



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ

**AKRİLİK REZİN MATERYALLERİNE FARKLI
ORANLARDA ÇAY AĞACI YAĞI
EKLENMESİNİN CANDIDA ALBİCANS
İNHİBİSYONUNA VE MATERYALLERİN
YÜZEY PÜRÜZLÜLÜĞÜNE ETKİSİ**

FURKAN KARAMUSTAFA

UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. Elif AYDOĞAN AYAZ

TRABZON-2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ

**AKRİLİK REZİN MATERYALLERİNE FARKLI
ORANLARDA ÇAY AĞACI YAĞI
EKLENMESİNİN CANDIDA ALBİCANS
İNHİBİSYONUNA VE MATERYALLERİN
YÜZEY PÜRÜZLÜLÜĞÜNE ETKİSİ**

FURKAN KARAMUSTAFA
ORCID: 0000-0002-9949-5300

UZMANLIK TEZİ

Doç. Dr. Elif AYDOĞAN AYAZ
ORCID: 0000-0002-9577-5700

TRABZON-2021

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

.../.../.....

Furkan KARAMUSTAFA
(İmza)

İthaf

Uzmanlık tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, sevgileri ve destekleriyle her zaman yanımda olan aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez dönemim boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen, mesleki ve akademik tecrübeleri ile yol göstererek her zaman yanımda olan tez danışmanım, kıymetli hocam Doç. Dr. Elif AYDOĞAN AYAZ'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Sedanur TURGUT, Prof. Dr. Fatih Mehmet KORKMAZ ve Prof. Dr. Subutay Han ALTINTAŞ'a,

Tezimin istatistiksel analizinde bilgisinden faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Tamer TÜZÜNER'e,

Tezimin mikrobiyolojik deneylerinin yürütülmesine yardımcı olan ve bilgileriyle katkı sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Cihan İNAN'a

Tez çalışmama TDH-2020-8823 numarası ile destek sağlayan Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine,

Varlıkları ile bana güç veren, karşılıksız sevgilerini üzerimde hep hissettiğim, canım aileme ve sevgili eşime

Teşekkürlerimi sunarım.
Furkan KARAMUSTAFA

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xiv
ÖZET	xvi
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Akrilik Rezınlerin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri	4
2.2. Polimerizasyon Reaksiyonu	6
2.3. Protez Kaide Rezınleri Sınıflandırması	7
2.4. Protez Kaide Materyallerinin Sahip Olması Gereken Özellikler	7
2.5. Protez Kaide Materyali Olarak Kullanılan PMMA İçerikli Akrilik Rezınlerin Sahip Olması Gereken Kimyasal, Fiziksel, Mekanik ve Biyolojik Özellikler	8
2.5.1. PMMA'nın Kimyasal Özellikleri	8
2.5.2. PMMA'nın Fiziksel Özellikleri	9
2.5.2.1. Yüzey Pürüzlülüğü	9
2.5.3. PMMA'nın Mekanik Özellikleri	11
2.5.4. PMMA'nın Biyolojik Özellikleri	11
2.6. Kaide Plağına Bağlı Oluşan Lokal Doku Reaksiyonları	12
2.6.1. Alerji	12
2.6.2. Protez Hiperplazisi	13
2.6.3. Protez Stomatiti	13
2.6.3.1. Sınıflama	14
2.6.3.2. Etiyoloji	14

2.7. Ağız Mikrobiyolojisi	17
2.7.1. Biyofilm	17
2.7.2. Biyofilm Oluşum Fazları	18
2.7.3. Biyofilm Oluşumunun Klinik Önemi	19
2.7.4. Biyofilm Oluşumu	20
2.8. Candida Albicans'ın Protez Stomatitindeki Rolü	21
2.8.1. Adezyon	22
2.8.2. Enzimler	23
2.8.3. Hif Oluşturma	24
2.9. Candida Albicans'ın Protez Akrilik Yüzeylerine Tutunmasını Etkileyen Faktörler	24
2.9.1. Protez Yüzeyinin Etkisi	24
2.9.2. Tükürüğün Etkisi	25
2.9.3. Protez Hijyeni	25
2.10. Mikrobiyal Hücre Sayımı Yöntemleri	26
2.10.1. Spektrofotometri	27
2.10.2. Petri Sayımı	27
2.11. Ağızda Gözlenen Kandidal Hastalıklar	27
2.11.1. Psödomembranöz Kandidiyazis	27
2.11.2. Eritematöz Kandidiyazis	28
2.11.3. Hiperplastik Kandidiyazis	28
2.11.4. Angüler Keilitis	28
2.12. Tedavi Protokolleri	29
2.12.1. Güncel İlaç Tedavileri	29
2.12.1.1. Azol Türevleri	29
2.12.1.2. Polien Türevleri	30
2.12.1.3. Pirimidin Analogları	31
2.12.1.4. Ekinokandinler	31
2.13. Esansiyel Yağlar	31
2.13.1. Çay Ağacı Yağı	32
3. GEREÇ ve YÖNTEM	35
3.1. Örneklerin Hazırlanması	36
3.1.1. Isı ile Polimerize Olan Akrilik Rezin Örneklerin Hazırlanması	39
3.1.2. Otopolimerize Akrilik Rezin Örneklerin Hazırlanması	41

3.2. Yüzey Pürüzlülüğü Testi	43
3.3. Mikrobiyoloji Testi	44
3.3.1. Yapay Tükürük Ortamının Oluşturulması	44
3.3.2. Spektrofotometre ile Ölçüm	45
3.3.3. Petri Sayımı	47
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	49
4. BULGULAR	50
4.1. Yüzey Pürüzlülük Testine Ait Bulgular	50
4.2 Mikrobiyoloji Testine Ait Bulgular	55
4.2.1. Candida Albicans Yoğunluğunun Spektrofotometre ile Ölçülmesi Sonucu Elde Edilen Bulgular	55
4.2.2. Candida Albicans Koloni Sayımı Bulguları	64
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	78
7. KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	105

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Çay ağacı yağı içerik yüzdeleri	32
Tablo 2. Çalışmada kullanılan materyallerin; adları, üretici bilgileri ve türleri	35
Tablo 3. Akrilik rezinlerin ortalama yüzey pürüzlülük değerleri (Ra) ve standart sapmaları (µm)	50
Tablo 4. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları	51
Tablo 5. Aynı çay ağacı yağı oranında gruplar arası ikili karşılaştırmalar	53
Tablo 6. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar	54
Tablo 7. 24 saat sonunda besiyerinde üreyen kandida yoğunluğu (OD) ortalama ve standart sapma	55
Tablo 8. 48 saat sonunda besiyerinde üreyen kandida yoğunluğu (OD) ortalama ve standart sapma	56
Tablo 9. Örneklerin spektrofotometre değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları	56
Tablo 10. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar. -24. saat	60
Tablo 11. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar. -48. saat	61
Tablo 12. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar. -24.saat	62
Tablo 13. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar. -48.saat	63
Tablo 14. Candida albicans koloni sayımı ortalama ve standart sapma değerleri ($\times 10^8$) (CFU/mL)	64
Tablo 15. Candida albicans koloni sayımı değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları	65
Tablo 16. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar	67
Tablo 17. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. Metilmetakrilat monomer molekülü	5
Şekil 2. PMMA zincir oluşumu	6



RESİMLER DİZİNİ

Resim No	Sayfa
Resim 1. Meliodent otopolimerize akrilik toz ve likit	36
Resim 2. Meliodent ısı ile polimerize akrilik toz ve likit	36
Resim 3. Diamond ısı ile polimerize akrilik toz ve likit	36
Resim 4. Altapharma çay ağacı yağı	36
Resim 5. Yüzey pürüzlülüğü test örnekleri için hazırlanan metal blok	37
Resim 6. Yüzey pürüzlülüğü örnekleri için hazırlanan mum kalıplar	37
Resim 7. Kayıp mum model tekniği öncesi mum bloklar	37
Resim 8. Mikrobiyoloji test örnekleri için hazırlanan metal blok	38
Resim 9. Mikrobiyoloji testleri için hazırlanan mum örnekler	38
Resim 10. Alçıya gömülen mum örneklerin negatifleri	39
Resim 11. Alçıya gömülen disk şekilli mum örneklerin negatifleri ve mum disklerin muflaya alınması	39
Resim 12. Meliodent akrilik mikrobiyoloji test örnekleri	40
Resim 13. %10 oranında çay ağacı yağı ilaveli Diamond akrilik örnekleri	41
Resim 14. Meliodent otopolimerize dikdörtgen şekilli akrilik örneklerin hazırlanışı	42
Resim 15. Meliodent otopolimerize akrilik disk örneklerin hazırlanışı	42
Resim 16. Yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinin yapıldığı kontakt profilometre cihazı	43
Resim 17. Yüzey pürüzlülüğü ölçüm yöntemi	44
Resim 18. Diamond kontrol grubu disk örnekleri	45
Resim 19. Seri seyreltme sonrasında petri ekiminin uygulanışı	45
Resim 20. Optik dansitelerin ölçüldüğü spektrofotometre cihazı	46
Resim 21. Spektrofotometre cihazında optik dansite ölçümü	46
Resim 22. Akrilik disklerin içinde bulunduğu maya süspansiyonları	47
Resim 23. Elde edilen seyreltiklerin yayma ekimi	47
Resim 24. Deney gruplarından alınan solüsyonların ekiminin yapıldığı besiyerleri	48
Resim 25. %40 oranında çay ağacı yağı içeren otopolimerize akrilik örneğin agar besiyeri	48
Resim 26. Isı ile polimerize meliodent kontrol grubu örneğinin petri sayımı	49

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ADA	Amerikan Dişhekimleri Derneği
AIDS	Edinilmiş Bağışıklık Eksikliği Sendromu
ALS	Agglutinin Benzeri Sekanslar
Als1p	Als1 Proteini
ark.	Arkadaşları
ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
Bis-GMA	Bisfenol A Glisidil Metakrilat
µm	Mikrometre
CFU	Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EGDMA	Etilenglikol Dimetakrilat
EPS	Ekstraselüler Polisakkarit
IgE	İmmunglobulin E
ISO	Uluslararası Standart Organizasyonu
gr	Gram
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
Ltd. Şti.	Limited Şirketi
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
MMA	Metilmetakrilat
Mpa	Megapaskal
ND: YAG	Neodymium: yttrium aluminum garnet
nm	Nanometre
OD	Optik Dansite
pH	Hidrojenin Gücü
PMMA	Polimetilmetakrilat
Ra	Yüzey Pürüzlülüğü Aritmetik Ortalaması
SAP	Aspartil Proteazlar
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UV	Ultraviyole

Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
<	Küçüktür
>	Büyüktür
ß	Beta
μ	Mikro
p	Anlamlılık



ÖZET

Akrilik Rezin Materyallerine Farklı Oranlarda Çay Ağacı Yağı Eklenmesinin Candida Albicans İnhibisyonuna ve Materyallerin Yüzey Pürüzlülüğüne Etkisi

Candida albicans (*C. albicans*)'ın, akrilik kaide materyallerine yapışması ve kolonizasyonu; protez stomatitinin gelişmesindeki en önemli faktördür. Bu çalışmanın amacı; akrilik kaide rezinlerine farklı oranlarda eklenen çay ağacı yağının protez stomatitisinde etkin olan *C. albicans* mantar türüne karşı inhibisyonunu ve akrilik kaide materyallerinin yüzey pürüzlülüğüne olan etkisini araştırmaktır.

Mikrobiyolojik test örneklerini hazırlamak için 3 farklı akrilik rezin materyallerine (Meliodent, Diamond D, Meliodent rapid repair), farklı oranlarda (%0, %10, %20 ve %40) çay ağacı yağı karıştırıldı. Örnekler ultraviyole ile steril edildi ve 24 saat yapay tükürükte bekletildi ardından *C. albicans* içeren sabaroud broth besiyerine aktarıldı. İnkübasyonun 24. ve 48. saatlerinde spektrofotometre ile *C. albicans*'ın optik yoğunluğu ölçüldü. Test tüpündeki karışım, seri seyreltmenin ardından sabaruod dextrose agar bulunan petriye yayıldı ve 48 saat sonra koloni sayımı yapıldı. Yüzey pürüzlülüğü testi için 3 farklı akrilik rezin materyallerine farklı oranlarda (%0, %10, %20 ve %40) çay ağacı yağı karıştırıldı. Yüzey pürüzlülüğü miktarları profilometre test cihazı ile ölçüldü. İstatistiksel analiz için Windows için SPSS 17.0 kullanıldı. Verilerin normallik dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Spektrofotometre ölçümlerinin, koloni sayılarının ve yüzey pürüzlülüğünün değerlendirilmesi için iki yönlü ANOVA, Bonferroni düzeltmesi ve eşleştirilmiş örneklem t-testleri yapıldı. Tüm analizlerde $p<0,05$ düzeyi anlamlı olarak kabul edildi.

Çalışmamızda kullanılan akrilik rezin materyallerinin türü ve karıştırılan çay ağacı yağının oranı, *C. albicans*'ın optik yoğunluğu, koloni sayıları ve yüzey pürüzlülüğü üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yarattı ($p<0,01$). Çay ağacı yağının oranı arttıkça (%0, %10, %20 ve %40) akrilik rezinlerin *C. albicans* yoğunluğu, koloni sayısı azaldı ve pürüzlülük değerleri arttı ($p>0,05$). %40 oranında çay ağacı yağı içeren otopolimerize meliodent akrilik materyalinde *C. albicans*'ın en düşük yoğunluk ve koloni sayısı değerleri görüldü ($p>0,05$). Otopolimerize meliodent akrilik materyalinin yüzey pürüzlülük değerleri çay ağacı yağının tüm oranlarında en yüksek bulundu ($p<0,01$).

Anahtar Kelimeler: Akrilik rezin, *Candida albicans*, Çay ağacı yağı, Yüzey pürüzlülüğü

ABSTRACT

Effect of Adding Different Amounts of Tea Tree Oil to Acrylic Resin Materials on Candida Albicans Inhibition and Surface Roughness of Materials

Adhesion and colonization of *Candida albicans* (*C. albicans*) to acrylic base materials; it is the most important factor in the development of prosthetic stomatitis. The aim of this study is; to investigate the inhibition of tea tree oil added to acrylic base resins in different proportions against *C. albicans*, which is effective in prosthetic stomatitis, and the effect of surface roughness on acrylic bases.

To prepare microbiological test samples, tea tree oil was mixed in different proportions (0%, 10%, 20% and 40%) into 3 different acrylic resin materials (Meliodent, Diamond D, Meliodent rapid repair). Samples were sterilized with ultraviolet and kept in artificial saliva for 24 hours, then transferred to sabaroud broth medium containing *C. albicans*. At the 24th and 48th hours of the incubation, the optical density of *C. albicans* was measured with a spectrophotometer. The mixture in the test tube was spread over the petri dish with sabaruod dextrose agar after serial dilution and the colony count was made 48 hours later. For the surface roughness test, different proportions of tea tree oil (0%, 10%, 20% and 40%) were mixed into 3 different acrylic resin materials. Surface roughness amounts were measured with a profilometer test device. SPSS 17.0 for Windows was used for statistical analysis. The compliance of the data to the distribution of normality was evaluated using the Shapiro Wilk test. Two-way ANOVA, Bonferroni correction and paired sample t-tests were performed to evaluate spectrophotometer measurements, colony numbers and surface roughness. $p < 0,05$ level was considered significant in all analyzes.

The type of acrylic resin materials used in our study and the ratio of mixed tea tree oil created a statistically significant difference on the optical density, colony numbers and surface roughness of *C. albicans* ($p < 0,01$). As the proportion of tea tree oil increased (0%, 10%, 20% and 40%), *C. albicans* density, colony number of acrylic resins decreased and the roughness values are increased ($p > 0,05$). The lowest and colony numbers of *C. albicans* are seen in polymerized meliodent acrylic material containing 40% tea tree oil. ($p > 0,05$). The surface roughness values of the autopolymerized meliodent acrylic material were found to be the highest in all proportions of tea tree oil ($p < 0,01$).

Keywords: Acrylic resin, *Candida albicans*, Tea tree oil, Surface roughness

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yaşam kalitesinin artması ve sağlık alanındaki gelişmeler insan yaşam süresinin uzamasını sağlamıştır (1). Yaşlanma, kişide zaman içinde meydana gelen ve sağlıkla ilgili çeşitli sorunlara yol açabilen çok boyutlu fiziksel, fizyolojik ve sosyal değişimlerin gözlemlendiği bir süreçtir. Bu süreçte, ağız ve destek dokularda da fizyolojik ve patolojik bazı değişiklikler görülmektedir. Örneğin, dokuların yaşlanması mukozal hassasiyete neden olabilir ve bununla birlikte yaşa bağlı fizyolojik değişiklikler genel bağışıklığın azalmasına neden olabilmektedir (2). Ağız mukozasında değişiklikler özellikle submukozanın incilmesi, mukoza üzerindeki koruyucu keratin tabakanın kaybolması ve doku rezilyensinin azalması mukozayı mekanik, bakteriyel ve kimyasal travmalara daha hassas hale getirir.

