-јономер цемент ChemFlex без додавање на антиминобни соединенија – контролна група.

2. За УВ-спектрофотометриските анализи беа приготвени вкупно 72 примероци и тоа:

- По шест примероци од конвенционалниот глас-јономер цемент Fuji IX со додавање на различни концентрации на антиминобни соединенија – 1%, 2% и 3% посебно Cetylpyridinium Chloride и посебно Benzalkonium Chloride – вкупно 36 примероци;

• По шест примероци од комерцијалниот глас-јономер цемент ChemFlex со додавање на различни концентрации на антимикробни соединенија – 1%, 2% и 3% посебно Cetylpyridinium Chloride и посебно Benzalkonium Chloride – вкупно 36 примероци.

3. За одредување на силата на компресија беа подготвени вкупно 80 примероци и тоа: по пет примероци од секој комерцијален глас-јономер цемент со додадок на антимикробно соединение со трите испитувани концентрации, плус по пет примероци без додадено антимикробно соединение (контролна група).

4. За одредување на времето на врзување беа изготвени вкупно 16 примероци; по еден примерок од секој од испитуваните глас-јономер цементи инкорпорирани со 1%, 2% и 3% посебно Cetylpyridinium Chloride и посебно Benzalkonium Chloride, како и по еден примерок без додаток на антимикробно соединение (контролна група).

5. За УВ-спектрофотометриските анализи на примероци со менување на медиум (дејонизирана вода) беа изготвени 24 примероци – по шест примероци за секоја комбинација на глас-јономер цемент со антимикробно соединение, но само со два проценти.

6. За хемиските анализи спроведени со експерименталниот глас-јономер цемент МР4 направени се вкупно 24 примероци и тоа по шест за одредување на хлориден јон со помош на јон-селективна електрода, како и по шест примероци за УВ-спектрофотометриски анализи. Се вградуваа само два процента од антимикробните соединенија (анализа на репрезентативни примероци).

Вкупно за хемиските анализи беа подготвени 300 примероци.

### 2.1.2. Одредување на јони со помош на јон-селективни електроди

Беа одредени количините на ослободените хлоридни и флуоридни јони во различни временски периоди, и тоа: веднаш, по 15, 30, и по 45 мин, по 1, 2, 3, 4, 24, 48 часа, како и по 4, 5, 6 и 7 дена.

Со помош на јон-селективни електроди специфични за флуориди и за хлориди се одреди количината на ослободните  $F^-$  односно  $Cl^-$  јони.

#### 2.1.2.1. Карактеристики на хлоридна јон-селективна електрода

Јон-селективната електрода за одредување на хлориден јон има цврста поликристална мембрана. Електродата е дизајнирана за одредување на хлоридни јони ( $Cl^-$ ) во водени раствори и е погодна за користење и во теренски и во лабораториски услови. Хлоридниот јон е моновалентен анјон. Еден мол од  $Cl^-$  има маса од 35,453 грама; 1000 ppm е еквивалентно на 0,028 M.

##### *Физички карактеристики*

- Должина без златниот контакт – 130 мм
- Должина со златниот контакт – 140 мм
- Дијаметар – 8 мм
- Струен отпор на  $25^{\circ}C < 0,5 M\Omega$
- Минимум потребен волумен на примерокот – 5 мл

##### *Хемиски/оперативни карактеристики*

- Подготвен/стандарден раствор: обично 1000 ppm  $Cl^-$  како NaCl
- Време на подготовка: 5 минути
- Оптимален pH-опсег: pH 1 до pH 12
- Температурен опсег: 0 до  $80^{\circ}C$
- Оптимална температура:  $25^{\circ}C$

### 2.1.2.2. Карактеристики на флуоридна јон-селективна електрода

Јон-селективната електрода за одредување на флуоридни јони има цврста монокристална мембрана. Електродата е дизајнирана за одредување на флуоридни јони (F<sup>-</sup>) во водени раствори и е погодна за користење и во теренски и во лабораториски услови. Флуоридниот јон е моновалентен анјон. Еден мол од F<sup>-</sup> има маса од 18,998 грама; 1000 ppm е 0,053 M.

#### *Физички карактеристики*

Должина без златниот контакт – 130 мм

Должина со златниот контакт – 140 мм

Дијаметар – 8 мм

Струен отпор на 25°C < 2,5 MΩm

Минимум потребен волумен на примерокот – 5 мл

#### *Хемиски/оперативни карактеристики*

Подготвен/стандарден раствор: обично 1000 ppm F<sup>-</sup> како NaF

Време на подготовка: 5 минути

Оптимален pH-опсег: pH 4 до pH 8

Температурен опсег: 0 до 80°C

Принципот на работа на јон-селективните електроди се базира на Нернстовата равенка.

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \times \frac{S}{100} \log(a_x + \sum K_{xi} a_i^{1/n_i})$$

каде што: E е потенцијал на електродата; E<sub>0</sub> – стандарден потенцијал на електродата (зависен од температурата); T – апсолутна температура; F – Фарадеева константа; R – константа на гасот; n – валентност на јонот; a<sub>x</sub> – јонска активност; S/100% – осетливост на електродата; K<sub>xi</sub> – константа на селективност на примарниот јон x со интерферирачкиот јон i.

Беа користени два идентични апарата ORION 4 star pH.ISE Benchtop Thermo Electron Corporation USA. На едниот беше поставена специфична

електрода за одредување на  $F^-$ , а на другиот апарат електрода за одредување на  $Cl^-$  јоните. Електродите претходно се калибрираа со стандарди чијашто моларност беше во опсег на концентрациите на јоните што ќе бидат мерени (0,1, 1,0, 10,0, 100,0 и 1000,0 ppm). Ослободувањето на флуоридните и на хлоридниот јон се изведе во воден медиум од дејонизирана вода. Потоа, во означените пластични лабораториски туби последователно се потопуваа електродите – прво за одредување на хлоридниот јон, а потоа и за флуоридниот јон. Пред секое последователно мерење, пластичните туби беа протресувани во времетраење од неколку секунди за да дојде до рамномерно распределување на ослободените јони. Медиумот (дејонизираната вода) не се менуваше во текот на анализите, т.е. беше анализиран кумулативниот ефект на ослободените јони. Добиените вредности се во ppm, и се запишуваат во работни табели за секое од мерените времиња, за потоа да се пристапи кон статистичка анализа на податоците.

Слика 9. Апарат ORION 4 star pH.ISE Benchtop Thermo Electron Corporation USA и јон-селективна електрода



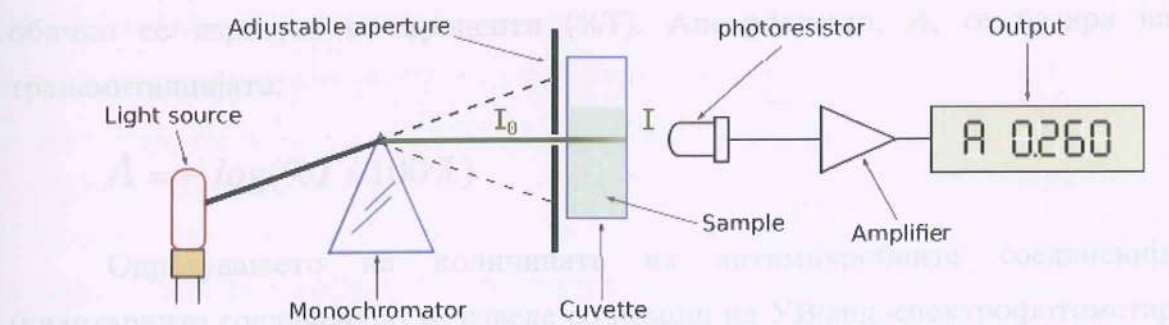
### 2.1.3. УВ-спектрофотометриски анализи – одредување на антимицробните соединенија

#### 2.1.3.1. Карактеристики на УВ/вид.-спектрофотометар

Основни делови на спектрофотометарот се: извор на светлина, држач на примерокот, дифракциона решетка или монохроматор заради разделување

на различните бранови должини на светлината, како и детектор. Изворот на зрачење најчесто е Волфрамово влакно (300 – 2500 nm), деутериумска лачна (дагова) ламба чиешто зрачење е континуирано низ ултравиолетовото подрачје (190 – 400 nm) – или, во поново време, за видливите бранови должини се користат светлечки диоди (LED) и ксенонски лачни ламби. Детекторот е фотодиода или CCD-чип\*. Фотодиодите се користат со монохроматори, коишто ја филтрираат светлината на начин што само светлината со една единствена бранова должина доаѓа до детекторот. Со CCD-сензорите се користат дифракциони решетки, кои ја собираат светлината со различни бранови должини на различни пиксели.

Слика 10. Дијаграм на UV/Vis-спектрофотометар со еден сноп зраци



Мерењата со помош на УВ-спектрофотометарот се базирани на законот на Бир-Ламберт (Beer-Lambert) кој тврди дека апсорбансата на еден раствор е директно пропорционална со концентрацијата на апсорбирачките материи во растворот и со должината на патеката. Така, при фиксна должина на патеката, со УВ/вид.-спектроскопијата може да се определи концентрацијата на апсорберот во растворот. Неопходно е да се знае колку бргу се менува апсорбансата со концентрацијата. Ова може прецизно да се определи со калибрациона крива.

\* Забелешка: charge-coupled device = направа со спрегнати полнежи (секогаш е интегрирано коло, односно чип).

Бир-Ламбертовиот закон гласи:

$$A = -\log_{10}(I/I_0) = \varepsilon \cdot c \cdot L$$

каде што  $A$  е мерената апсорбанса;  $I_0$  е интензитетот на светлината при дадената бранова должина;  $I$  е интензитетот на пропуштената светлина;  $L$  е должината на патеката низ примерокот и  $c$  е концентрацијата на апсорбирачките материи. За секоја материја и бранова должина  $\varepsilon$  е константа позната како моларна апсорптивност или коефициент на екстинкција. Оваа константа е основна молекуларна карактеристика во даден растворувач, при конкретна температура и притисок, а се мери со  $l / M \cdot cm$  или често во  $AU / M \cdot cm$ .

УВ/вид.-спектрофотометар го мери интензитетот на светлината што поминува низ примерокот ( $I$ ) и го споредува со интензитетот на светлината пред таа да помине низ примерокот ( $I_0$ ). Односот  $I/I_0$  се вика трансмитанција и обично се изразува во проценти (%T). Апсорбансата,  $A$ , се базира на трансмитанцијата:

$$A = -\log(\%T / 100\%)$$

Одредувањето на количината на антимицробните соединенија (квартарните соединенија) се изведе со помош на УВ/вид.-спектрофотометар VARIAN – Cary 50 Tablet. Спектрофотометарот беше калибриран со помош на раствори од Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride со познати концентрации. Спектрофотометарот беше сетирен за одредување на брановата должина на максималната апсорпција за Benzalkonium Chloride од 214 nm, и за Cetylpyridinium Chloride од 259 nm. Потоа, УВ-спектрофотометарот беше сетирен со поставување на т.н. празна (black) проба и беше повторно нулиран (re-zeroed). Обично, празната проба е дејонизирана вода ставена во специјална просирна епрувета позната како кувета. Куветите најчесто се со правоаголен облик со внатрешна широчина од 1 см. Видот на куветата која се користи мора да овозможува поминување на зраците во делот од спектарот кој е од интерес. Најчесто употребуваните кувети се направени од висококвалитетно силикатно или кварцно стакло бидејќи тие се

транспарентни за ултравиолетовиот, видливиот и речиси инфрацрвениот спектар. Во оваа студија користевме кувети од кварцно стакло. Процедурата опишана подолу беше применета за секој примерок.

Слика 11. УВ/вид.-спектрофотометар VARIAN – Cary 50 Tablet; кувета од кварцно стакло



Пред мерењето на секој примерок, пластичните туби се протресуваат 10 сек. за да може наталоженото антимикубно органско соединение рамномерно да се дисперзира во медиумот. (Таложението е поради големата молекуларна тежина на квартарните амониумови соединенија). Од секоја од пластичните туби со примероци се претура од дејонизираната вода до одреденото ниво во куветата и се става во спектрофотометарот. Апаратот е поврзан со компјутер кој користи посебен софтвер и резултатите од мерењата се прикажуваат во апсорбанси односно апсорпциони единици – а.е. По извршеното мерење на медиумот од секој примерок со одреден процент на антимикубно средство, водата од куветата се враќа во тубата. Re-zero се прави пред мерење на секоја од концентрациите, како и пред анализа на другото соединение. Мерењата се спроведуваат во 9 последователни временски интервали и тоа: 15, 30, 45 мин., 1, 2, 3, 4, 24 часа, и 7 дена. За време на тој период дејонизираната вода во која се складирали примероците не се менува.

#### **2.1.4. УВ-спектрофотометриски анализи – одредување на антимикубните соединенија – со промена на медиум**

Одредувањето на антимикубните органски компоненти од антимикубните соединенија со промена на медиумот, т.е. дејонизираната вода, се

изведе на репрезентативни примероци (по шест примероци со два процента антимикробни соединенија). Подготовката и анализата на примероците се идентични со УВ-спектрофотометриските анализи без промена на медиум. За разлика од претходната анализа, овие мерења беа спроведени во осум последователни периоди, т.е. по 15 минути, потоа на секој час до четири часа, двапати по 24 часа и по 48 часа. По вадењето од инкубатор, примероците беа ставени во пластични означени туби и по секое завршено мерење, примероците беа вадени од тубите и ставени во други туби со нов медиум сè до следното мерење. Постапката беше повторувана за секој следен мерен интервал. Добиените податоци се внесуваа во работни табели, статистички се обработија како меѓу себе така и со податоците добиени од кумулативниот ефект на антимикробните соединенија.

#### **2.1.5. Хемиски анализи со експерименталниот глас-јономер цемент МР4**

Начинот на подготовка на примероците за анализите кои се изведоа со експерименталниот глас-јономер цемент МР4 е идентичен како и за комерцијалните глас-јономер цементи Fuji IX и ChemFlex. Исто така и видот на антимикробните соединенија кои беа вградени е идентичен, односно беа употребени Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride. Разликата е во тежинскиот однос на соединенијата кои се вградуваат, и тој изнесува 0,0054 грама од тежината на МР4. Анализите беа спроведени на репрезентативни примероци од по шест во група со додавање на 2% антимикробни соединенија. Се анализираше ослободувањето на хлоридни јони со користење на јон-селективна електрода специфична за хлорот, и УВ/вид.-спектрофотометрски анализи за одредување на ослободувањето на антимикробните компоненти.

## 2.2. ФИЗИЧКО-МЕХАНИЧКИ АНАЛИЗИ

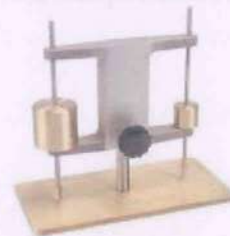
### 2.2.1. Одредување на времето на врзување

Одредувањето на времето на врзување се изведе со помош на Гилмор (Gilmore) игла. Гилмор иглата се користи како за одредување на времето на врзување така и за одредување на времето на работа. Гилмор иглата што се користи за одредување на времето на врзување е со тежина од 28 грама, а онаа за одредување на времето на работа е со тежина од 4,53 грама. Примероците за одредување на времето на врзување се приготвуваа на истиот начин како и примероците за одредување на ослободувањето на јони, односно за УВ-спектрофотометриските анализи, со таа разлика што во овој случај беа користени силиконски калапи со дијаметар од 4 мм и висина од 1 мм.

Слика 12. Силиконски калапи за одредување на времето на врзување



Слика 13. Гилмор игла



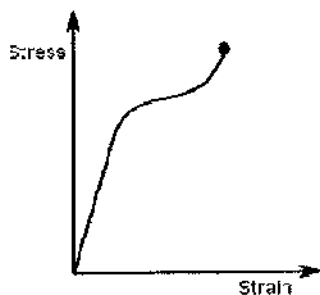
По мешањето на прашокот и течноста без и со одредените концентрации на антимицробните компоненти и по поставувањето во цилиндрични гумени калапчиња, секои 15 секунди Гилмор иглата се поставува на површината на цементот. Со самото поставување на површината на цементот, иглата остава одреден отпечаток. Површината се следи за секое втиснување на иглата и времето се мери сè додека останува отпечаток од врвот на иглата врз цементот. Последното поставување на иглата без појава на отпечаток врз површината на материјалот го стомира и мерењето на времето, а со тоа се одредува времето на врзување на цементот. Споредбата на времето на врзување на глас-јономер цементите со инкорпорирани

антимикробни соединенија се изврши со времето на врзување на цементите без инкорпорирани антимикробни соединенија. Беше направен и по еден примерок на глас-јономер цемента без вградени соединенија, чијашто вредност се спореди со вредноста дадена од производителите.

### 2.2.2. Мерење на силата на компресија

Апаратурата што се користи за овој експеримент е иста со онаа што се користи при тестот на истегање. Но, наместо да се употреби сила на истегање по една оска, се применува компримирачко оптоварување по една оска. Се разбира дека примерокот (обично цилиндричен) се скратува и се шири странично. Инструментот за одредување на силата на компресија исцртува крива на зависноста на стресот од напрегањето и ќе изгледа приближно како на сликата:

Слика 14. Техничка крива на зависноста на стресот од напрегањето за типичен примерок



Силата на компресија на материјалот ќе зависи од стресот во црвената точка прикажана на кривата. Дури и при тестот на компресија постои едно линеарно подрачје во коешто материјалот го следи Законот на Хук. Оттука, за ова подрачје важи  $\sigma = E\epsilon$ , каде што овојпат  $E$  се однесува на Јанговиот модул за компресија.

Ова линеарно подрачје завршува на местото познато како граница на попуштање (или граница на истегање). Над оваа точка материјалот се

однесува пластично и нема да се врати во својата почетна должина кога ќе се отстрани оптоварувањето.

Постои разлика меѓу техничкиот стрес и вистинскиот стрес. Според својата основна дефиниција, стресот по една оска е даден со:

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

каде што  $F$  = применетото оптоварување [N],  $A$  = површината [ $m^2$ ]

Примероците за одредување на силата на компресија беа приготвени на истиот начин како и примероците за одредување на хемиските анализи, опишани погоре во текстот. По приготвувањето, примероците беа складирани во медиум од дејонизирана вода во означени пластични лабораториски туби, во период од 24 часа на температура од 22 до 25°C. Силата на компресија беше мерена со помош на Универзалната тест-машина (Instron Universal Testing Machine model 1193, Instron Corp., Canton, USA) со крос-хед брзина од 1 мм/мин.

Слика 15. Универзална тест-машина (Instron Universal Testing Machine model 1193, Instron Corp., Canton, USA)



По стартирањето на машината, горниот цилиндар со определената брзина cross head speed) се спушта над долниот цилиндар на кој во средниот дел е поставен примерокот, сè до негово кршење. Отчитувањето на резултатите е на персонален компјутер со посебен софтвер, на кој се забележуваат сите параметри од анализата. Бидејќи одредувањето на силата на компресија е

метода со која се анализира цврстината на цементите, во моментот на пукањето на примерокот, на мониторот се забележува крива со максималната сила на компресија изразена и во њутни (N) и во мегапаскали (MPa). Добиените податоци користени во студијата, како и статистичките анализи на резултатите, се изразени во мегапаскали во согласност со Меѓународниот систем за мерни единици (SI).

Целокупните биохемиски и механички анализи беа остварени на School of Chemical and Life Science, University of Greenwich, Chatam Maritime, Chatam, Kent, UK.

### 2.3. МИКРОБИОЛОШКИ АНАЛИЗИ

Антибактериското инхибиторно дејство на примероците кон соевите на *Streptococcus mutans* – ATCC 25175, *Lactobacillus casei* – ATCC 4646 и *Actinomyces viscosus* – ATCC 19246 беше испитано со агар дифузишки тест.

#### 2.3.1. Подготвување на бактериски инокулум

Лиофилизираните референтни соеви се инокулираа во ВНИВ и се инкубираа во анаеробна атмосфера 48 часа на 37°C. Од пораснатите бактерии во течната подлога турбидиметриски се сетираше густината на инокулумот соодветна на McFarland 2 стандардот. Потоа, на претходно обележаниот Шедлеров агар, со помош на брис се разливаа 350 µL од бактериската суспензија рамномерно низ целата подлога.

Слика 16. Петриева плоча со Шедлеров агар



### 2.3.2. Аплицирање на примероците

По инокулацијата се чекаше 15 минути да се впије бактериската суспензија во подлогата и со помош на стерилни пластични цевчиња се правеа бунарчиња во подлогата, длабоки 3 мм и широки 3,5 мм. На една подлога вкупно се правеа по 7 бунарчиња, 6 на периферијата и едно во центарот. Растојанието помеѓу секое соседно бунарче беше точно 30 мм, а помеѓу бунарчињата на периферијата и ѕидот на плочата растојанието беше 15 мм (слика 17). На секоја плоча се аплицираа по три примероци од ГЈЦ со по 1, 2 и 3% цетилпиридиумхлорид и по три примероци од истиот ГЈЦ со по 1, 2 и 3% бензалкониумхлорид, а во центарот се вметнуваше примерокот без додаток на антимикробно средство, односно контролата. На овој начин под исти услови се споредуваа различните концентрации на едно исто средство меѓусебно, како и разликите во дејствата на исти концентрации од две различни средства. Потоа во бунарчињата со стерилна пинцета внимателно се вметнуваа примероците кои беа со пречник од 4 мм, така што да имаат близок контакт со агарот, а да не го раскинуваат. Подлогите се оставаа на собна температура 30 минути и потоа се инкубираа во анаеробна атмосфера, 48 часа на 37°C. Првото читање на инхибиторното дејство се означуваше како дејство во нулто време.

Слика 17. Изглед на бунарче по отстранување на примерокот со формирана зона на инхибиција



### 2.3.3. Испитување на одложеното дејство на антимикробните средства во примероците

- **по 48 часа:** од инкубираните подлоги, по читањето и обележувањето на зоните на инхибиција на раст во нултото време, примероците се префрлаа на свежо засадени подлоги, како што е опишано погоре, и повторно се инкубираа во исти услови.
- **по 7 дена:** по читањето на зоните на инхибиција на раст по поминати 48 часа од подготовката на примероците, примероците се префрлаа на свежо засадени подлоги, како што е опишано погоре, па плочите се враќаа во анаеробниот лонец и се инкубираа во анаеробна атмосфера до седмиот ден.
- **по 21 ден:** по читањето на зоните на инхибиција на раст по поминати 7 дена од подготовката на примероците, примероците се префрлаа на свежо засадени подлоги, како што е опишано погоре, па плочите се враќаа во анаеробниот лонец и се инкубираа во анаеробна атмосфера до 21 ден, кога се изведуваше последното мерење на зоните, а потоа се фрлаа.

Со овој начин на континуирано чување на примероците – во крвен агар со засадени бактерии, во анаеробни услови, на температура од 37°C – се

симулираа условите во кои би дејствувало средството *in vivo*, односно во човековото тело (лекуван заб).

#### 2.3.4. Одредување на антибактериското дејство на примероците

По инкубацијата од 48 часа, беше мерена зоната на инхибиција на раст во случаи кога таа постоеше. Зоната беше одредувана со мерење на нејзиниот пречник во мм со специјален инструмент. Во ширината на зоната земен е предвид и дијаметарот на самиот примерок од 4 мм. Така, кога зоната на раст отсутува, од практични причини, заради статистичките пресметки, не се означува како 0, туку како 4 мм. Мерењата за секој примерок се изведуваа во два правци под прав агол, па потоа се запишува средната вредност од тие две мерења. Како вредности се земаа цели броеви во милиметри или, во случаи кога ширината на зоната беше помеѓу два цели броја, се означуваше со целиот помал број плус 0,5 мм.

#### 2.3.5. Фази во подготовката на примероците за бактериолошки иследувања

Подготовката на примероците беше поделена на 4 термини, односно секој вторник во тек на 4 недели. Во првиот термин се подготвија 63 примероци, односно 27 примероци од ГЈЦ ChemFlex со додаток на 1, 2 и 3 % бензалкониумхлорид (за секоја концентрација по три примероци), како и 27 примероци со додаток на 1, 2 и 3 % цетилпиридиниумхлорид и 9 контроли. Во вториот термин истата постапка се повтори, а во третиот и во четвртиот термин се повтори истата постапка, но со користење на ГЈЦ Fuji IX. Вкупниот број изготвени примероци изнесуваше 252. Целата постапка беше изведувана од едно лице, во исти услови и траеше просечно 6 часа. Се внимаваше примерокот со средството кој е подготвен прв во првиот термин, да биде подготвен втор во вториот термин итн., така што просечно, од моментот на подготовка до аплицирањето на средствата во контакт со бактериите да поминат просечно по 4 часа, имајќи предвид дека беа потребни уште околу 2

часа во микробиолошката лабораторија за аплицирање на примероците. Така, времето од 4 часа се зема како „нулто време“, односно време за испитување на непосредното инхибиторно дејство на примероците врз бактериите.

Микробиолошките анализи беа спроведени на Институтот за микробиологија и паразитологија при Медицинскиот факултет при Универзитетот „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје.

### **3. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИ**

Беа користени статистичките тестови:

- анализа на варијансата (One Way ANOVA);
- post-hoc-Tukey honest significant deference (HSD) тест
- Mann-Whitney U-тест

За обработка на податоците се користеше програмата Statistica.

## **V. РЕЗУЛТАТИ**

## 1. ХЕМИСКИ АНАЛИЗИ

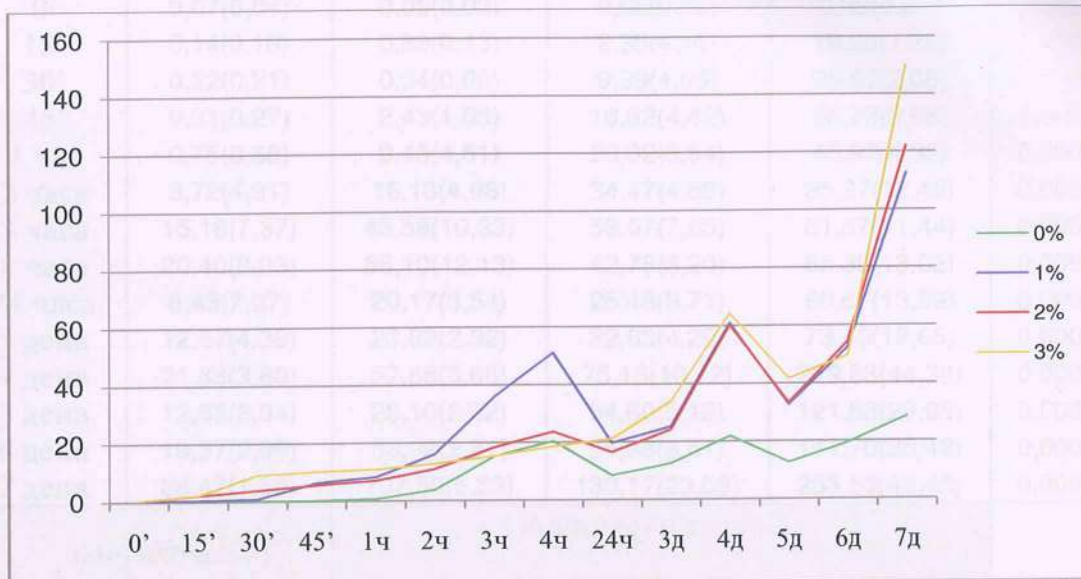
### 1.1. ОДРЕДУВАЊЕ НА ЈОНИ СО ЈОН-СЕЛЕКТИВНИ ЕЛЕКТРОДИ (ЈСЕ)

#### 1.1.2. Одредување на хлоридни (Cl<sup>-</sup>) јони од глас-јономер цементи

Табела 1. Ослободување на Cl<sup>-</sup> јони – ChemFlex + Benzalkonium Chloride (добие-ните податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
0'	0,07(0,04)	0,24(0,04)	0,40(0,19)	0,41(0,01)	0,034504
15'	0,14(0,19)	0,46(0,06)	2,21(0,28)	2,30(0,62)	0,000001
30'	0,22(0,21)	0,81(0,08)	3,86(0,98)	9,12(1,78)	0,000000
45'	0,31(0,27)	6,36(0,87)	5,55(1,45)	10,24(1,25)	0,000014
1 час	0,75(0,68)	8,21(0,76)	7,06(1,77)	10,96(1,77)	0,001410
2 часа	3,72(4,91)	15,99(1,05)	10,92(2,09)	12,80(1,47)	0,000224
3 часа	15,18(7,37)	35,85(4,97)	18,31(4,48)	15,35(1,19)	0,000000
4 часа	20,40(8,23)	51,03(3,76)	23,69(2,88)	18,56(2,11)	0,000000
24 часа	8,43(7,07)	19,63(2,19)	16,51(2,02)	21,08(3,40)	0,024349
3 дена	12,57(4,39)	25,33(1,76)	24,16(2,13)	34,06(2,61)	0,000002
4 дена	21,83(3,80)	60,94(2,86)	60,19(1,49)	64,32(2,19)	0,014225
5 дена	12,63(3,04)	32,56(2,23)	33,33(1,21)	41,75(1,67)	0,000000
6 дена	19,37(2,99)	52,38(2,91)	54,37(6,76)	49,63(3,32)	0,241242
7 дена	28,47(1,66)	112,72(8,68)	122,00(2,26)	149,92(6,87)	0,000000

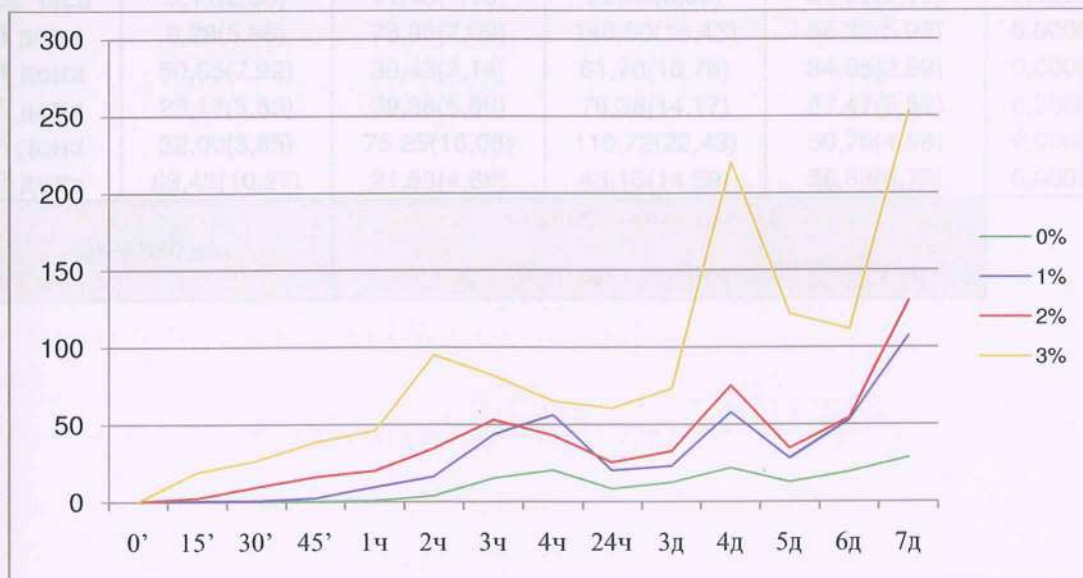
Графикон 1. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $Cl^-$  јони – ChemFlex + Benzalkonium Chloride во тек на време



Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности кај ослободувањето на хлоридни јони од глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со 1%, 2% и 3% антимикуробно соединение Benzalkonium Chloride, се статистички сигнификантни во тек на речиси сите временски периоди, за  $p < 0,05$ . Разликата на просечните вредности на ChemFlex + Benzalkonium Chloride не е статистички сигнификантна само во шестиот ден (таб. 1).

Табела 2. Ослободување на  $Cl^-$  јони – ChemFlex + CPC (добиените под. се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
0'	0,07(0,04)	0,05(0,02)	0,06(0,02)	0,39(0,27)	0,002904
15'	0,14(0,19)	0,39(0,13)	2,35(4,15)	19,20(1,36)	0,000000
30'	0,22(0,21)	0,54(0,09)	9,39(4,05)	26,68(2,06)	0,000000
45'	0,31(0,27)	2,43(1,05)	16,02(4,42)	38,73(3,68)	0,000000
1 час	0,75(0,68)	9,43(4,51)	20,02(3,84)	45,97(4,32)	0,000000
2 часа	3,72(4,91)	16,18(4,98)	34,47(4,88)	95,27(12,45)	0,000000
3 часа	15,18(7,37)	43,58(10,33)	53,07(7,65)	81,87(11,44)	0,000020
4 часа	20,40(8,23)	56,10(12,13)	42,78(6,20)	65,30(13,02)	0,009289
24 часа	8,43(7,07)	20,17(3,54)	25,48(3,71)	60,67(13,69)	0,000001
3 дена	12,57(4,39)	23,02(2,32)	32,63(4,29)	73,40(19,65)	0,000004
4 дена	21,83(3,80)	57,88(3,66)	75,15(10,12)	219,83(44,36)	0,000000
5 дена	12,63(3,04)	28,10(2,02)	34,60(5,12)	121,83(29,05)	0,000000
6 дена	19,37(2,99)	53,02(2,81)	54,38(8,41)	111,70(25,42)	0,000009
7 дена	28,47(1,66)	107,50(6,53)	130,17(23,08)	253,50(43,43)	0,000000
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p < 0,000$ )				
	ChemFlex + 3% CPC : ChemFlex + 1% и 2% CPC				

Графикон 2. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $Cl^-$  јони – ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride во тек на време

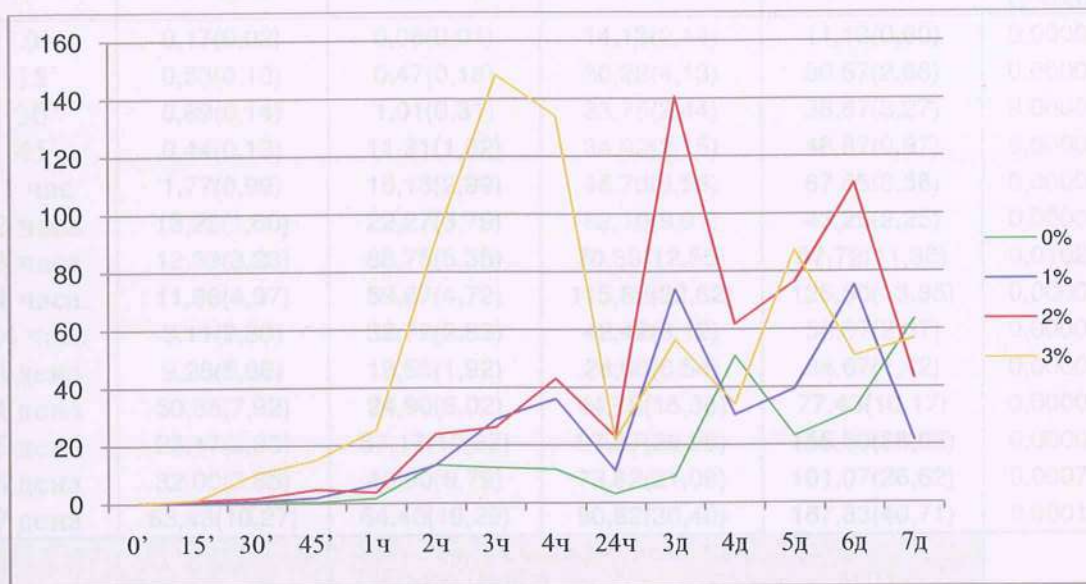
Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности кај ослободувањето на хлоридни јони од глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со 1%, 2% и 3% антимикубно соединение Cetylpyridinium Chloride, се статистички сигнификантни во тек на сите временски периоди, за  $p < 0,05$  (таб. 2).

Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности на ChemFlex + 3% CPC во однос на ChemFlex + 1% и 2% CPC.

Табела 3. Ослободување на Cl јони – Fuji IX + CPC (добиените под. се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
0'	0,17(0,02)	0,02(0,01)	0,13(0,02)	0,02(0,01)	0,000000
15'	0,53(0,10)	0,34(0,16)	1,03(0,72)	1,19(1,11)	0,161596
30'	0,69(0,14)	0,77(0,29)	1,84(2,03)	10,36(2,75)	0,000001
45'	0,44(0,13)	1,93(1,20)	4,83(3,39)	15,10(2,09)	0,000000
1 час	1,77(0,99)	6,45(2,29)	3,63(3,25)	25,37(2,01)	0,000000
2 часа	13,23(1,60)	13,10(1,64)	23,83(3,02)	90,77(7,05)	0,000000
3 часа	12,39(3,23)	29,08(2,55)	26,23(3,44)	148,33(10,46)	0,000000
4 часа	11,66(4,97)	36,00(4,02)	43,05(5,90)	134,00(10,92)	0,000000
24 часа	3,11(2,30)	11,15(1,18)	22,83(3,56)	21,90(2,19)	0,000001
3 дена	9,28(5,88)	73,85(7,09)	140,50(18,43)	56,32(5,97)	0,000000
4 дена	50,85(7,92)	30,43(3,14)	61,70(10,78)	34,05(2,92)	0,000001
5 дена	23,17(3,33)	39,38(5,69)	76,38(14,17)	87,47(9,52)	0,000002
6 дена	32,00(3,65)	75,25(16,08)	110,72(22,43)	50,70(4,58)	0,000045
7 дена	63,43(10,27)	21,53(4,68)	43,15(14,59)	56,68(6,75)	0,000056
Tukey HSD test		Сигнификантно ( $p < 0,000$ )			
		FUJI IX + 2% CPC : FUJI IX + 1% и 3% CPC			

Графикон 3. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на Cl јони – Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride во тек на време

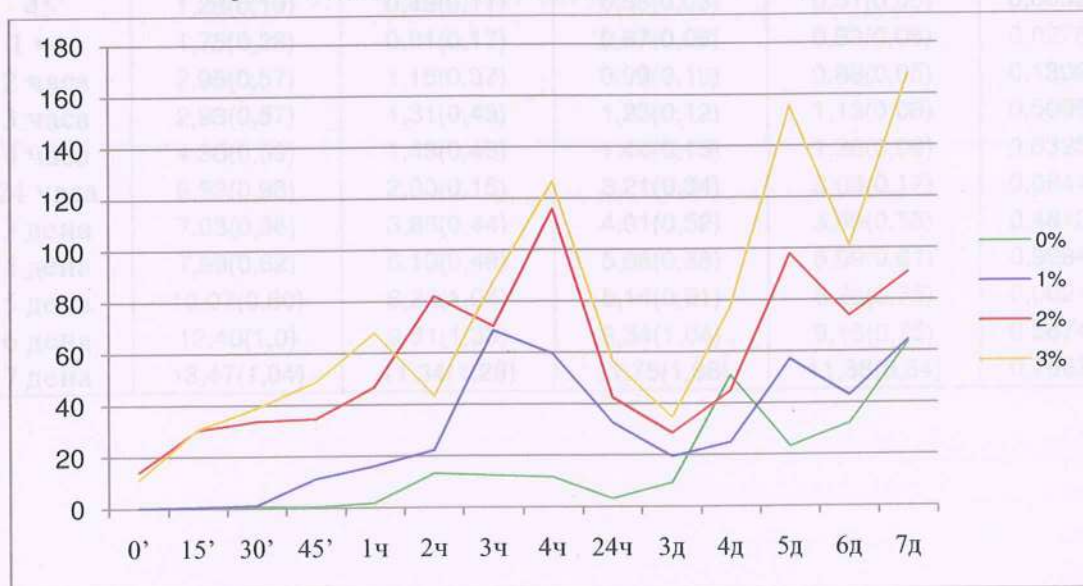


Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности кај ослободувањето на хлоридни јони од глас-јономер цементот Fuji IX инкорпориран со 1%, 2% и 3% антимикробно соединение Cetylpyridinium Chloride, се статистички сигнификантни во тек на речиси сите временски периоди, за  $p < 0,05$  (таб. 3). Единствено разликата е статистички несигнификантна во 15. минута.

Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности на Fuji IX + 2% CPC во однос на Fuji IX + 1% и 3% CPC.