Vücudumuzda bulunan mikrobiyal topluluğa mikrobiyom adı verilir. Nobel ödüllü Joshua Lederberg tarafından tam anlamıyla; vücudumuzu paylaşan, sağlık ve hastalığın belirleyicileri olarak tamamen göz ardı edilen komensal, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğunu belirtmek için kullanılan bir terimdir (3). Ağız mikrobiyotamızda yerleşmiş mikroorganizmalar olarak yüzlerce farklı viral, bakteriyel, fungal ve protozoan türler bulunmaktadır (4, 5). Bunların içinde kandida türleri bir grup fırsatçı patojenik mayadur. Çoğu insanın ağız boşluğunda zararsız mikroorganizmalar olarak bulunmaktadır (6). Bununla birlikte fırsat bulduklarında, kandida türleri stomatit adı verilen lokal ağız enfeksiyonuna sebep olabilmektedir (7). Fırsatçı mantar enfeksiyonları için en yaygın predispozan faktörler arasında antibiyotik ve kortikosteroid kullanımı, kemoterapi, yetersiz beslenme, erken doğum ve yaşlılık yer almaktadır (8).

Travma ve mantar enfeksiyonları protez stomatitinin başlıca nedenleridir. Candida albicans, oral mukoza ve sistemik enfeksiyonlara sebep olan en yaygın fungal patojendir (9). Özellikle dişsiz ağızlarda sıklıkla protez stomatitine yol açan Candida albicans'ın büyümesi için ana predispozan faktörlerden birinin protez kullanımı olduğu bilinmektedir (10).

Polimetil metakrilat (PMMA), protez kaide yapımı için en yaygın olarak kullanılan rezindir. Düşük su emme özelliğine, yeterli estetik özelliklere ve dayanıklılığa sahiptir. Aynı zamanda PMMA toksisite oluşturmaz, kolayca tamir edilebilir, sahip olduğu ayrıntıları ve boyutları koruyabilir ve uygulaması kolaydır (11).

Protez yüzeyinde gözlenen plak birikimi, oral mukozal inflamatuvar bozuklukta ve protez stomatitinde önde gelen etiyolojik bir faktördür (12, 13). Protez doku yüzeyine tutunan plakların oldukça asidik yapıda olduğu bilinmektedir; bu nedenle asidojenik

organizmaların ve *Candida albicans*'ın büyümesini desteklemektedir (14, 15). Protez stomatiti, protez kullanan hastalarda yaygın gözlenen bir hastalıktır. Stomatit, protez doku yüzeyinde plak birikiminin gözlemlendiği bölgeye yakın olarak ağız mukozasının inflamasyonu ve eritemi ile karakterizedir. Hareketli protez kullananların %15 ile %70'ini etkilemektedir (10).

Akrilik yüzeylerde *Candida albicans*'ın yapışmasını ve biyofilm oluşumunu etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bunlardan biri akrilik kaidenin yüzey pürüzlülüğüdür. Yüzey pürüzlülüğünün miktarı daha büyük bir yüzey alanı ve kolonizasyon için alanlar oluşturduğundan *Candida albicans* biyofilmlerinin ilk yerleşimini ve gelişimini etkiler. Bazı çalışmalar yüzey pürüzlülüğü ile *Candida albicans* arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir. Yüzey pürüzlülüğü arttıkça hem plak birikimi hem de *Candida albicans*'ın proteze tutunumu artmaktadır (16, 17).

Kullanılan protezlerin uyumlu olmaması, dokuların dinlendirilmeden protezlerin sürekli kullanılması, kötü ağız ve protez hijyeni ve azalmış tükürük akışının kandida türlerinin protez yüzeylerinde kolonize olma yeteneğini artırarak hastalığın etiolojisine katkıda bulunduğu için protez stomatiti etiolojisinden dolayı çok faktörlü bir hastalık olarak gösterilmiştir (10, 18).

Protez stomatiti tedavisi için farklı metodlar önerilmektedir. Tedavi seçenekleri arasında doku düzenleyiciler, kimyasal maddeler (klorheksidin ve sodyum hipoklorit), oral hijyen eğitimi ve protezlerin geceleri çıkartılıp dokuların dinlendirilmesi sayılabilir (10, 19, 20). Bu prosedürlerle birlikte antifungal ajanların etkilenmiş bölgeye ve proteze topikal uygulanması da etkilidir (21). Stomatit tedavisinde yaygın ilaçlar olarak imidazole, nistatin ve amfoterisin B kullanılmaktadır (22). Tedaviyi devam ettirebilme (23) ve ilaçların yan etkileri (24) risk altındaki popülasyonda stomatit tedavisinde veya önlenmesinde önemli engeller oluşturduğu gözlemlenmiştir.

İlaçların mantar enfeksiyonlarının tedavisinde terapötik başarıda yeterli etkiyi oluşturmaması, bitkilerden elde edilenler de dahil olmak üzere potansiyel antimikrobiyal özelliklere sahip yeni maddelerin araştırılmasına olan ilgiyi arttırmıştır. Doğal ürünlerin sentetik kimyasal maddelere bir alternatif olduğu kanıtlanmış ve antimikrobiyal ajanların kaynağı olarak tıbbi bitkilere duyulan ilgi önemli ölçüde artmıştır. Çok çeşitli bitki ekstraktlarının *Candida albicans*'a karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir (25–27).

Çay ağacı yağı, Avustralya kıtasının yerli bitkisi olan *Melaleuca alternifolia*'dan buhar damıtımı ile elde edilen uçucu bir yağdır. Çay ağacı yağı yaklaşık 100 monoterpen ve seskiterpen hidrokarbon ve alkollerden oluşan kompleks bir karışımdır (28). Yağın antimikrobiyal ve antiinflamatuvar dahil olmak üzere çok çeşitli etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (29–31). Çay ağacı yağı, cilt penetrasyonunu kolaylaştıran lipofilik yapısı nedeniyle doğal bir topikal antifungal ajan olarak kullanılmaktadır (32).

Bu çalışmada, farklı kimyasal yapıda ve polimerizasyon şekillerindeki protez kaide materyali olarak kullanılan akrilik rezinlere, çay ağacı yağı ilavesinin mikrobiyolojik etkisini karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi ve akrilik rezinlere eklenen çay ağacı yağının kaide materyalinin yüzey pürüzlülüğü özelliğine etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akrilik Rezinlerin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Akrilik rezinler, akrilik asit ve türevlerinden elde edilen polimerler grubudur. Ticari akrilik polimerler genellikle akrilik asit, metakrilik asit, akrilik asit esterleri, metakrilik asit esterleri, akrilonitril ve akrilamid monomerlerinin polimerizasyonu ile üretilmektedir (33).

Polimetil metakrilat (PMMA), 1937'de piyasaya girmesinden bu zamana kadar hareketli protez yapımında kullanılan en popüler materyal olmuştur (34).

Metakrilik asidin esteri olan PMMA, akrilik rezin grubunda önemli yer oluşturmaktadır. PMMA sentetik olarak elde edilen akrilik rezindir (35). Modern üretimde, ham petrolün hafif fraksiyonlarından rafine edilmiş bir bileşik olan propilenden elde edilir. Propilen ve benzen, kümen veya izopropilbenzen oluşturmak için birlikte reaksiyona sokulur. Kümen, aseton oluşturmak için asit ile reaksiyona girebilen kümen hidroperoksit oksitlenir. Oluşacak aseton sonrasında metil metakrilata dönüştürülür. Sıvı formda süspanse edilmiş metil metakrilat, katı PMMA oluşturmak için serbest radikal başlatıcılar ile polimerize edilir (36).

Polimerizasyon reaksiyonu için temel adımlar şu şekildedir: başlama, çoğalma ve sonlanma. Başlama safhasında katalizör, matris monomerinin serbest radikalini oluşturmak için kullanılır. Çoğalma aşamasında, polimer oluşumunun engellenmesine veya sona ermesine kadar polimer oluşumunu sürdüren monomer zincirleri oluşur. Zincir reaksiyonu direkt çift bağlarla ya da büyümüş bir zincirden diğer bir zincire hidrojen atomunun geçmesiyle sonlanır (37).

En fazla kullanılan karışım; akrilik polimer boncuklar, monomer, başlatıcı, inhibitör, pigmentler, hızlandırıcı, plastikleştirici ve çapraz bağlama maddesi içeren toz-sıvı türüdür (38). Tozun yapısında; önceden polimerize edilmiş PMMA küreleri, benzoil peroksit (başlatıcı) (%1-2), pigment (%1) bulunurken, sıvının yapısında metilmetakrilat monomer, hidrokinon (inhibitör) (%1), glikol dimetakrilat (çapraz bağlantı ajanı) (%1-2) bulunur.

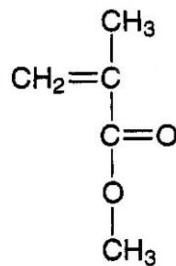
Plastikleştiriciler, termal genleşme katsayısını azaltabilir, sertliği ve termal yayılımı artırabilirler. Rezin materyalinin optik özelliklerini değiştirmek amaçlı opaklaştırıcılar ve pigmentler kullanılmaktadır (37).

Isıyla polimerize ve otopolimerize olan akrilik rezinler arasındaki temel fark, monomerlerin polimerizasyonunu başlatan benzoil peroksit katalizörünü etkinleştirmek için kullanılan yöntemdir. Isıyla polimerize olan rezinlerde, benzoil peroksitten aktive olan serbest radikaller ile polimerizasyon başlatılır. Otopolimerize rezinlerde, monomere genellikle kimyasal tersiyer amin hızlandırıcı olan dimetil-p-toluidin eklenir, böylece polimerizasyon oda sıcaklığında tamamlanabilmektedir (11).

Tipik olarak, monometakrilat rezini, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) gibi dimetakrilat monomerlerle çapraz bağlanır. Ancak, dönüşümü tamamen gerçekleşmez (39). Bu, birçok çalışmada polimerde belirli miktarda artık monomer olarak, çoğunlukla metilmetakrilat (MMA) bulunduğunu ve arta kalan MMA'nın salınım yaptığını göstermiştir (40, 41).

MMA monomer (Şekil 1) (34) sıvının ana bileşenidir, başka monomerlerde sıvıya eklenebilir (34, 42). Monomerin erken polimerizasyonunu önlemek için hidrokinon gibi inhibitör eklenir ve sıvıya daha uzun raf ömrü sağlanmış olunur (43).

Pek çok modern akrilik protez rezini, özellikle polimerize polimerin çözücü direncini arttırmak ve böylece çözücü çatlamasına karşı duyarlılığını azaltmak için monomer bileşenine çapraz bağlama ajanları eklemektedir. Bu kullanılan iki işlevli monomer genellikle etilen glikol dimetakrilattır (44). Çapraz bağlamanın fiziksel özellikler üzerindeki kesin etkisi, çapraz bağlama ajanının bileşimi ve konsantrasyonuna göre değişmektedir (45). Etilen glikol dimetakrilat gibi çapraz bağlama ajanları, çizilmeye karşı daha fazla direnç, daha yüksek sertlik, daha az çözünürlük ve su emilimi ile karakterize edilen polimerler elde etmek için monomere eklenir (33, 46).



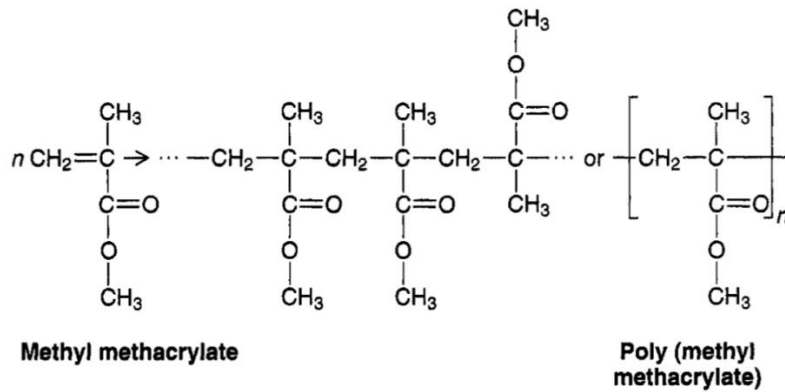
Şekil 1. Metilmetakrilat monomer molekülü (33)

2.2. Polimerizasyon Reaksiyonu

Polimerizasyon süreci, polimer oluşturmak için monomerlerin kimyasal olarak bağlanması olarak tanımlanır. PMMA polimerizasyonu, karbon-karbon çift bağları içeren monomerlerle oluşan serbest radikal ekleme reaksiyonudur (Şekil 2) (34).

Sonucunda organik peroksidin ayrışmasına ve serbest radikallerin oluşumuna yol açan bu reaksiyon ısı, kimyasal aktivatörler veya eser miktarda peroksit tarafından etkinleştirilebilir (47). Genellikle ısıyla polimerize akrilik rezinlerde peroksitin ayrışması ısı ile aktive edilir. Bununla birlikte, otopolimerize olan akrilik rezinlerde bu işlemi oda sıcaklığında tetiklemek için kimyasal bir aktivatör gereklidir (48). Polimerizasyon reaksiyonu, serbest radikal monomer molekülü ile reaksiyona girdiğinde, bir çift bağın açılmasıyla başlar ve bu da, daha fazla çift bağlı monomer molekülleri ile daha fazla reaksiyona girebilen başka reaktif serbest radikal molekülü üretir (47, 49).

Protez kaide rezinleri birkaç adımda polimerize edilir. Çözünme işlemi sonucunda karışıma dahil olan aktivatör, ya ısıyla ya da katalizörle kimyasal reaksiyonla radikallere ayrılır (34). Başlatıcı radikal, monomer molekülünün çift bağının elektron sistemine müdahale eder ve bu bağı ayırır. Monomer molekülüne eklendikten sonra bir zincir radikali oluşur. Bu zincir radikali, başka bir monomer molekülüne saldırır ve onunla bağlantı kurar. Bu işlem, yeterli sayıda monomer molekülü artık bulunmayana kadar sayısız kez tekrarlanır. Bu şekilde, birçok zincir molekülü, ilk olarak zincir büyümesi yoluyla ve ikinci olarak yoğun bir makro molekül ağı ile sonuçlanan zincir radikallerinin kombinasyonu yoluyla yaratılır (34).



Şekil 1. PMMA zincir oluşumu (33)

2.3. Protez Kaide Rezinleri Sınıflandırması

ISO 20795 (2013) (50)

Tip 1- Isı ile polimerize materyaller

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Plastik

Tip 2- Otopolimerize materyaller

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Toz ve likit akışkan

Tip 3- Termoplastik kalıp veya toz

Tip 4- Işıkla polimerize olan materyaller

Tip 5- Mikrodalga ile polimerize olan materyaller

ADA Spesifikasyonu (51)

Tip 1- Isı ile polimerize

Sınıf 1: Toz ve likit

Sınıf 2: Plastik

Tip 2- Otopolimerize

Sınıf 1: Toz ve likit

Tip 3- Termoplastik rezin

2.4. Protez Kaide Materyallerinin Sahip Olması Gereken Özellikler

Protetik restorasyonların, çevre dokular üzerinde herhangi bir olumsuz etki yaratmadan ağız ortamında fonksiyon yapması gerekir. Bu nedenle, protez yapımında kullanılan maddeler biyolojik olarak uyumlu olmalı ve oral dokularda herhangi bir tahrişe, toksisiteye veya mutajeniteye sebep olmamalıdır (33, 52).

Fonksiyon sırasında protez materyalleri, kimyasal yapıları, pH ve sıcaklıkları dahil olmak üzere çok sayıda faktör açısından değişiklik gösterebilen çeşitli besin maddelerine maruz kalır (53). Kimyasal olarak PMMA'nın tükürük ve oral sıvılarda yüksek oranda çözünmemesi gerekir. Besin maddelerine reaktif olmamalı, ancak kimyasal olarak yapay akrilik dişlere bağlanmalıdır. Ek olarak, çiğneme kuvvetlerine dayanabilmesi için akrilik

kaide iyi mekanik özelliklere (yüksek elastik modül, esneklik, yorulma dayanımı ve darbe dayanımı) sahip olmalıdır. (33, 52). Ayrıca düşük özgül ağırlığa sahip olma, ısı iletkenliğe, boyutsal stabiliteye (54), temizleme kolaylığı, renk kararlılığına (55), iyi estetik görünüm ve düşük maliyet gibi diğer özelliklere sahip olması hasta konforu için gereklidir (33, 52).