Табела 4. Ослободување на  $Cl^-$  јони – Fuji IX + Benzalkonium Chloride (добиените податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
0'	0,17(0,02)	0,06(0,01)	14,13(2,14)	11,13(0,60)	0,000000
15'	0,53(0,10)	0,47(0,18)	30,28(4,13)	30,57(2,68)	0,000000
30'	0,69(0,14)	1,01(0,31)	33,75(2,44)	38,87(3,27)	0,000000
45'	0,44(0,13)	11,31(1,62)	34,62(2,15)	48,87(0,97)	0,000000
1 час	1,77(0,99)	16,13(2,99)	46,73(6,56)	67,85(3,56)	0,000000
2 часа	13,23(1,60)	22,27(3,79)	82,10(9,91)	43,25(2,25)	0,000000
3 часа	12,39(3,23)	68,75(5,35)	70,33(12,55)	87,72(11,38)	0,010247
4 часа	11,66(4,97)	59,67(4,72)	115,82(22,62)	126,50(13,85)	0,000004
24 часа	3,11(2,30)	32,72(2,83)	42,42(8,12)	56,67(2,67)	0,000004
3 дена	9,28(5,88)	19,55(1,92)	28,60(6,54)	34,67(1,42)	0,000040
4 дена	50,85(7,92)	24,90(6,02)	44,75(15,38)	77,43(10,17)	0,000003
5 дена	23,17(3,33)	57,17(10,62)	97,87(29,96)	155,50(28,05)	0,000019
6 дена	32,00(3,65)	42,90(9,79)	73,82(21,08)	101,07(26,62)	0,000712
7 дена	63,43(10,27)	64,40(19,29)	90,62(30,40)	167,83(40,71)	0,000115
Tukey HSD test	<p>Сигнификантно (<math>p &lt; 0,000</math>)  FUJI IX + 1% Benzalkonium Chloride : FUJI IX +  2% и 3% Benzalkonium Chloride;</p> <p>Сигнификантно (<math>p &lt; 0,00</math>)  FUJI IX + 2% Benzalkonium Chloride : FUJI IX +  3% Benzalkonium Chloride</p>				

Графикон 4. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $Cl^-$  јони – Fuji IX + Benzalkonium Chloride во тек на време

Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности на ослободените Cl<sup>-</sup> јони од глас-јономер цементот Fuji IX инкорпориран со 1%, 2% и 3% антимикробно соединение Benzalkonium Chloride, се статистички сигнификантни во тек на сите временски периоди, за  $p < 0,05$  (таб. 4).

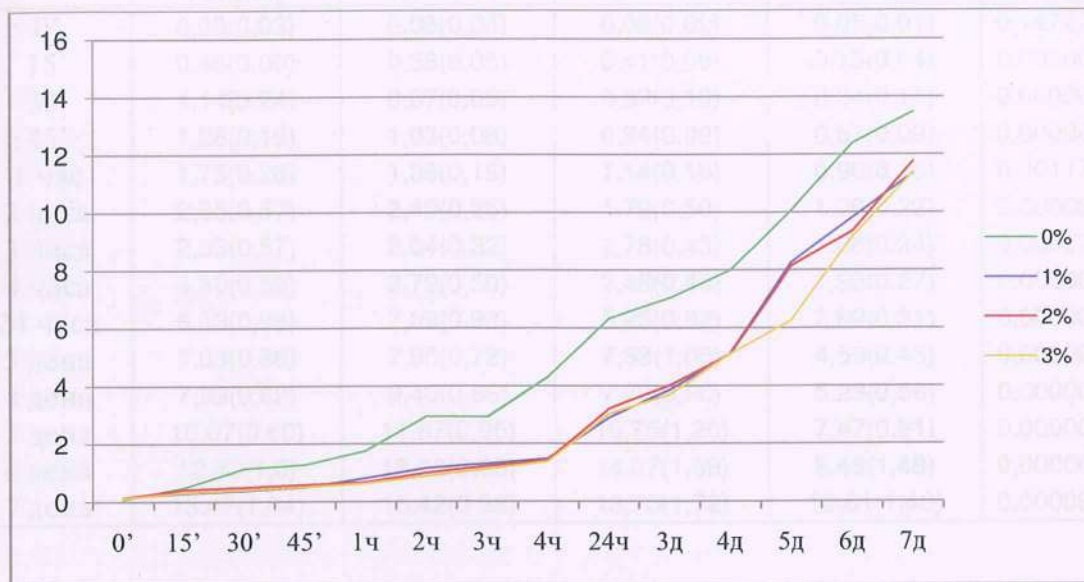
Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности на Fuji IX + 1% Benzalkonium Chloride во однос на Fuji IX + 2% и 3% Benzalkonium Chloride, но исто така се и статистички сигнификантни за  $p < 0,00$  помеѓу просечните вредности на Fuji IX + 2% Benzalkonium Chloride во однос на Fuji IX + 3% Benzalkonium Chloride.

### 1.1.3. Одредување на флуоридни (F<sup>-</sup>) јони од глас-јономер цемент

Табела 5. Ослободување на F<sup>-</sup> јони – ChemFlex + Benzalkonium Chloride (добиените податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
0'	0,08(0,03)	0,14(0,02)	0,14(0,02)	0,13(0,01)	0,507992
15'	0,48(0,09)	0,29(0,03)	0,42(0,02)	0,32(0,02)	0,000000
30'	1,14(0,24)	0,38(0,05)	0,49(0,06)	0,41(0,02)	0,003074
45'	1,28(0,19)	0,49(0,11)	0,58(0,03)	0,51(0,05)	0,083243
1 час	1,75(0,28)	0,81(0,17)	0,67(0,06)	0,63(0,06)	0,027821
2 часа	2,95(0,57)	1,16(0,37)	0,99(0,10)	0,88(0,05)	0,130951
3 часа	2,93(0,57)	1,31(0,43)	1,23(0,12)	1,13(0,08)	0,500991
4 часа	4,30(0,59)	1,48(0,46)	1,44(0,15)	1,38(0,09)	0,832531
24 часа	6,33(0,98)	2,90(0,15)	3,21(0,34)	3,03(0,17)	0,094481
3 дена	7,03(0,88)	3,86(0,44)	4,01(0,52)	3,69(0,35)	0,481288
4 дена	7,99(0,62)	5,10(0,48)	5,08(0,88)	5,09(0,61)	0,998443
5 дена	10,07(0,60)	8,26(1,04)	8,14(0,91)	6,26(0,73)	0,002441
6 дена	12,40(1,0)	9,81(1,38)	9,34(1,04)	9,15(0,75)	0,567448
7 дена	13,47(1,04)	11,34(1,28)	11,75(1,38)	11,38(0,54)	0,786710

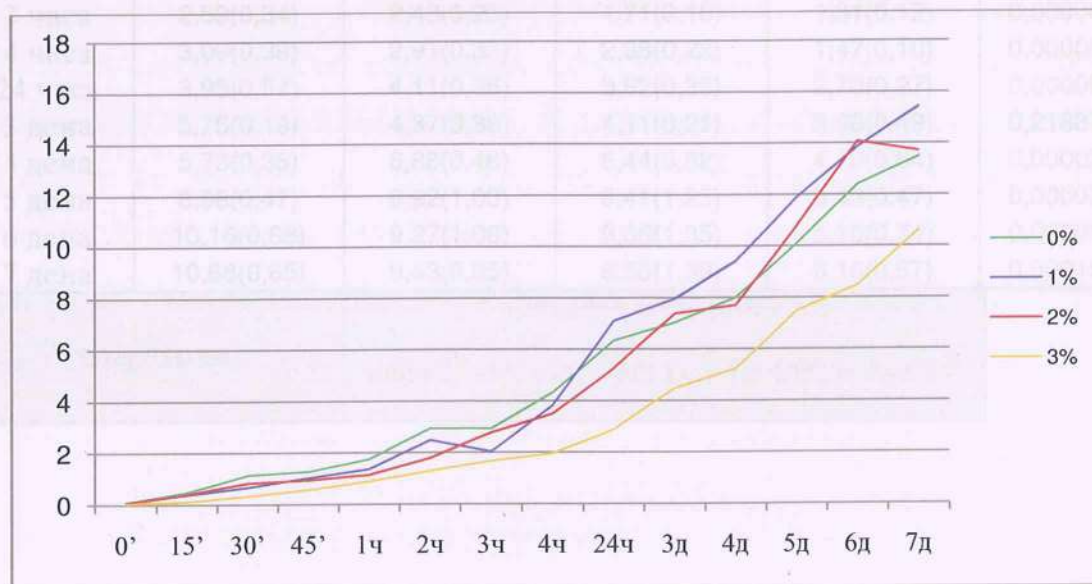
Графикон 5. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $F^-$  јони – ChemFlex + Benzalkonium Chloride во тек на време



Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности на ослободените  $F^-$  јони од глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со 1%, 2% и 3% антиминобно соединение Benzalkonium Chloride, бележат статистички сигнификантна разлика во петнаесеттата и триесеттата минута, по првиот час како и по петтиот ден, за  $p < 0,05$ . Разликата на останатите просечни вредности не е статистички сигнификантна (таб. 5).

Табела 6. Ослободување на F<sup>-</sup> јони – ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride (добиените податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3%
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	ANOVA (p<0,05)
0'	0,08(0,03)	0,08(0,04)	0,06(0,02)	0,05(0,01)	0,147270
15'	0,48(0,09)	0,38(0,05)	0,41(0,06)	0,13(0,04)	0,000000
30'	1,14(0,24)	0,67(0,05)	0,83(0,10)	0,34(0,11)	0,000000
45'	1,28(0,19)	1,03(0,08)	0,94(0,09)	0,57(0,09)	0,000000
1 час	1,75(0,28)	1,36(0,15)	1,14(0,18)	0,90(0,18)	0,001175
2 часа	2,95(0,57)	2,49(0,25)	1,79(0,50)	1,29(0,22)	0,000094
3 часа	2,93(0,57)	2,04(0,32)	2,78(0,43)	1,68(0,24)	0,000176
4 часа	4,30(0,59)	3,79(0,50)	3,48(0,45)	1,95(0,27)	0,000003
24 часа	6,33(0,98)	7,09(0,93)	5,25(0,62)	2,89(0,31)	0,000000
3 дена	7,03(0,88)	7,95(0,72)	7,38(1,05)	4,50(0,43)	0,000003
4 дена	7,99(0,62)	9,40(0,66)	7,70(0,96)	5,23(0,56)	0,000000
5 дена	10,07(0,60)	11,87(0,95)	10,75(1,20)	7,47(0,91)	0,000006
6 дена	12,40(1,0)	13,86(0,68)	14,07(1,69)	8,48(1,48)	0,000003
7 дена	13,47(1,04)	15,42(0,93)	13,70(1,72)	10,61(1,40)	0,000090

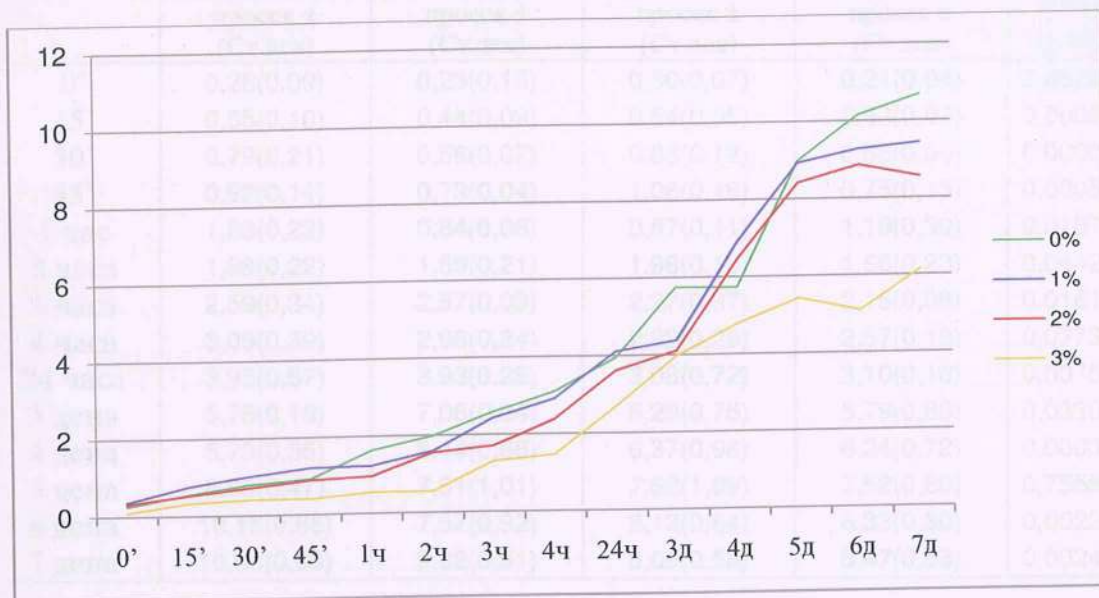
Графикон 6. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на F<sup>-</sup> јони – ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride во тек на време

Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности на ослободените F јони од глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со 1%, 2% и 3% антимикубно соединение Cetylpyridinium Chloride, се статистички значајни во временските периоди од 15. минута до седмиот ден, за  $p < 0,05$ . Разликата на просечната вредност во нултата минута не е статистички сигнификантна (таб. 6).

Табела 7. Ослободување на F јони – Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride (добиените податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
0'	0,26(0,09)	0,36(0,04)	0,31(0,09)	0,10(0,04)	0,000006
15'	0,55(0,10)	0,76(0,06)	0,53(0,09)	0,33(0,05)	0,000000
30'	0,79(0,21)	1,01(0,13)	0,71(0,13)	0,41(0,04)	0,000000
45'	0,92(0,14)	1,21(0,22)	0,88(0,08)	0,41(0,09)	0,000000
1 час	1,63(0,23)	1,23(0,24)	0,96(0,08)	0,55(0,04)	0,000004
2 часа	1,98(0,22)	1,59(0,24)	1,55(0,18)	0,56(0,03)	0,000000
3 часа	2,59(0,34)	2,43(0,23)	1,71(0,16)	1,31(0,12)	0,000000
4 часа	3,09(0,39)	2,91(0,33)	2,38(0,23)	1,47(0,10)	0,000000
24 часа	3,95(0,57)	4,11(0,36)	3,62(0,35)	2,70(0,27)	0,000008
3 дена	5,75(0,19)	4,37(0,36)	4,11(0,21)	3,98(0,49)	0,218879
4 дена	5,73(0,35)	6,88(0,46)	6,44(0,62)	4,79(0,64)	0,000038
5 дена	8,98(0,47)	8,92(1,03)	8,41(1,25)	5,43(0,47)	0,000030
6 дена	10,16(0,66)	9,27(1,06)	8,86(1,35)	5,10(0,74)	0,000011
7 дена	10,68(0,65)	9,43(0,95)	8,55(1,39)	6,16(0,57)	0,000168
Tukey HSD test		Сигнификантно ( $p < 0,000$ ) Fuji IX + 3% CPC : Fuji IX + 1% CPC и 2% CPC			

Графикон 7. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $F^-$  јони – Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride во тек на време

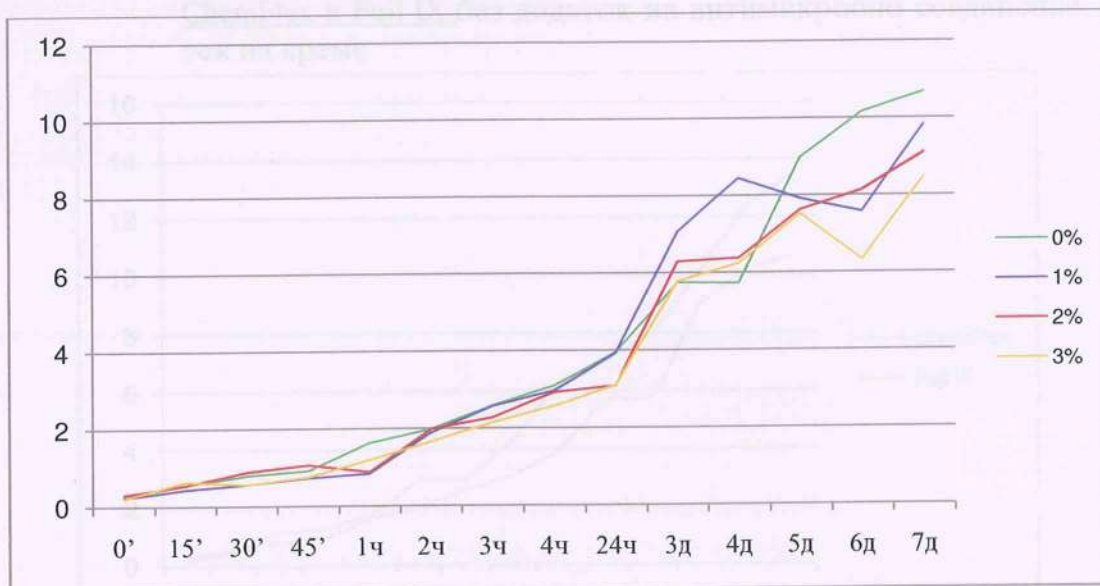


Според анализа на варијансата, разликите на просечните вредности на ослободените  $F^-$  јони од глас-јономер цементот Fuji IX инкорпориран со 1%, 2% и 3% антиминобно соединение Cetylpyridinium Chloride, се статистички значајни во сите временски периоди, за  $p < 0,05$ , освен разликата на просечната вредност во третиот ден каде што постои статистички несигнификантна разлика (таб. 7). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности на Fuji IX + 3% CPC во однос на Fuji IX + 1% и 2% CPC.

Табела 8. Ослободување на  $F^-$  јони – Fuji IX + Benzalkonium Chloride (добиените податоци се во ppm)

	0%	1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p < 0,05$ )
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
0'	0,26(0,09)	0,23(0,15)	0,30(0,07)	0,21(0,04)	0,252225
15'	0,55(0,10)	0,44(0,09)	0,54(0,05)	0,63(0,07)	0,000991
30'	0,79(0,21)	0,56(0,07)	0,88(0,12)	0,56(0,06)	0,000010
45'	0,92(0,14)	0,73(0,04)	1,06(0,16)	0,75(0,15)	0,000502
1 час	1,63(0,23)	0,84(0,06)	0,87(0,11)	1,19(0,30)	0,010787
2 часа	1,98(0,22)	1,89(0,21)	1,98(0,18)	1,66(0,23)	0,044266
3 часа	2,59(0,34)	2,57(0,09)	2,27(0,37)	2,15(0,08)	0,016189
4 часа	3,09(0,39)	2,96(0,24)	2,92(0,29)	2,57(0,18)	0,027346
24 часа	3,95(0,57)	3,93(0,25)	3,08(0,72)	3,10(0,16)	0,007545
3 дена	5,75(0,19)	7,06(0,84)	6,29(0,75)	5,79(0,66)	0,033034
4 дена	5,73(0,35)	8,44(0,68)	6,37(0,96)	6,24(0,72)	0,000324
5 дена	8,98(0,47)	7,91(1,01)	7,62(1,09)	7,52(0,60)	0,755999
6 дена	10,16(0,66)	7,57(0,92)	8,13(0,64)	6,33(0,60)	0,002205
7 дена	10,68(0,65)	9,82(0,51)	9,09(0,58)	8,47(0,53)	0,002426

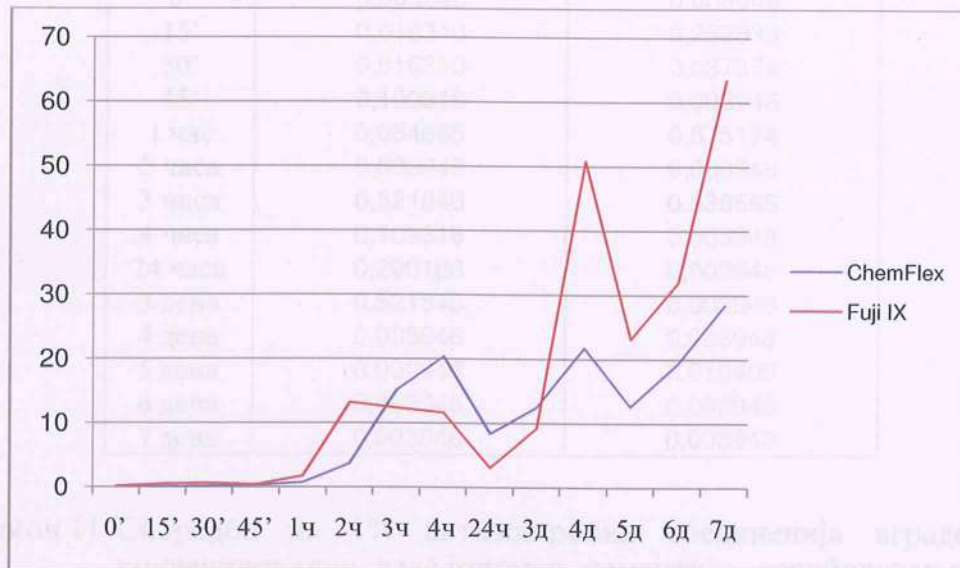
Графикон 8. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $F^-$  јони – Fuji IX + Benzalkonium Chloride во тек на време



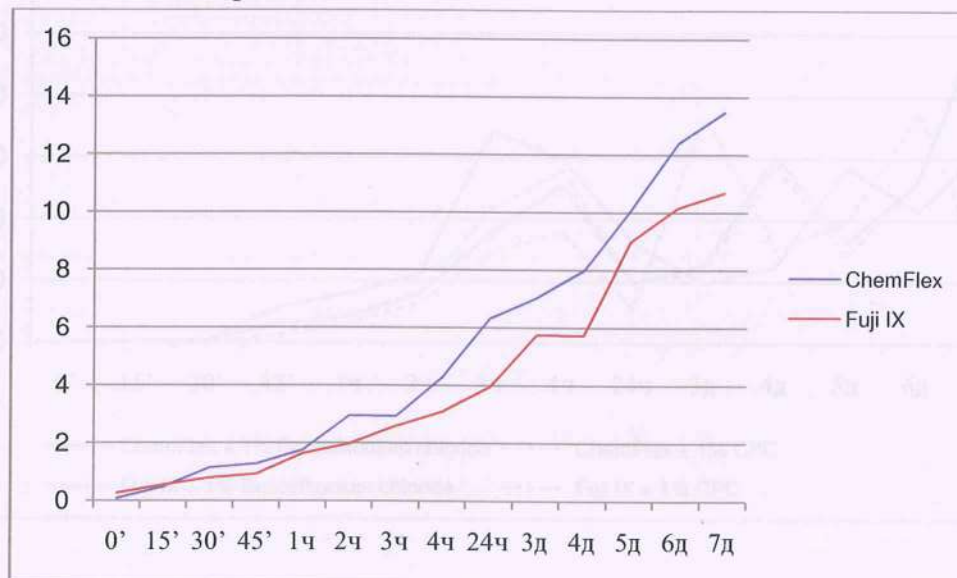
Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности на ослободените  $F^-$  јони од примероците на глас-јономер цементот Fuji IX инкорпорирани со 1%, 2% и 3% антимикумно соединение Benzalkonium

Chloride, се статистички значајни во сите временските периоди, за  $p < 0,05$ , освен во нултата минута и петтиот ден (таб. 8).

Графикон 9. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $Cl^-$  јони – ChemFlex и Fuji IX без додаток на антимикумно соединение, во тек на време



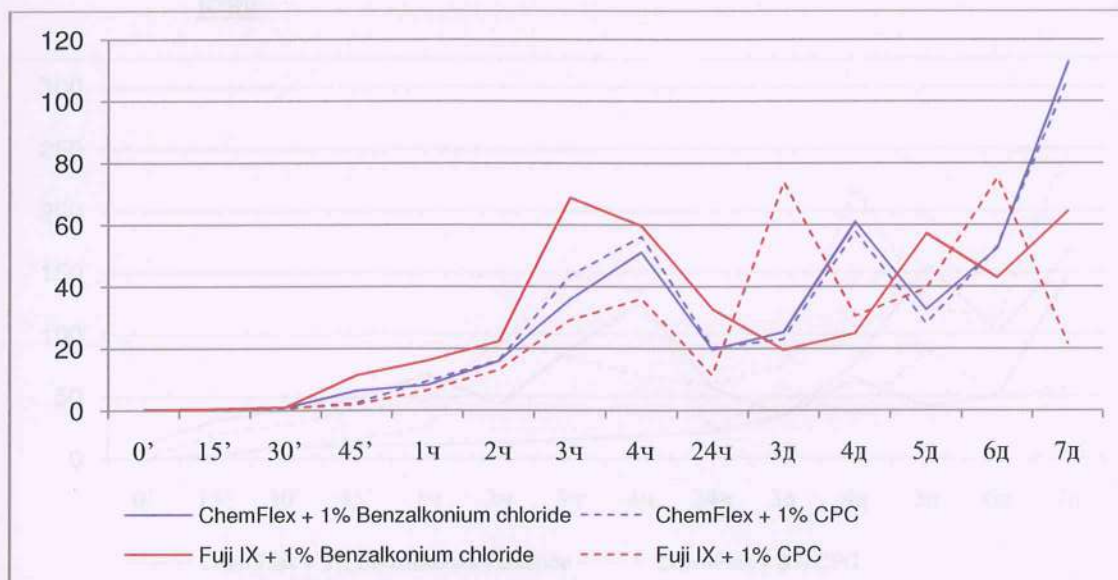
Графикон 10. Приказ на просечните вредности на ослободувањето на  $F^-$  јони – ChemFlex и Fuji IX без додаток на антимикумно соединение, во тек на време



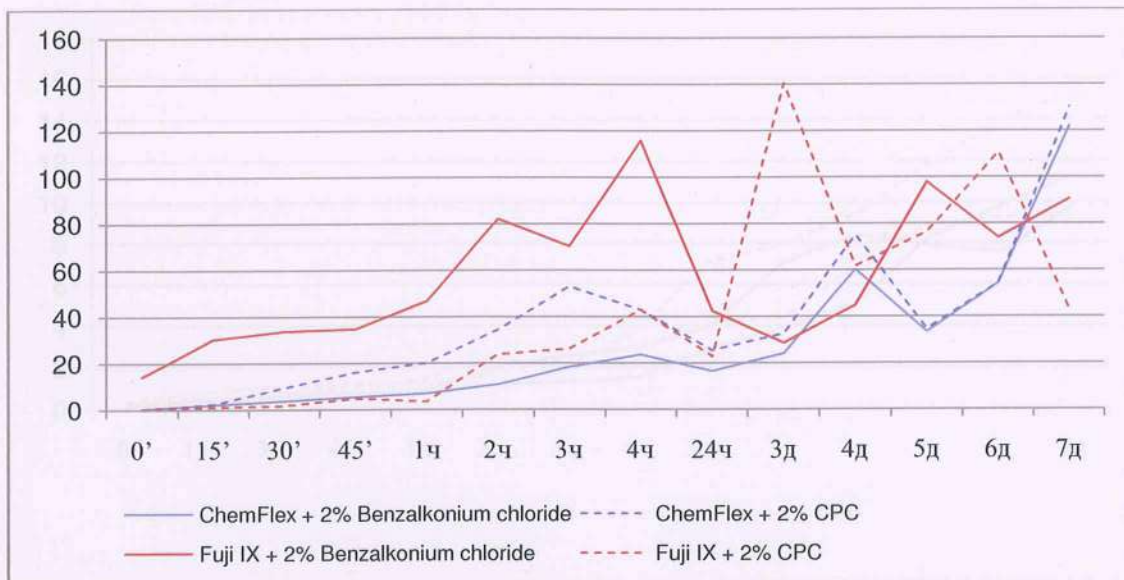
Табела 9. Mann-Whitney U тест на просечните вредности на ослободените Cl<sup>-</sup> и F<sup>-</sup> јони меѓу ChemFlex и Fuji IX без додаток на антимикробно соединение

	Cl <sup>-</sup>	F <sup>-</sup>
	(p<0,05)	(p<0,05)
0'	0,003948	0,003948
15'	0,016310	0,262333
30'	0,016310	0,037374
45'	0,109316	0,003948
1 час	0,054665	0,575174
2 часа	0,003948	0,003948
3 часа	0,521840	0,336669
4 часа	0,109316	0,003948
24 часа	0,200186	0,003948
3 дена	0,521840	0,003948
4 дена	0,003948	0,003948
5 дена	0,003948	0,010406
6 дена	0,003948	0,003948
7 дена	0,003948	0,003948

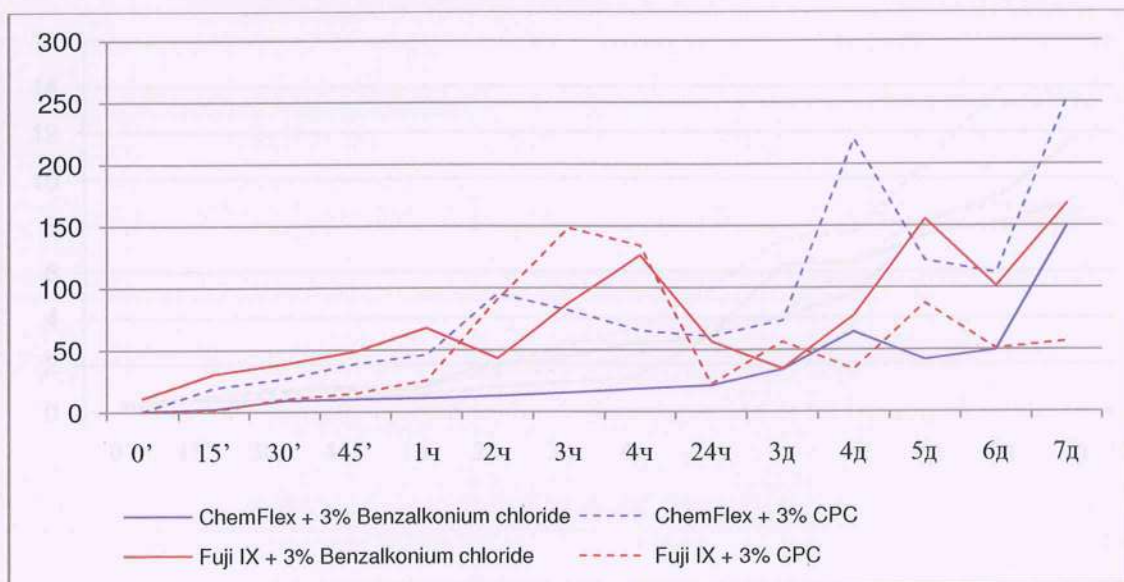
Графикон 11. Споредба на 1% антимикробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цементи – ослободување на Cl<sup>-</sup> јони



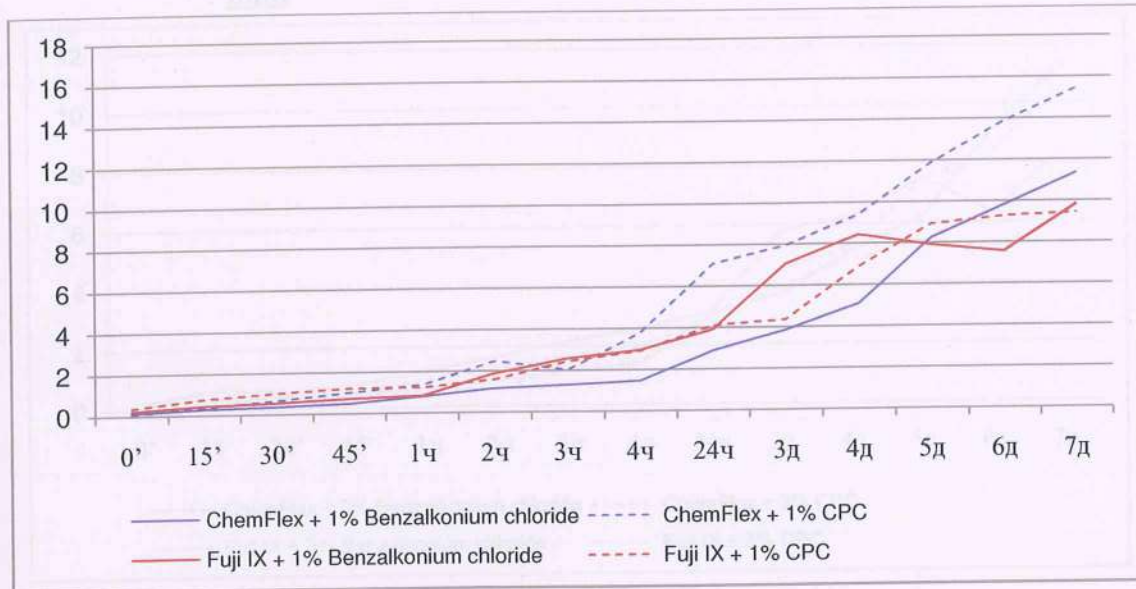
Графикон 12. Споредба на 2% антимикробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цемента – ослободување на Cl јони



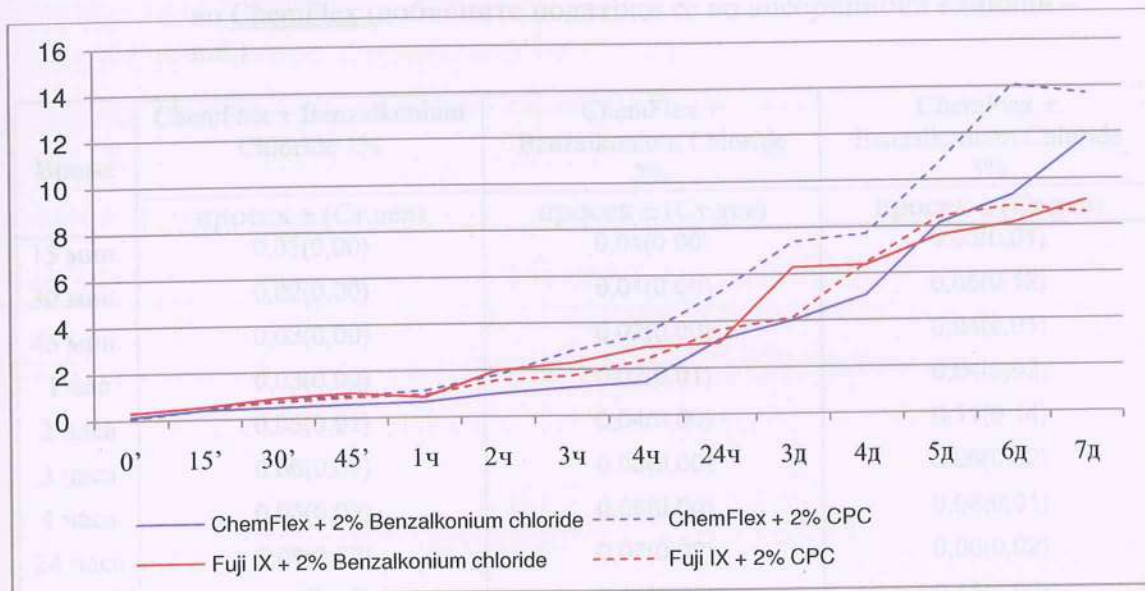
Графикон 13. Споредба на 3% антимикробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цемента – ослободување на Cl јони



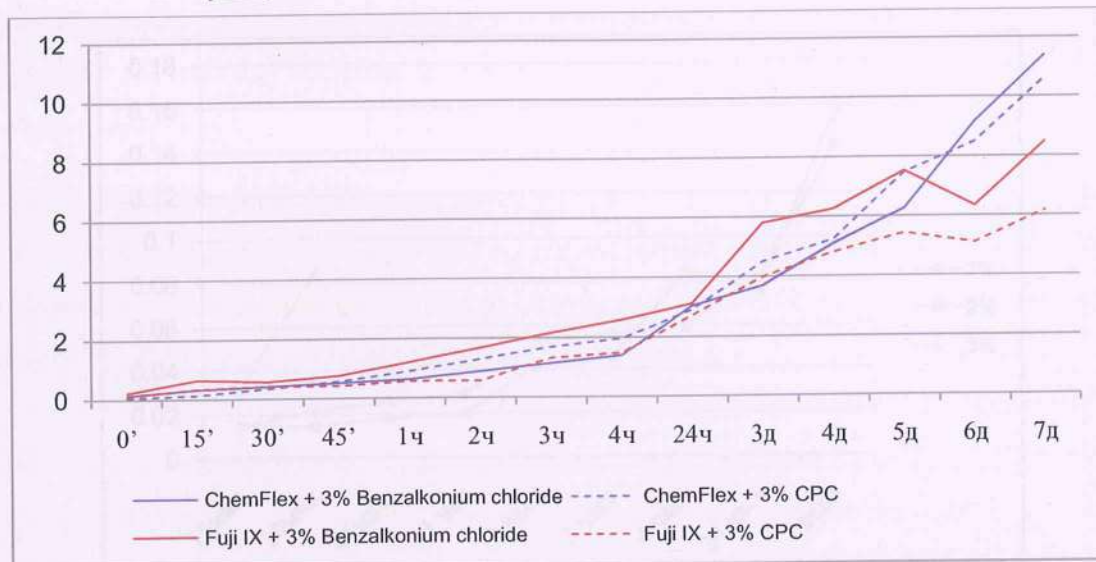
Графикон 14. Споредба на 1% антимикуробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цемента – ослободување на F јони



Графикон 15. Споредба на 2% антимикуробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цемента – ослободување на F јони



Графикон 16. Споредба на 3% антимикуробни соединенија вградени во конвенционални глас-јономер цемента – ослободување на F<sup>-</sup> јони

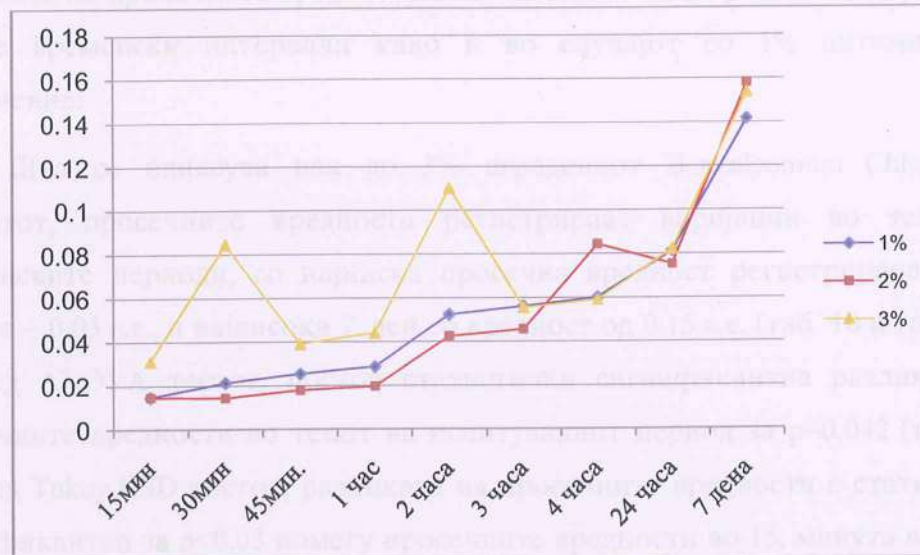


## 1.2. ОДРЕДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА – БЕЗ ПРОМЕНА НА МЕДИУМ (КУМУЛАТИВЕН ЕФЕКТ)

Табела 10. Ослободување на Benzalkonium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во ChemFlex (добиените податоци се во апсорпциони единици – а.е.)

Време	ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1%	ChemFlex + Benzalkonium Chloride 2%	ChemFlex + Benzalkonium Chloride 3%
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)
15 мин.	0,01(0,00)	0,01(0,00)	0,03(0,01)
30 мин.	0,02(0,00)	0,01(0,00)	0,08(0,12)
45 мин.	0,03(0,00)	0,02(0,00)	0,04(0,01)
1 час	0,03(0,00)	0,02(0,01)	0,04(0,02)
2 часа	0,05(0,01)	0,04(0,00)	0,11(0,14)
3 часа	0,06(0,01)	0,05(0,00)	0,06(0,02)
4 часа	0,06(0,01)	0,08(0,00)	0,06(0,01)
24 часа	0,08(0,02)	0,07(0,02)	0,08(0,02)
7 дена	0,14(0,02)	0,16(0,02)	0,15(0,02)
P	0,000000	0,000000	0,042285
Tukey HSD test	Несигнификантно (p>0,05) 15':30' 15':45' 30':45'	Несигнификантно (p>0,05) 15':30' 15':45' 30':45'	Сигнификантно (p<0,05) 15':7д.

Графикон 17. Приказ на просечните вредности на ослободениот Benzalkonium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во ChemFlex, во тек на време



Со УВ-спектрофотометриски анализи на просечните вредности на ослободениот 1% Benzalkonium Chloride инкорпориран во ГЛЦ ChemFlex, се регистрира постепено покачување на ослободувањето во текот на временскиот период започнувајќи од 0,01 а.е. до 0,1 а.е. (таб. 10 и граф. 17). Според ANOVA тестот, постои статистички високосигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на ослободеното антимикумно соединение во текот на испитуваниот период за  $p=0,000000$  (таб. 10). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  меѓу речиси сите просечни вредности. Статистички несигнификантни разлики за  $p>0,05$  се гледаат меѓу вредностите во 15. минута во однос на 30. минута; 15. минута во однос на 45. минута; како и 30. минута во однос на 45. минута.

Два проценти инкорпорираното антимикумно соединение Benzalkonium Chloride бележи просечни вредности кои постепено се покачуваат во тек на временскиот период започнувајќи од 0,01 а.е. во 15. минута, сè до 0,16 а.е. во седмиот ден (таб. 10 и граф. 17). Според анализата на варијансата, постои високо статистички сигнификантна разлика помеѓу

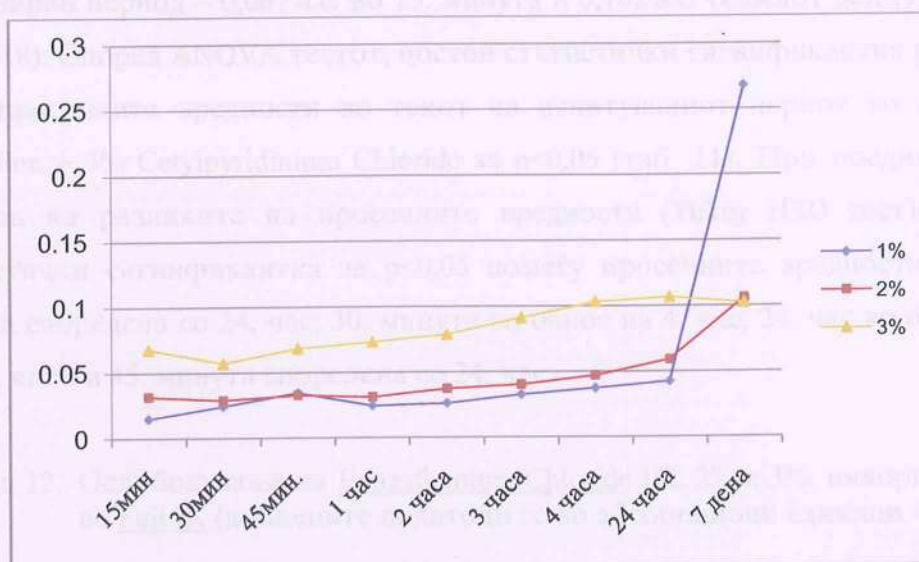
просечните вредности во текот на испитуваниот период во групата ChemFlex +Benzalkonium Chloride 2% за  $p=0,00000$  (таб. 10). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p<0,05$  за истите временски интервали како и во случајот со 1% антимиembroно соединение.

Што се однесува пак до 3% вградениот Benzalkonium Chloride во цементот, просечните вредности регистрираат варијации во текот на временските периоди, со најниска просечна вредност регистрирана во 15. минута – 0,03 а.е., а највисока 7. ден со вредност од 0,15 а.е. (таб. 10 и граф. 17). Според ANOVA тестот, постои статистички сигнификантна разлика меѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период за  $p=0,042$  (таб. 10). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности во 15. минута во однос на седмиот ден. Во сите други случаи разликата е статистички незначајна.

Табела 11. Ослободување на Cetylpyridinium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во ChemFlex (добиените податоци се во абсорпциони единици - а.е.)

Време	ChemFlex + CPC 1%	ChemFlex + CPC 2%	ChemFlex + CPC 3%
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)
15 мин.	0,02(0,00)	0,03(0,01)	0,07(0,01)
30 мин.	0,02(0,00)	0,03(0,00)	0,06(0,01)
45 мин.	0,03(0,03)	0,03(0,00)	0,07(0,01)
1 час	0,02(0,00)	0,03(0,00)	0,07(0,01)
2 часа	0,03(0,01)	0,04(0,01)	0,08(0,02)
3 часа	0,03(0,01)	0,04(0,01)	0,09(0,02)
4 часа	0,04(0,03)	0,05(0,02)	0,10(0,02)
24 часа	0,04(0,02)	0,06(0,03)	0,10(0,02)
7 дена	0,27(0,4)	0,11(0,05)	0,10(0,02)
p	0,07	0,000047	0,000161
Tukey HSD test		Сигнификантно ( $p<0,05$ ) 7д.:15',30',45',1,2,3,4,24ч.	Сигнификантно ( $p<0,05$ ) 15':24ч. 30':4ч. 24ч.:7д. 45':24ч.

Графикон 18. Приказ на просечните вредности на ослободениот Cetylpyridinium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во ChemFlex, во тек на време



Со УВ-спектрофотометриските анализи на просечните вредности на ослободениот 1% Cetylpyridinium Chloride инкорпориран во ГЈЦ ChemFlex, се регистрираат варијации на вредностите во текот на временскиот период. Најниска просечна вредност се регистрира во 15. минута со 0,02 а.е., а највисока во седмиот ден – 0,27 а.е. (таб. 11 и граф. 18). Според ANOVA тестот, не постои статистички значајна разлика помеѓу просечните вредности на ослободеното антимикробно соединение во текот на испитуваниот период,  $p=0,07$  (таб. 11).

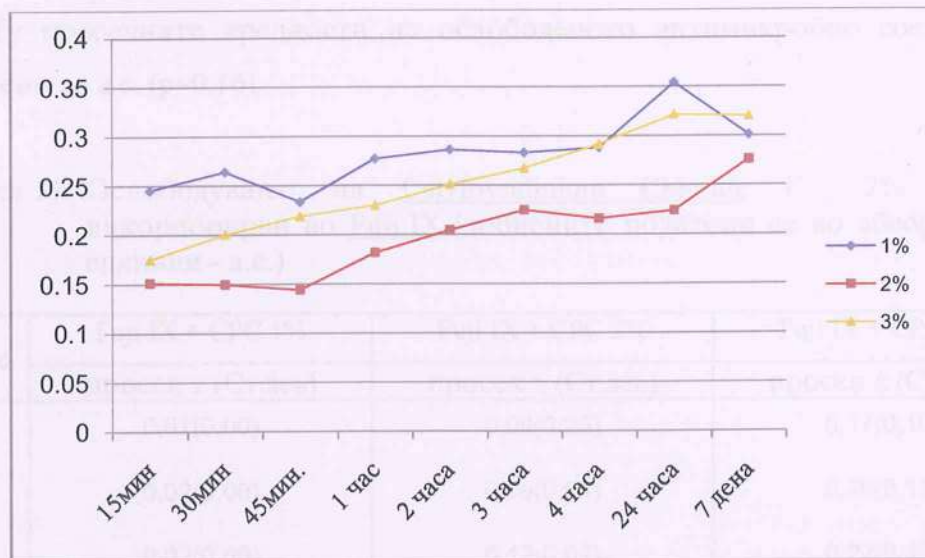
Вградувањето на 2% Cetylpyridinium Chloride укажува на постепено покачување на ослободеното антимикробно соединение во тек на анализираните временски интервали, започнувајќи од 0,03 а.е. во 15. минута до 0,11 а.е. седмиот ден (таб. 11 и граф. 18). Статистичката анализа покажува сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период за  $p<0,05$  (таб. 11). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на седмиот ден во однос на сите други просечни вредности.

Три проценти вградената антимицробна супстанција дава и поголеми вредности на ослободеното соединение како во првиот така и во последниот анализиран период – 0,067 а.е. во 15. минута и 0,102 а.е. седмиот ден (таб. 11 и граф. 18). Според ANOVA тестот, постои статистички сигнификантна разлика меѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период во групата ChemFlex + 3% Cetylpyridinium Chloride за  $p < 0,05$  (таб. 11). При поединечната анализа на разликите на просечните вредности (Tukey HSD тест), таа е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  помеѓу просечните вредности во 15. минута споредена со 24. час; 30. минута во однос на 4. час; 24. час во однос на 7. ден; како и 45. минута споредена со 24. час.

Табела 12. Ослободување на Benzalkonium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во Fuji IX (добиените податоци се во абсорпциони единици - а.е.)

Време	Fuji IX + Benzalkonium Chloride 1%	Fuji IX + Benzalkonium Chloride 2%	Fuji IX + Benzalkonium Chloride 3%
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)
15 мин.	0,25(0,06)	0,15(0,05)	0,17(0,10)
30 мин.	0,26(0,06)	0,15(0,04)	0,20(0,11)
45 мин.	0,23(0,05)	0,14(0,04)	0,29(0,11)
1 час	0,28(0,06)	0,18(0,05)	0,23(0,11)
2 часа	0,29(0,06)	0,20(0,04)	0,25(0,10)
3 часа	0,28(0,06)	0,22(0,04)	0,27(0,10)
4 часа	0,29(0,06)	0,21(0,04)	0,29(0,10)
24 часа	0,35(0,05)	0,22(0,04)	0,32(0,10)
7 дена	0,30(0,04)	0,28(0,04)	0,32(0,06)
P	0,040697	0,000012	0,162707
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p < 0,05$ ) 15':24ч. 45':24ч.	Сигнификантно ( $p < 0,05$ ) 7д.:15',30',45',1ч. 4ч.:24ч.	

Графикон 19. Приказ на просечните вредности на ослободениот Benzalkonium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во Fuji IX, во тек на време



Просечните вредности на вграден 1% Benzalkonium Chloride во ГЈЦ Fuji IX бележат постепено покачување во текот на временскиот период, со најниска просечна вредност регистрирана во 15. минута – 0,25 а.е., а највисока во 24. час – 0,35 а.е. (таб. 12 и граф. 19). Анализата на варијансата укажува на статистички сигнификантни разлики помеѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период за анализираното антимикубно соединение за  $p < 0,05$  (таб. 12). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  помеѓу следниве просечни вредности: 15. минута во однос на 24. час; и 45. минута во однос на 24. час.

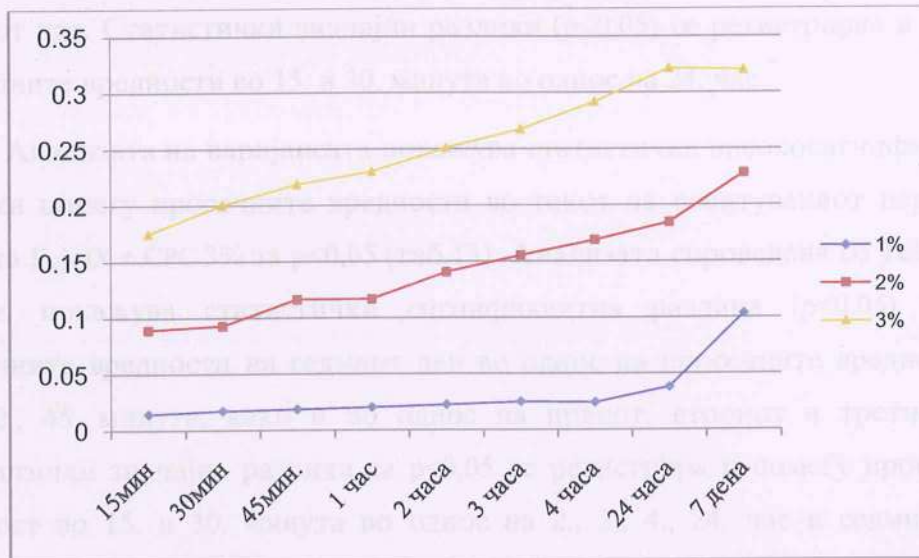
Просечните вредности кај ГЈЦ Fuji IX со додаток на 2% Benzalkonium Chloride регистрираат постепено покачување на ослободената антимикурна компонента во тек на анализираниот период започнувајќи од 0,15 а.е. во 15. минута до 0,28 а.е. седмиот ден (таб. 12 и граф. 19). Статистичката анализа покажува значајни разлики ( $p < 0,05$ ) помеѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период (таб. 12). Анализата со помош на Tukey HSD тестот покажува статистички значајни разлики на просечните вредности за  $p < 0,05$  кај седмиот ден во однос на 15. минута, 30. минута, 45. минута, првиот час, четвртиот час и 24. час.

Статистичката анализа на 3% вграденото антимикубно соединение Benzalkonium Chloride укажува на непостоење на статистички значајна разлика помеѓу просечните вредности на ослободеното антимикубно соединение изразени во а.е. ( $p=0,16$ ).

Табела 13. Ослободување на Cetylpyridinium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во Fuji IX (добиените податоци се во абсорпциони единици - а.е.)

Време	Fuji IX + CPC 1%	Fuji IX + CPC 2%	Fuji IX + CPC 3%
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)
15 мин.	0,01(0,00)	0,09(0,05)	0,17(0,10)
30 мин.	0,02(0,00)	0,09(0,04)	0,20(0,11)
45 мин.	0,02(0,00)	0,12(0,04)	0,22(0,11)
1 час	0,02(0,00)	0,12(0,03)	0,23(0,11)
2 часа	0,02(0,00)	0,14(0,04)	0,25(0,10)
3 часа	0,02(0,00)	0,16(0,04)	0,27(0,10)
4 часа	0,02(0,00)	0,17(0,04)	0,29(0,10)
24 часа	0,04(0,01)	0,18(0,04)	0,32(0,10)
7 дена	0,10(0,02)	0,23(0,05)	0,32(0,06)
p	0,000000	0,000009	0,000000
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p<0,05$ ) 7д.:15',30',45',1,2,3,4,24ч. 15':24ч. 30':24ч.	Сигнификантно ( $p<0,05$ ) 7д.:15',30',45',1ч.,2ч. 15':24ч. 30':24ч.	Сигнификантно ( $p<0,05$ ) 7д.:15',30',45',1,2,3ч. 15',30':2,3,4,24ч. 45':24ч.,7д.

Графикон 20. Приказ на просечните вредности на Cetylpyridinium Chloride 1%, 2% и 3%, инкорпориран во Fuji IX, во тек на време



УВ-спектрофотометриските анализи на медиумот во кои беа складираны примероците на ГЈЦ Fuji IX инкорпорираны со 1% антимикуробно соединение Cetylpyridinium Chloride, регистрираа постепено покачување на средните вредности во текот на анализираниот временски интервал со најниска просечна вредност регистрирана во 15. минута – 0,01 а.е., а највисока во 7. ден – 0,1 а.е. (таб. 13 и граф. 20). Според ANOVA тестот, постои статистички високосигнификантна разлика помеѓу просечните вредности во тек на испитуваниот период за  $p < 0,05$  (таб.13). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,05$  помеѓу вредноста во 7. ден и сите други просечни вредности во анализираниот временски период. Статистичка сигнификантност за  $p < 0,05$  се регистрира и помеѓу просечната вредност во 15. минута во однос на 24. час, како и 30. минута во однос на 24. час.

Просечните вредности на 2% вграден Benzalkonium Chloride бележат постепено покачување во тек на временскиот период започнувајќи со вредност од 0,09 а.е. во 15. мин., па сè до 0,23 а.е. седмиот ден (таб. 13 и граф. 20). Статистичката анализа укажува на постоење на значајна разлика помеѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период за  $p < 0,05$  (таб. 13). Анализата спроведена со Tukey HSD тестот укажува на статистичка

сигнификантност за  $p < 0,05$  помеѓу просечните вредности седмиот ден во однос на просечните вредности во 15. минута, 30. минута, 45. минута, првиот и вториот час. Статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ) се регистрираа и помеѓу просечните вредности во 15. и 30. минута во однос на 24. час.

Анализата на варијансата покажува статистички високосигнификантна разлика помеѓу просечните вредности во текот на испитуваниот период во групата Fuji IX + CPC 3% за  $p < 0,05$  (таб.13). Анализата спроведена со Tukey HSD тестот, покажува статистички сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ) помеѓу просечните вредности на седмиот ден во однос на просечните вредности во 15., 30., 45. минута, како и во однос на првиот, вториот и третиот час. Статистички значајна разлика за  $p < 0,05$  се регистрира и помеѓу просечната вредност во 15. и 30. минута во однос на 2., 3., 4., 24. час и седмиот ден. Статистичка сигнификантност за  $p < 0,05$  се регистрира и помеѓу просечната вредност во 45. минута во однос на 24. час и седмиот ден.

Табела 14. ANOVA на просечните вредности меѓу испитуваните ГЈЦ инкорпорирани со 1%, со 2% и со 3% Benzalkonium Chloride и CPC

ВРЕМЕ	1%	2%	3%
	p	p	P
15 мин.	0,000000	0,000002	0,001300
30 мин.	0,000000	0,000000	0,026477
45 мин.	0,000000	0,000000	0,000156
1 час	0,000000	0,000000	0,000116
2 часа	0,000000	0,000000	0,019125
3 часа	0,000000	0,000000	0,000007
4 часа	0,000000	0,000000	0,000003
24 часа	0,000000	0,000000	0,000001
7 дена	0,312746	0,000013	0,000000

Разликата на просечните вредности кои се добиени со инкорпорирање на 1%, 2% и 3% ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride, Fuji IX + Benzalkonium Chloride и Fuji IX + CPC според ANOVA тестот е

статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  во сите временски интервали, освен во седмиот ден кај 1% од комбинациите (таб. 14). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности третирани со 1%, 2% и 3% Fuji IX + Benzalkonium Chloride во текот на временскиот период во однос на просечните вредности третирани со 1%, 2% и 3% ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + CPC, и Fuji IX + CPC.

Табела 15. Статистички анализи на просечните вредности меѓу испитуваните ГЈЦ и концентрациите на антимикробни соединенија

ВРЕМЕ	ANOVA /p/	Tukey HSD test
15 мин.	0,000000	
30 мин.	0,000000	
45 мин.	0,000000	Сигнификантно за ( $p < 0,000$ )  Fuji IX + Benzalkonium Chloride во однос на ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride и Fuji IX + CPC
1 час	0,000000	
2 часа	0,000000	
3 часа	0,000000	
4 часа	0,000000	
24 часа	0,000000	
7 дена	0,013726	

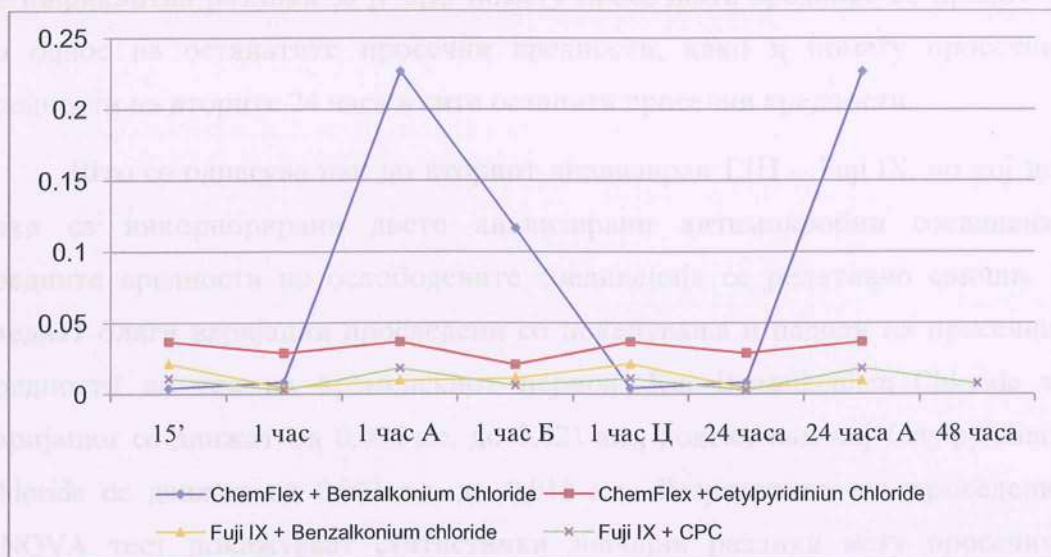
Разликите на просечните вредности кои се добиени со инкорпорирање на антимикробни соединенија во конвенционални глас-јономер цемента според ANOVA тестот е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  во сите временски интервали и концентрации (таб. 15). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности меѓу сите комбинации на ГЈЦ-и и процентуални концентрации на антимикробни соединенија се статистички сигнификантни за  $p < 0,000$  помеѓу просечните вредности третирани со Fuji IX + Benzalkonium Chloride во текот на временскиот период во однос на просечните вредности третирани со ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + CPC, и Fuji IX + CPC.

### 1.3. ОДРЕДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА – СО ПРОМЕНА НА МЕДИУМ ВО ОДРЕДЕНИ ВРЕМЕНСКИ ИНТЕРВАЛИ

Табела 16. Ослободување на Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride 2%, инкорпорирани во ChemFlex и Fuji IX (добиените податоци се во абсорпциони единици - а.е.)

2%	ChemFlex + Benzalkonium Chloride	ChemFlex + CPC	Fuji IX + Benzalkonium Chloride	Fuji IX + CPC
Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)
15 мин.	0,004(0,00)	0,037(0,01)	0,021(0,04)	0,011(0,02)
по 1ч.	0,008(0,00)	0,029(0,00)	0,004(0,00)	0,003(0,00)
по 1ч. А	0,226(0,07)	0,037(0,01)	0,009(0,03)	0,018(0,01)
по 1ч. Б	0,116(0,04)	0,021(0,01)	0,011(0,00)	0,006(0,00)
по 1ч. В	0,004(0,00)	0,037(0,01)	0,021(0,04)	0,011(0,02)
по 24ч. А	0,008(0,01)	0,029(0,00)	0,004(0,00)	0,003(0,00)
по 24ч. Б	0,227(0,08)	0,037(0,01)	0,009(0,03)	0,018(0,01)
по 48ч.				0,007(0,00)
P	0,025034	0,000000	0,000000	0,000000
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p < 0,05$ )  15':1ч.	Сигнификантно ( $p < 0,05$ )  1ч. : останатите 24ч. Б: останатите	Сигнификантно ( $p < 0,05$ )  15': останатите	Сигнификантно ( $p < 0,05$ )  15': останатите

Графикон 21. Приказ на просечните вредности на ослободените 2% Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride, инкорпорирани во ChemFlex и Fuji IX, во тек на време



Просечните вредности добиени со УВ-спектрофотометриските анализи на медиумот (дејонизирана вода) која се менува во тек на анализите, а во кој се складирали примероците на ГЈЦ ChemFlex инкорпорирани со 2% антимикробно соединение Benzalkonium Chloride (репрезентативен примерок), варираат со нагли покачувања и падови во тек на анализирани интервали. Најниска просечна вредност се регистрира во 15. минута – 0,004 а.е., а највисока во третиот час (1 час Б) – 0,227 а.е. (таб. 16 и граф. 21). Според ANOVA тестот, постои статистички сигнификантна разлика меѓу просечните вредности во тек на испитуваниот период за  $p < 0,05$  (таб. 16). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика за  $p < 0,05$  меѓу просечната вредност во 15. минута во однос на првиот час. Останатите просечни вредности во временскиот период се статистички несигнификантни ( $p > 0,05$ ).

Просечните вредности на другото антимикробно соединение – 2% Cetylpyridinium Chloride вградено во ГЈЦ ChemFlex, бележат наизменични благи покачувања и падови во тек на анализирани периоди кои се движат од 0,021 а.е. до 0,037 а.е.. Спроведените статистички анализи покажуваат висока

статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности –  $p < 0,05$  ( $p = 0,0000$ ) (таб. 16). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика за  $p < 0,05$  помеѓу просечната вредност во првиот час во однос на останатите просечни вредности, како и помеѓу просечните вредности на вторите 24 часа и сите останати просечни вредности.

Што се однесува пак до вториот анализиран ГЈЦ – Fuji IX, во кој исто така се инкорпорирани двете анализирани антимикробни соединенија, средните вредности на ослободените соединенија се релативно слични. Се гледаат благи варијации проследени со покачувања и падови на просечните вредности во тек на временскиот период. Кај Benzalkonium Chloride тие варијации се движат од 0,004 а.е. до 0,021 а.е., додека пак кај Cetylpyridinium Chloride се движат од 0,003 а.е. до 0,018 а.е.. Резултатите од спроведениот ANOVA тест покажуваат статистички значајни разлики меѓу просечните вредности во тек на испитуваниот период ( $p < 0,05$ ) за двете анализирани антимикробни соединенија. Со поединечна анализа на разликите на просечните вредности (Tukey HSD тест), и за двете антимикробни соединенија, разликата е статистички значајна помеѓу просечните вредности во 15. минута во однос на сите останати.

Табела 17. Статистичка анализа на просечните вредности меѓу испитуваните ГЈЦ и 2% концентрации на антимикробни соединенија

ВРЕМЕ	ANOVA /p/	Tukey HSD test
15 мин.	0,000000	Сигнификантно за ( $p < 0,000$ )  Fuji IX + Benzalkonium Chloride : ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + CPC и Fuji IX + CPC
по 1ч.	0,024680	
по 1ч. А	0,627077	
по 1ч. Б	0,025413	
по 1ч. В	0,011773	
по 24ч. А	0,000000	
по 24ч. Б	0,000002	

Разликата на просечните вредности кои се добиени со инкорпорирање на 2% антимикробни соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride во конвенционалните ГЈЦ-и ChemFlex и Fuji IX, е статистички сигнификантна за сите анализирани временски периоди ( $p < 0,05$ ), освен за

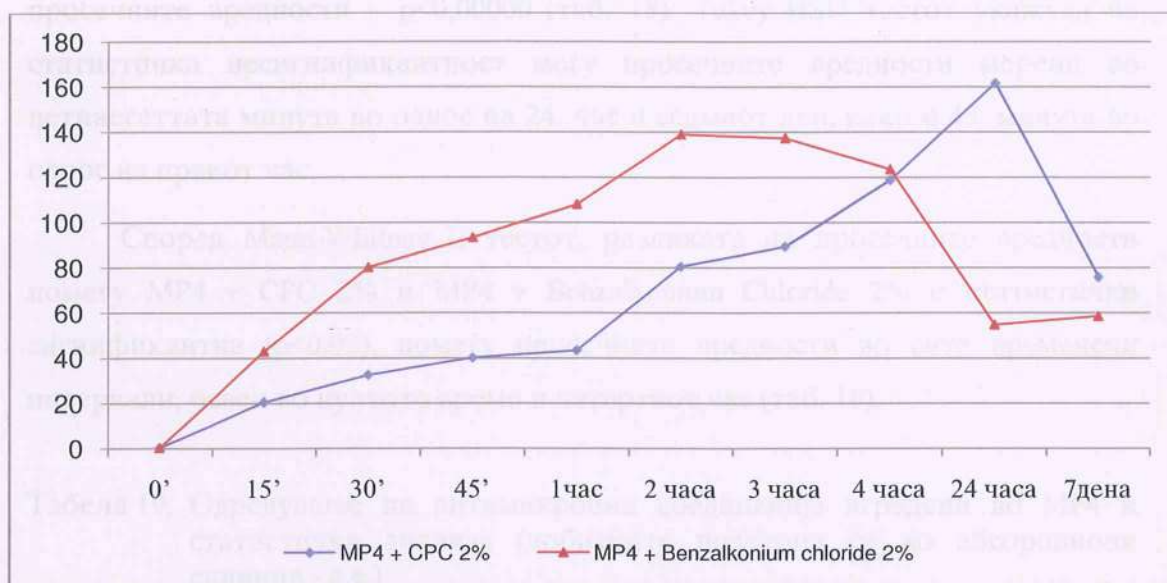
вториот час, т.е. 1 час А (таб. 17). Според Tukey HSD тестот, разликата е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  помеѓу просечните вредности третираны со Fuji IX + Benzalkonium Chloride во однос на просечните вредности третираны со ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + CPC, и Fuji IX + CPC.

#### 1.4. ХЕМИСКИ АНАЛИЗИ СО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТ MP4

Табела 18. Одредување на  $Cl^-$  јони и статистичка анализа на MP4 инкорпориран со антимицробни соединенија (добиените податоци се во ppm)

ВРЕМЕ	MP4 + CPC 2%	MP4 + Benzalkonium Chloride 2%	MP4 + CPC 2% MP4 + Benzalkonium Chloride 2%
	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	Mann-Whitney U test (p-level)
0'	0,42(0,20)	0,35(0,02)	0,748774
15'	20,46(3,76)	43,00(8,89)	0,003948
30'	32,58(4,58)	80,25(17,48)	0,003948
45'	40,13(7,18)	93,41(17,71)	0,003948
1ч.	43,50(7,26)	108,18(17,41)	0,003948
2ч.	80,51(15,55)	139,00(17,73)	0,003948
3ч.	89,35(17,53)	137,33(12,11)	0,003948
4ч.	118,83(22,05)	123,50(10,56)	0,630954
24ч.	161,66(29,22)	54,76(3,52)	0,003948
7д.	75,86(6,83)	58,55(3,36)	0,003948
p	0,000000	0,000000	
Tukey HSD test	Несигнификантно ( $p > 0,05$ )  0' : 1 час 7. ден : 2 часа 7. ден : 3 часа	Несигнификантно ( $p > 0,05$ )  15' : 24 часа 15' : 7. ден 45' : 1 час	

Графикон 22. Приказ на просечните вредности на ослободените хлоридни јони во тек на време



Просечните вредности на ослободените хлоридни јони од примероците на експерименталниот ГЈЦ МР4 со додаток на 2% антимикробна компонента Cetylpyridinium Chloride, покажуваат постепен пораст во текот на времето од 0,4 ppm во 0. минута до 161,7 ppm во 24. час, за да настане нагол пад седмиот ден на 75,9 ppm (таб. 18 и граф. 22). Статистичките анализи спроведени со ANOVA тестот покажуваат дека постои статистички високосигнификантна разлика на просечните вредности за  $p=0,00000$  (таб. 18). Заради подобра прегледност на резултатите од статистичката анализа спроведена со Tukey HSD тестот, прикажани се само статистички несигнификантните разлики кои се: нулто време во однос на првиот час, како и седмиот ден во однос на вториот и третиот час.

Што се однесува пак на анализата на просечните вредности на експерименталниот цемент инкорпориран со другата антимикробна компонента – 2% Benzalkonium Chloride, просечните вредности покажуваат постепен пораст во текот на времето од 0,35 ppm во 0. минута сè до 139 ppm во вториот час. Потоа настанува пад на 137 ppm во 3. час кој ја продолжува надолната тенденција до дваесет и четвртиот час со вредност од 55 ppm и благ пораст на 59 ppm седмиот ден (таб. 18 и граф. 22). Анализата на варијансите

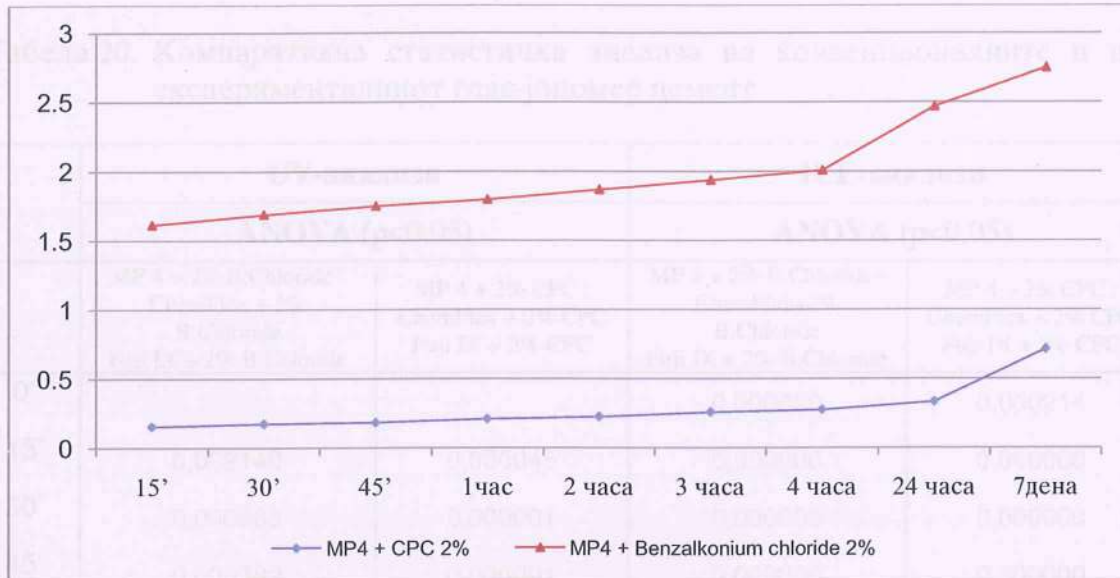
укажува на статистички високоизразена сигнификантност на разликите на просечните вредности –  $p < 0,00000$  (таб. 18). Tukey HSD тестот укажува на статистичка несигнификантност меѓу просечните вредности мерени во петнаесеттата минута во однос на 24. час и седмиот ден, како и 45. минута во однос на првиот час.

Според Mann-Whitney U тестот, разликата на просечните вредности помеѓу MP4 + CPC 2% и MP4 + Benzalkonium Chloride 2% е статистички сигнификантна ( $p < 0,05$ ), помеѓу просечните вредности во сите временски интервали, освен во нултото време и четвртиот час (таб. 18).

Табела 19. Одредување на антимикуробни соединенија вградени во MP4 и статистичка анализа (добиените податоци се во абсорпциони единици - а.е.)

ВРЕМЕ	MP4 + CPC 2%	MP4 + Benzalkonium Chloride 2%	MP4 + CPC 2% MP4 + Benzalkonium Chloride 2%
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	Mann-Whitney U test (p-level)
15'	0,16(0,03)	1,61(1,22)	0,003948
30'	0,17(0,03)	1,69(1,15)	0,003948
45'	0,18(0,03)	1,75(1,10)	0,003948
1ч.	0,20(0,04)	1,80(1,06)	0,003948
2ч.	0,22(0,05)	1,87(1,01)	0,003948
3ч.	0,26(0,05)	1,94(0,94)	0,003948
4ч.	0,28(0,06)	2,01(0,90)	0,003948
24ч.	0,33(0,08)	2,47(0,88)	0,003948
7д.	0,71(0,16)	2,75(0,71)	0,003948
p	0,000000	0,563817	
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p < 0,05$ ) 7д. : сите останати 24ч. : 15' 24ч. : 30' 24ч. : 45'		

Графикон 23. Приказ на просечните вредности на ослободените антимикуробни соединенија во тек на време



Просечните вредности на 2% ослободеното антимикуробно соединение Cetylpyridinium Chloride од експерименталниот цемент MP4 покажуваат постепен мал пораст во текот на времето од 0,16 а.е. во 0. минута, до 0,71 а.е. седмиот ден (таб. 19 и граф. 23). Според ANOVA тестот, разликите на просечните вредности кои се регистрираат се статистички високо-сигнификантни –  $p=0,00000$  (таб. 19). Поединечната анализа на разликите на средните вредности (Tukey HSD тест), покажува статистичка сигнификантност за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности во седмиот ден во однос на сите останати временски периоди; и 24. час во однос на 15., 30. и 45. минута.

Просечните вредности на ослободениот 2% Benzalkonium Chloride покажуваат поголемо ниво на ослободување со постепен пораст во текот на времето од 1,6 а.е. во 0. минута до 2,7 а.е. седмиот ден (таб. 19 и граф. 23). Анализата на варијансата покажува статистички незначителна разлика на просечните вредности,  $p>0,05$  (таб. 19).

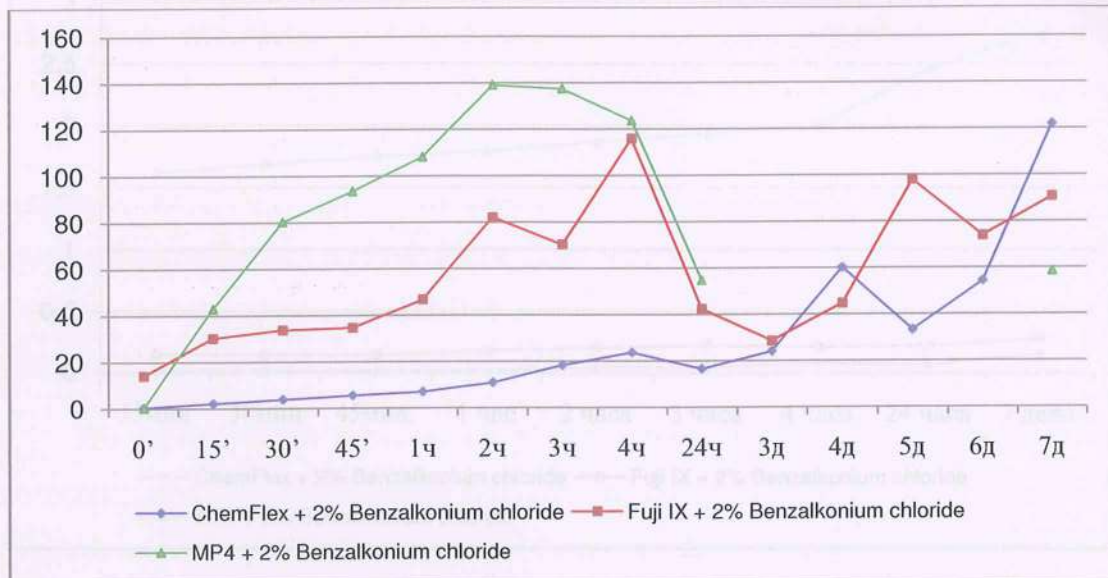
Според Mann-Whitney U тестот, разликата на просечните вредности помеѓу MP4 + 2% CPC и MP4 + 2% Benzalkonium Chloride при УВ-

спектрофотометриски анализи е статистички сигнификантна во текот на сите временски периоди за  $p < 0,05$  (таб. 19).

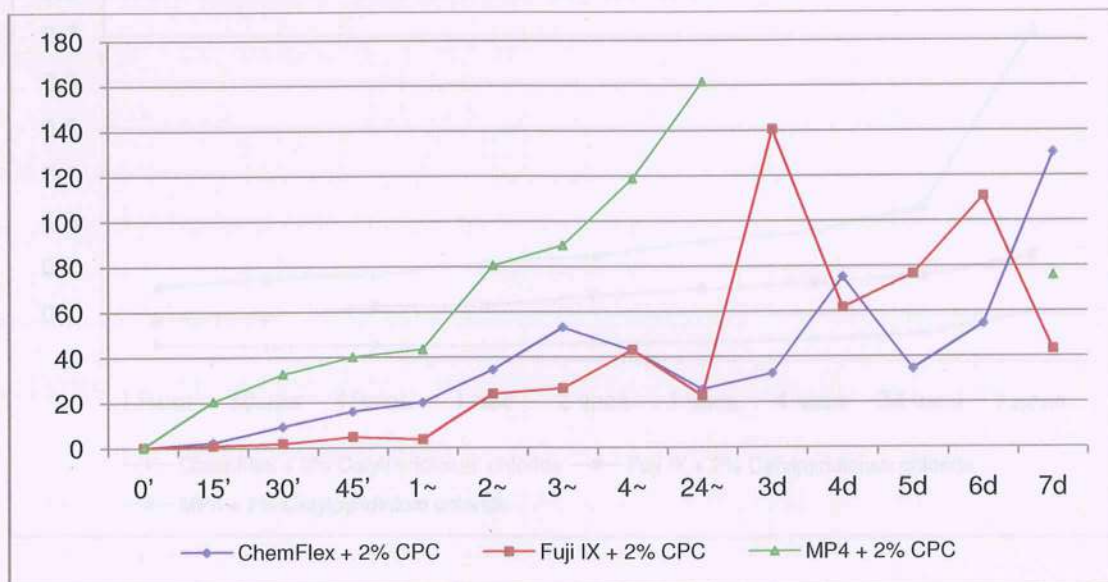
Табела 20. Компаративна статистичка анализа на конвенционалните и на експерименталниот глас-јономер цемент

	UV-анализи		ICE-анализи	
	ANOVA ( $p < 0,05$ )		ANOVA ( $p < 0,05$ )	
	MP 4 + 2% B.Chloride : ChemFlex + 2% B.Chloride Fuji IX + 2% B.Chloride	MP 4 + 2% CPC : ChemFlex + 2% CPC Fuji IX + 2% CPC	MP 4 + 2% B.Chloride : ChemFlex+2% B.Chloride Fuji IX + 2% B.Chloride	MP 4 + 2% CPC : ChemFlex + 2% CPC Fuji IX + 2% CPC
0'			0,000000	0,000214
15'	0,002140	0,000045	0,000000	0,000000
30'	0,000863	0,000001	0,000000	0,000000
45'	0,000382	0,000001	0,000000	0,000000
1ч.	0,000237	0,000000	0,000000	0,000000
2ч.	0,000101	0,000001	0,000000	0,000000
3ч.	0,000034	0,000000	0,000000	0,000000
4ч.	0,000015	0,000002	0,000000	0,000000
24ч.	0,000001	0,000003	0,000000	0,000000
7д.	0,000000	0,000000	0,000072	0,000001
Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p < 0,00$ ) MP 4 + 2% B.Chloride : ChemFlex + 2% B.Chloride Fuji IX + 2% B.Chloride	Сигнификантно ( $p < 0,000$ ) MP 4 + 2% CPC : ChemFlex + 2% CPC Fuji IX + 2% CPC	Сигнификантно ( $p < 0,000$ и $p < 0,01$ ) MP 4 + 2% B.Chloride : ChemFlex + 2% B.Chloride Fuji IX + 2% B.Chloride	Сигнификантно ( $p < 0,00$ ) MP 4 + 2% CPC : ChemFlex + 2% CPC Fuji IX + 2% CPC

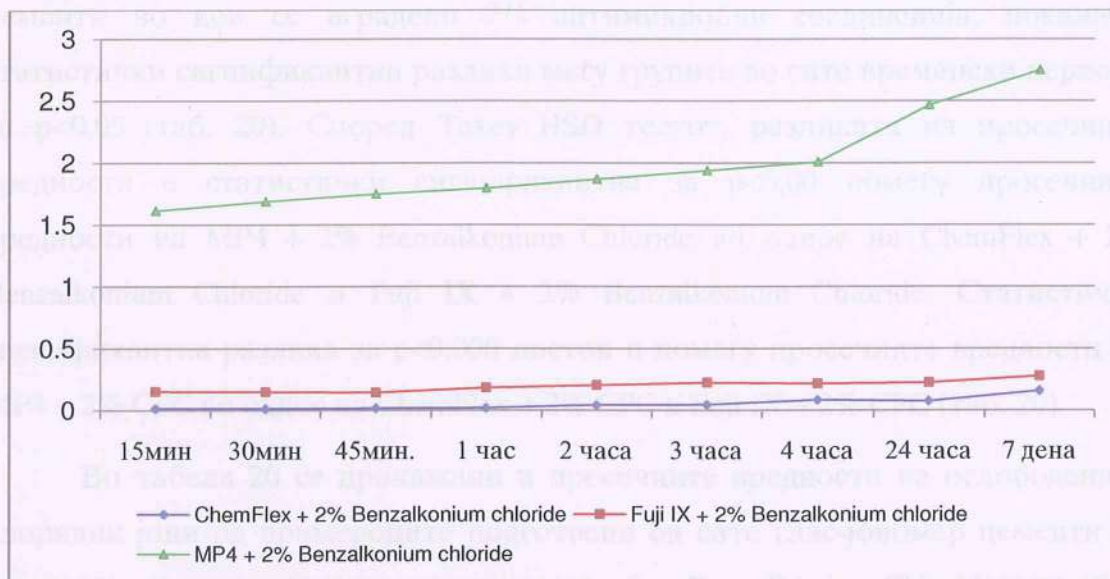
Графикон 24. Компаративен приказ на ослободување на хлоридни јони од сите ГЈЦ-и со додаток на 2% Benzalkonium Chloride во тек на време



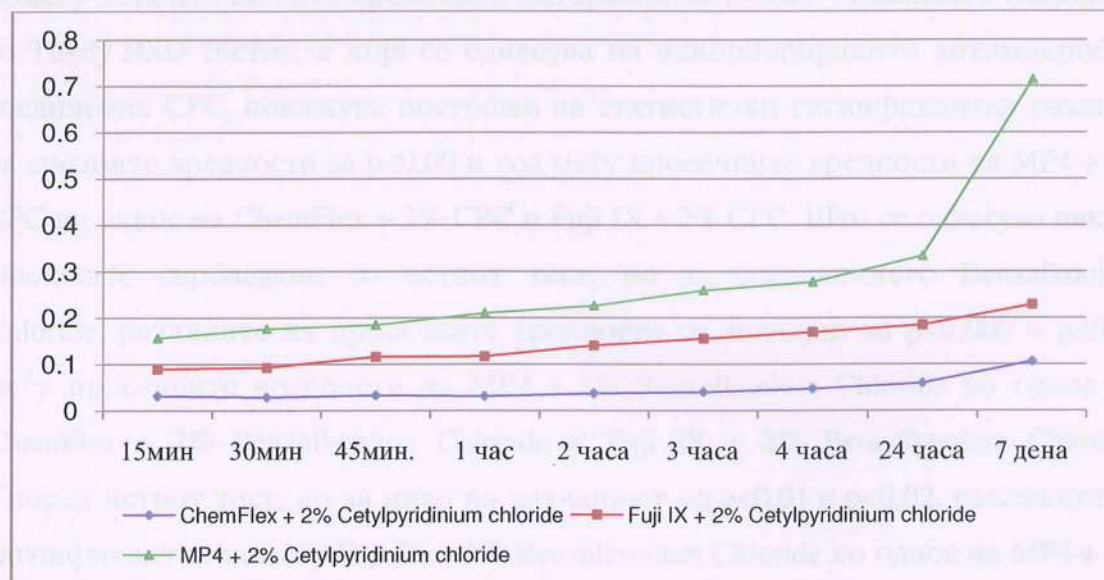
Графикон 25. Компаративен приказ на ослободување на хлоридни јони од сите ГЈЦ-и со додаток на 2% Cetylpyridinium Chloride во тек на време



Графикон 26. Компаративен приказ на ослободување на Benzalkonium Chloride од сите ГЈЦ-и (УВ-анализи), во тек на време



Графикон 27. Компаративен приказ на ослободување на Cetylpyridinium Chloride од сите ГЈЦ-и (УВ-анализи), во тек на време



Анализата на варијансата (ANOVA) на разликите на просечните вредности добиени со УВ-спектрофотометриски мерења на сите глас-јономер цементи во кои се вградени 2% антимикробни соединенија, покажува статистички сигнификантни разлики меѓу групите во сите временски периоди за  $p < 0,05$  (таб. 20). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,00$  помеѓу просечните вредности на MP4 + 2% Benzalkonium Chloride во однос на ChemFlex + 2% Benzalkonium Chloride и Fuji IX + 2% Benzalkonium Chloride. Статистички сигнификантна разлика за  $p < 0,000$  постои и помеѓу просечните вредности на MP4 + 2% CPC во однос на ChemFlex + 2% CPC и Fuji IX + 2% CPC (таб. 20).