2.5. Protez Kaide Materyali Olarak Kullanılan PMMA İçerikli Akrilik Rezinlerin Sahip Olması Gereken Kimyasal, Fiziksel, Mekanik ve Biyolojik Özellikler

2.5.1. PMMA'nın Kimyasal Özellikleri

PMMA kimyasal olarak, sudaki çözünme seviyesi ihmal edilebilir derecede az olan bir organik rezindir, ancak organik çözücülerde (ketonlar ve esterler gibi) çözünme miktarları yüksektir. Benzer şekilde, alkollü çözeltiler plastikleştirici görevi görür. Bu nedenle protezlerin alkollü solüsyonlarla saklanması veya temizlenmesinden kaçınılmalıdır.

PMMA içerikli protez materyallerinin, su emme (su veya oral sıvı) özelliği bulunmaktadır (56). Ek olarak, nüfuz eden su molekülleri PMMA'nın genişlemesine yol açar ve boyutsal stabiliteyi etkilemektedir (57).

Diğer bir ilgili özellik, boyutsal stabiliteyi etkileyebilecek çözünürlüktür (58). Çeşitli çalışmalar, mevcut kullanılan PMMA içerikli protez materyallerinin su emme ve çözünürlüğünün ISO 20795-1 tarafından gerekli kılınan gerekli değerlerin altında olduğu bildirmiştir (59).

Su emme ve çözünürlüğün doğrudan protezde bulunan artık monomer miktarı ile ilişkili olduğu düşünüldüğünde, ısıyla polimerize olan PMMA materyalleri, otopolimerize olan PMMA'ya kıyasla daha iyi seviyede polimerizasyon, daha az artık monomer ve daha iyi kimyasal özellikler sergiler (59).

PMMA suyla kimyasal olarak reaksiyona girmese de suda dönüşümlü şekilde saklama yapılması, döngüsel su emilimi ve kuruma oluşturmaları nedeniyle boyutsal değişiklikler veya çatlama görülebilir (60). Çapraz bağlama ajanları (etilen glikol dimetakrilat ve 1,4-butilen glikol dimetakrilat gibi) genellikle PMMA'nın yapısına eklenir. Çapraz bağlama ajanları, PMMA'nın organik çözücüler içinde çözünme eğilimini azaltır ve organik çözücülere karşı direncini artırır. Ek olarak, çapraz bağlayıcılar, polimerize malzemelerdeki oksijen engelleyici katmanların ve artık monomerlerin oluşumunu azaltır (61). Mevcut kullanılan PMMA protez materyalleri ağız boşluğunda tatmin edici seviyede kimyasal stabilite göstermektedir (62).

2.5.2. PMMA'nın Fiziksel Özellikleri

Protez materyalleri, gıdanın sıcaklığını hastaların ağız dokularına iletmesi için kabul edilebilir seviyede termal iletkenliğe sahip olmalıdır. Bununla birlikte, PMMA'nın ısı iletkenliği düşüktür (63).

Estetik gereksinimleri karşılamak için, PMMA protez kaide materyalleri renk, ton ve doku açısından oral mukozayı taklit etmelidir. Hastanın doğal dokularını taklit ederek estetik görünüş sağlamak için PMMA'ya çeşitli şeffaf pigmentler eklenmektedir (64). Polimerik yapısı nedeniyle PMMA, radyografilerde tespit edilmesi zor olan radyolusent bir malzemedir. Radyoopasiteyi arttırmak için çinko veya titanyum oksitler ilave edilmektedir (65, 66).

Polimerizasyon büzülmesi (doğrusal ve hacimsel), hareketli protez yapımı sırasında dikkate değer boyutsal değişikliklere ve uyumsuzluklara neden olabilmektedir (45). Bu nedenle, dental uygulamalar için en düşük seviyede polimerizasyon büzülmesi istenmektedir. Işıkla polimerize PMMA, ısıyla polimerize ve otopolimerize PMMA malzemelerine kıyasla daha düşük miktarlarda artık monomer ve daha az miktarda polimerizasyon büzülmesi göstermiştir (67).

2.5.2.1. Yüzey Pürüzlülüğü

Pürüzlülük cisim yüzeyinde meydana gelen mikro seviyedeki düzensizlikler veya bozukluklar olarak tanımlanır. Yüzey pürüzlülüğü ISO 4287 standartlarına göre, Ra sembolü ile “µm” birimiyle gösterilmektedir (68).

Yüzey yüksekliğinin merkez hattından aritmetik ortalama sapması olarak tanımlanan pürüzlülük parametresi Ra, en yaygın olarak bildirilen yüzey pürüzlülüğü ölçümüdür. Pürüzlülük parametreleri, yüzey profillemeye araçlarının kullanılmasıyla belirlenir (69).

Yüzey pürüzlülüğü ölçümleri için lazer profilometre, atomik kuvvet mikroskobu ve stylus profilometreler yaygın kullanılmıştır (70, 71).

Temel olarak profilometre cihazları kontakt ve non-kontakt olarak iki gruba ayrılırlar (72). Non-kontakt grupta çeşitli optik ve optik olmayan teknikler bulunmaktadır (73). Yaygın kullanılan optik yöntemlerden bazıları beyaz ışık (74) ve lazer (75) teknikleridir, yaygın olarak kullanılan optik olmayan teknik ise ultrason yöntemidir (76). Her iki gruptaki yöntemlerin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır, bu nedenle uygun bir tekniğin seçimi incelenen materyale göre yapılmalıdır.

Kontakt profilometreler, non-kontakt profilometreler ve konfokal lazer mikroskopları; yüzey pürüzlülüğünü ve adım yüksekliğini ölçmek için kullanılmaktadır. Kontakt profilometrisi, numunenin yüzeyinde hareket eden bir metal kalemle çalışır ve genlikteki değişiklik herhangi bir yer değiştirme ile kaydedilir, ancak yalnızca iki boyutlu bilgi sağlar ve ölçülen yüzeye zarar verme riskleri bulunmaktadır (77). Temel kontakt profilometre tipleri, stylus profilometreleri ve taramalı prob mikroskoplarıdır. Stylus profil cihazları, probu yüzey boyunca hareket ettirirler. Prob ucunun dikey yer değiştirmesi, doğrusal değişken diferansiyel transformatör tarafından algılanır ve bu sinyal, genlik verilerine dönüştürülür (78). Taramalı prob mikroskopları, atomik kuvvet mikroskopları olarak da adlandırılır ve daha yüksek çözünürlüğe sahiptirler. Kontakt profilometrelerin düz yüzey ölçümleriyle sınırlı olması nedeniyle yumuşak veya karmaşık yüzeyler için üç boyutlu görüntü analizi sağlamak amacıyla atomik kuvvet mikroskopları kullanılır (79).

Non-kontakt profilometreler ve konfokal lazer mikroskopları, yüzeyi taramak için kalem yerine bir ışık kaynağı kullanır. Konfokal, ışığın yüzeyden geri yansıtıldığı ve yer değiştirmenin, yüzeyin satır satır üç boyutlu gösterimini oluşturmak için uygulanır. Konfokal, ölçülen yüzey üzerindeki odak noktasında yalnızca ışığın detektöre girerek odak dışı ve kaçak ışığın ortadan kaldırmasını sağlayan açıklıkları kullanmasıyla standart mikroskopiden farklıdır, bu nedenle daha yüksek çözünürlüklü görüntüler üretebilmektedir (78, 80).

Protezlerin yapımı sırasında, mikroorganizmaların ilk yapışmasını ve birikmesini azaltmak için pürüzsüz bir yüzeye sahip olmasına özen gösterilmelidir. Bu nedenle, dış yüzeylerin uygun şekilde bitirilmesi ve cilalanması, klinik restoratif protokol için gerekli kabul edilmektedir. Protezler ağız ortamında fonksiyon görmeye başladıktan sonra, yüzey değişiklikleri meydana gelebilmektedir ve plak oluşumu için uygun pürüzlü yüzeyler oluşabilmektedir (81).

Protez sert damak konturlarını taklit eder. Doku yüzeyine komşu akrilik yüzeyi, aşırı derecede pürüzlüdür ve cilalanamaz. Bu, mikrobiyal tutunmayı önemli ölçüde etkilemektedir (82).

Akrilik polimerize edildikten sonra protezlerin dış yüzeylerinin cilalanmasının amacı, pürüzlü tabakaları ortadan kaldırmaktır. Ağız ortamındaki sert yüzeylerin kabul edilebilir yüzey pürüzlülüğü değeri (Ra) 0.2µm'yi geçmemelidir (83, 84). Yeterince pürüzsüz ve parlak yüzey, bakteriyel plak oluşumu potansiyelini azaltmaktadır (83–85).

Yüzey pürüzlülüğü; yüzey enerjisinin adezyona olan etkisiyle karşılaştırıldığında, yüzey pürüzlülüğünün yüzey serbest enerjisinin etkilerinden çok daha fazla adezyona etki ettiği tespit edilmiştir (85).

2.5.3. PMMA'nın Mekanik Özellikleri

Eğilme dayanımı, bir malzemenin çekme, basma ve kesme gerilimlerine dayanma kabiliyetini gösterir. ISO 20795-1 yönergelerine göre 3 noktalı eğilme testi kullanılarak değerlendirilir (50). İdeal olarak protez, kalıcı deformasyon veya kırılma olmaksızın çiğneme kuvvetlerini taşımak için yüksek bir eğilme dayanımına sahip olmalıdır. PMMA'nın eğilme dayanımı protezin; polimerizasyon yöntemi, kimyasal bileşimi, polimerizasyon derecesi, boyutu ve saklama koşulları gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir (86).

PMMA'nın kırılma direnci ve darbe dayanımı, protez uygulamaları için önemlidir. Kırılma direnci, bir malzemenin yüzeyinde bulunan çatlaklar veya kusurlar nedeniyle bu çatlakların yayılmasına karşı olan direnme yeteneği olarak tanımlanır (87). Isı ile polimerize olan PMMA'nın kırılma direncinin, test metodolojisine bakılmaksızın, otopolimerize olan PMMA'dan önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (88).

Yanlışlıkla düşürme gibi yüksek bir darbe kuvvetine maruz kaldığında protezlerin kırılmasını önlemek için yüksek darbe dayanımı istenir. Kauçuk madde olan bütadien stiren gibi veya yüksek konsantrasyonlarda çapraz bağlanma ajanları darbe dayanımını önemli ölçüde arttırabilir (89). Ancak, bu ilaveler sertlik ve esneklik modülü gibi diğer özellikleri etkileyebilirler (90).

Aşınma direnci, doğrudan malzemenin yüzey sertliğiyle ilgilidir. Halihazırda mevcut olan PMMA materyallerinin aşınma direnci, döküm alaşımları ve diş porselenlerine kıyasla önemli ölçüde daha düşüktür (91).

2.5.4. PMMA'nın Biyolojik Özellikleri

Biyouyumluluk, bir materyalin biyolojik bir ortamda konağın uygun tepkisi ile etkili performans gösterme yeteneği olarak tanımlanan en önemli biyolojik özelliktir (92). Doğru şekilde üretilmiş ısıyla polimerize olan PMMA için az sayıda biyoyumculuk sorunları gözlenmesine rağmen protezin doku yüzeyinde artık monomerlerin varlığının mukozal tahriş, doku iltihabı ve sitotoksosite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (93). Bu nedenle, PMMA toz ve likitini karıştırırken fazla miktarda monomer çözeltisi eklemek, artık monomerler oluşturur ve bundan dolayı sitotoksositeye neden olabilmektedir (94). Kullanımdan önce

suda bekletme işlemi, artık monomer miktarını ve PMMA'nın sitotoksitesini önemli ölçüde azaltmıştır (95). Artık monomerlerin miktarı ve PMMA protez doku yüzeyinin sitotoksitesi, ısıyla polimerize PMMA kullanılarak ve önerilen ısıyla polimerizasyon talimatları sağlanarak da kontrol edilebilir (96).

Bitmiş protezde bulunan artık monomer miktarını azaltmak için su banyosuna daldırma ve mikrodalga fırınında bekletme gibi çeşitli polimerizasyon sonrası işlemler önerilmiştir. Bununla birlikte; yapılan bir çalışmada, bu tekniklerin sitotoksitesinin azaltılması üzerinde az bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (97).

2.6. Kaide Plağına Bağlı Oluşan Lokal Doku Reaksiyonları

2.6.1. Alerji

Alerji, bir alerjene karşı aşırı duyarlılık reaksiyonudur ve tekrar tekrar maruz kalındığında alerjinin şiddeti artmaktadır. Alerjik reaksiyonlar iki ana kategoriye ayrılır: ani ve gecikmeli reaksiyonlar. Metilmetakrilat monomerinin deri veya ağız mukozası ile temasında alerjik reaksiyona neden olabileceği gözlenmiştir (98). Çeşitli yiyeceklerle ve ilaçlara karşı ani alerjik reaksiyonlar iyi bilinmesine rağmen, akrilik rezinlere karşı bu tür yanıtlar daha az gözlenir ve genellikle gecikmeli veya temas alerjisi tipindedir (99). Alerjik reaksiyona sebep olan kimyasal iritanlar akril içeriğindeki başlatıcı (benzol peroksit), inhibitör (hidrokinon) veya pigmentlerden herhangi biri olabilir. Oda ısısında polimerize olan akrilikler, ısı ile polimerize olan materyallere göre daha fazla artık monomer içerdiğinden, daha fazla alerjik reaksiyona sebep olabilirler.

Protez kaidesindeki akriliğe alerjik reaksiyon gösteren hastalarda en yaygın ve en sık bildirilen sorun ağızda oluşan yanma hissidir. Yanma hissi ile ortaya çıkan alanlar arasında damak, dil, ağız mukozası ve orofarinks bulunmaktadır (100).

Hastaların cildinde yapılan alerjik testler, protez kaidesinde kullanılan akriliğin alerjik reaksiyonlardan sorumlu olduğunu göstermiştir (101). Alerjik reaksiyon protez kullanan hastada yukarıda ana hatlarıyla belirtilen belirti ve semptomlarla kendini gösterir. Her zaman bir alerjik reaksiyon olasılığı göz önünde bulundurulmalı ve doğru bir tanıya ulaşmak için kapsamlı araştırma yapılmalıdır.

Ani ve gecikmeli aşırı duyarlılık reaksiyonlarını anlamak için yama testi, kan testleri veya alerjene özgü IgE testleri yapılmaktadır (102).

Akril alerjisi ve protez stomatiti vakaları çoğunlukla klinik olarak birbirine karıştırılır. Her iki durumda da protez altı dokularda hiperemik görünüm oluşur. Ancak akril alerjisi varlığında sadece protez altı değil akrilin temas ettiği her yüzeyde (dudak, dil, yanak bölgesi) semptomlar görülür. Ayrıca akril alerjisi protez kullanımından itibaren kısa süre sonra görülmeye başlarken, stomatit uzun süreli kullanım sonucu ortaya çıkar (103).

2.6.2. Protez Hiperplazisi

Protez kullanımından kaynaklanan dokudaki hiperplazi, epulis fissuratum olarak adlandırılır. Epulis dokuya uyumluluğunu kaybeden protezlerin kullanımından kaynaklanan düşük dereceli kronik travmanın neden olduğu oral mukozanın hiperplastik bir durumudur (104).

Bu proliferasyon, alveolar kretin rezorpsiyonu sonucu protez sınırlarının aşırı genişlemesi ve sulkus bölgesinde oluşan kronik irritasyon sonucu gözlenir. Protez kenarının oturduğu mukolabiyal veya mukobukkal kıvrım alanında uzun doku rulolarının yavaş gelişimi ile karakterize edilir ve tabanında ülserler meydana gelmedikçe genellikle asemptomatiktir.

Epulis fissuratum, lezyonun boyutuna göre konservatif veya cerrahi olarak tedavi edilebilir. Konservatif tedavi, protezin onarımını veya uygun değilse yeni bir protez yapımını içermektedir. Cerrahi yöntemler arasında cerrahi kesi uygulaması, elektro cerrahi veya lazer teknikleri (karbondioksit lazer, erbiyum-yag lazer, neodimyum-yag lazer veya diyot lazer) bulunur (105).

2.6.3. Protez Stomatiti

Protez stomatiti veya kronik atrofik kandidiyazis, literatürde protez taşıyan mukozanın enflamatuar durumunu belirtmek için kullanılan bir terimdir (106, 107).

Protez stomatiti, protez kullanıcıları için yaygın ve problemli bir hastalıktır. Hastalığın ilerlemesi, protez plağının yakın olduğu yerde, protez ile temas halindeki ağız mukozasının iltihaplanması ve eritemi ile karakterize edilir. Hareketli protez kullananların %15 ile %70'ini etkilemektedir (10). Maksiller protezlerin altındaki palatal mukozanın tamamının veya bir kısmının kronik eritem ve ödemi olarak da tanımlanabilir (108).