Во табела 20 се прикажани и просечните вредности на ослободените хлоридни јони од примероците подготвени од сите глас-јономер цементи со вградени антимикробни соединенија – посебно Benzalkonium Chloride и посебно Cetylpyridinium Chloride. Од спроведената статистичка анализа на варијансата се гледа постоење на статистички високоизразени сигнификантни разлики помеѓу ГЈЦ-ите во сите временски интервали за  $p < 0,05$ . Анализата извршена со Tukey HSD тестот, а која се однесува на инкорпорираното антимикробно соединение CPC, покажува постоење на статистички сигнификантна разлика на средните вредности за  $p < 0,00$  и тоа меѓу просечните вредности на MP4 + 2% CPC во однос на ChemFlex + 2% CPC и Fuji IX + 2% CPC. Што се однесува пак до анализите спроведени со истиот тест, но за соединението Benzalkonium Chloride, разликите на просечните вредности се значајни за  $p < 0,000$  и  $p < 0,01$  меѓу просечните вредности на MP4 + 2% Benzalkonium Chloride во однос на ChemFlex + 2% Benzalkonium Chloride и Fuji IX + 2% Benzalkonium Chloride. Според истиот тест, но за ниво на значајност од  $p < 0,01$  и  $p < 0,02$ , разликите се сигнификантни помеѓу Fuji IX + 2% Benzalkonium Chloride во однос на MP4 + 2% Benzalkonium Chloride и Fuji IX + 2% Benzalkonium Chloride.

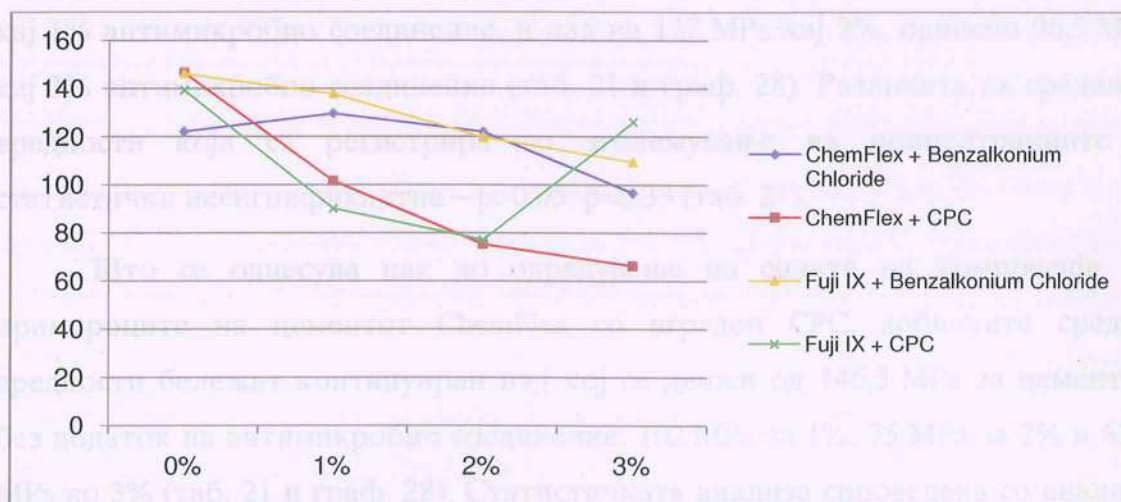
## 2. МЕХАНИЧКИ АНАЛИЗИ

### 2.1. ОДРЕДУВАЊЕ НА СИЛА НА КОМПРЕСИЈА

Табела 21. Приказ на просечните вредности и статистичка анализа при одредувањето на силата на компресија на ГЈЦ-и (вредностите се во МПа)

	ChemFlex+B.Chloride	ChemFlex + CPC	Fuji IX + B.Chloride	Fuji IX + CPC
	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)
0%	122,16(53,50)	146,52(8,66)	146,29(8,57)	139,33(29,62)
1%	129,64(8,77)	101,65(16,57)	137,78(5,33)	90,10(10,79)
2%	121,97(12,37)	75,35(13,61)	119,72(10,78)	77,10(16,21)
3%	96,56(16,33)	66,36(24,02)	109,51(7,48)	126,04(4,14)
p	0,326122	0,000004	0,000010	0,000119
Tukey HSD test		Сигнификантно (p<0,05) 0% : 1% 0% : 2% 0% : 3% 1% : 3%	Сигнификантно (p=0,000) 0% : 2% 0% : 3% 1% : 2% 1% : 3% 2% : 3%	Сигнификантно (p<0,05) 0% : 1% 0% : 2% 1% : 2% 2% : 3%

Графикон 28. Приказ на просечните вредности на силата на компресија на ГЈЦ-и инкорпорирани со антимицробни соединенија



Анализата на просечните вредности на силата на компресија кај примероците на ГЈЦ Fuji IX со додадено антимикубно соединение Benzalkonium Chloride покажува постепено намалување на вредностите од 146,3 МПа за 0% антимикубно соединение, па сè до 110 МПа за 3% (таб. 21 и граф. 28). Разликата која се регистрира со зголемување на концентрацијата на антимикубното соединение е статистички високосигнификантна за  $p < 0,05$  (таб. 21). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p = 0,000$  помеѓу просечните вредности 0% во однос на 2% и 3%, 1% во однос на 2% и 3%, како и 2% во однос на 3%.

Просечните вредности кои се регистрираат при компресија на примероците на истиот глас-јономер цемент, но со додаток на Cetylpyridinium Chloride, покажуваат пад од 139 МПа без вградено соединение, 90 МПа за 1% , 77 МПа за 2%, за повторно да забележат пораст до 126 МПа за 3% антимикубно соединение (таб. 21 и граф. 28). Разликите на средните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,05$  (таб. 21). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  помеѓу просечните вредности 0% во однос на 1% и 2%; 1% и 2% во однос на 3%.

Просечните вредности кои се регистрираат при одредување на силата на компресија кај ГЈЦ ChemFlex со додаток на Benzalkonium Chloride, покажуваат варијации во текот на испитувањето, со покачувања од 129 МПа кај 1% антимикубно соединение, и пад на 122 МПа кај 2%, односно 96,5 МПа кај 3% антимикубно соединение (таб. 21 и граф. 28). Разликата на средните вредности која се регистрира со зголемување на концентрациите е статистички несигнификантна –  $p > 0,05$ ,  $p = 0,33$  (таб. 21).

Што се однесува пак до одредување на силата на компресија на примероците на цементот ChemFlex со вграден СРС, добиените средни вредности бележат континуиран пад кој се движи од 146,5 МПа за цементот без додаток на антимикубно соединение, 102 МПа за 1%, 75 МПа за 2% и 63,4 МПа во 3% (таб. 21 и граф. 28). Статистичката анализа спроведена со анализа на варијансата покажува статистички високосигнификантни разлики за  $p < 0,05$

(таб. 21). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,05$  меѓу просечните вредности 0% во однос на 1%, 2% и 3% и 1% во однос на 3%.

Табела 22. Статистичка анализа на просечните вредности при одредување на силата на компресија меѓу испитуваните глас-јономер цементи и концентрациите на антимикробни соединенија

	ANOVA ( $p < 0,05$ )	Tukey HSD test ( $p < 0,05$ )
0%	0,580838	
1%	0,000010	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fuji IX + 1% и 2% Benzalkonium Chloride : Fuji IX + 1% и 2% CPC и ChemFlex + 1% и 2% CPC;</li> </ul>
2%	0,000019	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fuji IX + 1% и 2% CPC : ChemFlex + 1% и 2% Benzalkonium Chloride;</li> <li>• ChemFlex + 1% и 2% Benzalkonium Chloride : ChemFlex + 1% и 2% CPC;</li> </ul>
3%	0,000102	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fuji IX + 3% Benzalkonium Chloride : ChemFlex + 3% CPC;</li> <li>• Fuji IX + 3% CPC : ChemFlex + 3% Benzalkonium Chloride и ChemFlex + 3% CPC</li> <li>• ChemFlex + 3% Benzalkonium Chloride : ChemFlex + 3% CPC</li> </ul>

Просечните вредности при одредување на силата на компресија на ГЈЦ-и помеѓу ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + CPC, Fuji IX + Benzalkonium Chloride и Fuji IX + CPC за сите процентуелни концентрации се статистички сигнификантни за  $p < 0,05$ . Разликата на просечните вредности кај примероците на ГЈЦ без додаток на антимикробни соединенија се статистички несигнификантни (таб. 22). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p < 0,05$  помеѓу просечните вредности на 1% и 2% Fuji IX + Benzalkonium Chloride во однос на 1% и 2% Fuji IX + CPC и во однос на 1% и 2% ChemFlex + CPC; 1% и 2% Fuji IX + CPC во однос на 1% и 2% ChemFlex + Benzalkonium Chloride; 1% и 2% ChemFlex + Benzalkonium Chloride во однос на 1% и 2% ChemFlex + CPC. Според истата статистичка анализа, постои статистички сигнификантна разлика за  $p < 0,05$  и помеѓу просечните вредности на 3% Fuji IX + Benzalkonium Chloride во однос на 3% ChemFlex + CPC; 3% Fuji IX + CPC во однос на 3% ChemFlex + Benzalkonium Chloride и ChemFlex + CPC; 3% ChemFlex + Benzalkonium Chloride со 3% ChemFlex + CPC (таб. 22).

## 2.2. ОДРЕДУВАЊЕ НА ВРЕМЕ НА ВРЗУВАЊЕ

Табела 23. Време на врзување на ChemFlex без и со додаток на антимикробни соединенија

ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride		ChemFlex + Benzalkonium Chloride	
0%	5' 25"	0%	5'
1%	4' 30"	1%	5'
2%	4' 45"	2%	5' 10"
3%	3' 45"	3%	5' 10"

Табела 24. Време на врзување на Fuji IX без и со додаток на антимикробни компоненти

Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride		Fuji IX + Benzalkonium Chloride	
0%	4' 40"	0%	4' 30"
1%	4' 38"	1%	4' 40"
2%	4' 45"	2%	4' 30"
3%	4' 25"	3%	4' 30"

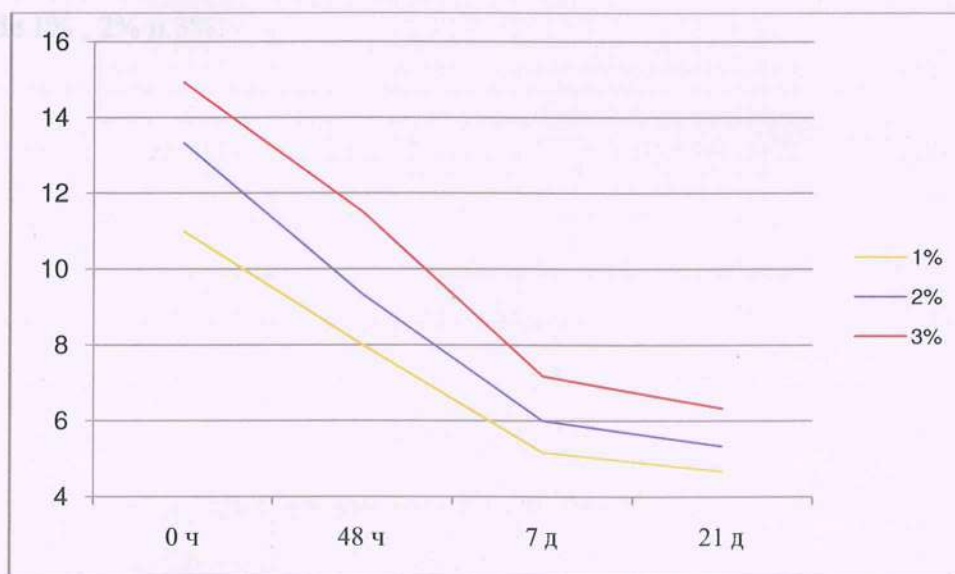
### 3. МИКРОБИОЛОШКИ АНАЛИЗИ

#### 3.1. ОДРЕДУВАЊЕ НА ЗОНИ НА ИНХИБИЦИЈА

Табела 25. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон Streptococcus mutans (добиените вредности се во мм)

ChemFlex + Benzalkonium Chloride					
<i>Streptococcus mutans</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,58(0,49)	0 ч.	11(0,9)	13,33(0,82)	14,92(0,81)	0,000000
	48 ч.	8(0,0)	9,33(0,52)	11,5(1,22)	0,000004
	7 д.	5,17(0,41)	6(1,1)	7,17(1,17)	0,008573
	21 д.	4,67(0,82)	5,33(1,63)	6,33(2,66)	0,323484
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05) 1% : 2% 1% : 3% 2% : 3% 0% : 1%, 2%, 3%			

Графикон 29. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон Streptococcus mutans – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време

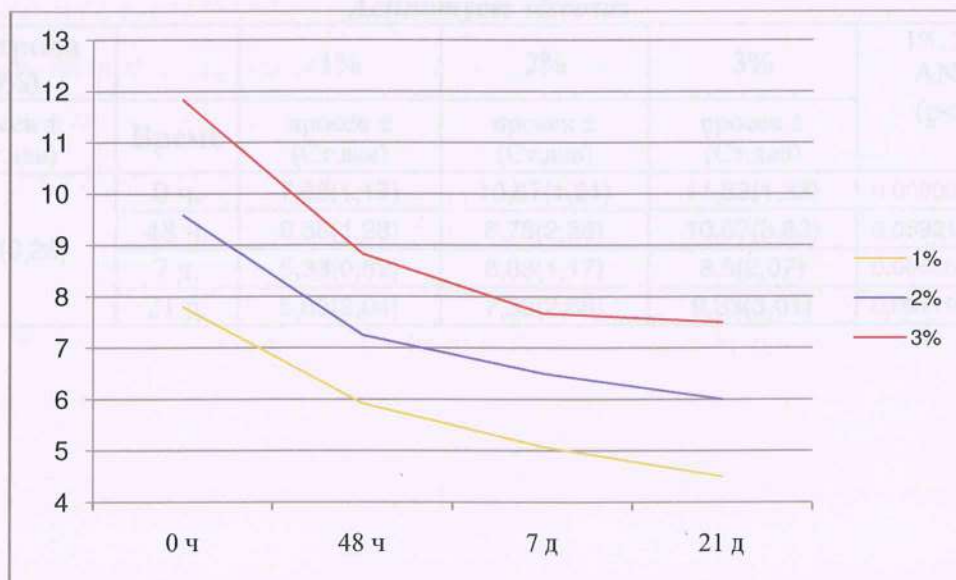


Од добиените резултати за просечната зона на инхибиција на глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со антимикуробното соединение 1% Benzalkonium Chloride кон кариогента бактерија *Streptococcus mutans*, се гледа постепено опаѓање на дијаметарот на зоната од 11,0 мм во нултиот час до 4,7 мм во 21. ден. Просечната зона на инхибиција кон истата бактерија кај 2% Benzalkonium Chloride во нултиот час изнесува 13,3 мм и постепено опаѓа во тек на временскиот период до 5,3 мм во 21. ден. Кај 3% вградено антимикуробно соединение просечната зона на инхибиција во нултиот час изнесува 15 мм и постепено опаѓа во тек на временскиот период до 6,3 мм во 21. ден. Кај примероците од контролната група, т.е. ChemFlex без вградено антимикуробно соединение, се регистрира просечна зона на инхибиција од 4,6 мм (таб. 25 и граф. 29). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на зоните на инхибиција во текот на испитуваниот период за  $p=0,00$  помеѓу процентуалните вредности во нултиот час, 48. час и седмиот ден (таб. 25). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  меѓу сите просечни вредности на зоните на инхибиција, т.е. помеѓу ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1% во однос на 2% и 3%; ChemFlex + Benzalkonium Chloride 2% во однос на 3%; како и контролата во однос на ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1% , 2% и 3%.

Табела 26. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон Lactobacillus casei (добиените вредности се во мм)

ChemFlex + Benzalkonium Chloride					
<i>Lactobacillus casei</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
5,0(1,1)	0 ч.	7,8(0,66)	9,58(1,28)	11,83(1,33)	0,000000
	48 ч.	5,92(0,49)	7,25(0,61)	8,83(0,98)	0,000020
	7 д.	5,08(0,92)	6,5(0,84)	7,67(0,82)	0,000421
	21 д.	4,5(0,55)	6(0,63)	7,5(0,55)	0,000001
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05) 1% : 2% 1% : 3% 2% : 3% Несигнификантно (p>0,05) 0% : 1%, 2%, 3%			

Графикон 30. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон Lactobacillus casei – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време



Просечната зона на инхибиција за бактеријата *Lactobacillus casei* кај примероците од ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1% во нултиот час изнесува 7,1 мм и постепено опаѓа со текот на временскиот период до 4,5 мм во 21. ден.

Просечната зона на инхибиција за 2% антимицробна компонента во нултиот час изнесува 9,6 мм со тенденција на постепено опаѓање во тек на временскиот период до 6 мм во 21. ден. Три проценти антимицробно соединение бележи просечна зона на инхибиција од 11,8 мм во нултиот час, за во 21. ден таа да изнесува 7,5 мм. Кај контролната група се регистрира зона на инхибиција од 5 мм (таб. 26 и граф. 30). Според анализата на варијансата, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција меѓу трите анализирани проценти во тек на сите испитувани периоди за  $p=0,00$  (таб. 26). Според Tukey HSD тестот, разликата на просечните вредности е статистички сигнификантна за  $p<0,05$  помеѓу ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1% во однос на 2% и во однос на 3%; како и ChemFlex + Benzalkonium Chloride 2% во однос на 3%. Разликата помеѓу контролата и останатите групи е статистички несигнификантна ( $p>0,05$ ).

Табела 27. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон Actinomyces viscosus (добиените вредности се во мм)

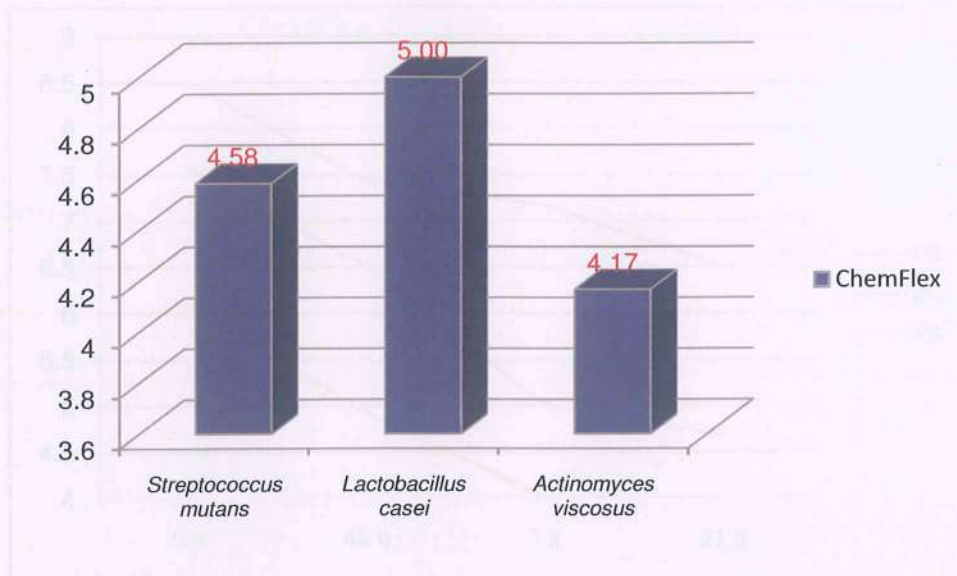
ChemFlex + Benzalkonium Chloride					
<i>Actinomyces viscosus</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p<0,05$ )
просек $\pm$ (Ст.дев)	Време	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
4,17(0,26)	0 ч.	7,83(1,17)	10,67(1,21)	11,83(1,33)	0,000000
	48 ч.	6,58(1,28)	8,75(2,36)	10,67(3,83)	0,059214
	7 д.	5,33(0,82)	6,83(1,17)	8,5(2,07)	0,006657
	21 д.	5,83(2,04)	7,33(2,66)	9,33(3,01)	0,097190

Графикон 31. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Actinomyces viscosus* – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време



Просечната зона на инхибиција кон бактеријата *Actinomyces viscosus* за 1% Benzalkonium Chloride во нултиот час изнесува 7,8 мм, постепено опаѓа во тек на временскиот период, за во 21. ден да изнесува 5,8 мм. Кај 2% антимикробно соединение вредностите на зоните на инхибиција изнесуваат 10,7 мм во нулто време до 7,3 мм во 21. ден, додека кај 3% антимикробна компонента, во нултиот час се регистрира зона од 11,8 мм а во 21. ден изнесува 9,3 мм. Контролата регистрира зона на инхибиција од 4,2 мм (таб. 27 и граф. 31). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција во текот на испитуваниот период за  $p=0,00$  помеѓу процентуалните вредности во нултиот час, и во седмиот ден (таб. 27).

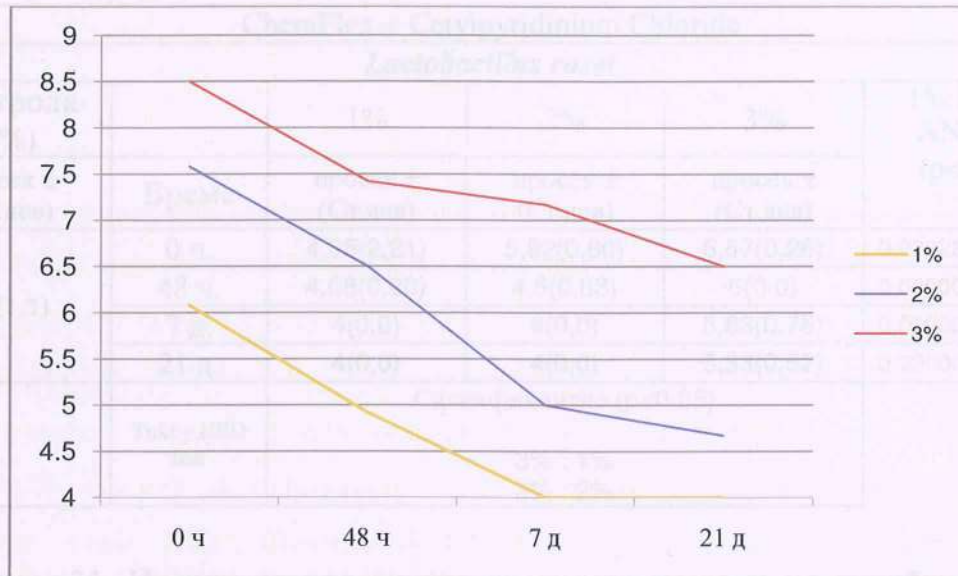
Графикон 32. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон анализираните бактерии за ГЈЦ ChemFlex без додаток на антимицробни соединенија



Табела 28. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride, кон Streptococcus mutans (добиените вредности се во мм)

ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Streptococcus mutans</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,58(0,49)	0 ч.	6,08(0,92)	7,58(1,02)	8,5(0,77)	0,000000
	48 ч.	4,92(0,80)	6,5(0,89)	7,42(0,80)	0,000395
	7 д.	4(0,0)	5(0,89)	7,17(1,60)	0,000370
	21 д.	4(0,0)	4,67(0,82)	6,5(0,84)	0,000034
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05)			
		1% : 2%			
		1% : 3%			
		0% : 1%, 2%, 3%			

Графикон 33. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Streptococcus mutans* – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride во тек на време

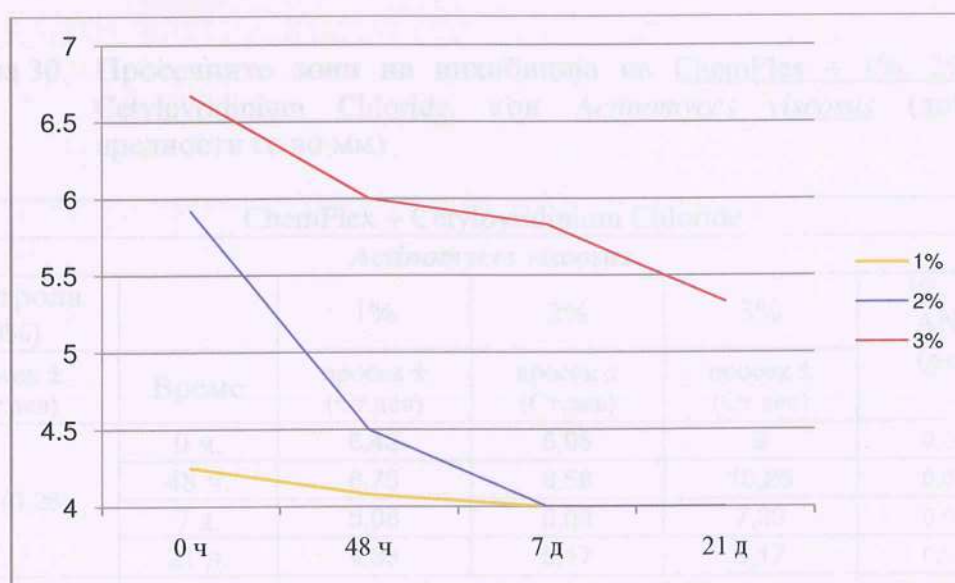


Вредностите на просечните зони на инхибиција кон бактеријата *Streptococcus mutans* за глас-јономер цементот ChemFlex инкорпориран со 1% Cetylpyridinium Chloride изнесуваат: во нултиот час зоната на инхибиција изнесува 6,1 мм, во 48. час – 4,92 мм, а во седмиот и 21. ден не се формира зона на инхибиција, односно вредноста е 4 мм, колку што де факто е и дијаметарот на примероците. Просечната зона на инхибиција кон истата бактерија, но кај 2% CPC во нултиот час изнесува 7,6 мм, постепено опаѓа во тек на време до 4,7 мм – 21. ден. Кај 3% антимикуробна компонента, зоната на инхибиција од 8,5 мм во нулто време постепено опаѓа до 6,5 мм во 21. ден. Кај контролната група се регистрира зона на инхибиција од 4,6 мм (таб. 28 и граф. 33). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција во текот на сите испитувани периоди за  $p=0,00$  помеѓу концентрациите (таб. 28). Според Tukey HSD тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на инхибиција кај ChemFlex + 1% CPC во однос на 2% и во однос на 3%, како и контролата во однос на ChemFlex + 1%, 2% и 3% CPC .

Табела 29. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride, кон Lactobacillus casei (добиените вредности се во мм)

ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Lactobacillus casei</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
5,0(1,1)	0 ч.	4,25(2,21)	5,92(0,80)	6,67(0,26)	0,023282
	48 ч.	4,08(0,20)	4,5(0,63)	6(0,0)	0,000001
	7 д.	4(0,0)	4(0,0)	5,83(0,75)	0,000002
	21 д.	4(0,0)	4(0,0)	5,33(0,52)	0,000001
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05)			
			3% : 1% 3% : 2%		

Графикон 34. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон Lactobacillus casei – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride во тек на време

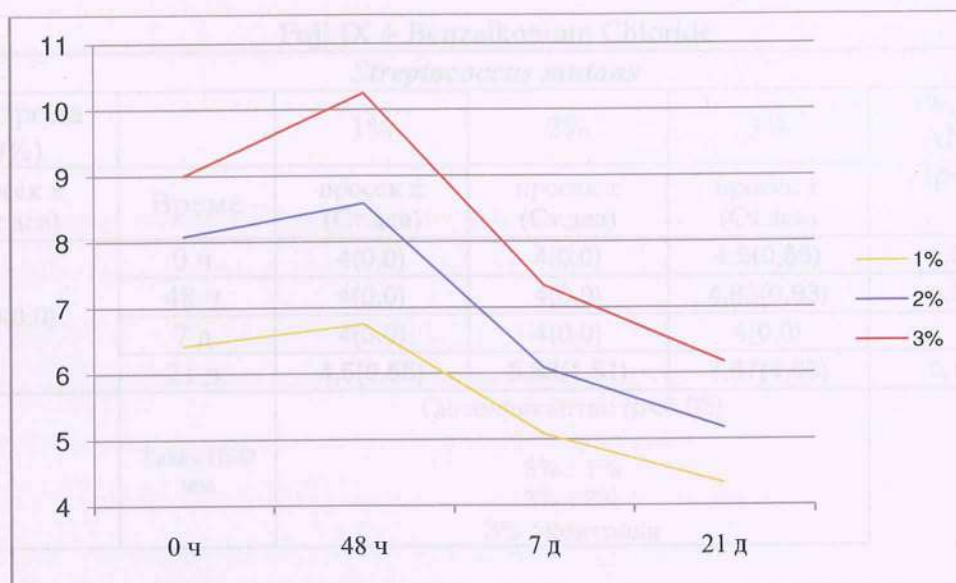


Просечната зона на инхибиција кон бактеријата *Lactobacillus casei* за глас-јономер цементот ChemFlex со додаток на 2% CPC во нултиот час изнесува 4,2 мм. Во 48. час просечната зона на инхибиција е многу мала и изнесува само 0,1 мм повеќе од дијаметарот на примероците. Во 7. и во 21. ден воопшто не постојат зони на инхибиција. Кај 2% антимикуробна компонента постојат само две зони на инхибиција – во нулти час – 5,9 мм и во 48. час 4,5 мм. Три проценти антимикуробна компонента дава поголеми зони на инхибиција кои се движат од 6,7 мм во нулто време до 5,3 мм во 21. ден. Контролата создава просечна зона на инхибиција од 5 мм (таб. 29 и граф. 34). Анализата на варијансата покажува статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција во текот на испитуваниот период за  $p=0,00$  помеѓу испитуваните концентрации во одредените временски периоди (таб. 29). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика за  $p<0,05$  само помеѓу просечните вредности на инхибиција кај ChemFlex + 1%, во однос на 2% и во однос на 3% CPC.

Табела 30. Просечните зони на инхибиција на ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride, кон *Actinomyces viscosus* (добиените вредности се во мм)

ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Actinomyces viscosus</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p<0,05$ )
просек $\pm$ (Ст.дев)	Време	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
4,17(0,26)	0 ч.	6,42	8,08	9	0,000002
	48 ч.	6,75	8,58	10,25	0,078337
	7 д.	5,08	6,08	7,33	0,001950
	21 д.	4,33	5,17	6,17	0,013363
	Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p<0,05$ )			
		1% : 3%			

Графикон 35. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Actinomyces viscosus* – ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride во тек на време

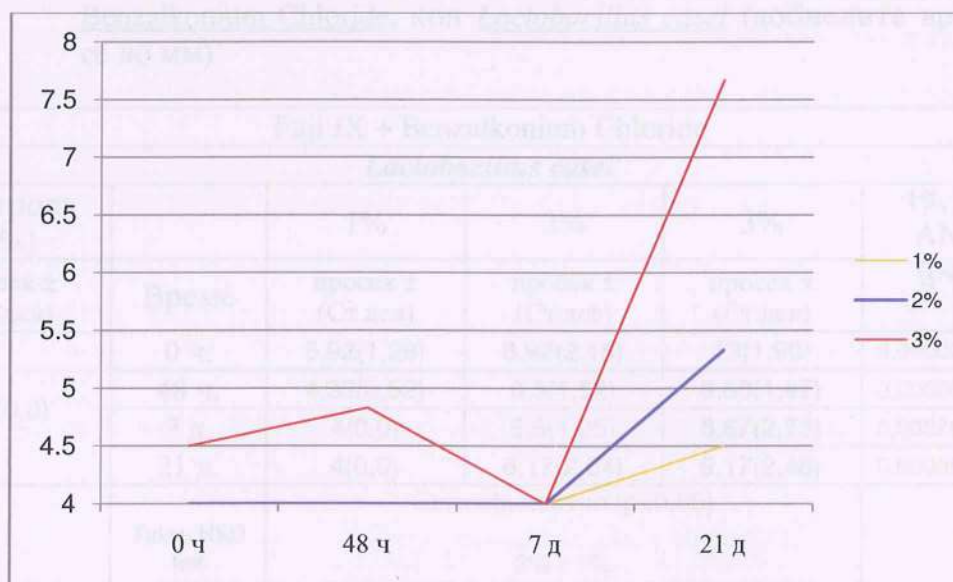


Просечната зона на инхибиција кон *Actinomyces viscosus* предизвикана од ГЈЦ ChemFlex со додаток на 1% CPC прави зона на инхибиција од 6,4 мм на почетокот од анализите и постепено опаѓа со текот на временскиот период до 4,3 мм 21. ден. Два проценти инкорпорирано антимикуробно соединение предизвикува зони на инхибиција од 8,1 мм во нулто време до 5,2 мм во 21. ден. Просечните зони на инхибиција кај 3% CPC се поголеми во однос на 2% за еден милиметар во просек. Контролната група регистрира зона на инхибиција од 4,2 мм (таб. 30 и граф. 35). Анализата на варијансата покажува постоење на статистички сигнификантни разлики помеѓу просечните вредности на зоните на инхибиција меѓу концентрациите во текот на испитуваните периоди – нултиот час, седмиот и 21. ден за  $p=0,00$  (таб. 30). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на инхибиција помеѓу ChemFlex + 1% CPC во однос на 3%.

Табела 31. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон Streptococcus mutans (добиените вредности се во мм)

Fuji IX + Benzalkonium Chloride					
<i>Streptococcus mutans</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,0(0,0)	0 ч.	4(0,0)	4(0,0)	4,5(0,55)	0,009510
	48 ч.	4(0,0)	4(0,0)	4,83(0,93)	0,024358
	7 д.	4(0,0)	4(0,0)	4(0,0)	
	21 д.	4,5(0,55)	5,33(1,51)	7,67(4,03)	0,109282
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05)			
		3% : 1% 3% : 2% 3% : контрола			

Графикон 36. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон Streptococcus mutans – Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време

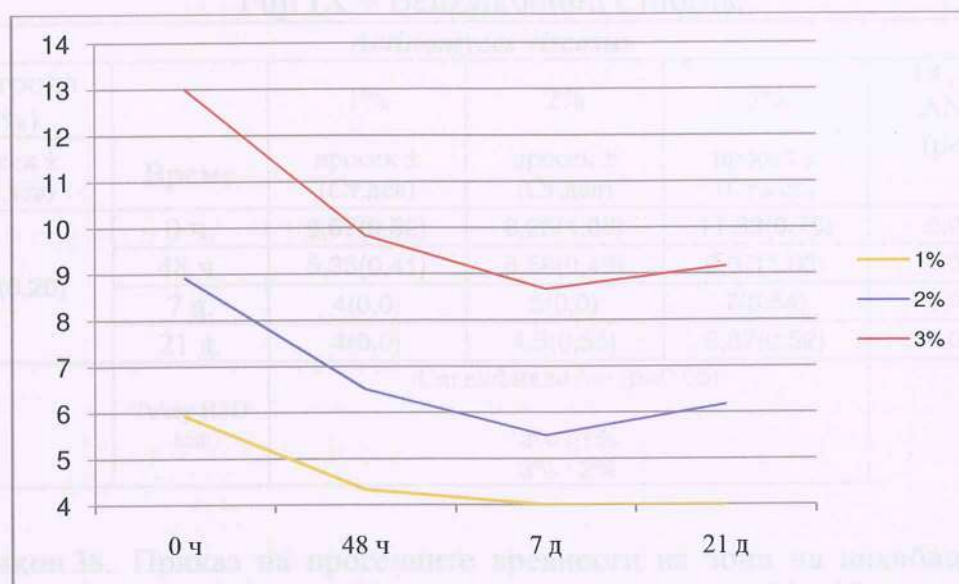


Инкорпорирањето на 1% Benzalkonium Chloride во ГЈЦ Fuji IX во нулто време, по 48 часа и по седум дена не покажува постоење на зони на инхибиција, т.е. вредноста изнесува 4 мм (дијаметар на самите примероци). Единствено 21. ден постои мала зона на инхибиција – 4,5 мм. Исти резултати се добиени кај анализа на просечните вредности кај 2% вградено соединение, со таа разлика што во 21. ден зоната на инхибиција е 5,3 мм. Веќе кај 3% CPC постојат зони на инхибиција кои се движат од 4,5 мм во нултото време за да достигнат вредност од 7,7 мм во 21. ден. Контролните примероци не произведуваат зони на инхибиција, т.е. вредноста е 4 мм (таб. 31 и граф. 36). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу концентрациите во текот на испитуваните периоди 0. час и 48. час за  $p=0,00$  (таб. 31). Според Tukey HSD тестот, разликите се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на зоните меѓу Fuji IX + 3% Benzalkonium Chloride во однос на контролата, 1% и 2%.