Yaşlı bireyler en duyarlı olanlardır ve en sık olarak üst damak mukozasında gözlenmektedir (109). Protez stomatitinin klinik belirtileri mukozada lokal veya diffüz enflamasyon şeklindedir. Yumuşak dokuda kanama, şişme, yanma, ağız kuruluğu, ağız

kokusu ve hoş olmayan tat ile kendini gösterebilir (110). Stomatit mikrobiyal faktörlerle, özellikle de *Candida albicans* enfeksiyonuyla ilişkilidir (107).

Bu durum, hastada rahatsızlığa ve dokuda şişmeye neden olabilir, genellikle de protezlerin yerine tam oturmamasına sebep olmaktadır. Bu da protezin fonksiyon kaybına neden olabilmektedir ve protez kullananların yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Buna ek olarak, uygulanan tedavilerin genellikle başarısız olması sebebiyle protez stomatitinin ilerlemesi kullanılan protezin çıkarılması veya değişiminin gerekmesine neden olabilir (111). Tedavi edilmezse ilerleyerek papiller hiperplaziye dönüşebilir.

2.6.3.1. Sınıflama

Protez stomatiti, protezin kapladığı mukozal dokuların iltihaplanması veya şişmesinin klinik muayenesiyle teşhis edilir. Stomatitin şiddeti, damağın rengi, dokusu ve genel görünümüne göre sınıflandırılır. Literatürde en sık kullanılan, Newton Sınıflaması'dır (112).

Newton, 1962:

- 1- İltihaplanma yok (sağlıklı)
- 2- Lokalize basit iltihaplanma veya toplu iğne başı şeklinde hiperemiler
- 3- Yaygın basit iltihaplanma veya diffüz eritem
- 4- Granüler iltihaplanma veya iltihaplı papiller hiperplazi

2.6.3.2. Etiyoloji

Protez stomatitinin etiyolojisi çok faktörlü olarak tanımlanabilir. Bu faktörler arasında mukozal travmaya yol açabilen kötü uyumlu protezler, yüksek *Candida albicans* prevalansı ve kötü ağız hijyeni protez stomatit semptomları gözlenen grupla güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (113).

Protez stomatiti olan hastalardan alınan plak biyofilmlerini görselleştirmek için taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Bu gözlemin sonucunda protez stomatitinde *Candida albicans* biyofilmlerinin önemli bir rol oynadığını gösteren büyük miktarda yerleşik maya ve hifal hücre kaydedilmiştir (114).

İlk kolonizasyon, *Candida albicans* mantar türüyle ilişkilendirilmiştir. Literatür, protez stomatitin kronik inflamasyon ile doğrudan bir ilişkisi olduğunu göstermektedir (115).

Geçmişte ve günümüzde birçok çalışma, stomatit hastalarında mukozadan geri kazanılan başlıca mikroorganizmanın *Candida albicans* olduğunu bulmuştur (16).

Protez stomatiti çoğunlukla, altta yatan hastalık veya doğal savunmanın bozulması nedeniyle maya enfeksiyonlarına yatkınlığı oluşan hastalarda daha sık gözlenir. Bunlara örnek olarak; immünosupresif tedaviler/hastalıklar (HIV/AIDS), diyabet ve yaşlılık verilebilir (116, 117).

Travma

Protez stomatiti, dokuya uyumu bozulan protezlerin; neden olduğu travma, uzun süreli kullanımı ve sürekli kullanımı ile ilişkilidir (118). Dokuya uyumunu kaybetmiş protez kullanıcılarının yaklaşık yarısının lokalize Newton tip I iltihabı yaşadığı düşünülmektedir (119). Ancak travma tek başına Newton sınıf 2 ve 3'e yol açmaz (120).

Protezlerin artan stabilitesinin daha az mukozal travmaya neden olduğu ve stomatit gelişme olasılığını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (121). Protezin neden olduğu mukozal travmanın, epitelin geçirgenliğini artırarak kandidanın mukozaya nüfuz etme kabiliyetini arttırdığı öne sürülmüştür (122). Oral mukozanın travması, kandida üremesinin predispozan faktörü olsa da, travma olmadığı durumda da protezlerin altından kandida mantarı izole edilebilir. Enflamasyon derecesi ve kültürde bulunan mantar kolonilerinin miktarı arasında bir ilişki vardır. Yaygın enflamasyonda kandida suş miktarı, lokalize inflamasyona göre çok daha fazladır. Enflamasyonun kandidanın primer enfeksiyonundan dolayı mı, yoksa suşların travmalı dokuya ikincil olarak yerleşmelerinden dolayı mı meydana geldiği hala araştırılmaktadır (123).

Oral Hijyen

Kötü protez ve ağız hijyeni, tek başına stomatit etiyolojisinde önemli bir faktör olarak kabul görmektedir. Düzenli ve etkili protez hijyeni rutinlerinin sürdürülmesi olmadan, protez yüzeylerinin mikrobiyal kolonizasyona duyarlılığı artar. Bu durumun devam etmesine izin verilirse, tüm biyofilmler gibi, ekstraselüler polisakkarit (EPS) içeren zengin matrisin varlığı ve biyofilm mikroorganizmalarının antimikrobiyal ajanlara doğal direnci nedeniyle protez yüzeyinden çıkarılması oldukça zor olan protez plak biyofilminin gelişmesine yol açacaktır.

Protez hijyeni ve etkili antimikrobiyal temizleme rejimlerinin geliştirilmesi bu nedenle önemli bir odak alanıdır (107, 124, 125).

Yetersiz temizlenmiş protezler, biyofilm olarak bilinen karmaşık mikrobiyal topluluklar oluşturan mayaların ve bakterilerin kolonizasyonuna izin verir ve kontrol edilmediği takdirde oral mukozanın iltihaplanmasına yol açabilir (126). 234 hastanın sadece %11,9'unun temiz protezlere sahip olduğu ve plak oluşumu gözlenen bir çalışmada, protezler ile protez stomatiti oluşumu arasında önemli bir korelasyon olduğu bulunmuştur (127).

Protezler tükürük akışıyla doğal mekanik temizliğe bir bariyer oluşturur; bu nedenle bu doğal mekanizmanın uyurken protezi çıkararak etki göstermesi için zaman tanımak önemlidir. Bununla birlikte, protezlerle uyumak gözlenen yaygın bir durumdur. Bu, protez ve mukoza arasında anaerobik bir ortamın gelişmesine yol açarak patojenik mikropların büyümesini destekleyebilir ve protez stomatiti gelişim riskinin artmasına sebep olabilir (10).

Zihinsel sağlık ve kişisel ekonomik refahın yanı sıra fiziksel yetersizlik ve el becerisinin azalması yaşlı hastaların ağız hijyenini sürdürme becerilerini değiştirmektedir. Yaşla birlikte ağız hijyeninin zayıf olduğu ve bununla birlikte Candida albicans enfeksiyonlarının daha yaygın olduğu gözlenmiştir (107).

İlaç Kullanımı ve Diyet

Yaşlı hastalar, oral mukozal hastalıklara yakalanma açısından yüksek risk altındadırlar. Çünkü artan yaşla birlikte, sistemik hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların neden olduğu hiposalivasyon gözlenebilmektedir (128). Genel sağlığı korumak için daha fazla ilaç kullanılır, ancak bu, ağız enfeksiyonlarına karşı doğal bir koruyucu olan tükürük miktarında azalmaya neden olmaktadır (129).

Zerostemi tükürüğün kalitesi ve miktarındaki değişikliklerle ilişkili bir semptom olan; genellikle kötü sağlık durumu, yaşlılık, bazı ilaçlar ve radyasyon tedavisinin bir sonucu olan ağız kuruluğunun öznel hissi olarak tanımlanır (130). Zerostemi, oral mikrobiyomda değişikliklere neden olabilmektedir. Bu da genellikle asidojenik bakterilerin ve kandida türlerinin çoğalmasıyla sonuçlanır (131). Azalmış tükürük ve kötü ağız hijyeni, protezlerde daha yüksek kandida prevalansı ile doğrudan ilişkilidir (132).

Kandida türleri, hayatta kalmak için glikoz da dahil olmak üzere besinlere ihtiyaç duyar (133). Karbonhidrat bakımından zengin bir diyet, kandida büyümesini ve sayısını

artırmakla ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, stomatit hastalarında şeker içeriği yüksek besin alımının azaltılması önerilmektedir (134).

Bununla birlikte, birçok hareketli protez kullanıcısı yaşlıdır ve ağız hijyen prosedürlerini etkili bir şekilde gerçekleştirme yeteneklerini bozabilecek artrit ve demans gibi hastalıklara sahip olabilmektedir (135).

Bu faktörlere ek olarak, protez stomatiti temelde altta yatan hastalık veya immün sistemin bozulması nedeniyle maya enfeksiyonlarına yatkın hale gelir. Bunlara örnek olarak; İmmünsüpresif tedaviler / hastalıklar (HIV/AIDS) ve diyabet gibi durumlar verilebilir (116, 117).

Sigara

Sigara tüketiminin *Candida albicans*'ı etkileyebileceği mekanizmalar için hipotezler sunulmuştur. Sigaranın lokalize epitel değişikliklerine neden olabileceği ve bu da kandidal kolonizasyonu hızlandırabileceğidir. Diğer bir hipotez ise, sigaranın *Candida albicans* için bir tür beslenme sağlayabileceğidir (136).

Sigara tüketimi ve protez kullanımının arasındaki ilişkiyi değerlendiren birkaç çalışma, *Candida albicans* oranının, sigara içmeyenlere kıyasla sigara içenlerde önemli ölçüde arttığını göstermiştir (137, 138). Nikotinin, ağız sağlığı sorunları riskini artıran mikrobiyal biyofilm oluşumunu uyardığı gösterilmiştir. Nikotin ağız boşluğunda *Lactobacillus casei*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* dahil olmak üzere farklı mikroorganizmaların biyofilm oluşumunu arttırmaktadır. Ek olarak, birçok çalışma, nikotinin *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* ve *Streptococcus pneumoniae*'nin sert ve yumuşak ağız yüzeylerine yapışmasını arttırdığını göstermektedir (139).

2.7. Ağız Mikrobiyolojisi

2.7.1. Biyofilm

Sahip olduğumuz oral mikrobiyota, mukoza ve diş yüzeylerinde biyofilm adı verilen ekstraselüler polisakkarit matrisine gömülü kendi içinde organize, interaktif ve çok çeşitli mikroorganizma toplulukları oluşturur (140, 141). Ağız florasında sık bulunan mikroorganizmaların bazıları:

1. Streptokoklar

2. Anaeroplara; Bacteroides, Porphyromonas, Prevotella, Mistuokella, Fusobacterium, Capnocytophaga, Peptostreptococcus, Selenomonas, Leptothrichia, Eubacterium, Veillonella, Wolinella, Bifidobacterium, Propionibacterium, Actinomyces, Lactobacillus, Campylobacter ve Helicobacter Spiroketler.

3. Actinobacillus

4. Stafilokoklar

5. Candida albicans

6. Diğer mikroorganizmalar (142).

Bu biyofilm yapısı, içinde bulundurduğu mikroorganizmalara koruma sağlar ve katalaz ve süperoksit dismutaz gibi biyokimyasal maddelerin katkısı ile organizmaların kendi aralarında etkileşimini kolaylaştırmaktadır (143, 144). Biyofilm tabakasının gelişimi, biyofilm topluluğu içindeki mikroorganizmaları etkileyen diyet, tükürük ve oral çevresel faktörlere bağlıdır. Ağız boşluğu, çeşitli yapıda mikrobiyal flora barındırmaktadır ve ağızda bulunan her yüzeyde, farklı bir mikrobiyal topluluk gözlenebilir (4, 145).

2.7.2. Biyofilm Oluşum Fazları

Dental biyofilmin gelişimi, diş yüzeyinde birkaç aşamayı içermektedir; pelikül oluşumu, pelikül ve kolonileşen mikroorganizmalar arasında tersine çevrilebilir ve geri döndürülemeyen etkileşimlerin gözlenmesi; mikroorganizmaların biraraya toplanması ve mikroorganizmaların ağız yüzeylerinden ayrılmasıdır. Bu dizilerin sonunda biyofilm birikimine izin verilirse periodontal hastalık ve diş çürüklerinin şiddetini arttırabilen organize mikrobiyal topluluklar oluşabilmektedir (143).

Edinilmiş pelikül, Streptococcus mitis, Streptococcus oralis ve Streptococcus sanguinis gibi erken plak kolonilerinin bağlanması sağlayan ince, hücre içermeyen bir tabakanın oluşumudur (146).

Pelikül ve kolonileşen mikroplar arasında geri dönüşümsüz etkileşimlerin gözlenmesi aşaması dental biyofilm gelişiminde öncü bir aşamadır. Serbest dolaşabilen mikrobiyal hücrelerin yüzeye bağlanması bu aşamada gerçekleşir. Bazı türler kendi başlarına bir yüzeye tutunamayıp, ancak daha önce yüzeye yerleşmiş mikroorganizmalara

veya EPS matrisine tutunabilirler. Ağız boşluğunda kalabilmeleri için bir yüzeye veya diğer mikroorganizmalara yapışmaları gerekmektedir (147).

Araştırmalar, ağız yüzeylerinde mikrobiyal ve pelikül arasında fiziko-kimyasal kuvvetleri içeren tersinir bir etkileşim olduğunu göstermiştir (148). Bakteriyel hücre duvarının negatif yükü, iki değerlikli bir katyon köprüsü yoluyla pelikül üzerindeki negatif yüklü glikoprotein ile etkileşime girerken, mikrobiyal hücre duvarının lipofilik adhezini, epitelyal hücre üzerindeki hidrofobik reseptörleri tanımaktadır (149). Streptococcus oralis ve Streptococcus gordonii, edinilmiş pelikülün mukoglikoproteinine bağlanan geri dönüşü olmayan etkileşimde yer alan iki mikroorganizma örneğidir (150). Mikroorganizmaların biraraya toplanması aşamasında, dental biyofilme erken yerleşen mikroorganizmalar üzerine geç kolonileşen organizmaların mikrobiyal yapışma sürecidir (148). Bağlandıktan sonra, biyofilm büyür ve olgunlaşır. Biyofilm içinde büyüyen mikrobiyal hücreler fizyolojik olarak değişir ve sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurmaya ve DNA alışverişine başlarlar. Biyofilm olgunlaşarak mekanik strese veya antibiyotik/antifungal tedaviye daha dirençli hale gelir (151).

Biyofilm oluşumunun son aşaması dispersiyon olarak tanımlanır. Biyofilm hücrelerinin ayrılması ve ardından yeni yüzeylere yayılması ve kolonileşmesi gözlenir (152).

2.7.3. Biyofilm Oluşumunun Klinik Önemi

Biyofilm oluşumunun, mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara duyarlılığını azalttığı ve bunun da daha sonra patojenitede artışa neden olabileceği gösterilmiştir (144). Bu fenomenin, antimikrobiyal ajanların biyofilmin matrisine nüfuz etmesini kısıtlaması nedeniyle ortaya çıktığı ve daha sonra hedef mikroorganizmanın duyarlılığını azalttığı ileri sürülmektedir. Bazı durumlarda, biyofilmdeki bir patojenin direnci bir antibiyotige karşı 1000 katına çıkabilmektedir (153).

Bir biyofilmdeki mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçlara karşı daha az duyarlı hale gelmesi ise klinik açıdan önemlidir. Buna sebep olarak farklı mekanizmalar gösterilebilir; EPS matrisine antibiyotiklerin yavaş veya başarısız penetrasyonu, bazı bakteri ve mantarların koruma oluşturmaları veya atık ürün birikimi ile antibiyotik etkisi antagonize edilebilir (154).

Bu nedenle, oral biyofilm çok dinamik bir ekosistemdir ve sağlıklı insanlarda, konakçı ile yerleşik mikroorganizmalar arasında ekolojik bir homeostazi bulunmaktadır. Bir

biyofilm içindeki homeostazdaki küçük bozukluklar patojenik türlerin çoğalmasına yol açabilmektedir (151, 155).

2.7.4. Biyofilm Oluşumu

Erken evre:

Biyofilm oluşumunun ilk 2 saatinde, PMMA yüzeyine yapışan *Candida albicans* maya formları blastosporlar olarak gözlenmiştir. 3. ve 4. saatte ise mikro kolonilerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Hif oluşumu genellikle maya hücrelerinin ilk kolonizasyonundan 3-6 saat sonra gerçekleşmektedir. 11 saat sonra *Candida albicans* kümelenmeleri substratta görülür (156).

Gelişimsel evre 12-30 saat:

Candida biyofilm yapısı artık, hücre dışı polimerik maddelerden oluşan bir matris ile mayalar, germ tüpleri ve genç hiflerden oluşan çift tabakaya dönüşmektedir. (157). EPS matrisi, mikrobiyal bileşenler tarafından üretilen polisakkaritlerden oluşur ve genellikle yavaşlamış metabolik aktivite durumunda gözlenirler (158).