Табела 32. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон Lactobacillus casei (добиените вредности се во мм)

Fuji IX + Benzalkonium Chloride					
<i>Lactobacillus casei</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p<0,05$ )
просек $\pm$ (Ст.дев)	Време	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
4,0(0,0)	0 ч.	5,92(1,28)	8,92(2,15)	13(1,90)	0,000000
	48 ч.	4,33(0,52)	6,5(1,52)	9,83(1,47)	0,000007
	7 д.	4(0,0)	5,5(1,05)	8,67(2,73)	0,000794
	21 д.	4(0,0)	6,17(2,04)	9,17(2,48)	0,000859
	Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p<0,05$ )			
			3% : 1% 3% : 2%		

Графикон 37. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Lactobacillus casei* – Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време

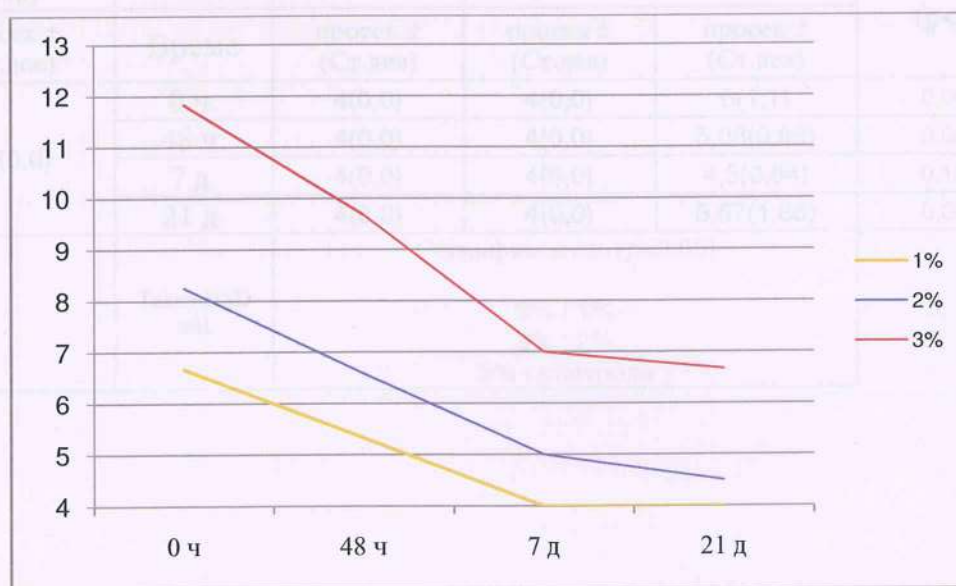


Просечните зони на инхибиција кон *Lactobacillus casei* за комбинацијата Fuji IX + 1% Benzalkonium Chloride во нултиот час бележат зона на инхибиција од 5,9 мм преку 4,3 мм во 48. час со нагло опаѓање во текот на временскиот период – без инхибиција во 7. и 21. ден. Просечната зона на инхибиција кај истата бактерија за 2% Benzalkonium Chloride во нултиот час изнесува 8,9 мм со опаѓање во текот на временскиот период до 6,2 мм во 21. ден. Три проценти антимикуробна компонента дава најголеми зони на инхибиција во сите временски периоди. Глас-јономер цементот Fuji IX не дава зони на инхибиција (таб. 32 и граф. 37). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција во текот на испитуваните периоди меѓу сите концентрации за  $p=0,00$  (таб. 32). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на зоните на инхибиција помеѓу Fuji IX + 3% Benzalkonium Chloride во однос на 1% и во однос на 2%.

Табела 33. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride, кон *Actinomyces viscosus* (добиените вредности се во мм)

Fuji IX + Benzalkonium Chloride					
<i>Actinomyces viscosus</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,08(0,20)	0 ч.	6,67(0,52)	8,25(1,08)	11,83(0,75)	0,000000
	48 ч.	5,33(0,41)	6,58(0,49)	9,67(1,03)	0,000000
	7 д.	4(0,0)	5(0,0)	7(0,84)	0,000000
	21 д.	4(0,0)	4,5(0,55)	6,67(0,52)	0,000000
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05)			
			3% : 1%		
			3% : 2%		

Графикон 38. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Actinomyces viscosus* – Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride во тек на време



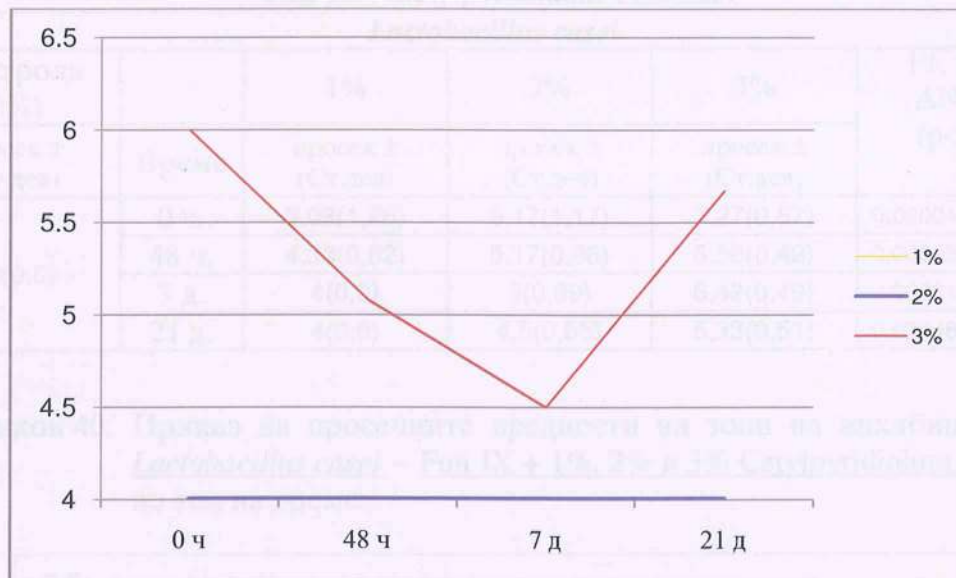
Антимикробното соединение Benzalkonium Chloride вградено во ГЈЦ Fuji IX дејствува инхибиторно врз бактеријата *Actinomyces viscosus* само во првите два испитувани периоди и тоа зона на инхибиција од 6,7 мм за нулто време и 5,33 по 48 часа. Два проценти од антимикробното соединение дејствува инхибиторно врз истата бактерија со просечни зони на инхибиција од 8,2 мм

во нулто време, со постепено опаѓање до 4,5 мм во 21. ден. Веќе 3% од соединението бележи релативно големи зони на инхибиција, кои се движат од 11,8 мм до 6,7 мм. Контролната група дава многу мала зона на инхибиција од само 0,1 мм (таб. 33 и граф. 38). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу сите концентрации во испитуваните временски периоди за  $p=0,00$  (таб. 33). Според Tukey HSD тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција помеѓу Fuji IX + 3% Benzalkonium Chloride во однос на 1% и 2% за  $p<0,05$ .

Табела 34. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride, кон Streptococcus mutans (добиените вредности се во мм)

Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Streptococcus mutans</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA ( $p<0,05$ )
просек $\pm$ (Ст.дев)	Време	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	просек $\pm$ (Ст.дев)	
4,0(0,0)	0 ч.	4(0,0)	4(0,0)	6(1,1)	0,000003
	48 ч.	4(0,0)	4(0,0)	5,08(0,66)	0,000194
	7 д.	4(0,0)	4(0,0)	4,5(0,84)	0,151851
	21 д.	4(0,0)	4(0,0)	5,67(1,86)	0,024358
	Tukey HSD test	Сигнификантно ( $p<0,05$ )			
		3% : 1% 3% : 2% 3% : контрола			

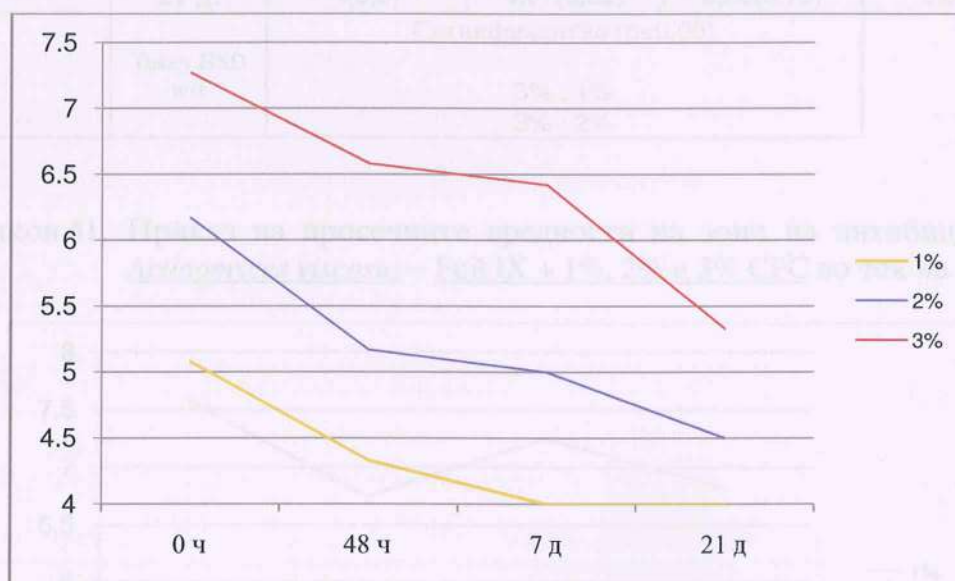
Графикон 39. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Streptococcus mutans* – Fuji IX + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride во тек на време



Додавањето на антимикуробното соединение Cetylpyridinium Chloride во ГЈЦ Fuji IX кон кариогената бактерија *Streptococcus mutans* не предизвикува нејзина инхибиција, т.е. зоните се со дијаметарот на самите примероци – 4 мм. Сепак три проценти од соединението предизвикуваат инхибирање на бактеријата со просечни зони на инхибиција кои се движат од 6 мм во нултиот час до 5,7 мм во 21. ден. Fuji IX не дејствува врз бактеријата *Streptococcus mutans* (таб 32. и граф. 39). Анализата на варијансата спроведена меѓу трите анализирани проценти во одреден временски интервал, укажува на постоење на сигнификантни разлики за  $p=0,05$  во сите периоди, освен во седмиот ден (таб. 34). Според Tukey HSD тестот, постои статистичка значајност за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на инхибиција кај Fuji IX + 3% CPC во однос на контролата, 1% и 2%.

Табела 35. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% CPC, кон *Lactobacillus casei* (добиените вредности се во мм)

Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Lactobacillus casei</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,0(0,0)	0 ч.	5,08(1,28)	6,17(1,17)	7,27(0,67)	0,000044
	48 ч.	4,33(0,82)	5,17(0,98)	6,58(0,49)	0,000658
	7 д.	4(0,0)	5(0,89)	6,42(0,49)	0,000015
	21 д.	4(0,0)	4,5(0,55)	5,33(0,51)	0,070489

Графикон 40. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Lactobacillus casei* – Fuji IX + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride во тек на време

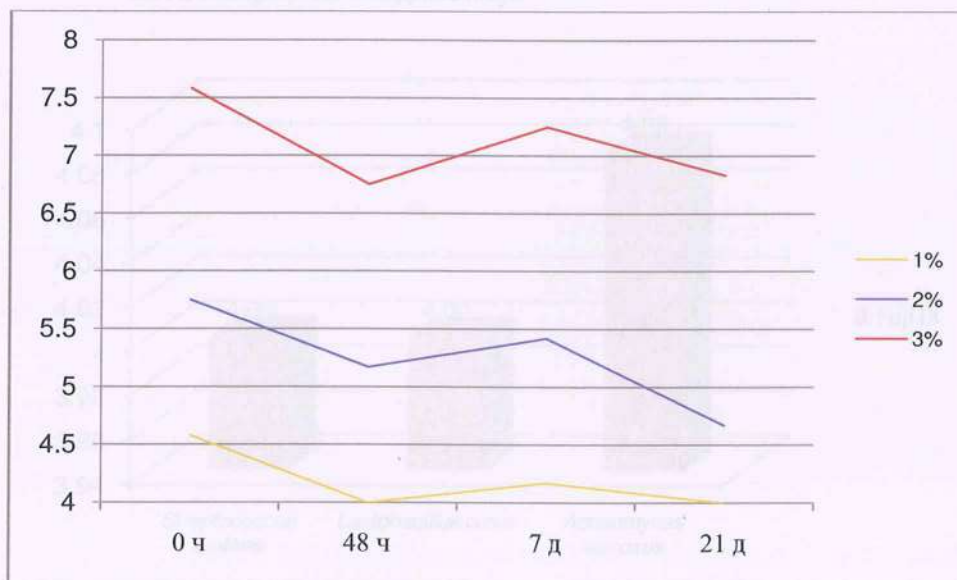
Резултатите од анализата на просечните зони на инхибиција на 1% од антимикуробното соединение кон бактеријата *Lactobacillus casei* укажуваат постоење на зони на инхибиција само во првите два мерени интервала (5,08 мм и 4,33 мм). Меѓутоа, просечната инхибиција кон истата бактерија за 2% антимикуробно соединение се движи од 6,2 мм во нулто време, со константно опаѓање во текот на целиот временскиот период, до 4,5 мм во 21. ден. И во овој случај зоните на инхибиција за 3% CPC се најголеми и се движат од 7,3 мм до 5,3 мм. Контролната група не пројавува инхибиторни ефекти кон

бактеријата *Lactobacillus casei* (таб. 35 и граф. 40). Анализата на варијансата укажува на тоа дека само во последниот мерен период не постои статистички значајна разлика на средните вредности.

Табела 36. Просечните зони на инхибиција на Fuji IX + 1%, 2% и 3% CPC, кон *Actinomyces viscosus* (добиените вредности се во мм)

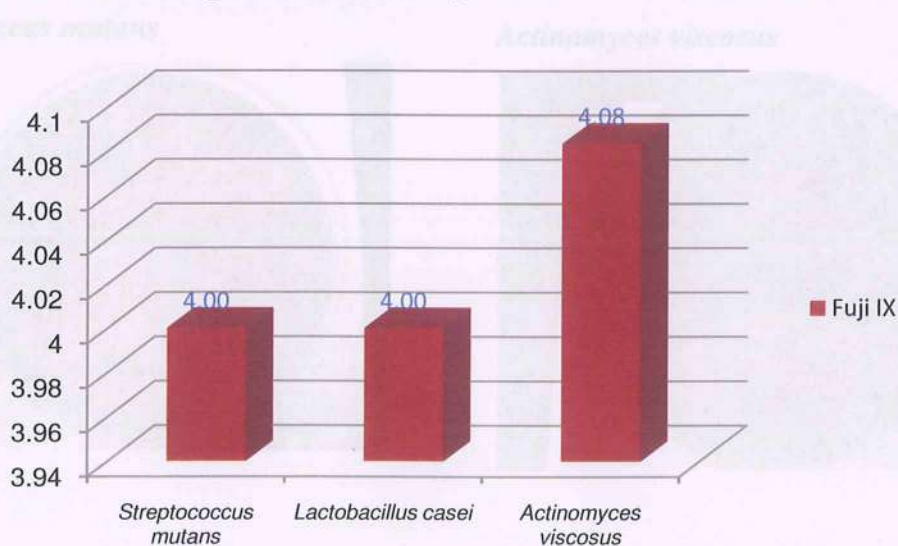
Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride					
<i>Actinomyces viscosus</i>					
Контрола (0%)		1%	2%	3%	1%, 2%, 3% ANOVA (p<0,05)
просек ± (Ст.дев)	Време	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	просек ± (Ст.дев)	
4,08(0,20)	0 ч.	4,58(0,66)	5,75(0,61)	7,58(0,49)	0,000000
	48 ч.	4(0,0)	5,17(0,75)	6,75(0,42)	0,000000
	7 д.	4,17(0,41)	5,42(1,02)	7,25(0,17)	0,000150
	21 д.	4(0,0)	4,67(0,82)	6,83(0,75)	0,000004
	Tukey HSD test	Сигнификантно (p<0,05)			
			3% : 1% 3% : 2%		

Графикон 41. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон *Actinomyces viscosus* – Fuji IX + 1%, 2% и 3% CPC во тек на време



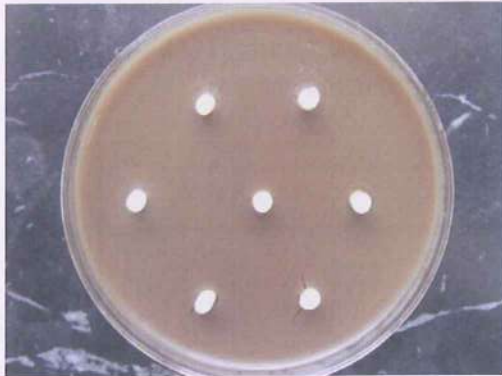
Комбинацијата на ГЈЦ Fuji IX со антимикуробното соединение CPC во концентрација од 1% дава интересни резултати. Имено, во нултиот час се регистрира зона на инхибиција од 4,6 мм која веќе во 48. час ја нема (4 мм), за потоа повторно да се појави во седмиот ден и да изнесува 4,17 мм и повторно да ја нема на крајот од анализите. Веќе кај 2% антимикуробна компонента постои поизразена зона на инхибиција чиито просечни вредности се движат од 5,7 мм до 4,7 мм. Речиси идентично движење на кривата постои кај 3% CPC, меѓутоа со повисоки вредности. Многу слабо изразена просечна зона на инхибиција се забележува кај контролата и таа изнесува 4,1 мм (таб. 36 и граф. 41). Според АНОВА тестот, постои статистички сигнификантна разлика помеѓу просечните вредности на инхибиција во текот на испитуваниот период за  $p=0,00$  помеѓу сите групи, т.е. концентрации (таб. 36). Според Tukey HSD тестот, разликите се статистички сигнификантни за  $p<0,05$  помеѓу просечните вредности на инхибиција за Fuji IX + 3% CPC во однос на 1% и во однос на 2%.

Графикон 42. Приказ на просечните вредности на зони на инхибиција кон анализираниите бактерии за Fuji IX без додаток на антимикуробни соединенија



Слика 1. Петриеве плочи со зони на инхибиција кон испитуваните кариогени микроорганизми

*Actinomyces viscosus*



*Lactobacillus casei*



*Streptococcus mutans*



*Lactobacillus casei*



*Streptococcus mutans*

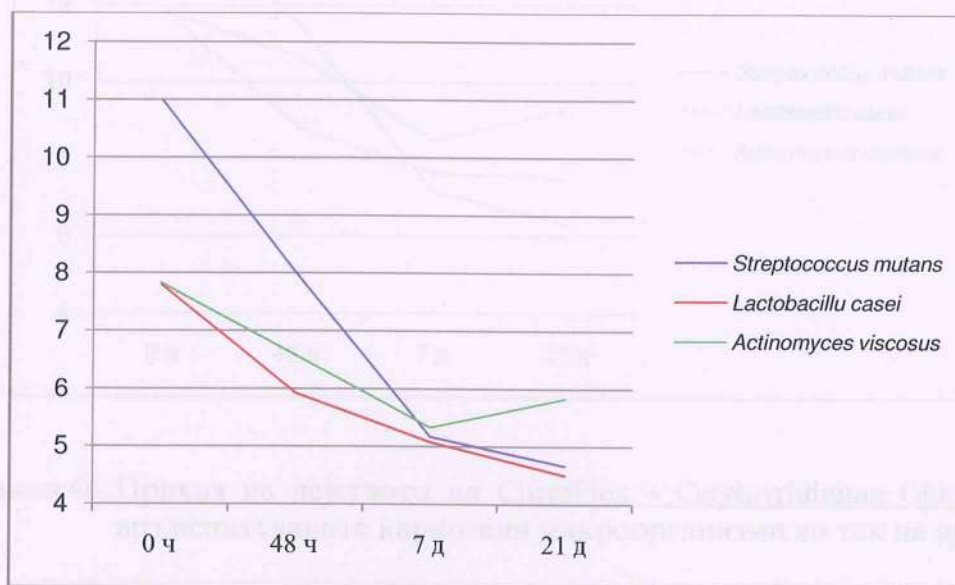


*Actinomyces viscosus*

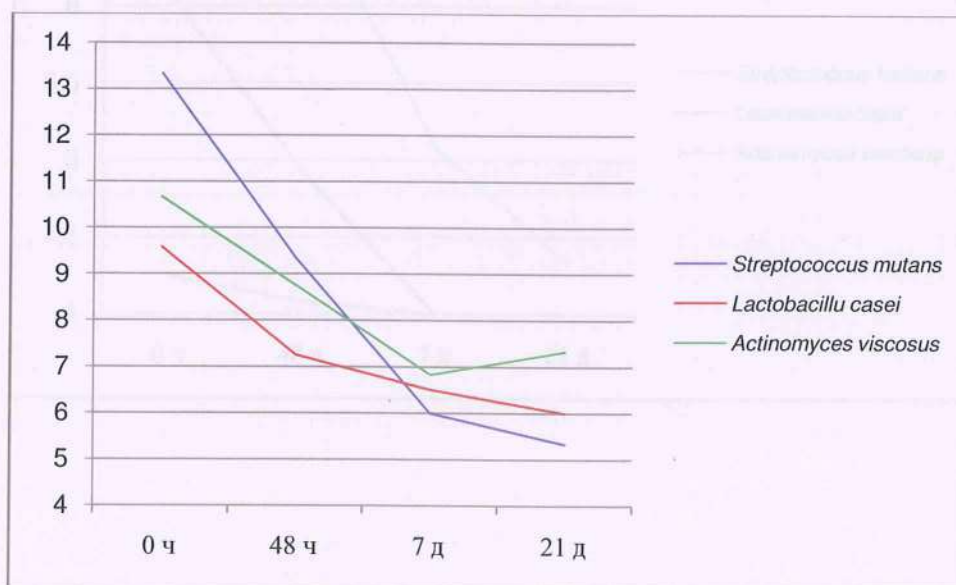


### 3.2. ГРАФИЧКИ ПРИКАЗИ НА ДЕЈСТВОТО НА КОМБИНАЦИИТЕ ОД ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТИ СО АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА ВРЗ ИСПИТУВАНИТЕ КАРИОГЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ

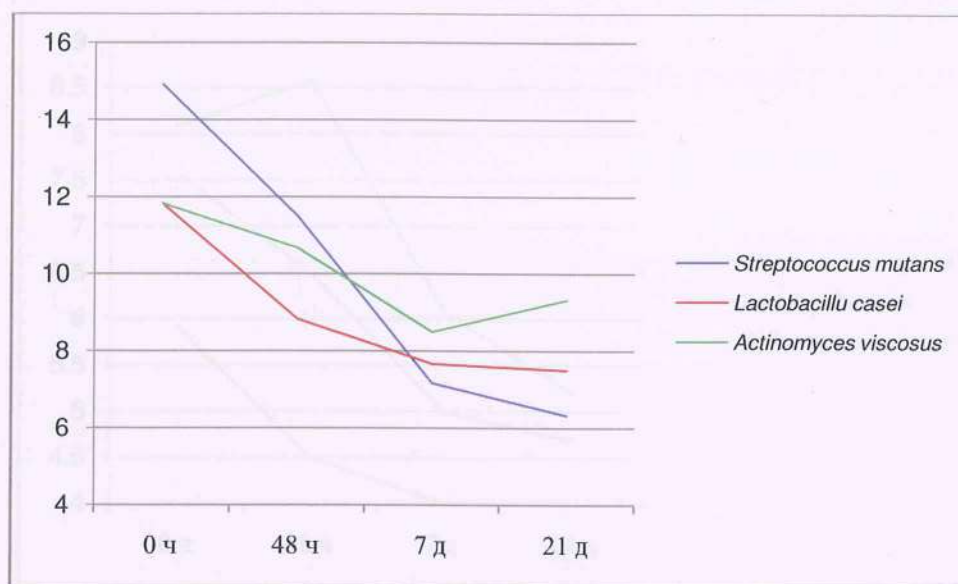
Графикон 43. Приказ на дејството на ChemFlex + Benzalkonium Chloride 1% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



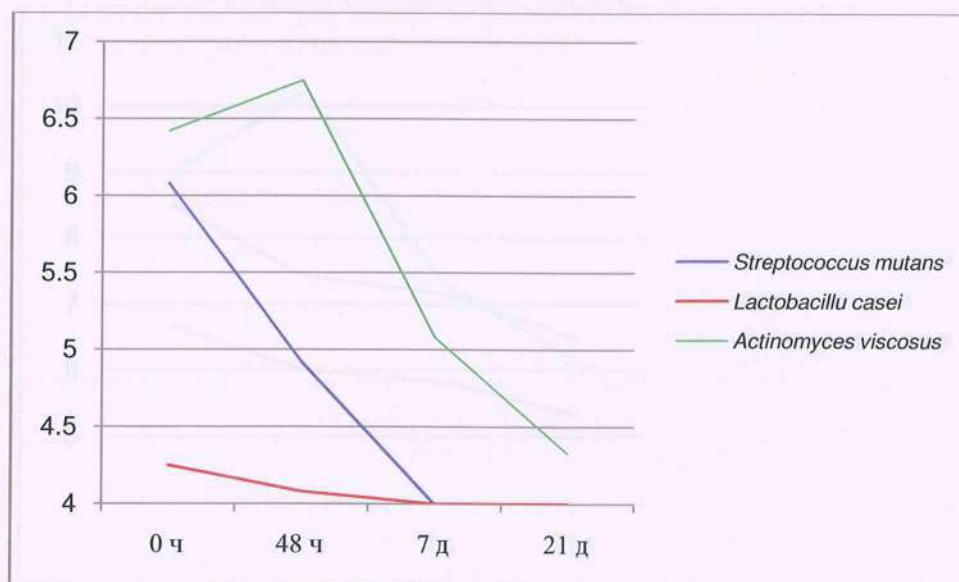
Графикон 44. Приказ на дејството на ChemFlex + Benzalkonium Chloride 2% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



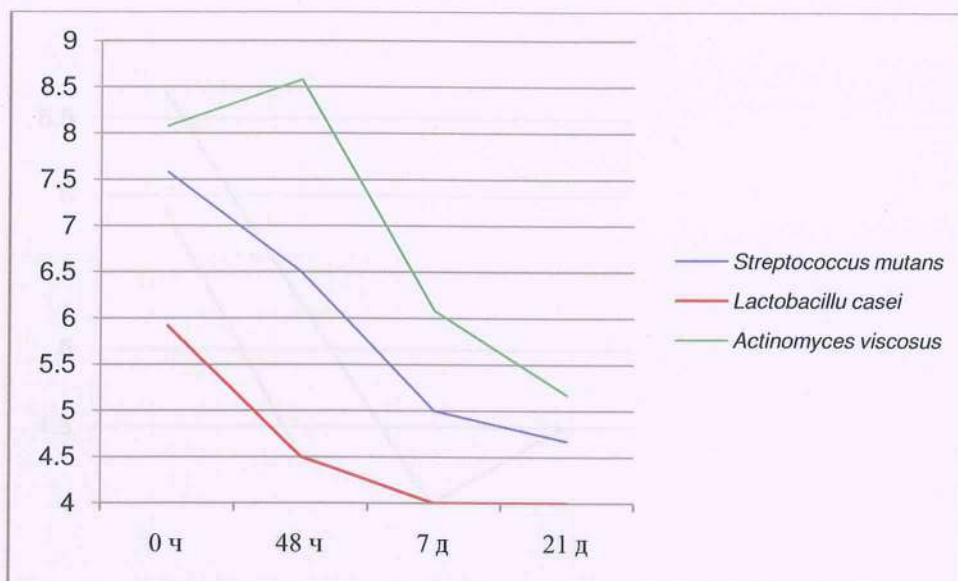
Графикон 45. Приказ на дејството на ChemFlex + Benzalkonium Chloride 3% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



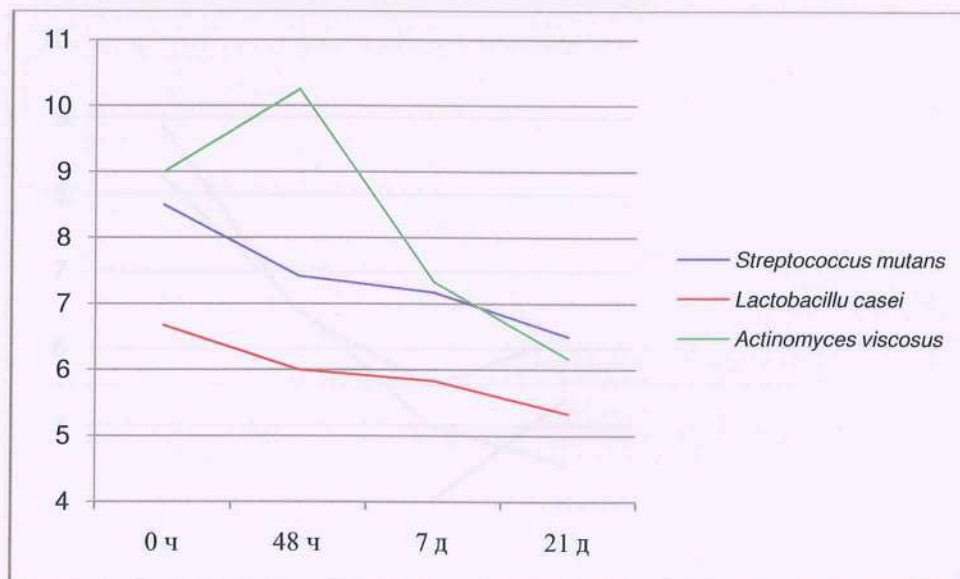
Графикон 46. Приказ на дејството на ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride 1% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



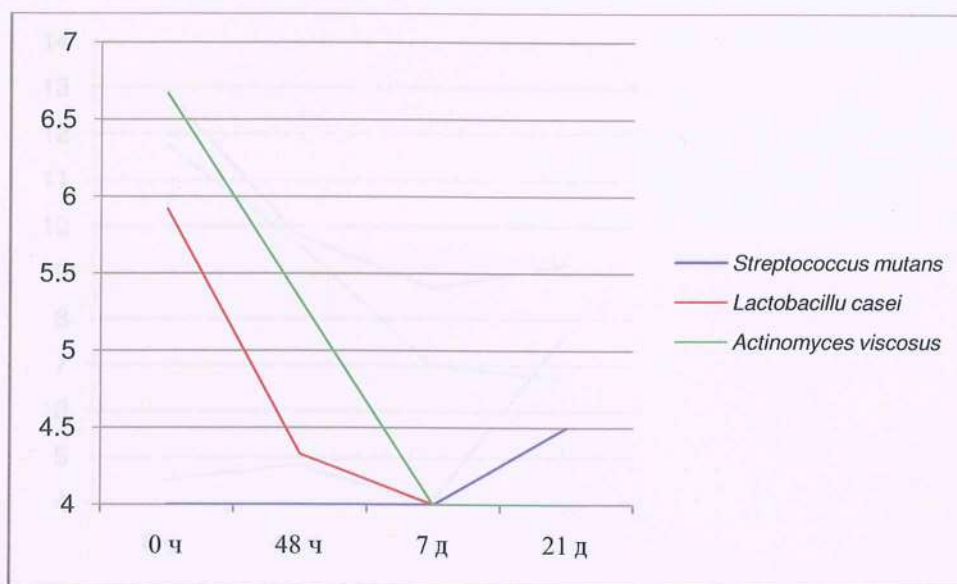
Графикон 47. Приказ на дејството на ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride 2% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



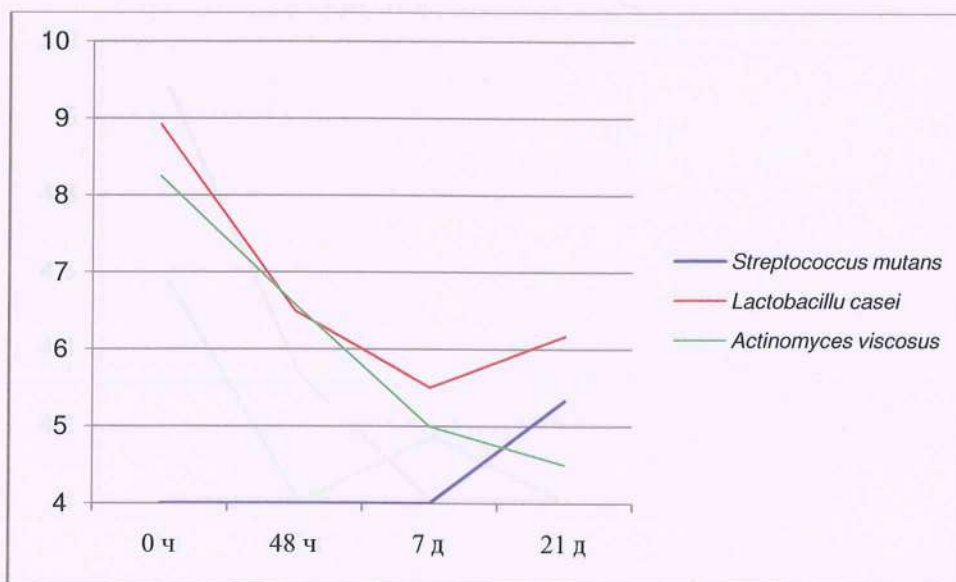
Графикон 48. Приказ на дејството на ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride 3% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



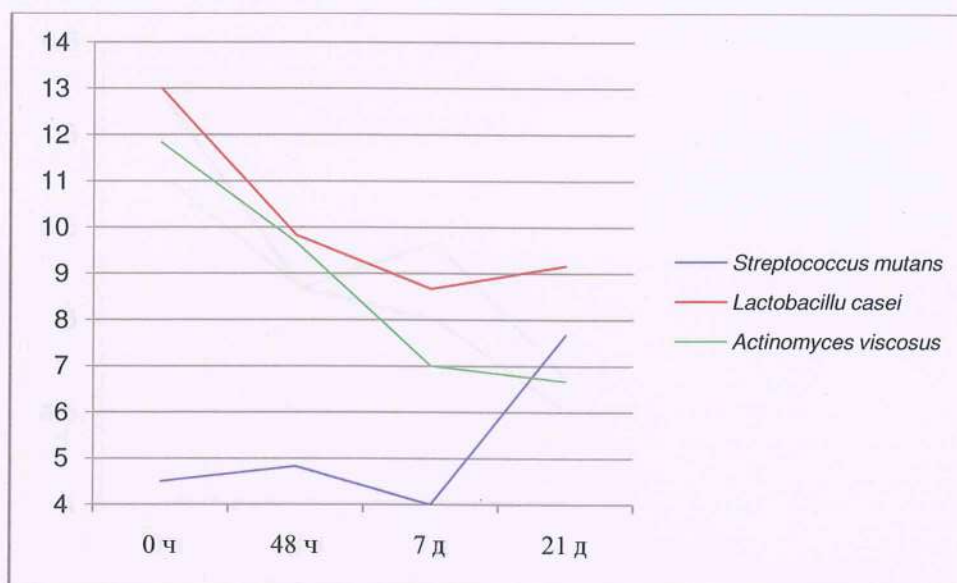
Графикон 49. Приказ на дејството на Fuji IX + Benzalkonium Chloride 1% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



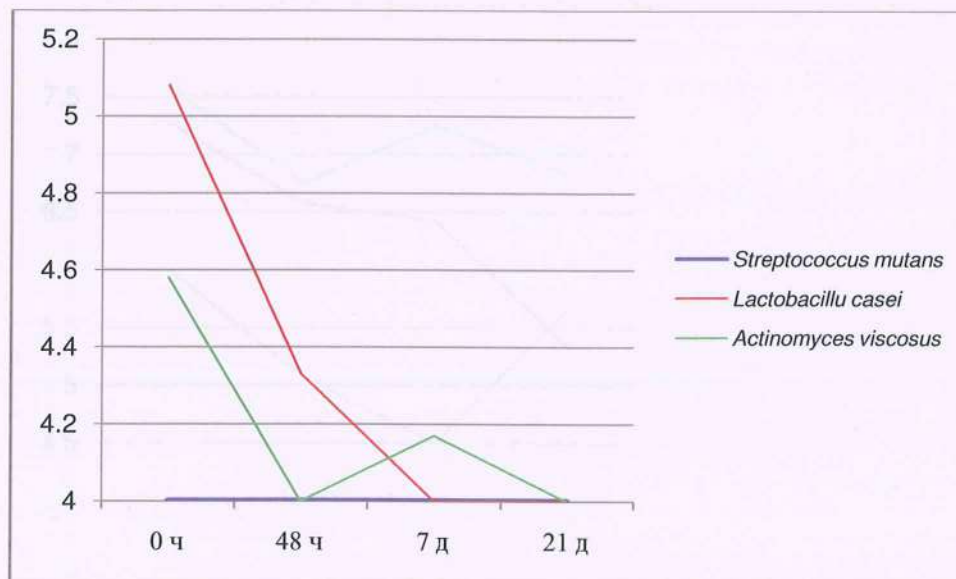
Графикон 50. Приказ на дејството на Fuji IX + Benzalkonium Chloride 2% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



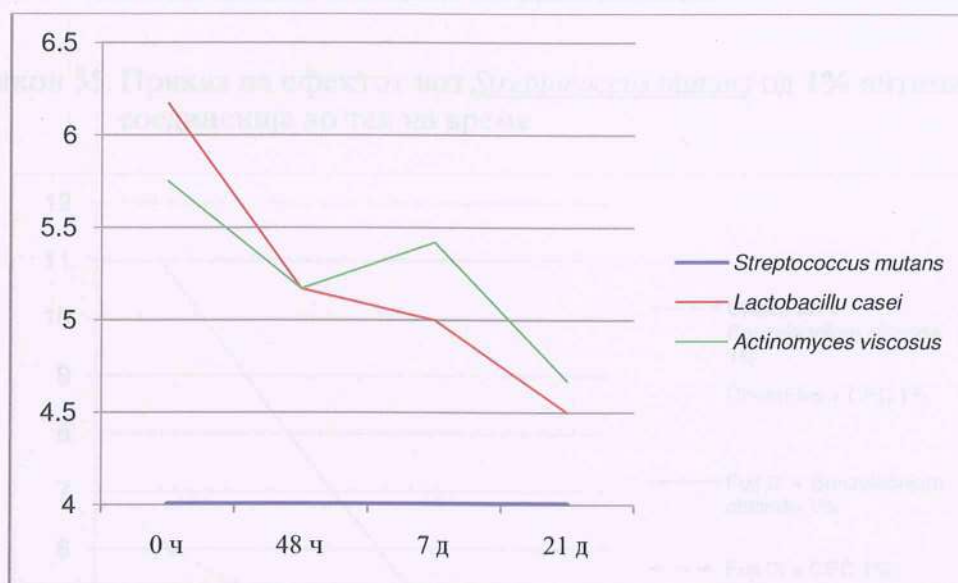
Графикон 51. Приказ на дејството на Fuji IX + Benzalkonium Chloride 3% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



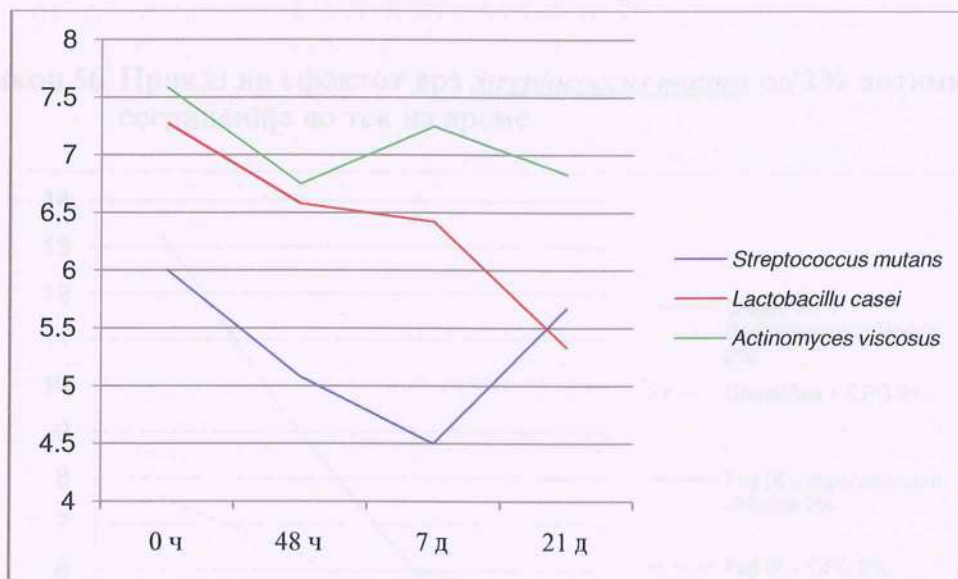
Графикон 52. Приказ на дејството на Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride 1% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време



Графикон 53. Приказ на дејството на Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride 2% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време

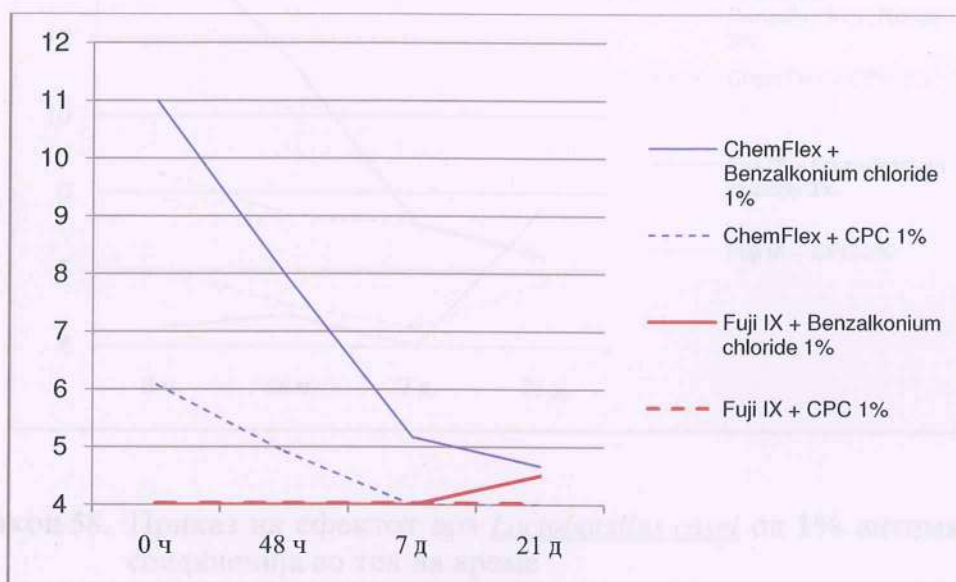


Графикон 54. Приказ на дејството на Fuji IX + Cetylpyridinium Chloride 3% врз испитуваните кариогени микроорганизми во тек на време