Olgunlaşma evresi 38-72 saat:

48 saat sonra, olgun bir biyofilm tipik olarak hif ve psödohif içeren hücreler içerir (159). Olgun biyofilm, hücre dışı bir polisakkarit matrisi ile çevrili, iyi organize edilmiş ve uzamsal olarak yapılandırılmış bir komplekstir.

Son adım olan hücrelerin ayrılması, farklı bölgelerin kolonizasyonu ile gerçekleşir ve “Quorum sensing” (çoğunluk algılanması) olarak bilinen işlemle tetiklenebilir. Çoğunluk algılanması veya hücre-hücre sinyali aşırı popülasyonu önleyerek ve rekabeti kontrol ederek biyofilme fayda sağlamaktadır (157, 160).

Protez yüzeyinin özellikleri, biyofilmin tutunabilmesini sağlaması ve azalmış tükürük miktarıyla birlikte oral biyofilm oluşumu için en uygun koşulları sağlar, bu da biyofilmin savunma etmenlerinden daha az etkilenmesine neden olmaktadır (115). Protezler, bakteriyel plak olarak da bilinen yapılar olan mikrobiyal biyofilmlerin büyümesini destekler. Bu biyofilm toplulukları, miligram başına yüz milyar mikroorganizmayla protez yüzeyine tutunmaktadır (161). Protez yüzeyinin topografisi bu tutunmayı etkilemektedir (114).

1885 yılında protez stomatitli hastalarda protezlerin doku yüzeyinde mikroorganizmalar ilk kez tespit edilmiş ve böylece protez plağı ve protez stomatiti

arasındaki mikrobiyolojik ilişki rapor edilmiştir (162). Başka bir çalışmada protezlerin üzerinde oluşan mikrobiyal flora araştırıldığında *Candida albicans* varlığı gözlenmiştir (163). Bu kompleks mikrobiyal kompozisyon, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococci* ve çubuklar gibi gram pozitif bakterileri de içermektedir (164).

PMMA'nın akrilik yüzeyi, pelikül tabakasının protezin yüzeyinde kolayca oluşmasına izin verir. Tükürük, protezler de dahil olmak üzere ağız yüzeylerini, birincil kolonileştiriciler, *Streptococcus*, *Actinomyces* vb. 'nin yapışabileceği protein, karbonhidrat ve lipid tabakası ile kaplar (165). *Candida albicans*'ın tükürük müsinlerine yapıştığı ve bunların protez akriliğine yapışmasını etkileyebileceği in vivo çalışmalarda gösterilmiştir (166, 167). Protez stomatiti vakalarında *Candida albicans* daha yüksek bir prevalansa sahip olduğundan, baskın patojen olduğu öne sürülmüştür. Bununla birlikte antifungal tedaviyi takiben protez stomatiti düzelebilmektedir (168).

2.8. Candida Albicans'ın Protez Stomatitindeki Rolü

Candida albicans, insan vücudunda başlıca ağız boşluğu olmak üzere; epidermis, genital bölge ve mide-bağırsak yolunda komensal olarak yaşar. *Candida albicans*, ağız boşluğundan izole edilen mantar türlerinin %75'ini oluşturmaktadır (169). Sağlıklı yetişkin bireylerin %30 ile %90'ının ağız boşluğundan izole edilebilir. Ancak çoğu durumda kolonize olanlar enfeksiyon belirtileri veya semptom göstermezler (24, 170).

Candida albicans, tüm kandida türleri arasında en yaygın görülen ve en patojenik olarak kabul görendir. Bunu *Candida tropicalis*, *Candida stellalodia*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guillier mondi* ve *Candida glabrata* türleri izler (171).

Candida albicans'ın çürük lezyonlarının çevresinde (172), dişlerin plak yüzeylerinde, subgingival florada, ilerlemiş periodontal apselerin dişeti dokularında ve AIDS hastalarının ileri periodontitisinde mevcut olduğu bildirilmiştir (173). Sağlıklı bireylerde, *Candida albicans*'ın ağız boşluğu boyunca düzgün dağılmadığı, özellikle de fazla miktarda dil üzerinde sirkumfolat papillaya yakın bölgede yerleştiği gözlenmiştir (174).

Candida albicans, polimorfik olarak tanımlanır. Ayrıca; fenotipik değişkenlik ve ilaç direncinin gelişmesi yoluyla değişken konakçı koşullarına adapte olabilmektedir (175). *Candida albicans*; blastosporlar, psödohif, hif ve klamidyaspor dahil olmak üzere çeşitli

formlar arasında geçiş yapma özelliğine sahiptir. Bu formlar maya tarafından farklı çevresel koşullara yanıt olarak sergilenmektedir. Bu morfolojik değişimin virülans için önemli olduğu, çeşitli yüzeylere yapışma yeteneğini etkilediği ve fırsatçı bir patojen olarak başarısına ve hayatta kalmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (176, 177). Hifal form, mantarın protez yüzeyine daha fazla tutunmasını ve kolonileştirme kabiliyetine sahip olmasını sağlar. Aynı zamanda mantarın daha istilacı formu olarak adlandırılır ve sıklıkla stomatit hastalarında izole edilmektedir (10).

Kandida izolasyonu; özellikle st akrilik protezlerin doku yüzeyinde, protez veya ortodontik tel gibi ağız içi cihazların varlığı ile artmaktadır (178). Protezin varlığı, tükürüğün protez akriliği ile yumuşak st damak dokusu arasındaki alana erişimini azaltarak ortam koşullarını değiştirir, böylece ağız boşluğundaki tükürüğün temizleme etkisini en aza indirir. Bundan dolayı kullanılan protez kandida türlerinin büyümesi ve kolonize olmaları için koruyucu bariyer görevi görür (179).

Stomatit gelişiminde Candida albicans'ın etkisi, protez yüzeyinde ve oral mukozada patojenik etki oluşturmak için florada baskın hale gelmesiyle gerçekleşir. Artan kandidal yükün, protez stomatitin ortaya çıkması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (116). İlk kolonizasyon, Candida albicans adlı bir mantar türüyle ilişkilendirilmiştir (117). alışmalar protezin neden olduğu stomatitin kronik iltihaplanma ile doğrudan bir ilişkisi olduğunu göstermektedir (115).

Candida albicans'ın virülans faktörleri arasında maya ve hif formları arasındaki morfolojik geçişler, adhezin ve invazin ekspresyonu, biyofilm oluşumu, fenotipik değişim ve hidrolitik enzim salgılaması yer alır (180). alışmalar, Candida albicans'ın stomatit hastalarının protez tabanından izole edildiğinde, mayaların aktif bir büyüme aşamasında olduğunu belirleyen hiflerin mevcut olduğunu göstermiştir. Bu, hifal formun konakçı hücreleri ve protez yüzeylerini istila etmek için daha büyük bir kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir. (116, 120, 180). Protezler ağızdan çıkarıldığında, protezin temas ettiği koruyucu ortam ortadan kalkmış, dil ve tükürüğün temizleyici etkileri aktif hale gelerek maya sayıları azalmıştır (175).

2.8.1. Adezyon

Kandida türleri ağız boşluğunda hem epitelyal dokuda hem de akrilik protez gibi biyomalzemelerde biyofilm oluşturabilir. Bu bağlanma, adhezinler olarak bilinen hücre

yüzeyi moleküllerini içeren spesifik tipte bir bağlanma şeklinde olabilir veya elektrostatik veya hidrofobik etkileşimleri içeren spesifik olmayan tipte olabilmektedir (181).

Hif kullanarak yapışma, mantarlar tarafından yapılan bir işlem olup aktif penetrasyon sağlar. Tam olarak bilinmese de, fiziksel adezyon kuvvetlerinin çok önemli olduğu düşünülmektedir (182, 183). *Candida albicans*; diğer *Candida albicans* hücrelerine, diğer mikroorganizmalara, abiyotik yüzeylere ve konakçı hücrelere yapışma sağlayan özel bir protein serisine sahiptir (184). Hücre duvarında bulunan bu tür proteinlere adhezin denilmektedir ve adhezinler diğer hücre yüzeylerindeki amino asit veya şeker gruplarına bağlanmayı sağlar.

Maya formundaki hücre duvarı proteinleri, *Candida albicans*'ın hücre duvarı polisakkaritlerine kovalent olarak bağlanır ve virülansında önemli bir rol oynarlar. Hücre duvarı bütünlüğüne ve biyofilm oluşumuna katkıda bulunurlar ve ayrıca konakçı hücrelere, kommensal mikrobiyal flora ve protez yüzeylerine yapışmaya aracılık ederler (169, 185).

Candida türleri bir bölgede enfeksiyona sebep olmadan önce konakçı hücrelere yapışarak kolonize olmalıdır. *Candida albicans*'ın adezyon proteinleri içerisinde aglütinin benzeri sekans (ALS) proteinleri, ana etkili protein olarak tanımlanmıştır. Bilinen sekiz ALS proteini bulunmaktadır (ALS 1-7 ve ALS9). ALS1 proteini orofaringeal kandidiyazisin erken evresinde insan epitel hücrelerine yapışmada etkilidir (186).

Ayrıca adezyon proteinleri; pelikül üzerindeki tükürük proteinlerine, epitel hücrelerine, diş ve protez yüzeylerine, diğer mikroorganizmalara tutunma sağlar ve biyofilm oluşumunda da rol oynarlar (187). *Candida albicans*'a özgü olan CaEap1, hücre duvarı yüzeyinde bulunur ve hidrofobik yüzeylere yapışmayı sağlayarak akrilik protez yüzeylerinde adezyonu gerçekleştirir (188).

2.8.2. Enzimler

Candida albicans'ın enfeksiyona katkıda bulunabilecek fosfolipazlar ve proteinazlar dahil olmak üzere çeşitli enzimler salgıladığı bildirilmiştir (169). Maya tarafından salgılanan parçalayıcı enzimler beslenme amaçlı dokuyu parçalamak için kullanılır. Salgılanan aspartil proteazlar (SAP), *Candida albicans*'ın salgıladığı en etkili parçalayıcı enzimlerdir (189). SAP'lar asidik koşullarda aktivite gösterirler. SAP'lar hücre zarlarını sindirerek ve konakçı yüzey moleküllerini bozarak doku istilasında görev alırlar (190). Protez doku yüzeyindeki

protez plağının oral mukozaya yakınlığı ve ortamın asidik olması enzimlerin etkisini arttırıp *Candida albicans*'ın invazyonuna katkıda bulunur.

Candida albicans'ın fosfolipaz enzimleri arasında lizofosfolipaz-transasilaz ve fosfolipazlar A, B, C ve D bulunmaktadır (190, 191). Fosfolipazlar *Candida albicans*'ın virülansına katkıda bulunur. Membran homeostazı, besinlerin elde edilmesi ve biyoaktif moleküllerin oluşumu gibi çeşitli süreçlerde yer alan enzimlerdir (192). Fosfolipazlar, genellikle hücre zarlarında bulunan gliserofosfolipidleri hidrolize ederek işlev görür ve konakçı hücrenin mukozal epitelinin istilasına yardımcı olduğu gösterilmiştir (193).

2.8.3. Hif Oluşturma

Hif formlarının enfeksiyon için gerekli olduğunu bilmek önemlidir (194). Hif tarafından üretilen basıncın, *Candida albicans*'ın epitel hücrelerine etkili bir şekilde sızmasını sağladığı düşünülmektedir. Kandidanın nüfuz edici doğasının kendine özgü olduğu ve temas ettikleri herhangi bir yüzeye sızacak şekilde programlandıkları ileri sürülmüştür (195).

Hifal hücreler, *Candida albicans*'ın konağın epiteline yapışmasına ve nüfuz etmesine izin veren bir dizi faktörü ifade eder ve oluşturur. *Candida albicans* hif formu ayrıca aspartil proteazlar, fosfolipazlar ve lipazlar gibi enzimleri salgılar. (169, 185)

2.9. Candida Albicans'ın Protez Akrilik Yüzeylerine Tutunmasını Etkileyen Faktörler

2.9.1. Protez Yüzeyinin Etkisi

Fiziksel olarak ağız hijyeni kabiliyeti yetersiz olan yaşlıların protez hijyenlerinin zayıf olduğu kanıtlanmıştır (196). Bu nedenle, kandidal tutunmayı azaltmaya yönelik çeşitli PMMA içerikli protez akrilikleri üzerinde yüzey işlemleri araştırılmıştır (197).

Özellikle yüzey pürüzlülüğünün kandida türlerinin protez kaidesine yapışmasını artırdığı bulunmuştur (133). Yüzey pürüzlülüğü; polimerizasyon yöntemi, kullanılan malzeme ve yüzey bitim işlemi gibi faktörlerden etkilenmektedir (198). Pürüzsüz yüzey bitirme işleminin, protez kaynaklı stomatitin sebebi olan *Candida albicans*'ın tutunmasını azalttığı gözlenmiştir (133, 198).

Yüzey hidrofobikliği ve yüzey serbest enerjisinin kandida türlerinin akriliğe tutunmasını etkilediği gösterilmiştir. Akrilik yüzeyindekine yakın yüzey serbest enerjisine sahip hücreler akrilik yüzeyine daha fazla tutunma sağlamıştır (81).

Protez materyallerinin türü ve polimerizasyon yöntemi *Candida albicans*'ın yüzeye tutunması üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. *Candida* türlerinin yapışmasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Bir çalışmada, ısı ile polimerize akrilikte otopolimerize akriliğe göre *Candida albicans* tutunma miktarı daha az gözlenmiştir (199).

Candida albicans mikro kolonilerinin büyümesi ve gelişmesi protez doku yüzeyinin fiziksel özellikleri tarafından etkilenmektedir. Nispeten dış yüzeyi pürüzsüz olan ısı ile polimerize akrilik protez yüzeyi, mekanik tutunma için az alan oluşturur. Protez kaidelerinin doku yüzeylerinin gözenekli olduğu, yeterli protez hijyenini zorlaştıran girinti çıkıntı oluşturduğundan *Candida albicans* kolonizasyonuna elverişli alan oluşturduğu gözlemlenmiştir (200).

2.9.2. Tükürüğün Etkisi

Candida albicans'ın oral mukozaya ve protez akrilik yüzeyine yapışması, oral kandidal enfeksiyonların patogeneğinde ilk adımdır (201).

Ağız ortamında bulunan herhangi bir yüzeyin üzerinde hızla oluşan pelikül zarından dolayı yüzeylerin yapışkan özelliklerinin değiştiği gözlenmiştir (202). Farklı yüzeylerin üzerinde oluşabilen pelikül sayesinde yüzeylerin yapışkan özelliklerinin aynı seviyeye geldiği görülmüştür. Mukozal epitel hücrelerini ve protez yüzeylerini kaplayan pelikülün *kandida* kolonizasyonu arttırdığı gözlenmiştir (203).

Tükürük bileşenlerinin, tükürük ile kaplı protez akrilik örneklerine *Candida albicans* yapışmasını arttırdığı gözlemlenmiş ve bu da edinilmiş tükürük pelikülünün, akrilik protezin *Candida albicans* tarafından kolonizasyonunda önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (204).

Sükröz veya glikoz gibi besinlerin varlığının *kandida* türlerinin akrilik protezlere yapışmasını arttırdığı bulunmuştur (205). Benzer şekilde tükürük proteinlerinin, akrilik protez yüzeylerine *kandida* türlerinin adezyonunu arttırdığı gösterilmiştir (204, 206).

2.9.3. Protez Hijyeni

Düzenli ağız ve protez hijyeni prosedürlerinin, ağız sağlığının korunmasında ve protez tedavilerinin uzun vadeli kullanım başarısındaki önemi büyüktür. Kötü ağız ve protez hijyeni protez stomatiti görülme olasılığı ile doğru orantılıdır (127, 207). Dişsiz hastalarda ağız hastalıkları gelişiminin önlenmesinde doğru protez hijyen prosedürlerine uyulması şarttır (208, 209).

Protezlerden plakların temizlenmesi için hastalara genellikle iki ana yaklaşım önerilmektedir. Protezler mekanik, kimyasal veya her ikisinin kombinasyonu şeklinde temizlenebilir.

Mekanik yöntemler fırçalama (su ve sabun) ve ultrasonik temizlemeden oluşur (162). Fırçalama, protez biyofilminin çıkarılması için basit, ucuz ve etkili bir yöntemdir. Ancak bazı hastalarda kısıtlı fiziksel beceri yüzünden bu yöntemde zorluklar yaşanabilir. Diğer bir dezavantajı ise, aşındırıcı etkinin protez kaidesinde aşınma ve pürüzlülüğe neden olabilmesidir (210). Fırçalama, protezlerin yüzey pürüzlülüğünü arttırmasıyla beraber *Candida albicans*'ın protez doku yüzeyindeki herhangi bir çatlak veya derinliğinden çıkarılmasında yetersizdir (211).