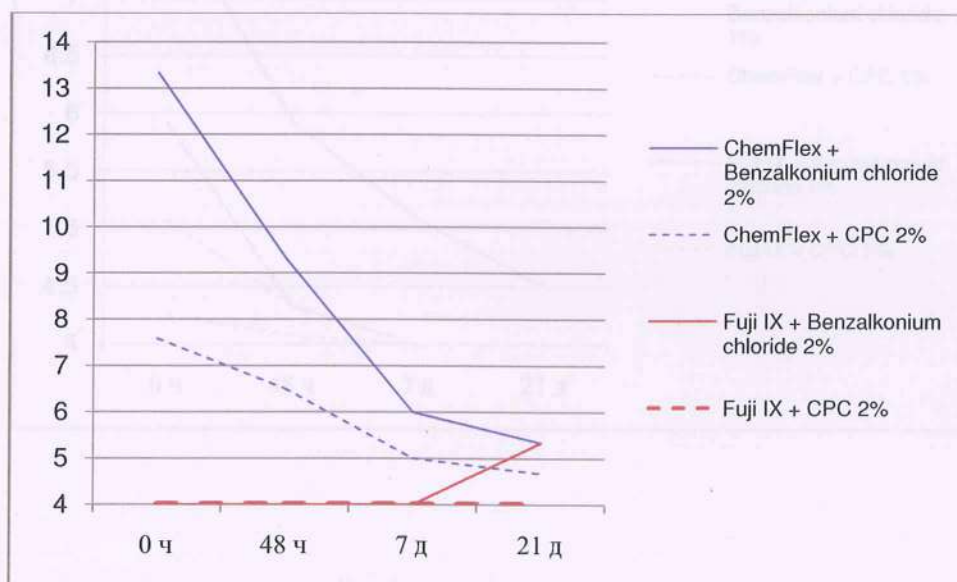


### 3.3. ГРАФИЧКИ ПРИКАЗИ НА ЕФЕКТИТЕ ВРЗ ИСПИТУВАНИТЕ БАКТЕРИИ ВО ЗАВИСНОСТ ОД КОНЦЕНТРАЦИИТЕ НА АНТИМИКРОБНИТЕ СОЕДИНЕНИЈА

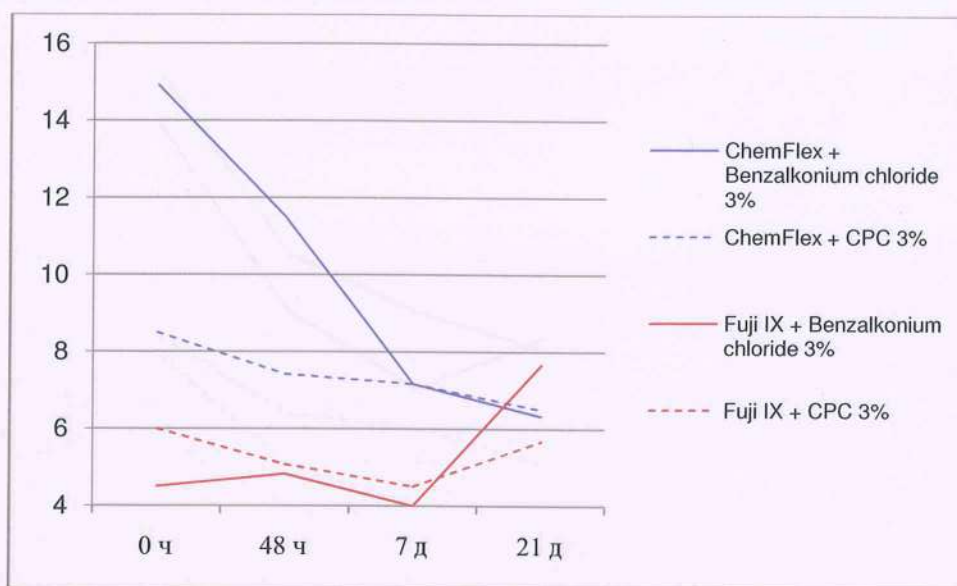
Графикон 55. Приказ на ефектот врз *Streptococcus mutans* од 1% антимикробни соединенија во тек на време



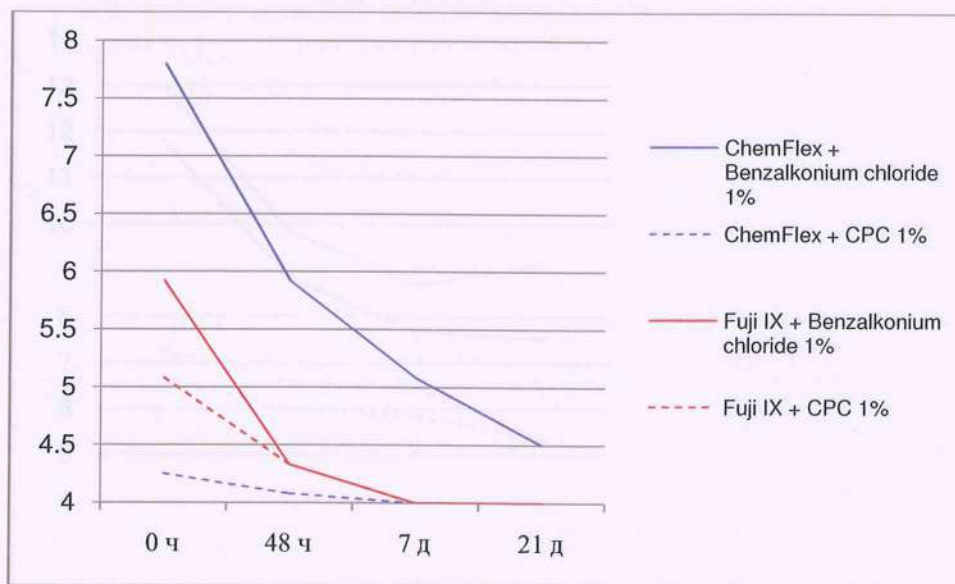
Графикон 56. Приказ на ефектот врз *Streptococcus mutans* од 2% антимикробни соединенија во тек на време



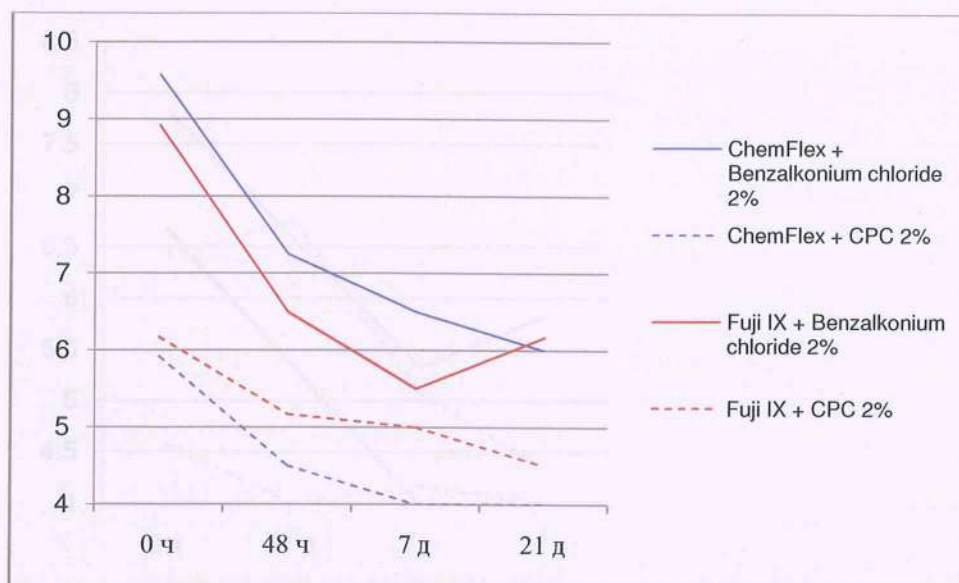
Графикон 57. Приказ на ефектот врз *Streptococcus mutans* од 3% антимицробни соединенија во тек на време



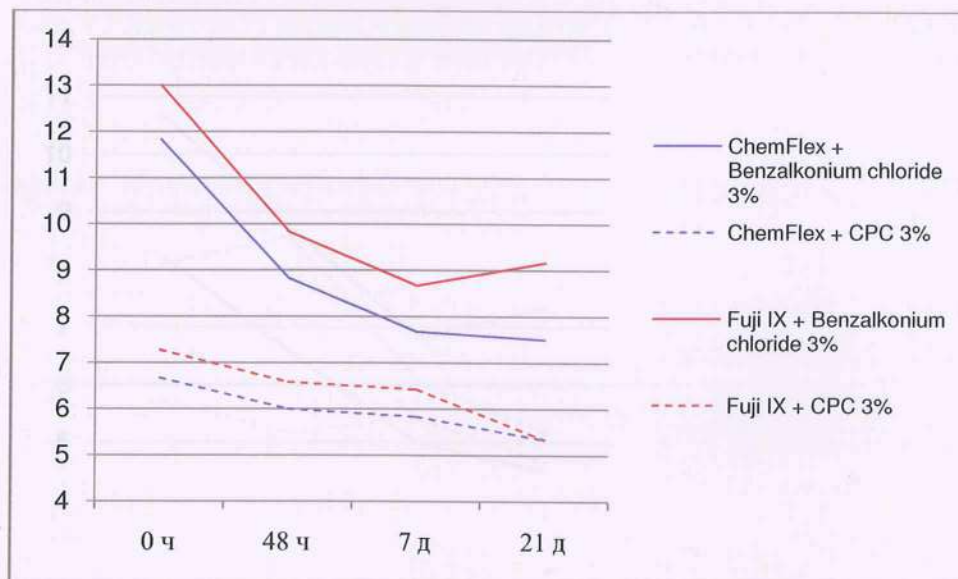
Графикон 58. Приказ на ефектот врз *Lactobacillus casei* од 1% антимицробни соединенија во тек на време



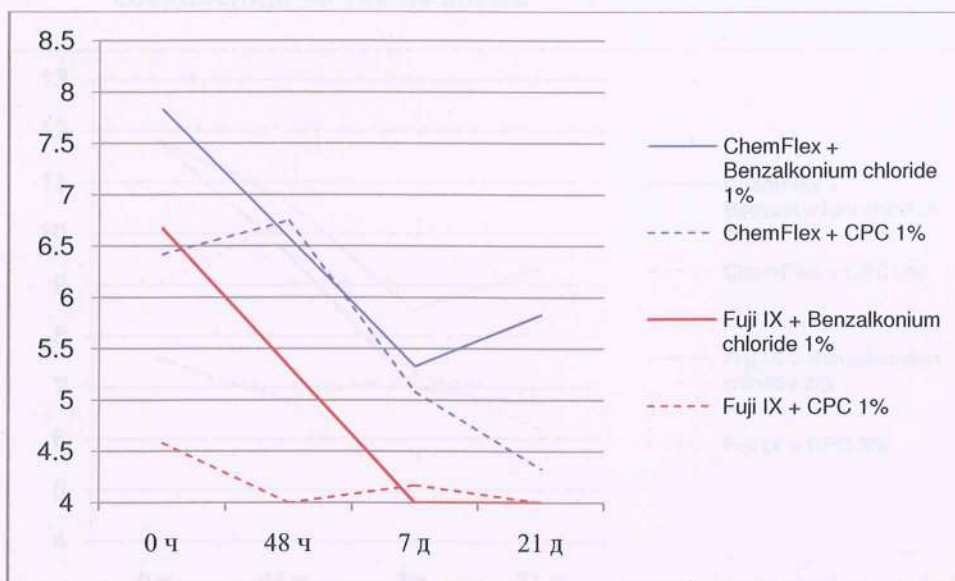
Графикон 59. Приказ на ефектот врз *Lactobacillus casei* од 2% антимицробни соединенија во тек на време



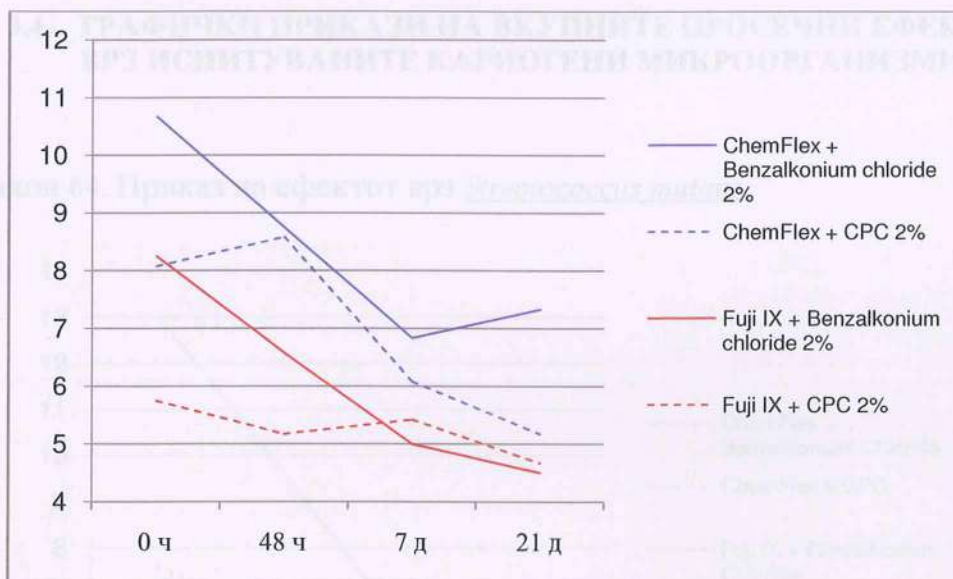
Графикон 60. Приказ на ефектот врз *Lactobacillus casei* од 3% антимицробни соединенија во тек на време



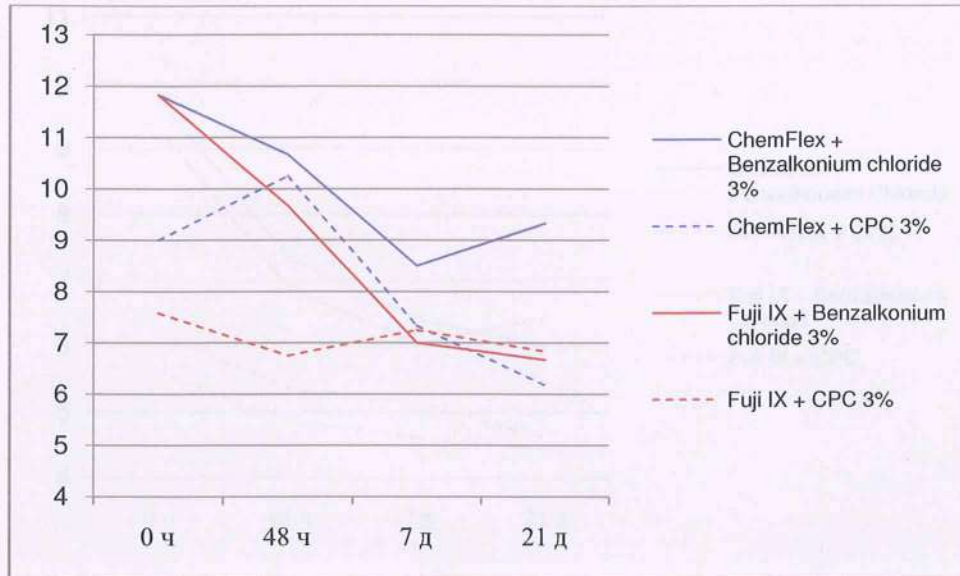
Графикон 61. Приказ на ефектот врз *Actinomyces viscosus* од 1% антимикробни соединенија во тек на време



Графикон 62. Приказ на ефектот врз *Actinomyces viscosus* од 2% антимикробни соединенија во тек на време

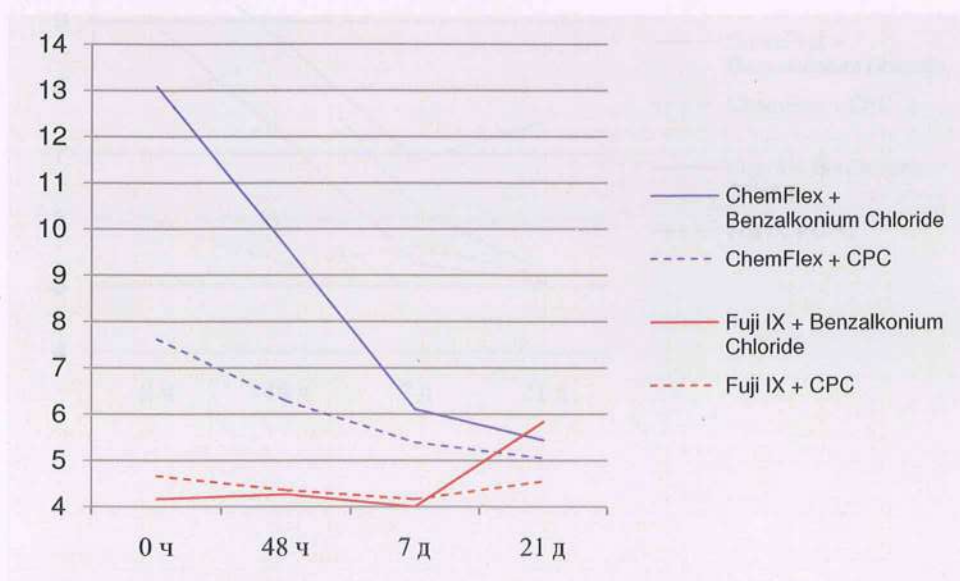


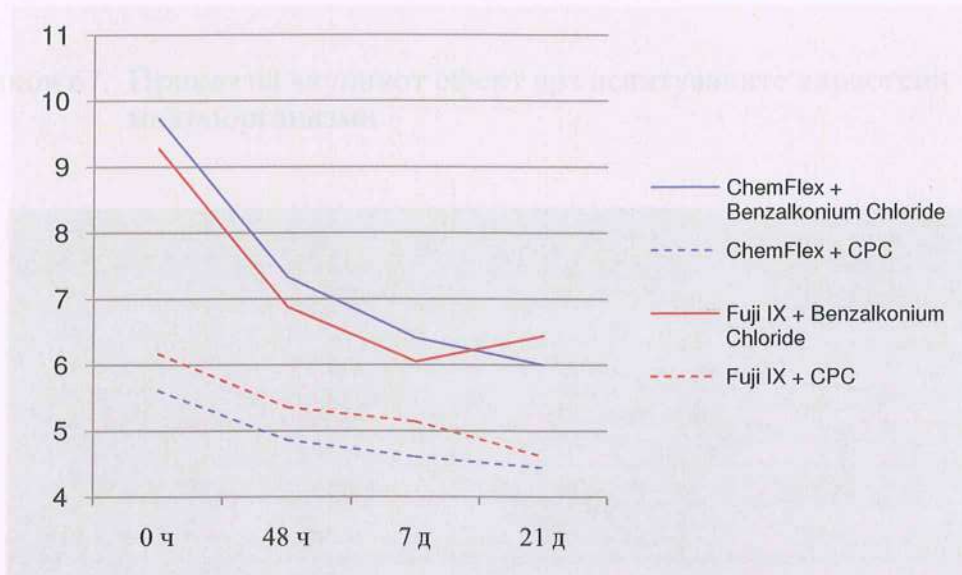
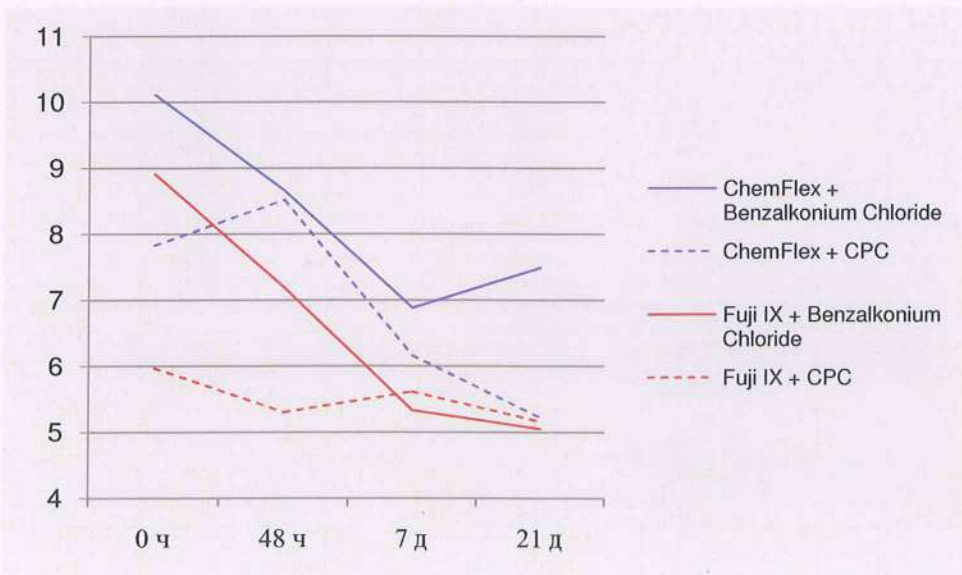
Графикон 63. Приказ на ефектот врз *Actinomyces viscosus* од 3% антимицробни соединенија во тек на време

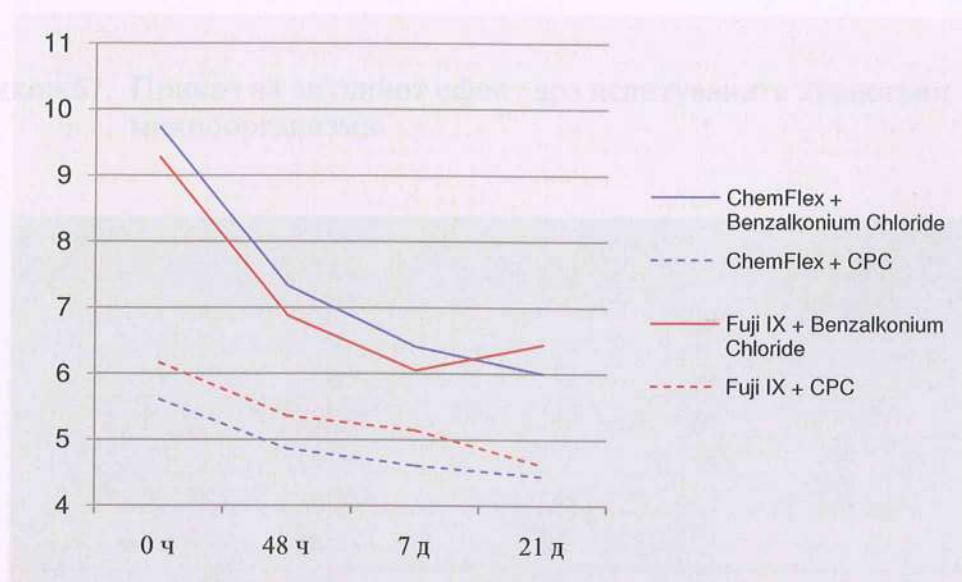
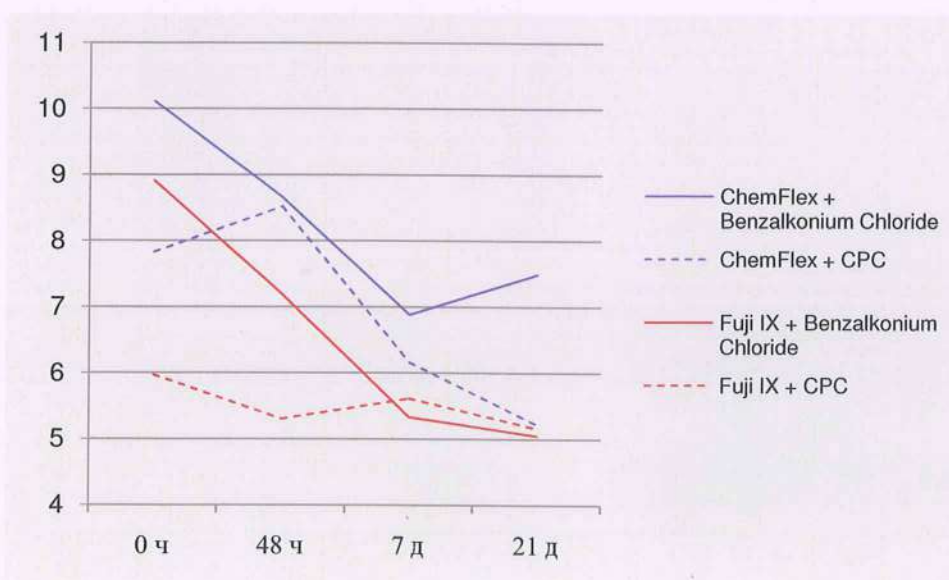


### 3.4. ГРАФИЧКИ ПРИКАЗИ НА ВКУПНИТЕ ПРОСЕЧНИ ЕФЕКТИ ВРЗ ИСПИТУВАНИТЕ КАРИОГЕНИ МИКРООРГАНИЗМИ

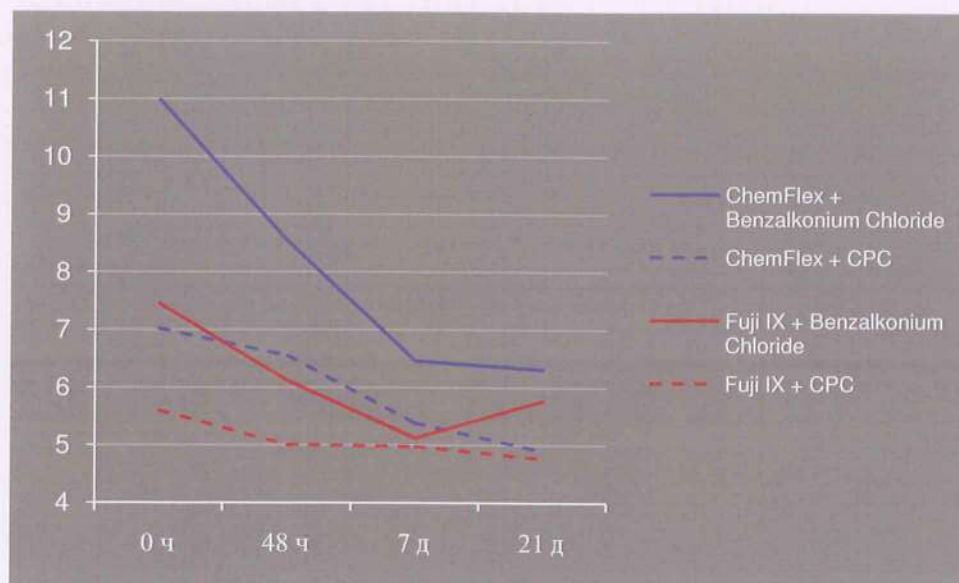
Графикон 64. Приказ на ефектот врз *Streptococcus mutans*



Графикон 65. Приказ на ефектот врз *Lactobacillus casei*Графикон 66. Приказ на ефектот врз *Actinomyces viscosus*

Графикон 65. Приказ на ефектот врз *Lactobacillus casei*Графикон 66. Приказ на ефектот врз *Actinomyces viscosus*

Графикон 67. Приказ на вкупниот ефект врз испитуваните кариогени микроорганизми



## VI. ДИСКУСИЈА

## **VI. ДИСКУСИЈА**

Главниот мотив на дисертацијата беше да се добијат базични податоци за можноста од создавање антиминобни глас-јономер цементи кои би претставувале огромна придобивка не само во реставративната туку и во превентивната стоматологија. Со оглед на тоа дека во оваа студија се опфатени хемиски, механички и микробиолошки анализи, а за поедноставно следење на дискусијата, оваа глава е поделена на поглавја со идентичен тек како и главата Резултати.

## **1. ХЕМИСКИ АНАЛИЗИ**

### **1.1. ОДРЕДУВАЊЕ НА ЈОНИ СО ЈОН-СЕЛЕКТИВНИ ЕЛЕКТРОДИ**

Одредувањето на јоните беше спроведено со јон-селективни електроди, во медиум од дејонизирана вода во која беа складирани примероците од глас-јономер цементи, без и со додаток на одредена концентрација на антиминобни соединенија, во тек на 14 временски периоди, заклучно со една недела. Бидејќи една од целите беше одредување на хлоридни и флуоридни јони, во анализите беа користени специфични електроди за нивно одредување. Појдовната идеја за спроведување на овие анализи беше фактот што главен составен дел на антиминобните соединенија е хлоридот, со потврдено антиминобно дејство, и неговото евентуално ослободување би укажувало на антиминобно дејство на ГЈЦ-ите. Одредувањето, пак, на флуоридните јони од цементите беше спроведено со цел да се види влијанието на инкорпорираниите антиминобни соединенија врз степенот на ослободување на флуоридни јони, а земајќи го предвид фактот дека едно од главните позитивни особини на ГЈЦ-и е неговото континуирано ослободување.

Во секој конвенционален, комерцијално достапен глас-јономер цемент, беа инкорпорирани различни концентрации на антиминобните соединенија, така што добивме резултати за ослободување на хлоридни односно

флуоридни јони од комбинациите: ChemFlex + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride; ChemFlex + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride; Fuji IX + 1%, 2% и 3% Benzalkonium Chloride како и Fuji IX + 1%, 2% и 3% Cetylpyridinium Chloride. Исто така беше анализирано и ослободувањето на јони од ГЈЦ-ите без вградено антимикробно соединение.

Добиените резултати за ослободувањето на **хлоридни јони** од цементот ChemFlex инкорпориран со трите испитувани концентрации на антимикробни соединенија, говорат за континуирано ослободување на овие јони во тек на една недела. Она што е интересно, е податокот за континуирано ослободување на хлоридни јони и од ГЈЦ-и без вградени антимикробни соединенија. Направени се голем број студии за ослободување на елементи од конвенционалните цемента. Ниту во ексцерпираната литература, ниту во базата на податоци на MedLine, не постојат податоци за постоење или ослободување на хлоридни јони во/од глас-јономер цемента. Исто така, и во спецификациите на производителите на анализираниите цемента не е наведено постоење на хлориден јон во нивниот состав. Оттука се наметнува прашањето од каде се ослободуваат хлоридни јони во анализираниот медиум, и тоа во концентрации кои во одредени периоди се поголеми и од концентрациите во медиумот во кои се складирали примероци на цемента со вградени антимикробни соединенија (Fuji IX + CPC и донекаде Fuji IX + Benzalkonium Chloride). Иако е анализиран кумулативниот ефект на ослободување, нивото на ослободените хлоридни јони континуирано расте, што зборува за нивно постоење ослободување. Секако дека овие концентрации не доаѓаат од медиумот (дејонизирана вода), со оглед на фактот што употребата на специфичната ЈСЕ не покажува постоење на хлоридни јони во медиум во кој нема примерок од цемент. Исто така и можноста од екстерно (аеро) внесување, односно секундарно загадување на медиумот, се отфрла од две причини – концентрациите на хлор во воздухот во лабораторијата се сведени на нула и лабораториските туби во кои се наоѓаат примероците и медиумот се затвораат по завршетокот на секое мерење. Дури и да има точна проценка на концентрацијата на хлор во воздухот, дискутабилно е прашањето за вградување на јони од воздух во воден медиум за релативно кусо време.

Детектирањето на хлоридни јони од глас-јономер цементи ќе биде предмет во некоја од следните анализи.

Поединечните вредности на хлоридните јони за секој процент во одреден временски период се различни, ослободувањето бележи флукуирачка крива, со пораст и падови на вредностите, за на крајот од испитуваниот период комбинацијата ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride да ослободува поголема количина хлоридни јони, за 2% и за 3% антимикуробна компонента. Кај еден процент антимикуробна компонента, истиот ГЈЦ, но со соединението Benzalkonium Chloride ослободува поголема количина хлоридни јони. На добиените просечни вредности беше спроведена анализа на варијансата помеѓу концентрациите, за секој мерен временски интервал. Според оваа статистичка анализа, разликата на просечните вредности на ГЈЦ ChemFlex во комбинација со двете анализирани антимикуробни соединенија, е статистички сигнификантна за сите временски интервали за  $p < 0,05$ , освен за шестиот ден кај Benzalkonium Chloride<sup>1</sup>. Како дополнителен статистички параметар којшто го користевме за анализа на резултатите беше и Tukey Honest Significant Difference (HSD) пост-хок тестот. Со оглед на тоа што овој тест ги анализира разликите на просечните вредности поединечно, се спроведува во ситуации каде што анализата на варијансата дава целосна статистичка сигнификантност, а тоа не беше случај кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride. Тестот спроведен кај другото антимикуробно соединение – Cetylpyridinium Chloride, покажа дека разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни и тоа помеѓу просечните вредности на ChemFlex + 3% CPC во однос на ChemFlex + 1% и 2% CPC.

Што се однесува до анализата на резултатите на другиот глас-јономер цемент – Fuji IX, ослободувањето на хлоридни јони кај сите три испитувани концентрации е поголемо кај комбинацијата на цементот со соединението Benzalkonium Chloride отколку кај комбинацијата со Cetylpyridinium Chloride. Според анализата на варијансата, разликите на просечните вредности за сите испитувани концентрации и во сите испитувани периоди, освен 15. минута кај

<sup>1</sup> Види Резултати, таб. 2.

комбинацијата Fuji IX + CPC, се статистички сигнификантни за  $p < 0,05^2$ . Според Tukey тестот, спроведен за комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride, постои сигнификантност со две нивоа, и тоа  $p < 0,000$  помеѓу 1% во однос на 2% и 3% антимикробно соединение и  $p < 0,00$  помеѓу 2% и 3% антимикробно соединение. Истиот тест спроведен за другата антимикробна компонента – CPC, укажува на постоење на статистички значајна разлика помеѓу 2% во однос на 1% и 3% антимикробна компонента.

Од добиените резултати се констатира и дека кај сите четири комбинации, 0% антимикробни соединенија даваат најмало ослободување на хлоридни јони, а 3%, речиси во секој временски интервал даваат најголемо ослободување, што е и логично со оглед на фактот дека хлоридните јони се присутни во антимикробните соединенија, а се и многу активни.

Од графичките прикази може да се согледа паралелитет на кривите на просечните вредности на ослободените хлоридни јони на ГЈЦ ChemFlex за двете анализирани соединенија, и диспаралитет кај цементот Fuji IX. Слични податоци добиваме и за 2% антимикробни соединенија. Ослободувањето на хлоридни јони кај 3% вградено антимикробно соединение укажуваат на постоење на целосна флукуација на вредностите во тек на испитуваниот период. Она што исто така може да се согледа е и вкупното поголемо ослободување на хлоридни јони од ГЈЦ Fuji IX во однос на ChemFlex. Сепак, ослободувањето кај Fuji IX е проследено со многу поизразени пикови на кривите, особено по вториот час. Најголемо поединечно ослободување на хлоридни јони помеѓу сите комбинации, дава комбинацијата ChemFlex + 3 % Cetylpyridinium Chloride<sup>3</sup>.

Аналогно на одредувањето на ослободените хлоридни јони, беше спроведено и одредување на ослободените **флуоридни јони**. Добиените резултати говорат за континуирано ослободување на флуоридни јони од двата анализирани глас-јономер цементи со додаток на антимикробни соединенија. Вредностите на ослободените јони, освен кај комбинацијата ChemFlex + CPC,

<sup>2</sup> Види *Резултати*, таб. 3.

<sup>3</sup> Види *Резултати*, граф. 3.

опаѓа со порастот на концентрацијата. Кај комбинацијата на ГЈЦ ChemFlex со Benzalkonium Chloride најголемо поединечно ослободување се нотира кај 2% од соединението, каде што вредностите на ослободените флуоридни јони се движат до 12 ppm во седмиот ден. Вредностите, во просек кај сите концентрации на цементот со СРС, се нешто поголеми, со најголема вредност од 15 ppm седмиот ден кај 1%.

Што се однесува до споредбата на дејствата на антимикробните соединенија од ГЈЦ Fuji IX, комбинацијата со Benzalkonium Chloride покажува за нијанса поголема количина на ослободени флуориди за сите анализирани концентрации.

Разликите на добиените вредности во анализираниите периоди меѓу концентрациите на комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride покажуваат најмал број статистички значајни разлики (15. мин., 30. мин., 1. час и 5. ден). Кај сите други комбинации постојат статистички сигнификантни разлики за најголемиот број временски периоди (ANOVA,  $p < 0,05$ )<sup>4</sup>.

Глас-јономер цементот Fuji IX покажува во просек помали вредности на ослободени флуориди во однос на ГЈЦ ChemFlex како за цементот без вградени антимикробни соединенија така и за секоја концентрација од соединенијата посебно.

Од компаративната анализа на графичките прикази на податоците од средните вредности на ослободените флуоридни јони во тек на време, за секоја концентрација на антимикробно соединение посебно, дојдовме до следните констатации: кај 1% и 2% антимикробни соединенија најголемо просечно ослободување дава комбинацијата ChemFlex + СРС, а најмало ChemFlex + Benzalkonium Chloride; кај 3% антимикробно соединение најголемо ослободување постои кај комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride, а најмало кај Fuji IX + СРС.

Просечните вредности на ослободените флуориди кај цементите без вградена антимикробна компонента се поголеми од оние со одредена

---

<sup>4</sup> Види Резултати, таб. 5.

концентрација. Тоа најверојатно се должи на инкорпорираниите антимицробни соединенија, кои на некој начин ги врзуваат флуоридните јони во своите долги синџири. Предмет на понатамошни анализи е прашањето дали тоа врзување се врши со супституција на флуоридните со хлоридни јони кои се ослободуваат во медиумот. Ослободувањето на флуоридните јони е константно и континуирано, без поголеми подеми и падови во тек на временскиот интервал, а ефектот е кумулативен.

Статистичката анализа (Mann-Whitney U тест) на средните вредности на ослободените и хлоридни и флуоридни јони од ГЛЦ ChemFlex и Fuji IX без додаток на антимицробни соединенија, покажува дека разликите во добиените просечни вредности на ослободените хлоридни јони се статистички значајни само за дел од анализираните периоди. Во 45. мин., 1., 3., 4., 24. час, и 3. ден, разликите на просечните вредности се статистички незначајни. Во однос на податоците добиени за ослободените флуоридни јони, просечните вредности се сигнификантни речиси во сите временски интервали, освен во 15. мин., 1. и 3. час. Од анализата на резултатите исто така се гледа и дека ГЛЦ Fuji IX ослободува просечно повеќе хлоридни јони, а ГЛЦ ChemFlex флуоридни јони.<sup>5</sup>

Во огромен број студии е потврден фактот дека глас-јономер цементите поседуваат капацитет за бавно и стабилно ослободување на флуориди во тек на долг временски период [39, 41, 56, 60, 62, 116, 140]. Според Mazzaoui [88], Fuji IX ослободува околу 10 ppm флуориди во период од 48 часа. Atar & Önen [11] прават студија за ослободување и внес на флуориди од естетски реставративни материјали меѓу кои и ГЛЦ Ceramfil B, кој континуирано ослободува флуоридни јони чии средни вредности се движат од 27 ppm по првиот ден до 5,97 ppm – петтиот ден. Нашите вредности се движеа во опсег од 6,33 ppm по првиот ден до 10 ppm петтиот ден. Според Mazzaoui [88], кумулативната вредност на Fuji IX во времетраење од 28 дена изнесува 24,4 ppm по истекот на мерениот интервал. По третиот ден кумулативната вредност на истиот цемент изнесува 4,2 ppm, а во седмиот ден изнесува 8,34

<sup>5</sup> Види *Резултатите*, таб. 9.

ppm – во споредба со нашите резултати: 7,03 ppm третиот ден и 13,47 ppm седмиот ден. Во дел од литературата добиените вредности на ослободените флуориди се изразени во mg/g [137, 138], меѓутоа кај сите е докажано неговото континуирано ослободување во тек на време. Разликите на вредностите на ослободените флуоридни јони зависат меѓу другото од димензиите на примероците, начинот на складирање, како и од количината на медиумот во кој се складираат примероците.

### **1.2. ОДРЕДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА (BENZALKONIUM CHLORIDE И CETYLPIRIDINIUM CHLORIDE) – КУМУЛАТИВЕН ЕФЕКТ**

Овој дел од анализата на резултатите ги опфаќа кумулативните ефекти на ослободените антимикробни соединенија вградени во конвенционалните глас-јономер цементи, во медиум од дејонизирана вода. Мал број студии го анализираат ослободувањето на соединенија во свеж медиум пред секое мерење. Сепак, кумулативниот ефект на ослободените антимикробни соединенија е многу важен, пред сè во случаите на лоша орална хигиена и перзистенција на обилен дентален плак. Од друга страна пак, не помалку важен е и кумулативниот ефект на модифицираните „антимикробни цементи“ аплицирани во кавитетите, кои ослободуваат антимикробни соединенија кон внатрешноста на кавитетот, т.е на споевите помеѓу реставрациите и дентинот.

Подобрувањето на антимикробните својства на глас-јономер цементите, без притоа да се загубат нивните хемиски и физички карактеристики, е во постојан интерес на стоматолошката наука. Вградувањето на соединенија со далеку појаки антимикробни карактеристики е сè уште дискутабилно во однос на ефектот врз основните карактеристики на ГЈЦ. Постојат одреден број студии кои ја опишуваат можноста за инкорпорирање на хлорхексидинот [20,57,73,101,105,110,118,122,146]. Тој е првото антимикробно соединение вградено во глас-јономер цемент. Податоците од литературата за можноста од вградување други соединенија, пред сè од групата на квартарни амониумови соединенија, се незначителни.

Во нашите анализи ја согледавме можноста за инкорпорирање на антимикробните соединенија **Benzalkonium Chloride** и **Cetylpyridinium Chloride** и нивно ослободување во медиумот. Поради нивниот хемизам – големи и тешки органски синцири, нивното одредување со јон-селективни електроди е невозможно, па затоа зацртаната цел ја остваривме со помош на ултравиолетова видлива спектрофотометрија. Со оваа постапка се детектираат токму органските соединенија кои се наоѓаат во медиумот и кои се цел на анализа.

Анализите ги спроведовме во 9 последователни временски периоди, почнувајќи од 15. минута, завршувајќи по седум дена, а беше анализиран кумулативниот ефект на антимикробните соединенија.

Глас-јономер цементот **ChemFlex** со додадено антимикробно соединение **Benzalkonium Chloride** во сите три испитувани концентрации, покажува континуирано ослободување во тек на време. Анализата на варијансата покажува статистички високосигнификантни разлики на просечните вредности меѓу анализираните периоди кај 1% и кај 2% антимикробно соединение ( $p < 0,000000$ ), додека кај 3% постои статистички значајна разлика за  $p < 0,05$ . Највисоки вредности на ослободено антимикробно соединение се согледуваат на крајот од анализираните периоди, т.е. по 7 дена, кај сите три концентрации. Од трите анализирани концентрации најголемо ослободување остварува 2% **Benzalkonium Chloride** во 7. ден, меѓутоа најголемо просечно ослободување за сите периоди дава 3% од соединението<sup>6</sup>.

Што се однесува до резултатите од вградувањето на другото антимикробно соединение – **Cetylpyridinium Chloride** во истиот цемент, исто како кај претходно анализираното соединение, се гледа континуум во ослободувањето на антимикробното соединение во тек на време, со најголеми вредности на крајот од испитувањето, за сите три концентрации. Но, во седмиот ден се забележува драстичен пораст, т.е. еден вид експлозија на ослободување на 1% антимикробно соединение<sup>7</sup>. Единствен логичен одговор

<sup>6</sup> Види *Резултати*, таб. 10.

<sup>7</sup> Види *Резултати*, таб. 11.

на што се должи тоа е, евентуално, начинот на подготовка на примероците. Имено, методологијата на подготовката на примероците за целокупните анализи во овој проект беше идентична, со мешање на антимикробните соединенија најпрво со полиакрилната киселина, а потоа со додавање на прашокот на цементите. За жал, мешањето е мануелно, и времетраењето на подготовка на примероците се разликува за одреден, кус, но можеби значаен временски период, кој секако може да влијае на добиените вредности. Исто така, и големината на честичките на антимикробните соединенија, особено на Benzalkonium Chloride, кои треба да се распределат рамномерно за кусо време (време на работа на цементите), може да доведе до појава на статистички значајни разлики. Доколку не дојде до рамномерно распределување на соединението низ целиот примерок од цементот, постои веројатност поголем број молекули да се наоѓаат во близина на површината на примерокот, и со нивно ослободување да дојде до пораст на просечните вредности.

Анализата на варијансата покажува статистички несигнификантна разлика за 1% и значајни разлики за 2 и 3% антимикробно соединение. Ако направиме споредба на вредностите на ослободените антимикробни соединенија од цементот ChemFlex, можеме да согледаме дека ослободувањето на Cetylpyridinium Chloride е порамномерно, со поголем број периоди на стагнација во ослободувањето, но со помали просечни вредности за 1 и 2% со исклучок на седмиот ден кај 1%. Три проценти Cetylpyridinium Chloride во просек дава поголемо ослободување во однос на Benzalkonium Chloride, со исклучок на вториот час и седмиот ден каде што поголемо ослободување се верифицира кај Benzalkonium Chloride.

Ослободувањето на Benzalkonium Chloride од конвенционалниот ГЈЦ Fuji IX, покажува далеку повисоки нивоа на ослободено соединение кај трите концентрации во споредба со претходните две анализирани комбинации. Имено, просечните вредности се неколку пати поголеми од вредностите добиени кај комбинацијата на соединението со ГЈЦ ChemFlex. Анализата на варијансата покажува статистички сигнификантни разлики на просечните вредности кај 1 и 2% антимикробно соединение, додека незначајни разлики

кај 3%<sup>8</sup>. Кривите кај сите три проценти, главно покажуваат континуум во ослободувањето на соединението, со мали падови и покачувања во тек на периодите. Најдрастични отстапувања се гледаат кај 1% и тоа меѓу 30. и 45. минута и меѓу 24. час и 7. ден, каде што доаѓа до падови на просечните вредности на ослободеното антимикробно соединение. За разлика од претходно анализираните комбинации, каде што најголемо просечно ослободување се јавува кај 3% соединение, во овој случај, освен во 7. ден, најголемо ослободување се јавува кај 1% антимикробно соединение<sup>9</sup>.

Можеби најинтересни резултати се добија од ослободувањето на антимикробното соединение *Cetylpyridinium Chloride* вграден во ГЈЦ Fuji IX. И од табеларниот, и од графичкиот приказ на добиените резултати, се гледаат големи разлики на просечните вредности помеѓу испитуваните концентрации. Еден процент антимикробно соединение покажува најмало ослободување не само во однос на другите два проценти туку и во однос на сите други анализирани комбинации. Два проценти СРС дава ослободување кое е за нијанса помало од аналогниот процент кај *Benzalkonium Chloride*, со просечни помали вредности во тек на сите интервали. Кај комбинацијата на 3% СРС со цементот, резултатите се речиси идентични со резултатите од вградувањето 3% *Benzalkonium Chloride*. Единствената разлика се гледа во 45. минута (29 а.е. : 22 а.е.). Анализата на варијансата покажува статистички високосигнификантни разлики меѓу просечните вредности во тек на испитуваниот период, за трите концентрации<sup>10</sup>.

Ако направиме споредба на сите анализирани комбинации и концентрации, би можеле да констатираме дека најголемо ослободување има соединението 1% *Benzalkonium Chloride* вградено во ГЈЦ Fuji IX, додека најмало ослободување постои кај соединението 1% СРС кај истиот цемент. Вкупно, поголемо просечно ослободување на антимикробните соединенија постои кај комбинациите со ГЈЦ Fuji IX во однос на ГЈЦ ChemFlex.

<sup>8</sup> Види *Резултати*, таб. 12.

<sup>9</sup> Види *Резултати*, таб. 12.

<sup>10</sup> Види *Резултати*, таб. 13.

Разликата на просечните вредности кои се добиени со инкорпорирање на 1%, 2% и 3% ChemFlex + Benzalkonium Chloride, ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride, Fuji IX + Benzalkonium chloride и Fuji IX + CPC според ANOVA е статистички високосигнификантна во сите временски интервали, освен во седмиот ден кај 1% од комбинациите (в. таб. V.14). Според Tukey тестот, разликите на просечните вредности се статистички сигнификантни помеѓу просечните вредности на сите комбинации меѓу себе<sup>11</sup>.

Констатацијата дека примероците кои содржат повисоки концентрации на антимикробно соединение (во овој случај 3%), ослободуваат поголема количина од соединението, се во согласност со резултатите на Ribeiro и Ericson [105]. Во нивната студија од почетокот на деведесеттите години на минатиот век, што се смета за пионерски обид за вградување на антимикробни соединенија во глас-јономер цементи, беше спроведена и спектрофотометриска анализа на ослободувањето на хлорхексидин од ГЈЦ-и во кои е додаден како хлорхексидин диглуконат и диацетат. За разлика од нашата студија, и употребените цементи (ChemFil и AquaCem) и концентрациите на антимикробните соединенија (7,5%, 8,2% w/w Chlorhexidine Digluconate, односно 13,3% w/w Chlorhexidine Diacetate) беа различни. Исто така, спротивно на нашата студија, употребените примероци беа со далеку помали димензии – 3 мм дијаметар и 1,5 мм дебелина. Хлорхексидин диглуконатот брзо се ослободува од AquaCem, така што по 5 дена не се гледа мерливо покачување на концентрацијата. Ваква тенденција се забележува и кај диацетатот/AquaCem. Според авторите, само помеѓу 0,3 и 5% од вкупниот хлорхексидин додаден во примероците се ослободува во водата. Според нив, тоа би можело да се објасни со податокот дека хлорхексидинот формира нерастворливи соли секогаш кога е во комбинација со силикатите или фосфатите од цементните стакла, како и со доста малата надворешна површина од примероците и заробенитиот хлорхексидин во неа, така што во *in vivo* ситуации хлорхексидинот би можел да се ослободува со механичка ерозија на површината. Ние не најдовме временски интервал во кој ќе видиме немерливо покачување на

<sup>11</sup> Види Резултати, таб. 14.

концентрациите, напротив, кај сите комбинации последниот мерен период ги дава и најголемите просечни вредности. Во однос на констатацијата дека само мал дел од соединението се ослободува во медиумот, би дале неколку согледувања. Мерењето на масата на примероците пред и по завршување на анализите е метода со која може, но и не мора да се добијат точни податоци за ослободување на конкретно соединение. Во фазата на матурација, но и во подоцнежните фази, ГЈЦ-ите ослободуваат и други елементи, најчесто во јонска форма, што исто така придонесува за промена на нивната маса. Исто така, глас-јономер цементите складирани во течен медиум, примаат одреден дел од течноста, со што нивната маса и по многу кус период станува поголема, а не помала. Формирањето на нерастворливи соли од квартални амониумови соединенија во кои спаѓа и хлорхексидинот, но и соединенијата кои се предмет на нашите анализи, бара понатамошни опсежни анализи.

Слична на претходно споменатата студија е и студијата на Palmer *et al.* [101], во која се испитува употребата на експериментален ГЈЦ како носач за ослободување на хлорхексидин ацетат. Опсегот на концентрации се движи од 0,5% до 13,0% од тежината на СНА. За разлика од нашата студија, ослободувањето во воден медиум е спроведено со употреба на течна хроматографија со високи перформанси. Примероците се со димензии од 10 мм дијаметар и 1 мм дебелина. И во овој случај ослободувањето на антимикробното соединение се случува релативно брзо, односно целиот мерлив хлорхексидин е ослободен во рамките на 22 часа, што всушност е помалку од 10% од вкупната маса вградена во примероците.

Во двата цитирани труда вградувањето на антимикробните соединенија се врши во прашокот од ГЈЦ-ите. Спротивно на тоа, во нашата студија, инкорпорирањето на обете антимикробни соединенија се изврши во течноста од ГЈЦ-ите поради хемиската структура на антимикробните соединенија и подобрата дистрибуција на долгите синцири на кварталните соединенија во течен медиум. Податокот дека поголемите проценти на вградениот СНА даваат и поголемо ослободување во воден медиум, е во согласност со нашите резултати.

Во спротивност со нашите испитувања, како и во спротивност со студиите на Ribeiro/Erikson и Palmer, е студијата од Takahshi *et al.* [118], која покажа дека поголеми количини од вграден хлорхексидин диацетат не резултираат со сигнификантно зголемување на ослободени концентрации. Во оваа студија, во прашокот од ГЈЦ Fuji IX се додадени хлорхексидин диацетат со хлорхексидин дихидрохлорид за да се добијат концентрациони износи 1/0, 2/0, 3/0, 1/1 или 2/2% w/w. Примероците се со димензии 10 мм x 2 мм, а концентрацијата на ослободениот СНХ е одредена со течна хроматографија со високи перформанси.

Правени се обиди за инкорпорирање на антимикробни соединенија во други реставративни материјали. Namaba *et al.* [146] ја испитуваат можноста за вградување на антимикробното соединение Cetylpyridinium Chloride во смолест матрикс. Покрај антимикробните особини на така добиената смола, тие го анализираат и ослободувањето на СРС во воден медиум. Количината на ослободениот СРС е одредена со помош на УВ/вид.-спектрофотометар во интервал од 1, 3, 5 и 7 дена. Резултатите покажуваат дека се ослободуваат помалку од 0,11 а.е. СРС. Иако во оваа студија не се користени глас-јономер цементи, сепак видот на антимикробното соединение, методологијата на работа и временските периоди на анализите, како и добиените резултати, ни даваат основа да дадеме некои коментари. Во нашите анализи, ослободувањето на антимикробното соединение Cetylpyridinium Chloride во воден медиум во вредности од 0,11 а.е. +/- 0,2 а.е. е нотирано во седмиот ден за 2%, односно 3., 4., 24. час и седми ден кај 3% СРС + ChemFlex, потоа во седмиот ден кај инкорпорирањето на 1% СРС во Fuji IX, како и во интервалите од 15. мин до 2. час кај 2% од истата комбинација.

### **1.3. ОДРЕДУВАЊЕ НА АНТИМИКРОБНИ СОЕДИНЕНИЈА СО ПРОМЕНА НА МЕДИУМ ВО ОДРЕДЕНИ ВРЕМЕНСКИ ИНТЕРВАЛИ**

Во ситуации на добра орална хигиена, кумулативниот ефект на антимикробните соединенија не би бил од толкава важност поради честите

плакнења на оралната празнина. Кога станува збор за вакви ситуации, поцелисходни се анализите за ослободување на антимикуробни соединенија со менување на медиумот во одредени временски периоди.

Анализата со промена на медиум беше спроведена со истите комбинации на цемента и антимикуробни соединенија, но само со 2% концентрација, т.н. репрезентативен примерок, во осум последователни временски периоди – по петнаесеттата минута, потоа на секој час четирипати, на секои 24 часа двапати и по 48 часа. Целта на анализата беше да се добијат првични резултати за ослободување на соединенијата во медиум кој беше менуван во секој анализиран период, и затоа беше земена средната вредност од претходно употребените концентрации (2%). Во таа насока сакавме и да ги потврдиме литературните податоци кои говорат за добиени немерливи вредности по многу кусо време од отпочнување на мерењето.

По извршените мерења во одредените временски интервали, со стерилна пинцета, примероците беа вадени од медиумот и беа преместувани во нов до следното мерење. Од добиените резултати се гледа дека Benzalkonium Chloride вграден во ГЈЦ ChemFlex, дава просечни вредности на ослободено антимикуробно соединение, кои варираат во текот на испитуваниот период со нагли покачувања и падови, кои одат дури и до 0,227 а.е.<sup>12</sup>. Она што е интересно е дека по вториот 24-часовен период, просечните вредности се немерливи, па затоа и анализата е прекината. Исто така, немерливи вредности се добиени и кај комбинацијата на истиот цемент со соединението CPC, но и кај ГЈЦ Fuji IX со соединението Benzalkonium Chloride. Меѓутоа, кај последните две комбинации, а особено кај Fuji IX + Benzalkonium Chloride, тоа е можеби и очекувано со оглед на претходно добиените ниски вредности, додека пак немерливата вредност која се добива кај комбинацијата на Benzalkonium Chloride со ChemFlex е дискутабилна токму поради претходно добиените високи вредности. Иако комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride покажува периоди во кои просечните вредности на ослободеното соединение се многу високи, сепак CPC инкорпорирано во истиот ГЈЦ дава во

<sup>12</sup> Види Резултати, таб. 16 и граф. 21.

просек поголемо ослободување. Единствено комбинацијата на Fuji IX + CPC дава просечна мерлива вредност за ослободување и по 48 часа<sup>13</sup>.

Спроведената анализа на варијансата покажува статистички високо-сигнификанти разлики кај сите комбинации, освен кај ослободувањето на Benzalkonium Chloride од ГЈЦ ChemFlex, каде што исто така разликата во анализираните периоди е статистички значајна, но за  $p < 0,05$ .

Спроведената анализа на варијансата за сите комбинации, односно помеѓу сите групи, покажува дека разликата на просечните вредности кои се добиени со инкорпорирање на антимикуробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride во конвенционалните ГЈЦ-и ChemFlex и Fuji IX, е статистички сигнификантна за сите анализирани временски периоди, освен за вториот час т.е. 1 час А. Според Tukey тестот, разликата е статистички сигнификантна помеѓу просечните вредности на сите анализирани комбинации.<sup>14</sup>

#### 1.4. ХЕМИСКИ АНАЛИЗИ СО ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИОТ ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТ МР4

Во хемиските анализи беше вклучен и експерименталниот глас-јономер цемент МР4, развиен од Pilkingtons Ltd, UK. Како бесфлуориден цемент, МР4 главно се користи во лаборатории за експерименти со вградување и ослободување на флуоридни јони, а се користи и како медицински цемент [137].

Целта беше на т.н. репрезентативен примерок (2% антимикуробни соединенија), да се согледа можноста за ослободување хлоридни јони и антимикуробни соединенија од цементот во кој се инкорпорирани антимикуробните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride, како и да се направи компарација на добиените вредности со конвенционалите ГЈЦ.

<sup>13</sup> Види *Резултати*, таб. 16.

<sup>14</sup> Види *Резултати*, таб. 17.

Резултатите добиени од ослободувањето на хлоридни јони покажуваат нивно континуирано ослободување во тек на испитуваните периоди, сè до седмиот ден кај соединението CPC, односно 24. час за соединението Benzalkonium Chloride, кога доаѓа до драстичен пад на просечните вредности. Комбинацијата на MP4 со CPC во просек дава поголеми нивоа на ослободување во однос комбинацијата MP4 + Benzalkonium Chloride, иако најголема просечна вредност во одреден испитуван период е 24. час кај соединението Benzalkonium Chloride (162 ppm). Според ANOVA тестот, постои статистички високосигнификантна разлика меѓу просечните вредности во испитуваните временски периоди, и за комбинацијата на експерименталниот цемент со Benzalkonium Chloride и за комбинацијата со CPC. За да се согледа дали разликите на просечните вредности меѓу испитуваните комбинации се значајни или не, беше спроведен Mann-Whitney U тестот, според кој разликите на просечните вредности помеѓу MP4 + CPC и MP4 + Benzalkonium Chloride се статистички сигнификантни, во сите временски интервали, освен во нулто време и четвртиот час.<sup>15</sup>

Со УВ/вид.-спектрофотометрија беше анализирана и можноста за ослободување на **антимикробните соединенија** во воден медиум од примероци приготвени со глас-јономер цементот MP4. Резултатите укажуваат на континуирано, благо покачување на просечните вредности на ослободените соединенија. Разликите на просечните вредности во сите временски интервали се поголеми кај комбинацијата MP4 + Benzalkonium Chloride, што е и статистички потврдено (Mann-Whitney тест). Анализата на варијансата покажува статистички високосигнификантни разлики меѓу просечните вредности во анализираниот период за комбинацијата MP4 + CPC, што не е случај со другото анализирано соединение.<sup>16</sup>

За целосно да ги согледаме особеностите на експерименталниот глас-јономер цемент MP4 во однос на ослободувањето на хлоридни јони, односно антимикробни соединенија, добиените резултати беа споредени со резултатите од конвенционалните цемента.

<sup>15</sup> Види *Резултатите*, таб. 18.

<sup>16</sup> Види *Резултатите*, таб. 19.

Од добиените резултати за ослободување на хлоридни јони помеѓу конвенционалните и експерименталниот цемент, се гледа многу поголемо ослободување на јони до 4. час кај комбинацијата MP4 + Benzalkonium Chloride, односно 24. час кај комбинацијата MP4 + Cetylpyridinium Chloride. Добиените разлики на просечните вредности се статистички високосигнификантни во сите анализирани интервали (ANOVA). Во однос на податоците добиени со Tukey тестот, разликите на вредностите добиени од комбинацијата на цементот MP4 со двете анализирани соединенија, во однос на конвенционалните цемента, е статистички сигнификантна, но со различни нивоа на значајност.<sup>17</sup>

Компаративната анализа на податоците добиени од ослободувањето на антимикробни соединенија (УВ-анализи), покажува драстично поголемо ослободување на соединението Benzalkonium Chloride од експерименталниот цемент во сите временски интервали, во однос на конвенционалните, и сигнификантно поголемо ослободување на соединението Cetylpyridinium Chloride.<sup>18</sup>

Од добиените резултати на компаративната анализа со конвенционалните цемента, произлегуваат голем број прашања. Дали пропорционалниот состав на соединенијата кои го сочинуваат цементот, или отсуството на флуоридни јони во составот, или можеби полиакрилната и тартарната киселина кои во овој случај се помешани во прашокот на цементот, придонесуваат за сигнификантните разлики со конвенционалните цемента? Со оглед на фактот дека досега не се правени анализи за ослободување на хлоридни јони, односно антимикробни соединенија, за да добиеме одговори на овие и на низа други прашања, потребни се дополнителни истражувања.

<sup>17</sup> Види Резултати, таб. 20.

<sup>18</sup> Види Резултати, граф. 26 и 27.

Од добиените резултати за ослободување на хлоридни јони помеѓу конвенционалните и експерименталниот цемент, се гледа многу поголемо ослободување на јони до 4. час кај комбинацијата MP4 + Benzalkonium Chloride, односно 24. час кај комбинацијата MP4 + Cetylpyridinium Chloride. Добиените разлики на просечните вредности се статистички високосигнификантни во сите анализирани интервали (ANOVA). Во однос на податоците добиени со Tukey тестот, разликите на вредностите добиени од комбинацијата на цементот MP4 со двете анализирани соединенија, во однос на конвенционалните цемента, е статистички сигнификантна, но со различни нивоа на значајност.<sup>17</sup>

Компаративната анализа на податоците добиени од ослободувањето на антимикробни соединенија (УВ-анализи), покажува драстично поголемо ослободување на соединението Benzalkonium Chloride од експерименталниот цемент во сите временски интервали, во однос на конвенционалните, и сигнификантно поголемо ослободување на соединението Cetylpyridinium Chloride.<sup>18</sup>

Од добиените резултати на компаративната анализа со конвенционалните цемента, произлегуваат голем број прашања. Дали пропорционалниот состав на соединенијата кои го сочинуваат цементот, или отсуството на флуоридни јони во составот, или можеби полиакрилната и тартарната киселина кои во овој случај се помешани во прашокот на цементот, придонесуваат за сигнификантните разлики со конвенционалните цемента? Со оглед на фактот дека досега не се правени анализи за ослободување на хлоридни јони, односно антимикробни соединенија, за да добиеме одговори на овие и на низа други прашања, потребни се дополнителни истражувања.

<sup>17</sup> Види *Резултатите*, таб. 20.

<sup>18</sup> Види *Резултатите*, граф. 26 и 27.

## 2. МЕХАНИЧКИ АНАЛИЗИ

### 2.1. ОДРЕДУВАЊЕ НА СИЛА НА КОМПРЕСИЈА

Постарата генерација на глас-јономер цементи покажувала релативно слаба сила на компресија, па затоа и индикациите за нивна примена биле ограничени. ASPA, првиот комерцијално достапен ГЈЦ, имал доста слаба сила на компресија со средна вредност од 73 МПа по 30 мин., со тенденција на благо зголемување во тек на 24 часа [139,145]. Новите генерации глас-јономер цементи имаат многу подобри физички особини кои можат да се искористат за апликација и во мастикаторната регија на млечната дентиција. За споредба, силата на компресија на емајлот е 384 МПа, а на дентинот е 297 МПа [135,139]. За реставративни материјали кои се употребуваат за постериорни реставрации, сила на компресија во опсег од 100 МПа по 30 мин. од приготвување на цементот, се смета за добра [98,129,139]. Значаен фактор за цврстината на еден цемент е и видот на вграденото антиминоробно средство, како и начинот на негово вградување.

За одредување на силата на компресија беа употребени истите глас-јономер цементи инкорпорирани со истите концентрации на антиминоробни соединенија, како во хемиските анализи. Беше одредена и силата на компресија на цементите без инкорпорирано соединение – контролна група. Просечната вредност на силата на компресија на ГЈЦ ChemFlex покажува вредност од 122 МПа кај едната, и 146,52 МПа кај втората контролна група. При одредување на силата на компресија со инкорпорирање на антиминоробното соединение Benzalkonium Chloride, просечната вредност кај 1% соединение се зголемува на вредност од 129, 64 МПа, за кај 2% и 3% континуирано да опадне до вредности од 122 МПа кај 2%, односно 96,56 МПа за 3% Benzalkonium Chloride. Вградувањето на другото антиминоробно соединение Cetylpyridinium Chloride, дава просечни вредности на силата на компресија кои континуирано опаѓаат до вредност од 66,36 МПа кај 3% соединение. Статистичката обработка на резултатите спроведена со анализа на варијансата за ChemFlex со додаден Benzalkonium Chloride, говори за

статистички несигнификантна разлика меѓу испитуваните концентрации, т.е. антимикробната компонента не влијае врз силата на компресија на глас-јономер цементот. Истата статистичка метода спроведена на резултатите од другото антимикробно соединение – СРС, покажува статистички високосигнификантна разлика меѓу сите анализирани концентрации. Компаративната анализа на просечните вредности на двете антимикробни соединенија вградени во ГЈЦ ChemFlex, покажува просечно поголема сила на компресија за вграденото соединение Benzalkonium Chloride. Она што е карактеристично за овој дел од анализите, е податокот за различни просечни вредности на ГЈЦ ChemFlex без додаток на антимикробно соединение. Просечните вредности на двете контролни групи покажуваат статистички сигнификантни разлики (122 МПа и 146,5 МПа). Причината за тоа треба да се бара во начинот на подготовка на примероците (мануелна подготовка), како и во поставувањето на смесата во модлите (можност за заробување на воздушни меури). Иако примероците се подготвени под исти услови и од ист истражувач, сепак појавата на вакви разлики не е реткост кога станува збор за човечки фактор.

Инкорпорирањето на истите антимикробни соединенија, но во другиот анализиран цемент – Fuji IX, покажува високи вредности на сила на компресија кај цементот без вградено соединение, кои со пораст на концентрацијата опаѓаат. Аналогно на силата на компресија на Benzalkonium Chloride, и кај глас-јономер цементот Fuji IX просечните вредности без додаток на антимикробни соединенија, покажуваат одредени разлики. Кај вградувањето на Benzalkonium Chloride вредностите опаѓаат од 146 МПа за 0% сè до 109,51 МПа кај 3% соединение. Од друга страна пак, истиот цемент но со другото антимикробно средство – Cetylpyridinium Chloride, дава парадоксални резултати. Вредностите кај додаток на 1% и 2% континуирано опаѓаат за кај 3% антимикробно соединение драстично да се зголемат, што не е случај кај ниту една друга комбинација<sup>19</sup>. Сепак, просечните вредности на силата на компресија се поголеми кај комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride.

<sup>19</sup> Види Резултати, таб. 21 и граф. 28.

Статистичката анализа на вредностите (ANOVA), покажува постоење на статистички значајни разлики на просечните вредности.

Во склоп на секоја комбинација, беше спроведен Tukey HSD тестот, со што се добива целосен увид на поединечната статистичка зависност на концентрациите. Имено, разликите на просечните вредности кај комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride се статистички сигнификантни помеѓу вредностите кај 0% во однос на 2% и 3%; 1% во однос на 2% и 3%, како и 2% во однос на 3%. Разликите се незначајни единствено помеѓу 0% и 1%, што значи дека еден процент антимикуробно соединение не влијае врз силата на компресија на ГЈЦ Fuji IX. Кај комбинацијата на истиот цемент со СРС, разликите се сигнификантни меѓу просечните вредности кај 0% во однос на 1% и 2%, како и 1% и 2% во однос на 3%. Во овој случај само вградувањето на 3% СРС не ја нарушува компресивната сила. Поради непостоење на статистички сигнификантни разлики меѓу просечните вредности со различни концентрации кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, Tukey тестот не е спроведен. Истиот ГЈЦ инкорпориран со СРС, покажува значајни разлики помеѓу комбинациите 0% во однос на 1%, 2% и 3% и 1% во однос на 3%. Сигнификантни разлики не се нотирани меѓу концентрациите 1% во однос на 2% и 2% во однос на 3%.

Одредувањето на силата на компресија многу зависи од големината на примероците. Mallmann *et al.* [84] ја анализирале силата на компресија на примероци со различни димензии во согласност со светски прифатените стандарди, при што користеле примероци со големина 6 мм x 12 мм и 4 мм x 6 мм. Анализирани биле и конвенционален и смолесто-модифициран ГЈЦ. Примероците со помалата димензија покажуваат вредности на силата на компресија за околу 85 % од онаа на примероците со поголема димензија.

Техниката на манипулација со глас-јономер цементи е многу чувствителна и претставува важен фактор, со оглед на тоа што најчесто примероците се мешаат рачно, приготвувањето на поголеми примероци е комплициран процес, што може да доведе до поголеми грешки. Поради тоа, за испитувањето на механичките особини на ГЈЦ се сугерира употреба на

помали примероци. Во оваа студија се користат примероци со димензии во согласност со стандардот ISO/WD 9917-1 за дентални материјали од 1999 година.

Botelho [18] ја испитувал силата на компресија на Fuji IX со инкорпорирани катјонски антимикробни соединенија, меѓу кои и Cetylpyridinium Chloride, додадени во прашокот, и Benzalkonium Chloride додаден во течноста од цементот, во концентрации од 1, 2 и 4 %. Примероците биле со димензии 6 мм висина x 3 мм дијаметар. Иако анализата е правена по 7 дена (примероците биле складирани), за разлика од нашата каде што силата на компресија е мерена по 24 часа, резултатите се слични – додавањето на антимикробни компоненти во Fuji IX ја намалува силата на компресија. Само 1% Benzalkonium Chloride дава несигнификантна разлика со контролата, што е во согласност со нашите анализи. Кај нашите резултати, вредноста на Fuji IX со Benzalkonium Chloride изнесува за 0% – 146,29 МПа, споредено со вредностите од студијата на Botelho каде што изнесува 210,3 МПа по седум дена. Сличен е и соодносот со 1% и 2%. Во однос на СРС нашите резултати се: 0% – 139,33 МПа; 1% – 90,1 МПа; 2% – 77,1 МПа и 3% – 126 МПа, споредени со оние на Botelho за 0% – 210,3 МПа; 1% – 139,2 МПа; 2% – 95,2 МПа; 4% – 92,23 МПа. Се гледа дека и кај едната и кај другата комбинација на Fuji IX со антимикробни компоненти постои разлика во силата на компресија во корист на мерењата извршени по седум дена, иако 3% СРС во нашата студија покажува поголема сила на компресија. Поголемата сила на компресија во споменатата студија [18], се должи најверојатно на разликата во големината на примероците и во времетраењето на складирањето на примероците. Познато е од литературата, Williams и Billington [139], Mitra *et al.* [145], дека силата на компресија кај примероците складирани во воден медиум, расте со тек на време.

Најкористено антимикробно средство за вградување во ГЈЦ-и е секако хлорхексидинот, најчесто како диацетат, диглуконат или хидрохлорид. Turkun *et al.* [122] го анализираат дејството на хлорхексидин диацетат и хлорхексидин диглуконат врз силата на компресија на ChemFil користејќи примероци со димензии 4 мм дијаметар x 6 мм висина, во концентрации од 0,5, 1,25 и 2,5%,

замешани во прашокот од ГЈЦ. Ако направиме некаква паралела со нашите резултати, и во овој случај поголемите концентрации даваат сигнификантно помала сила на компресија во однос на контролната група. Силата на компресија се движи меѓу 175,12 МПа и 213,55 МПа за различни проценти, а контролата, т.е. ChemFil 0%, дава сила на компресија од 221,1 МПа. Секако, вредноста на измерената сила на компресија во нашата студија е помала од онаа нотирана во студијата на Turkun, но каква било компаративна анализа е несоодветна, со оглед на тоа дека и глас-јономер цементите и антимикуробните компоненти, но и процентуалните вредности се различни.

Можеби може да се направи паралела со резултатите од Takahashi *et al.* [118], кои ја анализираат силата на компресија на Fuji IX со додаден Chlorhexidine diacetate 1, 2, 3% и Chlorhexidine diacetate 1% + Chlorhexidine dihydrochloride 1%, односно Chlorhexidine diacetate 2% + Chlorhexidine dihydrochloride 2% од тежината на цементот. Под идентични услови на приготвување и складирање на примероците со нашите анализи, добиените вредности од цитираниот труд се движат во опсег од 220 МПа за 0% до 180 МПа за 3% Chlorhexidine diacetate. Во нашата студија тие вредности се движат во опсег од 139,33 МПа до 77,1 МПа за Fuji IX со СРС, односно од 146,29 МПа до 109,51 МПа за Benzalkonium Chloride. Во двата случаја само кај 1% додадена антимикуробна компонента не постои сигнификантна разлика. Разликите во вредностите на силата на компресија најверојатно се должат на видот на антимикуробното средство.

## 2.2. ОДРЕДУВАЊЕ НА ВРЕМЕ НА ВРЗУВАЊЕ

Одредување на времето на врзување е метода која се изведува со помош на Гилмор игла со одредена тежина (28 г). Во анализите беа користени истите конвенционални ГЈЦ-и како и во досегашните анализи. Начинот на нивното приготвување е мануелен, а со оглед на тоа дека времето на врзување е *de facto* време од завршувањето на мешањето до стврдувањето на цементот, тогаш и самата метода е релативно субјективна. Затоа, изведувањето на овој

тест за секој примерок мора да биде индивидуален, т.е. комплетните мерења мора да бидат изведени од едно лице. Од резултатите може да се види дека времето на врзување на ГЦЦ-ите без додаток на антимикробна компонента се разликува – 5'25" и 5', односно 4'40" и 4'30"(правени се по две контроли)<sup>20</sup>. Разликата од неколку секунди во принцип се должи на субјективниот начин на интерпретација на тестот (моментот на престанок на мешање на цементот, односно отпочнување на мерење на времето на врзување, визуализација на импресиите на примерокот, изгледот на површината на примерокот). При анализа на резултатите од ChemFlex со додаток на CPC, се забележува намалување на времето на врзување, почнувајќи од 5 минути и 25 секунди за примерокот без додаток на антимикробно средство, па сè до 3 минути и 45 секунди кај цементот со додаток на 3% CPC<sup>21</sup>. Кај другата група примероци – ChemFlex со Benzalkonium Chloride, меѓу 0% и 3% се појавува разлика од десет секунди. Нашиот резултат за одредувањето на времето на работа на ChemFlex е во согласност со она дадено од производителот – 5 минути.

Во однос на одредување на времето на врзување кај Fuji IX, комбинацијата со антимикробното соединение CPC покажува разлика од 15 секунди помеѓу 0% и 3%. Времето континуирано опаѓа со зголемување на концентрацијата. Времето на врзување на истиот цемент, но со соединението Benzalkonium Chloride не покажува никакви разлики со зголемување на концентрацијата. Податоците дадени од производителот за времето на врзување се две и пол минути и се многу помали во однос на нашите резултати.

<sup>20</sup> Види Резултатите, таб. 23.

<sup>21</sup> Види Резултатите, таб. 24.

### 3. МИКРОБИОЛОШКИ АНАЛИЗИ

Со спроведените хемиски анализи и добиените резултати, делумно се одговори на прашањето за можноста од инкорпорирање на антимикиробни соединенија во конвенционални глас-јономер цементи. Во склоп на тоа, со помош на јон-селективни електроди се увиде можноста од ослободување на хлоридни и флуоридни јони во медиум од дејонизирана вода. Со спектрофотометриските анализи се утврди можноста од ослободување на антимикиробните соединенија, додека пак со механичките анализи се анализираше цврстината на така модифицираните цементи, и се согледа нивното време на врзување.

За да се добие целосен увид на антимикиробните особини на глас-јономер цементите во кои се вградуваат антимикиробни соединенија, беа спроведени и опсежни микробиолошки анализи со референтни соеви на кариогени микроорганизми. Избраните микроорганизми беа *Streptococcus mutans* – ATCC 25175, *Lactobacillus casei* – ATCC 4646 и *Actinomyces viscosus* – ATCC 19246. Овие микроорганизми се среќаваат на различни локации на забната површина и претставуваат главни причинители за појава и развој на денгалниот кариес. Иако за микробиолошки анализи, во принцип, можат да се користат и изолати од плунка, плак или кариозни лезии од група испитаници, со што би се изолирале различни поттипови микроорганизми, сепак во литературата се користат лабораториски добиени, т.н. референтни соеви, со што и добиените резултати се со интернационална, референтна вредност. Испитуваните глас-јономер цементи, како и видот и концентрациите на антимикиробните соединенија кои се вградуваат, се идентични со оние користени во хемиските анализи. Со статистички анализи се прикажани просечните вредности на зоните на инхибиција, како и меѓусебните дејства на комбинациите на глас-јономер цементите со различни концентрации на антимикиробни соединенија кон одреден, или кон сите анализирани микроорганизми. Добиените зони на инхибиција од секоја комбинација на ГЈЦ со антимикиробна компонента, се изразени во милиметри, вклучувајќи го и дијаметарот на самите примероци. Затоа и во графичкиот приказ на резултатите хоризонталната оска не започнува од бројот 0, туку од бројот 4.

Одредувањето на зоните на инхибиција беше спроведено во четири временски периоди – по инкубацијата од 48 часа, времето е означено како нулто време; потоа по 48 часа; по една недела и по 21 ден. Кај сите комбинации беше правена и контрола, т.е. беа подготвени примероци од цементи без вградено антимикубно соединение и беше одредена зоната на инхибиција околу нив. Дискусијата за микробиолошките анализи е поделена на неколку дела, т.е. секоја комбинација на глас-јономер цемент со антимикубно соединение претставува една целина.

Антимикубното соединение **Benzalkonium Chloride** со трите анализирани концентрации, вградено во глас-јономер цементот **ChemFlex**, кон сите испитувани бактерии формира зони на инхибиција со различна големина. Во просек, зоните на инхибиција се најголеми кај 3% антимикубно соединение во првото анализирано (нулто) време. Доколку се направи поединечна споредба на антимикубниот ефект на комбинацијата ChemFlex + 1, 2 и 3% Benzalkonium Chloride кон сите три микроорганизми, најголема просечна зона на инхибиција формира 3% вградено соединение за бактеријата *Streptococcus mutans*<sup>22</sup>, додека најмала зона формира 1% кај бактеријата *Lactobacillus casei*<sup>23</sup>. Споредбата на дејството на оваа комбинација во концентрација од 1%, но кон сите анализирани бактерии, покажува најголеми просечни зони на инхибиција кон бактеријата *Streptococcus mutans*, а најмали кон *Lactobacillus casei*. Единствено во 21. ден оваа комбинација дава поголеми зони на инхибиција кон бактеријата *Actinomyces viscosus*<sup>24</sup>. Два проценти од „антимикубниот ГЈЦ“ дава најголеми зони на инхибиција и тоа: во првите два интервала за бактеријата *Streptococcus mutans*, додека во 7. и 21. ден за бактеријата *Actinomyces viscosus*<sup>25</sup>. Истите вредности се нотирани и кај 3% од комбинацијата<sup>26</sup>. Глас-јономер цементот без вградено соединение покажува одредени, мали зони на инхибиција, кои се движат од 4,17 мм до 5 мм, што го

<sup>22</sup> Види Резултатите, таб. 25.

<sup>23</sup> Види Резултатите, таб. 26.

<sup>24</sup> Види Резултатите, граф. 43.

<sup>25</sup> Види Резултатите, граф. 44.

<sup>26</sup> Види Резултатите, граф. 45.

потврдува фактот за антимикуробно дејство на цементите, а кој се должи на ослободените флуоридни и, веројатно, хлоридни јони.

И кај второанализираната комбинација, т.е. вградувањето на **Cetylpyridinium Chloride** во ГЛЦ **ChemFlex**, постои формирање на зони на инхибиција со различни, статистички значајни големини. И во овој случај најголемите зони на инхибиција се нотирани кај 3% од соединението, со пад на просечните зони на инхибиција во тек на време. Меѓутоа, за разлика од претходно анализираната комбинација (**ChemFlex** + 3% **Benzalkonium Chloride**), каде што најголемите зони беа во првиот мерен интервал, во овој случај, најголема зона на инхибиција постои во вториот мерен интервал, т.е. по 48 часа за бактеријата *Actinomyces viscosus*, што претставува и вкупно најголема добиена зона. Во одреден број периоди, кај бактериите *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus casei*, антимикуробното соединение СРС во концентрации од 1% и 2% воопшто не формира зони на инхибиција<sup>27</sup>. Споредбата на дејството на поединечните концентрации на СРС кон сите испитувани бактерии, покажува дека со сите три концентрации се формираат најголеми просечни зони на инхибиција кон бактеријата *Actinomyces viscosus*, а најмали кон *Lactobacillus casei*<sup>28</sup>.

**Benzalkonium Chloride** беше инкорпориран и во глас-јономер цементот **Fuji IX**. Гледано во целина, оваа комбинација дејствува многу послабо кон анализираните микроорганизми, што се потврдува со големиот број на несоздадени зони на инхибиција. Кај бактеријата *Streptococcus mutans* и, донекаде, кај *Lactobacillus casei* добиените резултати се парадоксални. Имено, во подоцнежните временски периоди (21. ден) или доаѓа до првично формирање на зони на инхибиција или тие се зголемуваат<sup>29</sup>. Просечните големини на зоните на инхибиција опаѓаат во тек на време единствено кај бактеријата *Actinomyces viscosus* и кај 1% *Lactobacillus casei*. Сепак, во просек, најголеми зони се формираат кај 3% антимикуробно соединение за сите бактерии, од кои вкупно најголема просечна зона на инхибиција е кон

<sup>27</sup> Види *Резултатите*, таб. 28 и 29.