Kimyasal temizleyiciler, alkali hidrokloritler, alkali peroksitler, enzim içeren veya içermeyen nötr peroksitler olarak sınıflandırılabilir (212). Protezleri temizlemek için kullanılan kimyasal yöntemler temel olarak solüsyonda bekletme şeklinde uygulanmaktadır (213). Protez tabanının alt kısımlarında oluşan plağa kolayca ulaşabilir ve kullanımı basittir. Ayrıca mekanik temizleme kadar akrilik rezinin yüzey pürüzlülüğünü değiştirmezler ve bu nedenle protezleri biyofilm birikimine karşı daha az duyarlı hale getirirler. Bununla birlikte, protez temizlemede kullanılan bazı maddeler nispeten pahalıdır ve bu maddelerin akrilik rezine ve metal alaşımlarına zarar verdikleri bilinmektedir (214).

Protez plağı üzerinde efervesan protez temizleyicisi kullanıldığında bunların kullanımının protez yüzeylerindeki mikrobiyal yükü azaltmak için yeterli olduğu ancak tam bir sterilizasyonla sonuçlanmayacağı gözlenmiştir (215).

Kimyasal protez temizleyici kullanımının ısıyla polimerize protez akrilik rezin üzerindeki renk, yüzey pürüzlülüğü ve eğilme dayanımı değişiklikleri incelendiği bir in vitro çalışmanın sonucunda, kimyasal protez temizleyici kullanımının ardından bu üç özellikte önemli değişiklikler oluşturduğu gözlenmiştir (216).

2.10. Mikrobiyal Hücre Sayımı Yöntemleri

Mikrobiyal hücre sayımı veya hücre sayımı, bir mililitre (mL) sıvı veya bir gram (g) katı materyaldeki hücre sayısını belirlemek için kullanılmaktadır (217). Yaygın olarak spektrofotometri ve petri sayımları kullanılmaktadır.

2.10.1. Spektrofotometri

Spektrofotometri, belirli bir dalga boyunda optik yoğunluk (OD) değerini kaydetmek için kullanılan indirekt bir yöntemdir. OD, Beer-Lambert Absorbans Yasası ile belirlenebilen ışığın geçirgenlik miktarıyla temsil edilir (218). Beer-Lambert yasası; bir numunenin konsantrasyonunu, numuneden geçen ışığın zayıflamasıyla ilişkilendirir, böylece hücre konsantrasyonunu OD ile orantılı olarak ilişkilendirilmiş olunur (219).

Belirli bir kültür numunesi için, iyi bir spektrofotometre, hücre sayısı ile absorbans arasında doğrusal bir ilişki sağlamalıdır. Duyarlılık, çoğu bakteri için mL başına yaklaşık 10^7 hücre ile sınırlıdır (220).

2.10.2. Petri Sayımı

Direkt petri sayımında, homojen halde bulunan örneğin seri seyreltilmesinden sonra elde edilen inoküllerin, uygun olan besiyeri içeren agar petrilere doğrudan yayılmasıyla yapılır. İnkübasyon, bakterinin petride insan gözü tarafından tespit edilebilecek şekilde bir CFU (koloni oluşturan birim) koloni oluşturmalarını sağlar. Bu teknikte genellikle numune birimlerinin seyreltilmesi ve inkübasyondan sonra yalnızca kabul edilebilir sayıda koloni içeren petrilere seçilmesi gerekir. En yaygın olarak kullanılan seyreltme tekniği on kat seyreltme serisidir (221).

Genel Formül: $CFU/mL = \text{Oluşturulan koloniler} \times \text{Seyreltme} \times \text{Ekim yapılan miktar}$

2.11. Ağızda Gözlenen Kandidal Hastalıklar

2.11.1. Psödomembranöz Kandidiyazis

Bu kandidiyazis şekli akut enfeksiyon olarak seyir etmektedir. Ağız boşluğu yüzeylerinde yüzeysel ve peynire benzeyen beyaz ile kremi renkte plaklar şeklinde gözlenir. Bu plaklar soyulmuş epitel hücrelerinden, karışık mantar hiflerinden, fibrin ve nekrotik dokulardan oluşmaktadır (222).

Beyaz lekeler labiyal ve bukkal mukozanın yüzeyinde, sert ve yumuşak damakta, dilde ve orofarenkste meydana gelir. Yüzeysel oluşan yalancı membran hafifçe silindikten sonra arkasında eritemli ve bazen de hafif kanama gözlenen yüzeyler bırakmaktadır (223, 224).

2.11.2. Eritematöz Kandidiyazis

Eritematöz kandidiyazis hem akut hem de kronik şekilde seyir ederek kendini gösterebilir (223).

Akut atrofik kandidiyazis genellikle ağızda veya dilde yanma hissi ile ilişkilidir. Ağrılı ve eritemli lokalize bölge olarak kendini gösterir. Ağrı ile ilişkili tek kandidiyazis şeklidir (224). Dil; düşük B12, düşük folat ve düşük ferritin serum miktarlarında semptom olarak görüldüğü gibi benzer şekilde parlak kırmızı olabilir. Dil ve bukkal mukozadan alınan sürüntü tanıya yardımcı olmaktadır. Lezyonlar tipik olarak dil sırtında tüy dökülmüş alanlar olarak gözlenmektedir (225).

"Protez stomatiti" olarak da bilinen kronik atrofik kandidiyazis, protezlerin kapladığı dokularda lokalize kronik eritem ile karakterizedir. Lezyonlar genellikle damakta ve üst çenede meydana gelir. Hastaların %65'i kadar bildirilen insidans oranları ile oldukça yaygın görülmektedir (226).

2.11.3. Hiperplastik Kandidiyazis

Hiperplastik kandidiyazis esas olarak kronik seyir etmektedir. "Kandidal lökoplaki" olarak da tanımlanmıştır. Klinik olarak, homojen şekilde yapışık beyaz plak benzeri veya eritemli çoklu nodüller (benekli) tip olarak gözlenmektedir (227).

Karakteristik olarak bukkal mukozada veya dilin lateral sınırında benekli veya homojen beyaz bir lezyon olarak ortaya çıkar. Psödomembranöz tipin aksine, hiperplastik kandidiyazis lezyonlarında kazınmayla yüzeyden uzaklaşma gerçekleşmez. Sigara tüketimiyle doğrudan ilişkilidir ve buna ek olarak farklı derecelerde displazi de gözlenebilmektedir (228). Tam çözümün sigarayı bırakmaya bağlı olduğu gözlenmiştir (229).

2.11.4. Angüler Keilitis

Bu kandidiyazis formu genellikle eritematöz veya ülsere çatlaklar şeklinde ortaya çıkar ve tipik olarak tek taraflı veya çift taraflı olarak dudak komissürlerini etkiler (230). Genellikle ağız içi kandida enfeksiyonu ile ilişkilidir. İlgili diğer organizmalar stafilokoklar ve streptokoklardır (231, 232). Özellikle yaşlı kişilerde ağız kenarlarında ve nazolabial kıvrım boyunca yüz kırışıklıkları bu lezyona yatkınlık oluşturan kronik nemli ortama yol açar (233).

2.12. Tedavi Protokolleri

2.12.1. Güncel İlaç Tedavileri

Oral kandidiyazisin tedavisi için antimikotik ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanların geliştirilmesinde *Candida albicans*'a özgün steroller, hücre duvarındaki karbonhidratlar ve nükleik asitler hedef alınmıştır (234).

Kandidiyazisin tedavisi için kullanılabilen 4 adet antifungal ajan tipi bulunmaktadır. Bunlar; polienler, azoller, primidin analogları ve ekinokandinlerdir. Polien tipleri, nistatin ve amfoterisin B iken azoller; mikonazol, flukonazol, klotriminazol, ketokonazol ve itrakonazol içerir (235).

Risk altındaki popülasyonda oral kandidiyazisin tedavisi veya önlenmesi için uyum (236), maliyet (237) ve özellikle yan etkiler (238, 239) gibi etkenlerin önemli engeller oluşturduğu gösterilmiştir. *Candida* enfeksiyonlarının tedavisinde en büyük zorluk, biyofilm oluşumundan dolayı gözlenen antifungal dirençtir (240). Amfoterisin B ve flukonazol dahil olmak üzere belirli antifungallere karşı antifungal direnç oluşumu gözlenmiştir (156).

2.12.1.1. Azol Türevleri

İmidazoller ve triazoller olarak kategorize edilmektedir. Genellikle klinik olarak kullanılan imidazoller ketokonazol ve mikonazol içerirken, triazoller itrakonazol ve flukonazol içermektedir. Flukonazol gibi triazoller, mantar hücre zarının oluşumunda rol oynayan sitokrom p-450 enzimini inhibe ederler. Triazoller, bu enzimin inhibisyonu ile hücre zarında ergosterolün tükenmesine ve sterol öncülerinin birikmesine sebep olarak, yapısı değişmiş bir plazma zarının oluşmasını sağlar (241).

Flukonazol

Flukonazol, oral kandidiyazis gibi kandidal enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir antifungal ajandır. Tablet, oral çözelti ve salin bazlı intravenöz çözeltiler şeklinde bulunabilen suda çözünebilen bir bileşiktir (242). Gastrointestinal absorpsiyon yoluyla etkisini göstermektedir. Profilaksi ve düşük riskli mantar enfeksiyonları için tercih edilir. Ancak; *Candida albicans* ve *albicans* dışı mantar türlerinin oluşturduğu direnç flukonazolün etkinliğini sınırlamaktadır (243).

2.12.1.2. Polien Türevleri

Polien türevi antifungal ajanlar, azollerin keşfedilmesinden önce sistemik mantar enfeksiyonları için kullanılmaktaydı. Polienler, mantar zarı sterolleri ile etkileşime girerek zarda gözeneklerin oluşmasına neden olarak etki etmektedir. Hücre zarlarında ergosterol içeren tüm organizmalar polienlere (örneğin; maya, yosun ve protozoa) karşı duyarlıdır (241). Polienler, amfipatik olarak kategorize edilen nistatin ve amfoterisin B'yi içermektedir. Hem hidrofobik hem de hidrofilik taraflara sahiptirler (244).

Amfoterisin B, mantar organizmalarını öldürmede nistatinden daha etkilidir. Bununla birlikte, klinikte yararlılığını sınırlayan dar terapötik etkiye sahiptir (241).

Amfoterisin B

Amfoterisin B, hem fungisidal hem de fungistatik aktivite gösteren geniş spektrumlu bir polien türevidir. Blastomyces dermatidis, Coccidioides immitis, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Candida glabrata ve Candida albicans'a karşı etkilidir. Bu topikal antifungal ajan genellikle birincil oral kandidiyazisin tedavisinde kullanılır. Sekonder kandidiyaziste parenteral tedaviye yardımcı olarak kullanılmaktadır (106).

Amfoterisin B de sistemik olarak etki gösterebilir ancak; yüksek toksisiteye sebep olabilmektedir (245). Yaygın bir klinik yaklaşım olarak, şiddetli ve derin doku enfeksiyonları için başlangıçta amfoterisin B kürü uygulanır ardından kandida suşunun duyarlı olduğu gözlenirse flukonazol ile tedavi devam ettirilmektedir (243).

Nistatin

Nistatin, Streptomyces noursei mikroorganizmasından izole edilir. Prototipik poliendir ve elde edilmiş ilk antimikotik ajanlardan birisidir (242). Etkisini maya zarındaki sterol bileşenine bağlandığında ve zarın geçirgenliğini değiştirmesiyle gösterir. Kandida türlerinin neden olduğu yüzeysel mantar enfeksiyonu tedavisinde kullanılmaktadır. Hem fungistatik hem de fungisidal aktivite sergilediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, nistatin, oral kandidal enfeksiyon tedavisi için zayıf kalmaktadır. Konakçı tarafından zayıf bir şekilde emilir (242). Süspansiyon formunda, nistatin (özellikle oral kullanım için) bağırsaktan emilmez ve bu nedenle sistemik etkileri yoktur.

2.12.1.3. Pirimidin Analogları

5-Fluorositozin (5-FC), sentetik bir antimikotik bileşiktir ve sistemik kandidal enfeksiyonlar için intravenöz olarak kullanılmaktadır. 5-FC'nin direkt olarak antifungal kapasitesi yoktur, ancak mantar hücreleri tarafından alınıp dönüştürüldükten sonra, metabolitleri DNA ve RNA moleküllerine etki etmektedir (246). 5-FC tedavi sırasında 5-FU metabolitini oluşturmaktadır. Yan etkileri olan hepatotoksisite ve miyelotoksisite, 5-FU'nun önemli plazma seviyelerine oluşması ile ilişkilendirilmiştir (247). 5-FC sitostatik ve immünsüpresif ilaçlarla birlikte uygulandığında hematotoksisite gözlenebilmektedir (246).

2.12.1.4. Ekinokandinler

Ekinokandinler (örneğin, kaspofungin ve mikafungin), fungal fermentasyon ürünlerinin yarı sentetik türevleridir (247). Maya hücrelerinin farklı bir bileşenini hedef alan antifungallerdir (248). Antifungal ilaçlar, genel olarak hücre zarı ve hücre duvarı ile ilgili hem bileşenleri hem de enzimatik işlemleri hedef almaktadırlar. Bununla birlikte, ekinokandinler ve amfoterisin B'nin lipozomal formülasyonları kandida biyofilmlerine karşı etki göstermektedirler (114). Ekinokandinler, fungal β -glukan sentazını spesifik olarak inhibe eden siklik lipopeptidlerdir. Sistemik kandidal enfeksiyonlar için intravenöz olarak uygulanmaktadırlar (249).

Az yan etki göstermesiyle beraber ilaç etkileşimi gözlenmesi yaygındır. Kaspofungin ve immünosüpresanın birlikte uygulanması, ekinokandinin serum seviyelerini yükseltir. Bununla birlikte, yüksek düzeyde aktif anti-retroviral tedavi ilaçları (efavirenz, nevirapin, rifampisin veya takrolimus), antikonvülsanlar (fenitoin veya karbamazepin) ve steroidler (deksamesazon) ile birlikte uygulandığında serum düzeyleri azalmaktadır (247).

2.13. Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar, bitkilerden elde edilen uçucu aroma bileşiklerinden oluşan konsantre hidrofobik sıvılardır. Esansiyel yağlar aynı zamanda uçucu yağ, eterik yağ, eterol olarak veya basitçe, özütledikleri bitkinin "yağı" olarak bilinirler. Yağ, bitkinin kendine özgü kokusunu ve özünü taşımaktadır (250).

Esansiyel yağlar, aromatik bitkilerin özütlenmesiyle üretilen ve esas olarak terpenler, terpenoidler ve diğer moleküllerin (örneğin asitler, alkoller, aldehytler, alifatik hidrokarbonlar, asiklik esterler veya laktonlar) birleşiminden oluşan doğal ürünlerdir (251). Bileşenlerin konsantrasyonu ve oranı bitkinin kökenine bağlıdır. İçerik kompozisyonu uçucu

yağların çeşitli teröpatik özelliklerini etkilemektedir. Hidrofobik özellikte olduklarından dolayı hücre zarı ile etkileşime girerek hücre zarının geçirgenliğini değiştirir ve hücre içi bileşenlerin (örneğin; radikaller, proteinler, kalsiyum iyonları) sızmasına ve enzimatik mekanizmaların inhibisyonuna neden olurlar (252). Bunun dışında hücre içine girebilir ve mitokondri membranıyla etkileşime girerek hücre ölümüne neden olabilirler (251). Yalnızca gerçek saf yağlar, çok çeşitli bileşikler içerirler. Fesleğin, tarçın, lavanta, melisa, nane, adaçayı, kekik, limon otu, okaliptüs ve çay ağacı yağı ağız sağlığında kullanılan uçucu yağlara örnek verilebilir (253).

2.13.1. Çay Ağacı Yağı

Çay ağacı yağı, Avustralya kıtası kökenli olan çay ağacının (*Melaleuca alternifolia*, Myrtaceae), yapraklarından ve dallarından buhar damıtılma tekniğiyle elde edilen bir esansiyel yağdır. Çay ağacı yağı, çeşitli mono ve seskiterpenlerin yanı sıra; monoterpenler, terpinen-4-ol, γ -terpinen, α -terpinen, 1,8-sineol, p-simen, α -terpineol, α -pinen, terpinolenler, limonen ve sabinen gibi aromatik bileşikler içerir ve yağın %80-90'ını oluşturmaktadırlar (254–256). Bileşenlerin birçoğu için maksimum ve minimum değerleri belirleyen Uluslararası Standart ISO 4730:2017 bulunmaktadır. Buna göre ana bileşen olan Terpinen4-ol minimum %30 ve maksimum %48 değerleri arasında olmalıdır. Çay ağacı yağının ana bileşenleri ve önerilen kimyasal yapıları Tablo 1’de gösterilmektedir (257).

Tablo 1. Çay ağacı yağı içerik yüzdeleri

Bileşen	Minimum (%)	Maksimum (%)
α -Pinen	1	6
Sabinen	Eser miktar	3.5
α -Terpinen	5	13
Limonen	0.5	1.5
p-Simen	0.5	8
1,8-Sineol (okaliptol)	Eser miktar	15
γ -Terpinen	10	28
Terpinolen	1.5	5
Terpinen4-ol	30	48
α -Terpineol	1.5	8
Aromadendren	Eser miktar	3
Ledenen (viridofloren)	Eser miktar	3
δ -Kadinen	Eser miktar	3

Çay ağacı yağının; sivilce, egzama, uçuk gibi cilt enfeksiyonları, yaralar, yanıklar, böcek ısırıkları ve tırnak mikozu için evrensel olarak etkili olduğu kabul edilmektedir. Kullanılan diğer endikasyonları olarak; soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, dişeti enfeksiyonları, hemoroid ve vajinal enfeksiyonlar örnek verilebilir. Çay ağacı yağının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi iyi bilinmektedir. Kozmetikte kullanım alanı olarak çay ağacı yağı; yaralarda, kabarcıklarda, lekelerde, kızarıklıklarda, siğillerde, yanıklarda, sivilcelerin tedavisinde ve cilt bakımında yaygın olarak kullanılmaktadır (30, 258, 259).

Çay ağacı yağı, klorheksidine benzer geniş spektrumlu, membran aktif bir dezenfektandır. Proteinleri denatüre eder ve normal hücre zarı yapısını ve işlevini bozarak sitoplazmik sızıntıya, hücre lizisine ve hücre ölümüne neden olur (260–262). Terpinen-4-ol temel antimikrobiyal bileşen olarak kabul edilmektedir (263).

Çay ağacı yağı hücre zarını bozması nedeniyle bakteri ve kandida türlerinin gelişimlerini önemli ölçüde engellemektedir (261). %0,5'lik çay ağacı yağının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* hücre membranlarına zarar verdiği ve floresan leke propidium iyodürün girişine izin verdiği gösterilmiştir (264).

Çay ağacı yağının cilt penetrasyonunu kolaylaştıran lipofilik yapısı nedeniyle doğal topikal antifungal ajan olarak kullanılmıştır (32). Bu bağlamda, onikomikoz dahil olmak üzere yüzeysel mantar enfeksiyonlarının tedavisi için klinik olarak değerlendirilmiştir (265). *Tinea* ve refrakter oral kandidiyazis etkili olduğu kandidal enfeksiyonlara örnek verilebilir (266, 267).

Çay ağacı yağının *Candida albicans*'a karşı antifungal aktivitesinde minimum inhibisyon konsantrasyon miktarı %0,04 (v/v) ile %0,5 (v/v) arasında değişmektedir (268). Bir çalışmada enfekte farelerde oral kandidiyazis tedavisi olarak etkinliği değerlendirmiştir. Minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu (MBEC) değeri olarak %12,5 (v/v) belirtilmiştir ve çay ağacı yağının %12,5'inin (h/h), kontrolde 0.24 log₁₀'luk bir azalmaya kıyasla koloni oluşturan birimde ise CFU 5.33 log₁₀'luk bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Bununla beraber test grubunda önemli ölçüde daha az etkilenmiş epitel lezyonu gözlenmiştir (269).

Ağız bakım ürünlerinde kullanılan konsantrasyonlarında azol türevi antifungallere dirençli mayaların çay ağacı yağına karşı duyarlı olduğu gözlenmiştir (270). Ek olarak, çay ağacı yağı geleneksel antifungallere cevap vermeyen şiddetli orofaringeal kandidiyazis enfeksiyonlarını tedavi etmek için palyatif bakım hastalarında başarıyla kullanılmıştır.

Ayrıca protez stomatitinde iltihabı azaltmak için başarıyla kullanılmaktadır (32). %0.125'lik çay ağacı yağının *Candida albicans*'ın germ tüp oluşumunu inhibe ederek filamentli büyüme morfogenezini bloke ettiği gösterilmiştir (29, 271).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu in vitro çalışmada kullanılan örneklerin hazırlanması; Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı Laboratuvarında, mikrobiyoloji testleri Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, yüzey pürüzlülüğü testi Hekimoğlu Döküm Sanayi Nak. ve Tic. Aş. Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmamızda farklı yöntemlerle polimerize olan (ısı ile polimerize ve otopolimerize) üç adet akrilik rezin materyali ve çay ağacı yağı kullanıldı (Resim 1-4). Çalışmada kullanılan materyallerin; adları, üretici bilgileri ve türleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan materyallerin; adları, üretici bilgileri ve türleri

Polimerizasyon Yöntemi	Materyal	İçerik	Üretici Firma	Seri No
Otopolimerizasyon	Meliodent® soğuk akrilik	Polimetil metakrilat	Kulzer GmbH, Hanau, Almanya	KA10091
Isı ile polimerizasyon	Meliodent® sıcak akrilik	Polimetil metakrilat	Kulzer GmbH, Hanau, Almanya	K010053
Isı ile polimerizasyon	DiamonD D® sıcak akrilik	Kimyasal yapısı Güçlendirilmiş polimetil metakrilat (etilen glikol dimetakrilat < %10)	Keystone Industries, NJ, Amerika	1013061
	Altapharma Çay Ağacı Yağı	Terpinen-4-ol %39, Sineol %3	Rossmann GmbH, Burgwedel, Almanya	82861



Resim 1. Meliodent otopolimerize akrilik toz ve likit



Resim 2. Meliodent ısı ile polimerize akrilik toz ve likit



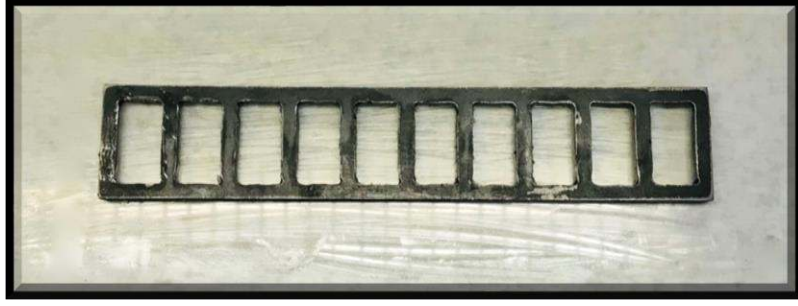
Resim 3. Diamond ısı ile polimerize akrilik toz ve likit



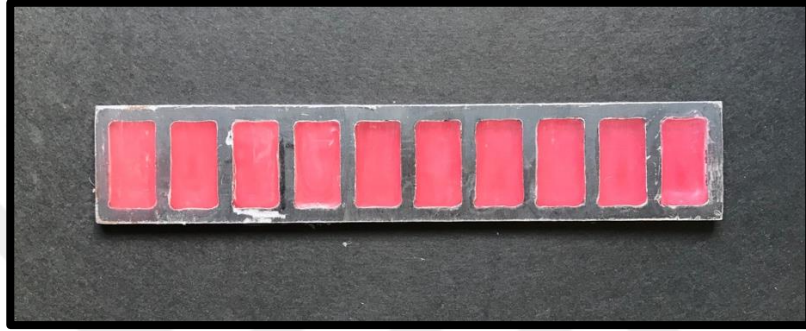
Resim 4. Altapharma çay ağacı yağı

3.1. Örneklerin Hazırlanması

Yüzey pürüzlülüğü testinde kullanılmak üzere standart boyutlarda akrilik rezin bloklar elde etmek amacıyla 10x20x3mm boyutlarında paslanmaz çelik model hazırlandı (Resim 5). Isı ile polimerize olan akrilikler için çelik blokların boşluklarına mum (Cavex, Hollanda) eritilerek sertleştikten sonra mum örnekler muflaya hazır hale getirildi (Resim 6, 7).



Resim 5. Yüzey pürüzlülüğü test örnekleri için hazırlanan metal blok

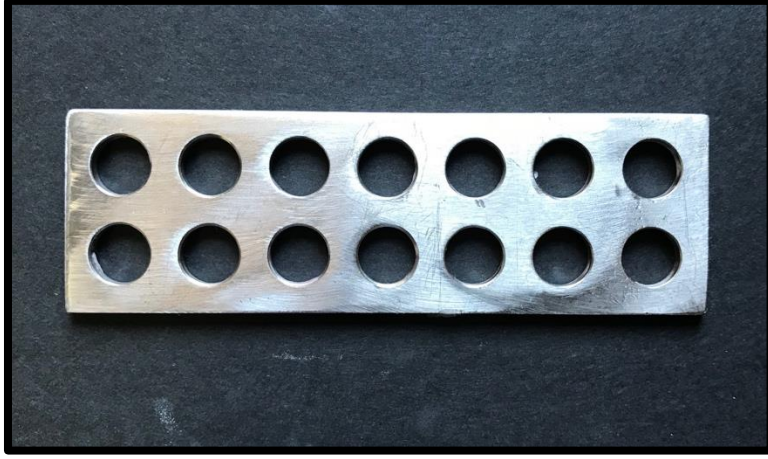


Resim 6. Yüzey pürüzlülüğü örnekleri için hazırlanan mum kalıplar

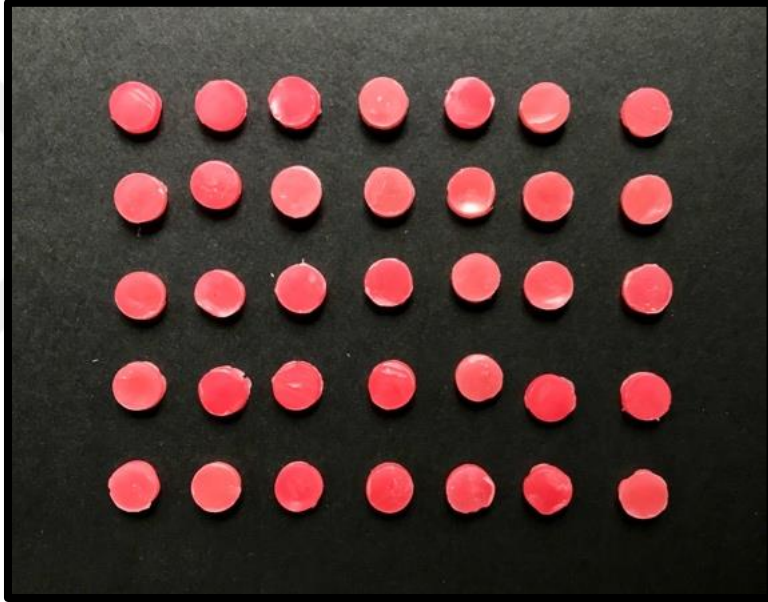


Resim 7. Kayıp mum model tekniği öncesi mum bloklar

Mikrobiyoloji testinde kullanılmak üzere standart boyutlarda akrilik rezin diskler elde etmek amacıyla 10mm çapında ve 2mm kalınlığında paslanmaz çelik model hazırlandı (Resim 8). Isı ile polimerize olan akrilikler için çelik blokların boşluklarına mum (Cavex, Hollanda) eritilerek sertleştikten sonra mum diskler muflaya hazır hale getirildi (Resim 9).



Resim 8. Mikrobiyoloji test örnekleri için hazırlanan metal blok



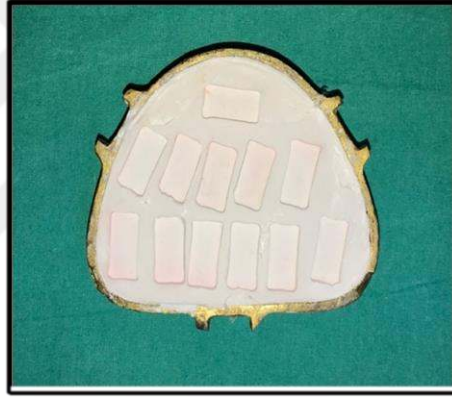
Resim 9. Mikrobiyoloji testleri için hazırlanan mum örnekler

Akrilik rezinlerin toz/likit karıştırma oranları firma talimatlarına uygun olarak toz ağırlıkları 200gr/0.01gr hassasiyetindeki dijital hassas terazi (Kuars, Çin) ile, likit miktarları ise dereceli cam pipet kullanılarak hesaplandı.

Kontrol grubu dışındaki gruplarda firmanın belirlediği akrilik monomer miktarına hacimce %10, %20 ve %40 oranlarında çay ağacı yağı ilavesi yapıldı. Belirlenen miktarlarda çay ağacı yağı cam pipet yardımıyla monomer yapısına ilave edildi.

3.1.1. Isı ile Polimerize Olan Akrilik Rezin Örneklerin Hazırlanması

Muflaların alt parçalarına alçı döküldükten sonra yüzey pürüzlülüğü testi için dikdörtgen şekilli (Resim 10) ve mikrobiyoloji testi için hazırlanmış olan mum diskler (Resim 11) tip II sert alçı (Moldano, Heraus Kulzer, Almanya) kullanılarak muflalara yerleştirildi ve alçı sertleştikten sonra izolasyonun sağlanması için yüzeye lak sürüldü. Sonrasında üst mufla parçaları kapatıldı ve muflanın üst sınırına ulaşana kadar alçı döküldü. Hidrolik preste (Emmevi Spa, İtalya) 5 dakika boyunca 20psi basınç altında preslendi. Alçı sertleştikten sonra kayıp mum tekniği uygulanarak 100°C’de kaynayan suda muflalar 1 saat bekletildi. Mum uzaklaştırılarak akrilik rezinlerin tepimi için boşluklar elde edildi. Model boşluklarına gerekli izolasyonun sağlanması için alt ve üst mufla parçalarının alçı yüzeylerine lak sürüldü.

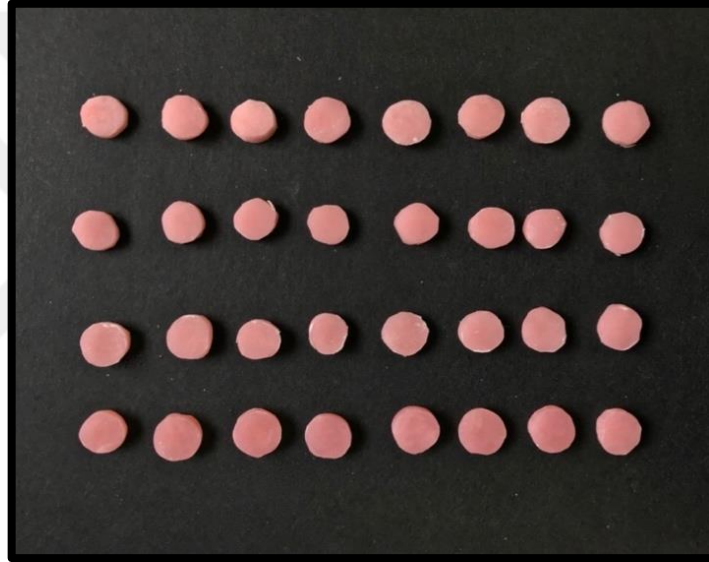


Resim 10. Alçıya gömülen mum örneklerin negatifleri



Resim 11. Alçıya gömülen disk şekilli mum örneklerin negatifleri ve mum disklerin muflaya alınması

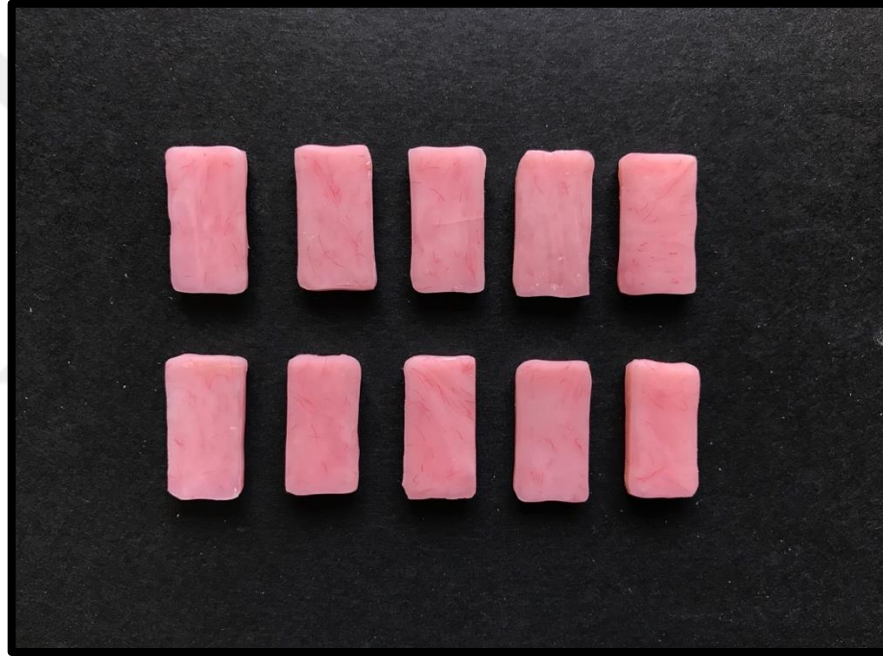
Meliudent akril toz ve likiti oranları üretici firmanın talimatları doğrultusunda kontrol grubu için %0 (23,4gr/10ml), %10 (23,4gr/1ml + 9ml), %20 (23,4gr/2ml + 8ml), %40 (23,4gr/4ml + 6ml) olacak şekilde monomer miktarına hacimce çay ağacı yağı eklendi. Elde edilen miktarlar karıştırıldıktan sonra firma talimatlarına uygun şekilde bir süre bekletildi. Hamur kıvamını aldıktan sonra akrilik rezin alçı boşluklarına yerleştirildi ve 5 dakika boyunca 20psi basınç altında preslendi. Muflalar üretici firmanın tavsiyesine uygun olarak soğuk suya konuldu ve suyun kaynama sıcaklığına ulaşmasını takip eden 20 dakika süresince kaynayan suda bekletildi. Alınan muflalar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı (Resim12).