<sup>28</sup> Види *Резултатите*, граф. 46, 47 и 48.

<sup>29</sup> Види *Резултатите*, таб. 31 и 32.

бактеријата *Lactobacillus casei* во нулто време – 13 мм. Во однос на дејството на поединечните концентрации кон микроорганизмите, 1% антиминосно соединение во просек формира најголеми зони на инхибиција кон бактеријата *Actinomyces viscosus* во првите два периода, додека кон *Streptococcus mutans* во последниот анализиран период<sup>30</sup>. Два и три проценти антиминосно соединение даваат најголеми зони на инхибиција кон бактеријата *Lactobacillus casei*, а најмали кон *Streptococcus mutans*<sup>31</sup>. Во однос на контролната група, односно дејството на цемент без антиминосни соединенија кон кариогените микроорганизми, просечните зони на инхибиција или ги нема, или се многу мали. Во споредба со ГЈЦ ChemFlex, Fuji IX дава многу помали зони на инхибиција за сите анализирани микроорганизми.

Антиминоското соединение **Cetylpyridinium Chloride** во концентрации од 1% и 2%, вградено во ГЈЦ Fuji IX, не создава зони на инхибиција кон бактеријата *Streptococcus mutans* – кај 3% од соединението, зоните на инхибиција се движат од 6 мм во нулто време до 5,67 мм по 21 ден<sup>32</sup>. Во однос на другите две анализирани бактерии, *Lactobacillus casei* и *Actinomyces viscosus*, антиминоското соединение формира зони на инхибиција со различни големини. Во просек, најголеми зони формира три проценти антиминосно соединение, а големината на зоните опаѓа со тек на време. Најголема зона на инхибиција е нотирана кај 3% антиминосно соединение кон бактеријата *Actinomyces viscosus*, во првото време на мерење<sup>33</sup>. Во однос на дејството на поединечните концентрации кон микроорганизмите, 1% антиминосно соединение во просек формира најголеми зони на инхибиција кон бактеријата *Lactobacillus casei* во првите три мерни интервали, а кон *Actinomyces viscosus* во последниот<sup>34</sup>. Два и три проценти антиминосно соединение формираат најголеми просечни зони на инхибиција кон бактеријата *Actinomyces viscosus*<sup>35</sup>. Кај сите три концентрации, најмали зони се формирани кон бактеријата *Streptococcus mutans*.

<sup>30</sup> Види Резултатите, граф. 49.

<sup>31</sup> Види Резултатите, граф. 50 и 51.

<sup>32</sup> Види Резултатите, таб. 34.

<sup>33</sup> Види Резултатите, таб. 36.

<sup>34</sup> Види Резултатите, граф. 52.

<sup>35</sup> Види Резултатите, граф. 53 и 54.

Компаративната анализа на добиените резултати од дејството на поединечните концентрации кон микроорганизмите, ни дава одговор на прашањата која концентрација на антимикробно соединение, вградено во глас-јономер цементите, дејствува подобро врз одделните анализирани микроорганизми. Во однос на дејството на 1%, 2% и 3% вградени соединенија врз бактеријата *Streptococcus mutans*, вкупно подобро дејство пројавуваат комбинациите на ГЈЦ ChemFlex со двете антимикробни соединенија, од кои вградувањето на *Benzalkonium Chloride* дава најголеми просечни зони на инхибиција. Најмали зони на инхибиција, т.е. најслабо дејство кон кариогената бактерија, дава комбинацијата Fuji IX + 1% и 2% СРС, како и истиот цемент, но со 3% *Benzalkonium Chloride*<sup>36</sup>.

Во однос на анализите кон бактеријата *Lactobacillus casei*, најголеми зони на инхибиција и кај 1% и кај 2% антимикробни соединенија, дава комбинацијата на ChemFlex со *Benzalkonium Chloride*, а кај 3% комбинацијата на Fuji IX со истото соединение. Кај сите три концентрации, најмали зони на инхибиција, односно најслабо дејство кон анализираната бактерија, пројавува комбинацијата на ГЈЦ ChemFlex, но со додавање на СРС<sup>37</sup>.

Податоците од анализата на дејството на „антимикробните глас-јономер цемента“ кон бактеријата *Actinomyces viscosus*, се совпаѓаат со оние кон бактеријата *Streptococcus mutans*. Имено, 1% и 2% антимикробни соединенија во комбинација со глас-јономер цементот ChemFlex, дејствуваат идентично како кон бактеријата *Streptococcus mutans*. Во однос на 3% вградени соединенија, покрај комбинацијата ChemFlex + *Benzalkonium Chloride*, поголеми зони на инхибиција создава и комбинацијата на ГЈЦ Fuji IX со *Benzalkonium Chloride*, но само во првиот и во последниот интервал. Кај сите три концентрации најмали зони на инхибиција дава ГЈЦ Fuji IX во кој е вградено соединението СРС<sup>38</sup>.

Најголемиот број студии го анализираат антимикробниот ефект на соединението хлорхексидин во форма на диацетат, глуконат, диглуконат,

<sup>36</sup> Види Резултати, граф. 55, 56 и 57.

<sup>37</sup> Види Резултати, граф. 58, 59 и 60.

<sup>38</sup> Види Резултати, граф. 61, 62 и 63.

хидрохлорид или дихидрохлорид, вградуван во конвенционални и во модифицирани глас-јономер цементи, најчесто во прашокот од глас-јономер цементите [19,58,73,105,110,118,122,132]. Најчесто анализирано е антимикуробното дејство кон кариогените микроорганизми *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* и *Actinomyces viscosus* [19,105,118,132]. Најчесто експлоатирана микробиолошка метода е агар-дифузиониот тест [19,73,105,118,122,132], а зоните на инхибиција се одредуваат во милиметри, освен студијата на Botelho [19] каде што резултатите го изразуваат кумулативниот ефект на соединенијата, прикажани во ареали на инхибиција ( $\text{mm}^2$ ). Дискутабилна е формата и начинот на кој цементите се поставуваат во Петриевите плочи. Во глобала, постојат два начина на поставување – приготвување на бунарчиња со одредени димензии во агарот и поставување на свежо замешаниот цемент (т.н. неврзан цемент), подготвување на примероци на цементот, негово врзување и матурација во лабораториски услови, и поставување на примероците во претходно подготвени бунарчиња во агарот (врзан цемент), како во нашата студија. Мислењата за тоа кој начин на анализа на антимикуробните својства е подобар, се различни. Секако, потврдено е мислењето дека неврзаните цементи даваат поголеми зони на инхибиција [105,122], што е логично поради сè уште големата подвижност на молекулите на соединенијата во течната конзистенција. Во секој случај, доколку се одредува антимикуробното дејство на неврзани материјали, би требало под исти услови на работа да се направи и анализа на готови примероци од истите материјали. Во однос на зоните на инхибиција, најголемиот број студии говорат за формирање на поголеми зони со пораст на концентрацијата, но намалување на зоните со тек на време [19,105, 122,132]. Но постојат и спротивни ставови, т.е. дека зоните на инхибиција не се во зависност од концентрациите или видот на вграденото соединение [118]. Времето на инкубација на Петриевите плочи исто така се разликува. Во некои студии тоа е 24 часа [105], а кај повеќето е 48 часа [19,118,122,132] – како и во нашата студија, што во принцип е подобро заради поголемиот раст на бактериите кои се засадени. И големините на примероците на врзаниот цемент се разликуваат кај повеќето автори, што секако влијае на големината на зоните на инхибиција. Во својата студија Botelho [19], покрај другите, ги

анализира и дејствата на антимикуробните соединенија CPC и Benzalkonium Chloride вградени во ГЈЦ Fuji IX кон микроорганизмите кои беа испитувани и во нашата студија. Иако и големината на примероците (5 мм x 2 мм) и дел од концентрациите на соединенијата, но и методологијата на анализата се различни од нашата студија, во најголемиот број комбинации Benzalkonium Chloride дава најголеми зони на инхибиција, а во дел од нив подобри и од хлорхексидинот. Најмали зони во сите комбинации и кон сите бактерии дава CPC. Takahashi [118] врши анализи на ГЈЦ Fuji IX инкорпориран со различни концентрации и комбинации на СНХ, кон бактериите *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei* и *Actinomyces viscosus*. Зоните на инхибиција меѓу *Streptococcus mutans* и *Lactobacillus casei* кај сите комбинации не покажуваат статистички значајни разлики.

Според најголем број литературни податоци [19,118,122,132], реставративните материјали, а пред сè глас-јономер цементите во кои не се вградени антимикуробни соединенија или елементи, не формираат зони на инхибиција. Во својата студија Vermeersch [132] го анализира антимикуробниот ефект на повеќе реставративни материјали без додаток на антимикуробни соединенија: конвенционален ГЈЦ – Ketac Fil Plus, смолесто-модифициран ГЈЦ – Fuji II Liner, смолесто-модифициран лајнер Vitrebond, компомер Dugast и антибиотик ампицилин како контрола. Резултатите од студијата покажуваат дека, до колку го исклучиме антибиотикот, најголеми зони на инхибиција се јавуваат кај смолесто-модифицираниот ГЈЦ – Fuji II Liner, смолесто-модифицираниот лајнер Vitrebond, но и дека поголемиот број материјали не формираат зони на инхибиција.

## **VII. ЗАКЛУЧОЦИ**

- Ослободувањето на хлоридни јони од двата анализирани глас-јономер цементи инкорпорирани со антимикробните соединенија е право-пропорционално со порастот на концентрацијата на соединенијата. Глас-јономер цементите без вградено антимикробно соединение ослободуваат хлоридни јони, но со помали вредности.
- При споредба на исти концентрации на антимикробните соединенија, поголемо ослободување на хлоридни јони од ГЈЦ-ите даваат комбинациите: 1% Benzalkonium Chloride, и 2% и 3% - Cetylpyridinium Chloride, вградени во ChemFlex, и сите три концентрации со Benzalkonium Chloride вградени во Fuji IX.
- Просечно повеќе хлоридни јони се ослободуваат од глас-јономер цементот Fuji IX отколку од цементот ChemFlex, а поединечно најголемо ослободување на хлоридни јони помеѓу сите комбинации дава комбинацијата ChemFlex + 3 % Cetylpyridinium Chloride.
- Ослободувањето на флуоридни јони од двата анализирани глас-јономер цементи инкорпорирани со антимикробните соединенија е обратнопропорционално со порастот на концентрацијата на соединенијата, освен кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride. Глас-јономер цементите без вградено антимикробно соединение ослободуваат флуоридни јони, со поголеми вредности.
- При споредба на исти концентрации на антимикробните соединенија, поголемо ослободување на флуоридни јони од ГЈЦ-ите даваат комбинациите: 1% и 2% – Cetylpyridinium Chloride, и 3% Benzalkonium Chloride, вградени во ChemFlex, и сите три концентрации со Benzalkonium Chloride вградени во Fuji IX.
- Просечно повеќе флуоридни јони се ослободуваат од глас-јономер цементот ChemFlex отколку од цементот Fuji IX, а поединечно најголемо ослободување на флуоридни јони помеѓу сите комбинации дава комбинацијата ChemFlex + 1% Cetylpyridinium Chloride.

- Без инкорпорирано антиминобрно соединение, глас-јономер цементот Fuji IX просечно ослободува повеќе хлоридни јони, а ГЈЦ ChemFlex флуоридни јони.
- Антиминобрните соединенија Benzalkonium Chloride и Cetylpyridinium Chloride континуирано се ослободуваат од глас-јономер цементите со вредности коишто се правопрпорционални и со времето и со концентрацијата, со исклучок на комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride.
- При споредба на исти концентрации, просечно поголемо ослободување на антиминобрни соединенија кај ChemFlex дава 1% и 2% Benzalkonium Chloride и 3% Cetylpyridinium Chloride, а кај Fuji IX поголемо просечно ослободување кај сите концентрации дава Benzalkonium Chloride.
- Просечно поголемо ослободување на антиминобрни соединенија постои кај комбинациите со ГЈЦ Fuji IX во однос на ГЈЦ ChemFlex, а поединечно најголемо ослободување се јавува кај 1% Benzalkonium Chloride вграден во ГЈЦ Fuji IX, а најмало ослободување постои кај соединението 1% CPC во комбинација со истиот цемент.
- Добиените вредности од ослободувањето на антиминобрни соединенија при промена на медиум се во просек помали од вредностите добиени при анализа на кумулативниот ефект. Најголеми вредности во одредени периоди дава комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, а просечно најголемо ослободување на антиминобрни соединенија дава комбинацијата ChemFlex + Cetylpyridinium Chloride.

- Глас-јономер цементот MP4 во комбинација со антимикробните соединенија ослободува високи нивоа на хлоридни јони, кои во комбинација со Benzalkonium Chloride се во просек поголеми отколку со CPC.
- Во споредба со конвенционалните глас-јономер цемента, ГЈЦ MP4 дава сигнификантно поголемо ослободување и на хлоридни јони и на антимикробни соединенија.
- Силата на компресија опаѓа со зголемување на концентрацијата на антимикробните соединенија, освен кај комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride.
- Комбинациите и на двата ГЈЦ-и со Benzalkonium Chloride, покажуваат просечно поголема сила на компресија во однос на комбинациите со Cetylpyridinium Chloride.
- Просечно најголема сила на компресија има комбинацијата Fuji IX + Benzalkonium Chloride, а најслаба комбинацијата ChemFlex + CPC.
- Со зголемување на концентрацијата на антимикробните соединенија се зголемуваат и просечните зони на инхибиција кон трите анализирани микроорганизми. Глас-јономер цементите без вградени антимикробни соединенија или формираат многу мали или воопшто не формираат зони на инхибиција.
- Од согледаниот ефект на антимикробните соединенија врз испитуваните бактерии можеме да заклучиме дека:
  - Врз бактериите *Streptococcus mutans* и *Actinomyces viscosus* најдобро дејствува комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, а најслабо дејство има комбинацијата Fuji IX + CPC;

- Врз бактеријата *Lactobacillus casei*, исто така најдобро дејствува комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, но најслабо дејство има комбинацијата ChemFlex + CPC.
- Антимикробното соединение Benzalkonium Chloride има поголем антимикробен ефект од Cetylpyridinium Chloride, а ГЈЦ ChemFlex има поголемо ослободување на антимикробни соединенија отколку Fuji IX, од што може да се заклучи дека генерално најдобро дејство врз сите испитувани кариогени микроорганизми има комбинацијата ChemFlex + Benzalkonium Chloride, а најслабо Fuji IX + CPC.

## **VIII. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА**

1. **A. J. Bard, L. Faulkner** (2000). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. New York: Wiley. ISBN 978-0471043720.
2. **Achong RA., Briskie DM., Hildebrandt GH., Feigal RJ., Loesche WJ.** Effect of chlorhexidine varnish mouthguards on the levels of selected oral microorganisms in pediatric patients. *Pediatr Dent* 1999; 21(3): 169-75.
3. **Adams D., Addy M.** Mouthrinses. *Adv Dent Res* 1994; 8(2): 291-301. (2 Magisterium)
4. **Anderson MH., Bratthall D., Einwag J., Elderton RJ., Ernst CP., Levin RP., Tynelius-Bratthall G., Willershausen-Zönnchen B.** *Professional Prevention in Dentistry*. Williams & Wilkins. Baltimore, Philadelphia, Hong Kong, London, Munich, Sydney, Tokyo: A Waverly Company, 1994.
5. **Angulo M., Cabanas B., Camporeale N., Emilson CG.** Dental caries and caries-associated microorganisms in Uruguayan preschool children. *Acta Odontol Scand* 1999; 57(6): 301-5.
6. **Ansai T., Tahara A., Ikeda M., Katoh Y., Miyazaki H., Takehara T.** Influence of colonization with mutans streptococci on caries risk in Japanese preschool children: 24 month survival analysis. *Pediatr Dent* 2000; 22(5): 377-80.
7. Anti-microbial agents and treatments with special reference to dental caries. International Health Care Foundation. *General Reviews*. Department of Cariology, Faculty of Odontology, Malmö University, Sweden, 1999.
8. Anti-microbial agents and treatments with special reference to dental caries. International Health Care Foundation. *General Reviews*. Department of Cariology, Faculty of Odontology, Malmö University, Sweden, 1999.
9. **Araujo FB, Garcia-Godoy F, Cury JA, Conceicao EN.** Fluoride release from fluoride-containing materials. *Oper Dent* 1996;21:185-90.
10. Atraumatic Restorative Treatment (ART) for tooth decay. A Global Initiative 1998-2000 Division of Noncommunicable Diseases; Oral Health Programme; WHO 1998
11. **Attar N., Onen A.** Fluoride release and uptake characteristics of aesthetic restorative materials *J Oral Rehab* 2002;29:791-798.
12. **Babaahmady KG., Challacombe SJ., Marsh PD., Newman HN.** Ecological study of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* and *Lactobacillus* spp. at sub-sites from approximal dental plaque from children. *Caries Res* 1998; 32(1): 51-58.
13. **Bakker E., Qin Y.** Electrochemical sensors. *Anal. Chem.* 78 (12): 3965-3984.
14. **Bard AJ., Faulkner L.** *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Second edition 2000 New York: Wiley. ISBN 978-0471043720.
15. **Berg J.H.** The continuum of restorative materials in pediatric dentistry - a review for the clinician *Pediatric Dentistry* 1998; 20(2): 93-100
16. **Billington R.W., Williams J.A., Dorban A., Pearson G.J.** Glass ionomer cement: evidence pointing to fluorine release in the form of monofluorophosphate in addition to fluoride ion. *Biomaterials* 2004; 25: 3399-3402.
17. **Block, SS.** *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Fourth Edition. Philadelphia - London: Lea & Febiger, 1991.

18. **Botelho MG.** Compressive strength of glass ionomer cements with dental antibacterial agents. *SADJ* 2004;59(2):51-53
19. **Botelho MG.** Inhibitory effects on selected oral bacteria of antibacterial agents incorporated in a glass ionomer cements. *Caries research* 2003;37:108-114
20. **Bowden GH.** Mutans streptococci caries and chlorhexidine. *J Can Dent Assoc* 1996; 62(9): 703-7.
21. **Bowen WH.** Vaccine against dental caries – a personal view. *J Dent Res* 1996; 75(8): 1530-2.
22. **Brambilla E., Felloni A., Gagliani M., Malerba A., Garcia-Goody F., Strohmer L.** Caries prevention during pregnancy: results of a 30-month study. *J Am Dent Assoc* 1998; 129(7): 871-77.
23. **Brambilla E., Twetman S., Felloni A., Cagetti MG., Canegallo L., Garcia-Godoy F., Strohmer L.** Salivary mutans streptococci and lactobacilli in 9-and 13-year-old Italian schoolchildren and the relation to oral health. *Clin Oral Investig* 1999; 3(1): 7-10.
24. **Bresciani E.** Clinical trials with atraumatic restorative treatment (ART) in deciduous and permanent teeth. *J App Oral Sci* 2006; 14(sp. Issue):14-9
25. **Buck RP., Lindner E.** Recommendations for nomenclature of ion-selective electrodes. 1994 *Pure & App. Chem.* 66 (12): 2527–2536.  
<http://www.iupac.org/publications/pac/1994/pdf/6612x2527.pdf>.
26. **Campus G., Lumbau A., Bachisio SL.** Caries experience and streptococci and lactobacilli salivary levels in 6-8-year-old Sardinians. *Int J Pediatr Dent* 2000; 10(4): 306-12.
27. **Carvalho TS., Ribeiro TR., Bönecker M., Pinheiro ECM., Colares V.** The atraumatic restorative treatment approach: an “atraumatic” alternative. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2009; 1:14(12) 668-73
28. **Cattani-Lorente MA., Godin C., Mayer JM.** Mechanical behavior of glass ionomer cements affected by long-term storage in water. *Dent Mater.* 1994;(10)1:37-44
29. **Caufield CW., Griffen AL.** Dental caries: An infectious and transmissible disease. *Pediatric Clinics of North America* 2000; 47(5): 1001-19.
30. **Charles CH., Pan PC., Sturdivant L., Vincent JW.** In vivo antimicrobial activity of an essential oil-containing mouthrinse on interproximal plaque bacteria. *J Clin Dent* 2000; 11(4): 94-7.
31. **Charles CH., Sharma NC., Galustians HJ., Qaqish J., McGuire JA., Vincent JW.** Comparative efficacy of an antiseptic mouthrinse and an antiplaque/antigingivitis dentifrice. A six-month clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2001; 132(5): 670-5.
32. **Chestnutt IG., MacFarlane TW., Stephen KW.** An in vitro investigation of the cariogenic potential of oral streptococci. *Arch Oral Biol* 1994; 39(7): 589-93.
33. **Ciancio S.** Expanded and future uses of mouthrinses. *J Am Dent Assoc* 1994; 125 Suppl 2: 29S-32S.
34. **Croll T.P., Nicholson J.W.** Glass ionomer cements in pediatric dentistry: review of the literature *Pediatric Dentistry* 2002; 24(5): 423-429.
35. **Culbertson B.M.** Glass-ionomer dental restoratives. *Prog Polym Sci* 2001; 26:577-604.

36. Davidovich E., Weiss E., Fuks AB., Beyth N. Surface antibacterial properties of glass ionomer cements used in atraumatic restorative treatment. *J Am Dent Assoc* 2007; 138: 1347-52.
37. Dental Standards Committee, BS 6039:1981. British Standard Specification for Dental Glass Ionomer Cements, British Standard Institution; 1981.
38. DePaola LG., Minah GE., Overholser CD., Meiller TF., Charles CH., Harper DS., McAlary M. Effect of an antiseptic mouthrinse on salivary microbiota. *Am J Dent* 1996; 9(3): 93-5.
39. DeSchepper EJ, Berry EA, Cailleteau JG, Tate WH. A comparative study of fluoride release from glass-ionomer cements. *Quint Int* 1991;22:215-20.
40. DeSoet JJ., Van Loveren C., Lammens AJ., Pavicic MJ., Homburg CH., Ten Cate JM., De Graaff J. Differences in cariogenicity between fresh isolates of *Streptococcus sobrinus* and *Streptococcus mutans*. *Caries Res* 1991; 25(2): 116-22.
41. Diaz-Arnold AM, Holmes DC, Wistrom DW, Swift EJ. Short-term fluoride release/uptake of glass ionomer restorations. *Dent Mater* 1995;11:96-101.
42. Димков А. Микробиолошки аспекти на хемиски и механички средства за орална хигиена кај школски деца Магистерски труд 2003.
43. Dionysopoulos P., Kotsanos N., Pataridou A. Fluoride release and uptake by four new fluoride releasing restorative materials *J Oral Rehab* 2003; 30(9):866-872.
44. Drummond JL., Lenke JW., Randolph RG. Compressive strength comparison and crystal morphology of dental cements. *Dent Mater.* 1988;4(1):38-40.
45. Duguid R., Senior BW. The effect of fluoride on *Streptococcus sanguis* 7863 IGA1 protease production and activity. *Archives of Oral Biology* 1997;42:821-5.
46. Edgar WM., O'Mullane DM. *Saliva and Oral Health*. Second Edition. British Dental Association, 1999.
47. Eldridge KR., Finnie SF., Stephens JA., Mauad AM., Munoz CA., Kettering JD. Efficacy of an alcohol-free chlorhexidine mouthrinse as an antimicrobial agent. *J Prosthet Dent* 1998; 80(6): 685-90.
48. Еленчевска С. Корелација помеѓу бактериолошките наод во кариозните маси, џлунката и примарната бактеријска имплантација на клинички здрава емајлова површина (магистерски труд). Скопје: Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Стоматолошки факултет, 1993.
49. El-Nadeef M., Saleh A., Amin S., Honkala E. Assessment of the atraumatic restorative treatment for the schoolchildren in Egypt. *J Minim Interv Dent* 2009;2(3)
50. El-Nadeef MA., Adegbembo AO., Adeyinka A. Distribution of mutans streptococci among Nigerian school children. *Afr Dent J* 1994; 8: 11-15.
51. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. *J Dent Res* 1994; 73(3): 682-91.
52. Epstein JB., McBride BC., Stevenson-Moore P., Merilees H., Spinelli J. The efficacy of chlorhexidine gel in reduction of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* species in patients treated with radiation therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71(2): 172-8.
53. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 2000.

54. Fine DH., Furgang D., Lieb R., Korik I., Vincent JW., Barnett ML. Effects of sublethal exposure to an antiseptic mouthrinse on representative plaque bacteria. *J Clin Periodontol* 1996; 23(5): 444-51.
55. Forgie AH., Paterson M., Pine CM., Pitts NB., Nugent ZJ. A randomised controlled trial of the caries-preventive efficacy of a chlorhexidine-containing varnish in high-caries-risk adolescents. *Caries Res* 2000; 34(5): 432-9.
56. Forsten L. Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and uptake. *Acta Odontol Scand* 1995;53:222-5.
57. Frenchen J.E., Imazato S., Toi C., Mulder J., Mickenautsch S., Takahashi Y., Ebisu S. Antibacterial effect of chlorhexidine-containing glass ionomer cement in vivo: a pilot study.
58. Frencken J., Amerongen E., Phantumvanit P., Songpaisan Y. Pilot T. Manual for the atraumatic restorative treatment approach to control dental caries. Dental Health International Nederland [http://www.dhin.nl/art\\_manual\\_main.htm](http://www.dhin.nl/art_manual_main.htm) ISBN 90-803296-1-4
59. Gerdullo ML., Nakamura SCB., Suga RS., Navarro MFL. Resistencia a compressao e a tracao diametral de cimentos de ionomero de vidro indicados para cimentacao. *Rev Odontol Univ Sao Paulo*. 1995;9(1):17-22
60. Grobler SR, Rossouw RJ, VanWykKotze TJ. A comparison of fluoride release from various dental materials. *J Dent* 1998;26:259-65.
61. Gunay H., Dmoch-Bockhorn K., Gunay Y., Geurtsen W. Effect of caries experience of a long-term preventive program for mothers and children starting during pregnancy. *Clin Oral Investig* 1998; 2(3): 137-42.
62. Hattab FN, Green R, Pang K, Mok Y. Effect of fluoride-containing chewing gum on remineralization of caries-like lesions and on fluoride uptake in man. *Clin Prev Dent* 1989;11:6-11.
63. Hengtrakool C., Pearson G.J., Wilson M. Interaction between GIC and *S.sanguis* biofilms: Antibacterial properties and changes of surface hardness *J Dentistry* 2006; 34:588-597
64. Hildebrandt GH. Effect of repeated treatment with sustained-release chlorhexidine mouth guards on salivary levels of mutans streptococci. *Caries Res* 1996; 30(6): 445-53.
65. Hildebrandt GH., Pape HR. Jr., Syed SA., Gregory WA., Friedman M. Effect of slow-release chlorhexidine mouthguards on the levels of selected salivary bacteria. *Caries Res* 1992; 26(4): 268-74.
66. Hirose H., Hirose K., Isogai E., Miura H., Ueda I. Close association between *Streptococcus sobrinus* in the saliva of young children and smooth-surface caries increment. *Caries Res* 1993; 27(4): 292-7.
67. Hoffmann T., Bruhn G., Richter S., Netuschil L., Brex M. Clinical controlled study on plaque and gingivitis reduction under long-term use of low-dose chlorhexidine solutions in a population exhibiting good oral hygiene. *Clin Oral Investig* 2001; 5(2): 89-95.
68. Hoszek A., Ericson D. Transient reduction of mutans streptococci on tooth surfaces using a chlorhexidine-containing glass ionomer cement varnish. *Sweed Dent J* 1999; 23(2-3): 97-105.
69. Hoszek A., Pierreville F., Schitteck M., Ericson D. Fisure penetration and antimicrobial effect in vitro of a glass ionomer cement containing chlorhexidine gluconate. *Sweed Dent J* 1998; 22(4): 133-41.

70. International Health Care Foundation. *Relation to caries, site specific prevalence*. Department of Cariology, Faculty of Odontology, Malmö University, Sweden, 1999.
71. International Organization for Standardization. ISO 7489. Dental glass polyalkenoate cements. Geneva; 1986.
72. Јанкуловска М., Мирчева М., Петрова М. Степенот на колонизација на плунката со Стрептоцоцус мутанс кај пациенти со различен кариес активитет. *II конгрес на стоматолозиите од Македонија – Охрид: Апстракти*, 1998: 12.
73. Jedrychowski JR., Caputo AA., Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. *J Oral Rehabil* 1983; 10(5):373-81.
74. Jenninson HF. et al. Streptococcal adhesion and colonization. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(2): 175-200.
75. Joop A, Jan R. Fluoride release from a composite resin. *Quint Int* 1988; 19:513-4.
76. Karjalainen S., Karjalainen M., Soderling E. Effect of sucrose rinses on the oral microflora and on salivary sucrose activity. *Caries Res* 1993; 27(1): 38-42.
77. Kikwilu EN., Frencken J., Mulder J. Impact of atraumatic restorative treatment (ART) on the treatment profile in pilot government dental clinics in Tanzania. *BMC Oral Health* 2009; 9:14
78. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to Streptococcus mutans and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(2): 108-25.
79. Kneist S., Kunzel W., Pasold R. Die verbreitung von Mutans Streptokokken und Laktobazillen in abhengigkeit vom kariesbefall bei 11-bis 12 jahrigen kindern. *Dtsch Zahn Mund Kieferheirld Zentralbl* 1992; 80(6): 319-22.
80. Kubert D., Rubin M., Barnett ML., Vincent JW. Antiseptic mouthrinse - induced microbial cell surface alterations. *Am J Dent* 1993; 6(6): 277-9.
81. Leunga D., Spratt D.A., Pratten J., Gulabivala K., Mordan N.J., Young M.N. Chlorhexidine-releasing methacrylate dental composite materials *Biomaterials* 2005; 26:7145-7153.
82. Llana-Pay MC., Montanana-Llorens C., Forner-Navarro L. Cariogenic oral flora and its relation to dental caries. *ASDC J Dent Child* 2000; 67(1): 42-6.
83. Lopez N., Simpser-Rafalin S., Berthold P. Atraumatic restorative treatment for prevention and treatment of caries in an underserved community. *American Journal of Public Health* 2005; 95(8)
84. Mallmann A., Ataide JCO., Amoedo R., Rocha PV., Jacques LB. Compressive strength of glass ionomer cements using different specimen dimensions. *Braz Oral Res* 2007; 21(3).
85. Mandel ID. Antimicrobial mouthrinse: overview and update. *J Am Dent Assoc* 1994; 125 Suppl 2: 2S-10S.
86. Marsh PD. Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. *Caries Res* 1993; 27 Suppl 1: 72-6.
87. Marsh PD., Featherstone A., McKee AS. et al. A microbiological study of early caries of approximal surfaces in schoolchildren. *J Dent Res* 1989; 68(7): 1151-4.

88. Mazzaoui SA., Burrow MF., Tays MJ. Fluoride release from glass ionomer cements and resin composites coated with a dentin adhesive. *Dent Mater* 2000; 16:166-171.
89. McComb D., Sirisko R., Brown J. Comparison of physical properties of commercial glass ionomer luting cements. *J Can Dent Assoc.* 1984; 50(9):699-701.
90. McLean J.W., Nicholson J.W.; Wilson A.D. Proposed nomenclature for glass-ionomer dental cements and related materials. *Quintessence Int* 1994; 25(9): 587-589.
91. Mickenautsch S., Grossman ES. Atraumatic restorative treatment (ART) – factors affecting success. *J Minim Interv Dent* 2008; 1(2).
92. Momesso MGC., da Silva RC., Imparato JCP., Molina C., Navarro RS., Ribeiro SJL. “In Vitro” surface roughness of different glass ionomer cements indicated for ART restorations. *Braz J Oral Sci* 2010; 9(2):77-80.
93. Mosci F., Perito S., Bassa S., Capuano A., Marconi PF. The role of Streptococcus mutans in human caries. *Minerva Stomatol* 1990; 39(5): 413-29.
94. Nancy J., Dorignac G. Lactobacilli from the dentin and saliva in children. *J Clin Pediatr Dent* 1992; 16(2): 107-11.
95. Netuschil L., Weiger R., Preisler R., Brex M. Plaque bacteria counts and vitality during chlorhexidine, Meridol and Listerine mouthrinses. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(6): 355-61.
96. Nicholson J.W. Adhesive dental materials and their durability. *IntJAdhesionAdhesives* 2000;20:11-16.
97. Nicholson J.W. Chemistry of glass-ionomer cements: a review *Biomaterials* 1998; 19: 485-494.
98. Nicholson J.W. Glass-ionomer cements in dentistry: the current position. 2006. A review given by author.
99. Nitrate Electrode Instruction Manual, ThermoFisher Scientific, Beverly, MA 01915
100. O'Sullivan DM., Thibodeau EA. Caries experience and mutans streptococci as indicators of caries incidence. *Pediatr Dent* 1996; 18(5): 371-4.
101. Palmer G., Jones FH., Billington RW., Pearson GJ. Chlorhexidine release from an experimental glass ionomer cement *Biomaterials* 2004; 25:5423-5431.
102. Petti S., Bossa MC., Tarsitani G., Falcolini G., Lumbau A., Campus G. Variables affecting salivary Streptococcus mutans counts in a cohort of 12-year-old subjects. *Minerva Stomatol* 1999; 48(9): 361-6.
103. Pitten FA., Kramer A. Efficacy of cetylpyridinium chloride used as oropharyngeal antiseptic. *Arzneimittelforschung* 2001; 51(7): 588-95.
104. Radford JR., Beighton D., Nugent Z., Jackson RJ. Effect of use of 0.05% cetylpyridinium chloride mouthwash on normal oral flora. *J Dent* 1997; 25(1): 35-40.
105. Ribeiro J., Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements *Scand J Dent Res* 1991; 99(6):533-40.
106. Rich D.W., Grigg B., Snyder G.H. Determining ammonium and nitrate using a gas sensing ammonia electrode. 2006 *Soil and Crop Science Society of Florida (Proceedings, Vol. 65):1-4*

107. **Roshan NM., Shigli AL., Desphande SD.** Microbiological evaluation of salivary *Streptococcus mutans* from children of age 5-7 years, pre- and post-atraumatic restorative treatment. *Contemp Clin Dent* 2010; 1 (2)
108. **Russel RR.** New approaches in oral microbiology. *J R Soc Med* 1994; 87(11): 669-71.
109. **Samaranayake LP.** *Essential Microbiology for Dentistry.* Churchill Livingstone, 1996.
110. **Sanders B.J., Gregory R.L., Moore K., Avery D.R.** Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine *J Oral Rehab* 2002; 29: 553-558.
111. **Schriks MCM., van Amerongen WE.** Atraumatic perspective of ART: psychological aspects of treatment with and without rotary instruments. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003;31:15-20
112. **Shiu-yin Cho, Ansgar C.C.** A review of glass-ionomer restorations in the primary dentition. *J Can Dent Assoc* 1999; 65:491-5.
113. **Simson Lloyd,** [www.microbelibrary.org/](http://www.microbelibrary.org/)
114. **Slavkin HC.** Observations: *Streptococcus mutans*, early childhood caries and new opportunities. *J Am Dent Assoc* 1999: 1787-92.
115. **Smith D.C.** Development of glass-ionomer cement systems. *Biomaterials* 1998;19:467-478.
116. **Strother JM, Kohn DH, Dennison JB, Clarkson BH.** Fluoride release and re-uptake in direct tooth colored restorative materials. *Dent Mater* 1998;14:129-36.
117. **Šutalo J. i suradnici.** *Patologija i terapija tvrdih zubnih tkiva.* Zagreb: Naklada Zadro, 1994.
118. **Takahashi Y., Imazato S., Kaneshiro AV., Ebisu S., Frencken JE., Tay FR.** Antibacterial effects and physical properties of glass-ionomer cements containing chlorhexidine for the ART approach *Dent Mater* 2006;22(7):647-52.
119. **Tatevossian A.** Fluoride in dental plaque and its effects *Journal of Dental Research* 1990;69(Spec No.):645-52.
120. **Tenovuo J., Hakkinen P., Paunio P., Emilson CG.** Effects of chlorhexidine-fluoride gel treatments in mothers on the establishment of mutans streptococci in primary teeth and the development of dental caries in children. *Caries Res* 1992; 26(4): 275-80.
121. **Thibodeau EA., O'Sullivan DM.** Salivary mutans streptococci and caries development in the primary and mixed dentitions of children. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27(6): 406-12.
122. **Turkun SL., Turkun M., Ertugrul F., Ates M., Brugger S.** Long-term antibacterial effects and physical properties of a chlorhexidine - containing glass ionomer cements. *J Comp* 2008;20(1):21-44
123. **Twetman S., Grindefjord M.** Mutans streptococci suppression by chlorhexidine gel in toddlers. *Am J Dent* 1999;12(2): 89-91.
124. **Twetman S., Petersson LG.** Comparison of the efficacy of three different chlorhexidine preparations in decreasing the levels of mutans streptococci in saliva and interdental plaque. *Caries Res* 1998; 32(2): 113-8.

125. **Twetman S., Petersson LG.** Effect of diferent chlorhexidine varnish regimens on mutans streptococci levels in interdental plaque and saliva. *Caries Res* 1997; 31(3): 189-93.
126. **Twetman S., Petersson LG.** Interdental caries incidence and progression in relation to mutans streptococci suppression after chlorhexidine-thymol varnish treatments in schoolchildren. *Acta Odontol Scand* 1999; 57(3): 144-8.
127. University of Florida Health Science Center: Advance in caries vaccine research. 2001: [www.health.ufl.edu/hsc](http://www.health.ufl.edu/hsc)
128. University of Florida Health Science Center: Dental researcher develops genetically altered bacteria strain that may fight cavities for a lifetime. 2000: [www.health.ufl.edu/hsc](http://www.health.ufl.edu/hsc)
129. **Upadhyia NP.** Glass ionomer cement – the different generations. *Trends in Biomaterials&Artefctial Organs* 2005;18(2)
130. **Van Houte J.** Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1994; 73(3): 672-81.
131. **Van Steenberghe D., Avontroodt P., Peeters W., Pauwels M., Coucke W., Lijnen A., Quirynen M.** Effect of different mouthrinses on morning breath. *J Periodontol* 2001; 72(9): 1183-91.
132. **Vermeersch G., Leloup G., Delmee M., Vreven J.** Antibacterial activity of glass-ionomer cements, compomers and resin composites: relationship between acidity and material setting phase. *J Oral Rehab* 2005; 32:368-374.
133. **Wallman C., Krasse B., Birkhed D., Diacono S.** The effect of monitored chlorhexidine gel treatment on mutans streptococci in margins of restorations. *J Dent* 1998; 26(1): 25-30.
134. **Weiger R. et al.** Vital microorganisms in early supragingival dental plaque and in stimulated human saliva. *J Periodontol Res* 1997; 32(2): 233-40.
135. **Welbury RR.** *Pediatric Dentistry.* Oxford University Press, 1999.
136. Wikipedia [www.wikipedia.org/](http://www.wikipedia.org/)
137. **Williams J.A., Billington R.W., Pearson G.J.** Comparison of ion release from glass ionomer cement as a function of the method of incorporation of added ions. *Biomaterials* 1999; 20:589-594.
138. **Williams J.A., Briggs E., Billington R.W., Pearson G.J.** The effects of adding fluoride compounds to a fluoride-free glass-ionomer cement on a subsequent fluoride and sodium release. *Biomaterials* 2003; 24: 1301-1308.
139. **Williams JA., Billington RW.** Increase in compressive strength of glass ionomer restorative materials with respect to time: a guide to their suitability for use in posterior primary dentition. *J Oral Rehabil.* 1989;16(5):475-9.
140. **Wilson AD, Groffman DM, Kuhn AT.** The release of fluoride and other chemical species from a glass ionomer cement. *Biomaterials* 1985;6:431-3.
141. **Yawetz, Melnick.** *Medical Microbiology – Normal Microbial Flora of the Human Body.* 12<sup>th</sup> edition. Lange Medical Book, 1995: 167-71.
142. **Yoshihara A., Sakuma S., Kobayashi S., Miyazaki H.** Antimicrobial effect of fluoride mouthrinse on mutans streptococci and lactobacilli in saliva. *Pediatr Dent* 2001; 23(2): 113-7.
143. **Young A. D.** Treating Caries Chemically: Fact and Fiction ADA Continuing Education Recognition Program 2006.

144. **Zoitopoulos L., Brailsford SR., Gelbier S., Ludford RW., Marchant SH., Beighton D.** Dental caries and caries-associated micro-organisms in the saliva and plaque of 3- and 4-year-old Afro-Caribbean and Caucasian children in south London. *Arch Oral Biol* 1996; 41(11): 1011-8.

ДОПОЛНИТЕЛНО КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

145. **Mitra SB., Kedrowski BL.** Long-term mechanical properties of glass ionomers. *Dent Mater* 1994; 10: 78-82.
146. **Namaba N.et al.,** Antibacterial effect of bactericide immobilized in resin matrix. *Dent Mater* 2009; 25: 424-30.