Resim 12. Meliudent akrilik mikrobiyoloji test örnekleri

Diamond için akril toz ve likiti oranları üretici firmanın talimatları doğrultusunda kontrol grubu için %0 (21gr/10ml), %10 (21gr/1ml + 9ml), %20 (21gr/2ml + 8ml), %40 (21gr/4ml + 6ml) olacak şekilde monomer miktarına hacimce çay ağacı yağı eklendi. Elde edilen miktarlar karıştırıldıktan sonra firma talimatlarına uygun şekilde bir süre bekletildi. Hamur kıvamını aldıktan sonra akrilik rezin materyal alçı boşluklarına yerleştirildi ve 5 dakika boyunca 20psi basınç altında preslendi. Muflalar üretici firmanın tavsiyesine uygun olarak oda sıcaklığındaki suya konulduktan sonra, 73°C'de 90 dakika bekletildi. Ardından su kaynama seviyesine geldikten sonra 30 dakika kaynayan suda polimerize edildi. Alınan muflalar oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı (Resim 13).

Isı ile polimerize olan tüm örnekler mufladan çıkarıldıktan sonra akrilik yüzeylere, tungsten karbid canavar frezle akrilik fazlalıkları alındıktan sonra sırasıyla sert (yeşil), orta (gri) ve ince (sarı) grenli silikon frezlerle tesviye işlemleri uygulandı. Pomza ve polisaj (Universal polishing paste, Ivoclar, Lihtenştayn) patıyla cila işlemi bitirildi. Elde edilen örnekler basınçlı hava ile kurutulduktan sonra mikrobiyoloji örnekleri 24 saat boyunca oda sıcaklığında yapay tükürük içerisinde; yüzey pürüzlülüğü uygulanacak örnekler ise 24 saat boyunca distile suda saklandı. Mikrobiyoloji testi yapılmadan önce 253.7nm dalga boyunda 9W gücünde UV ışığıyla (Multifunctional ultraviolet machine, Çin) 10 dakika boyunca örneklerin sterilizasyonu sağlandı.



Resim 13. %10 oranında çay ağacı yağı ilaveli Diamond akrilik örnekleri

3.1.2. Otopolimerize Akrilik Rezin Örneklerin Hazırlanması

Meliudent akril toz ve likiti oranları üretici firmanın talimatları doğrultusunda kontrol grubu için %0 (23,4gr/10ml), %10 (23,4gr/1ml + 9ml), %20 (23,4gr/2ml + 8ml), %40 (23,4gr/4ml + 6ml) olacak şekilde monomer miktarına hacimce çay ağacı yağı eklendi. Elde edilen miktarlar karıştırıldıktan sonra firma talimatlarına uygun şekilde bir süre bekletildi. Hamur kıvamını aldıktan sonra akrilik rezin materyal metal blok boşluklarına (Resim 14,15) döküldü. Polimerizasyon gerçekleştikten sonra metal bloktan çıkartılıp akrilik yüzeylere, tungsten karbid canavar frezle akrilik fazlalıkları alındıktan sonra sırasıyla sert

(yeşil), orta (gri) ve ince (sarı) grenli silikon frezlerle tesviye işlemleri uygulandı. Pomza ve polisaj patıyla (Universal polishing paste, Ivoclar, Lihtenştayn) cila işlemi bitirildi. Elde edilen örnekler basınçlı hava ile kurutulduktan sonra mikrobiyoloji örnekleri 24 saat boyunca oda sıcaklığında yapay tükürük içerisinde; yüzey pürüzlülüğü uygulanacak örnekler ise 24 saat boyunca distile suda saklandı. Mikrobiyoloji testi yapılmadan önce 253.7nm dalga boyunda 9W gücünde UV ışığıyla (Multifunctional ultraviolet machine, Çin) 10 dakika boyunca örneklerin sterilizasyonu sağlandı.



Resim 14. Meliodent otopolimerize dikdörtgen şekilli akrilik örneklerin hazırlanışı



Resim 15. Meliodent otopolimerize akrilik disk örneklerin hazırlanışı

Toplamda yüzey pürüzlülüğü testi için 120 adet, mikrobiyoloji testi için 96 adet akrilik rezin örnek hazırlandı.

3.2. Yüzey Pürüzlülüğü Testi

Yüzey pürüzlülük test için 10x20x3mm boyutlarındaki örnekler, her bir akrilik rezinde 4 alt grup ve her grupta 10'ar adet örnek (n=10) olacak şekilde hazırlandı. Çalışmamızda elde ettiğimiz toplam 120 adet akrilik rezin örneklerinin yüzey pürüzlülüğü (Ra) ölçümleri kontakt profilometre test cihazı (Marsurf M 300C, Mahr GmbH, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi (Resim 16).

Yüzey ölçüm uzunluğu 5mm olarak ayarlandı. 0.5 mm/s hızda ölçümler yapıldı (Resim 17). Yüzey pürüzlülüğü her örneğin 3 farklı yüzeyinden ölçülen değerlerin aritmetik ortalaması alınarak kaydedildi. Her akrilik rezin grubuna başlamadan önce kalibrasyon işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen pürüzlülük verilerinin (Ra) istatistiksel değerlendirmesinde SPSS (SPSS version 17.0, SPSS, Chicago, IL, ABD) sistemi kullanıldı.



Resim 16. Yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinin yapıldığı kontakt profilometre cihazı



Resim 17. Yüzey pürüzlülüğü ölçüm yöntemi

3.3. Mikrobiyoloji testi

3.3.1. Yapay Tükürük Ortamının Oluşturulması

Yapay tükürük NaCl (0,4 g) (Sigma-Aldrich, Germany), KCl (0,4 g) (Sigma Aldrich, Germany), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,795g), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,78 g), $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0,005 g), üre (1,0 g) ve distile su (1000 ml) nötr pH'da (7,0 – 7,4) hazırlandı.

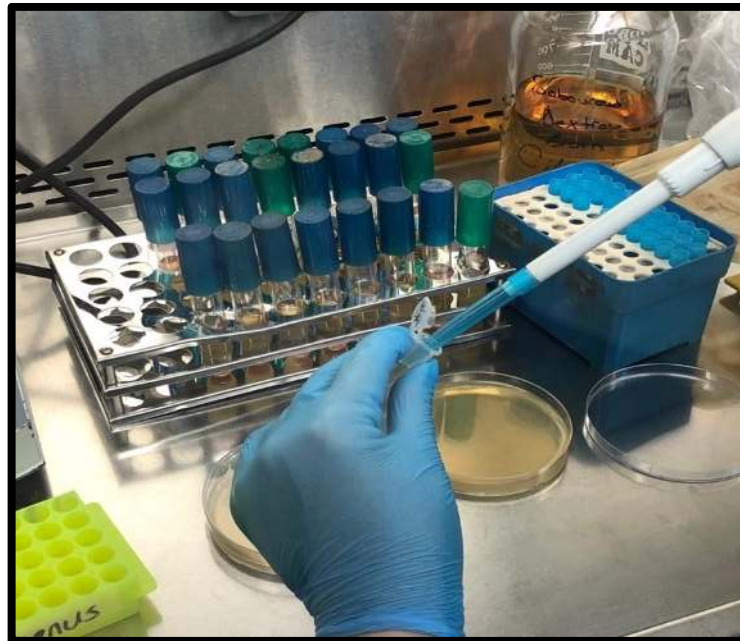
Akrilik rezin materyallerin monomerine hacimce çay ağacı yağı eklenmesinin *Candida albicans* üzerine etkisini görmek amacıyla uygulanacak mikrobiyolojik test için 10mm çapında ve 2mm kalınlığında disk şeklinde, her bir akrilik rezinde 4 alt grup ve her grupta 8'er adet örnek olmak üzere toplam 96 adet örnek hazırlandı. *Candida albicans* ATCC 14053 standart suşu kullanıldı. Mikrobiyolojik kontaminasyonun önlenmesi ve mikrobiyolojik test sonuçlarının etkilenmemesi amacıyla akrilik rezin örnekler 253.7nm dalga boyunda 9W gücünde UV ışığıyla 10 dakika boyunca örneklerin sterilizasyonu sağlandı. Steril hale getirilmesinin ardından mikrobiyolojik deney süreci başlatıldı.



Resim 18. Diamond kontrol grubu disk örnekleri

3.3.2. Spektrofotometre ile Ölçüm

Candida albicans ATCC 14053 standart suşu sabouraud dekstroza agarda 37°C’de 48 saat inkübe edilerek çoğaltılıp hazır hale getirildi. Agardan sürüntü alınarak steril salin solüsyonu içeren tüpe eklendi. Canlı hücre sayımı, *Candida albicans* süspansiyonu yaklaşık 10^7 CFU/mL olduğunda yapılabilmektedir, bu da 0.5 McFarland standartlarına eşittir (220). 0.5 McFarland değeri elde edildikten sonra süspansiyonun %0.1’i mikropipet yardımıyla %0.9’luk Sabaroud broth besiyeri içeren test tüpüne aktarıldı ve test örnekleri de tüpün içerisine daldırılarak 24 saat ve 48 saat boyunca 37°C’de inkübe edildi (Resim 19).



Resim 19. Seri seyreltme sonrasında petri ekiminin uygulanışı

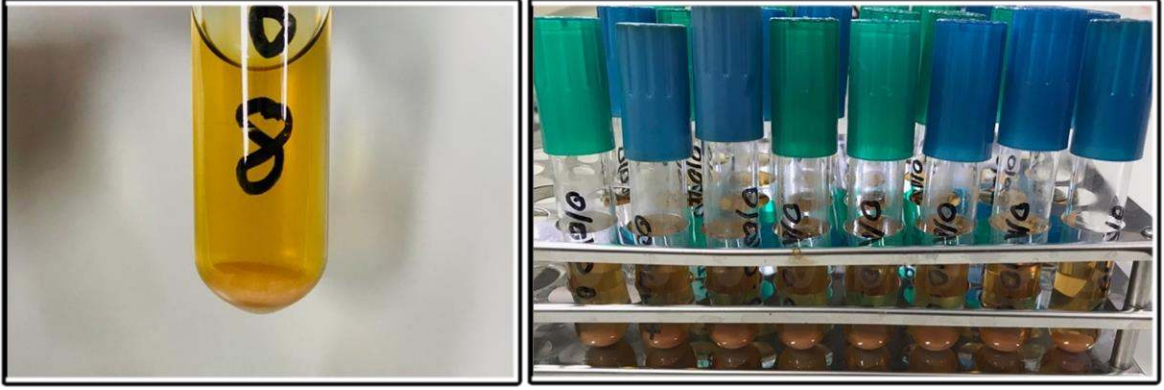
Test tüplerinin 24 saat ve 48 saat sonunda spektrofotometre ile (Spectramax M2, Molecular Devices, California, ABD) 600nm’de optik dansiteleri (OD) ölçüldü (Resim 20,21).



Resim 20. Optik dansitelerin ölçüldüğü spektrofotometre cihazı



Resim 21. Spektrofotometre cihazında optik dansite ölçümü



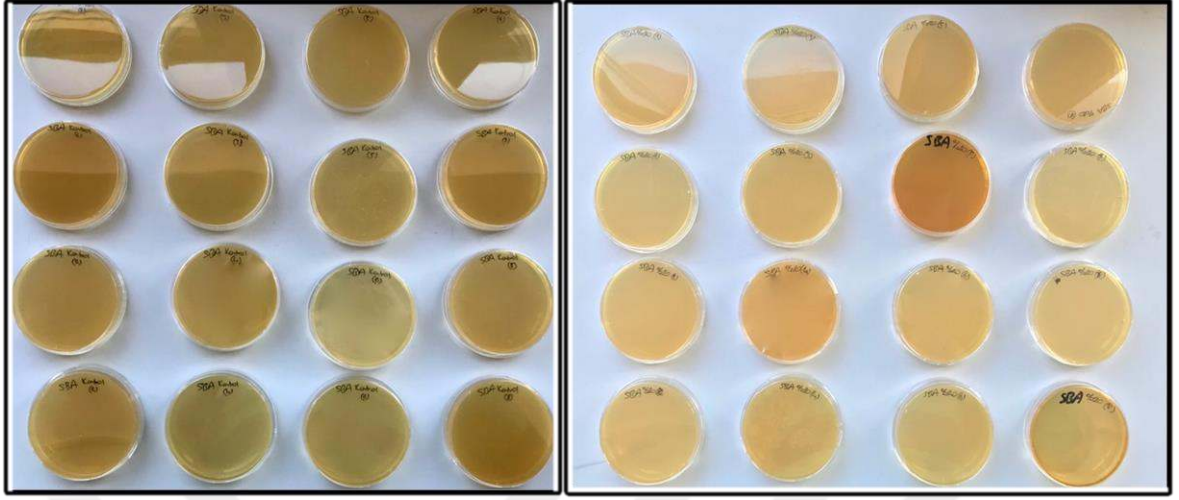
Resim 22. Akrilik disklerin içinde bulunduğu maya süspansiyonları

3.3.3. Petri Sayımı

İnkübasyonun ardından test tüpündeki karışımın %0.1'i mikropipet yardımıyla alınarak, %0.9 salin içeren test tüpüne alındı ve seri seyreltme işlemleri yapıldı. Üçüncü seyreltinin %0.1'i mikropipet yardımıyla alınarak sabaruod dextroes agar bulunan petriye damlatıldıktan sonra drigalski spatülü ile petri yüzeyine yayıldı ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi. Petri ekimi (Resim 23) gerçekleştirildi. Kolonilerin gözle sayımı son solüsyon üzerinden yapıldı ve 'Colony Forming Units' (CFU) formülüne (272) göre hesaplandı (Resim 24,25).



Resim 23. Elde edilen seyreltiklerin yayma ekimi



Resim 24. Deney gruplarından alınan solüsyonların ekiminin yapıldığı besiyerleri



Resim 25. %40 oranında çay ağacı yağı içeren otopolimerize akrilik örneğin agar besiyeri



Resim 26. Isı ile polimerize meliodent kontrol grubu örneğinin petri sayımı

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

Yüzey pürüzlülüğü testine ait verilerin istatistiksel değerlendirilmeleri SPSS (Windows için SPSS 17.0; IBM Corp, SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uygun bulunan veriler iki yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelendi. Gruplar arasındaki farklılığın kaynağını tespit etmek için Fisher LSD testi uygulandı.

Mikrobiyoloji testlerine ait verilerin İstatistiksel analizi için SPSS for Windows 17.0 (Windows için SPSS 17.0; IBM Corp, SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Analizlerde; 24. ve 48. Saat spektrofotometre ölçümlerinin değerlendirilmesinde tekrarlayan örnekler için iki yönlü ANOVA ve Bonferroni düzeltmesi ve eşleştirilmiş örneklem t testleri, 48.saat koloni değerlerinin değerlendirilmesi amacıyla iki yönlü ANOVA ve Bonferroni düzeltmesi testleri kullanıldı. Tüm karşılaştırmalar %95 güven aralığında değerlendirildi ($p < 0,05$).

4. BULGULAR

Çalışmamızda farklı yöntemlerle polimerize olan (ısı ile polimerize ve otopolimerize) üç adet akrilik rezin materyali içerisine karıştırılan çay ağacı yağı hacimce (%0, %10, %20 ve %40) oranlarında monomere ilavesi sonucu elde edilen yüzey pürüzlülüğü değerleri ve mikrobiyoloji bulguları iki ayrı bölümde değerlendirildi.

4.1. Yüzey Pürüzlülük Testine Ait Bulgular

Yüzey pürüzlülük testine ait bulguların ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Akrilik rezinlerin ortalama yüzey pürüzlülük değerleri (Ra) ve standart sapmaları (μm)

Akrilik çeşitleri	Çay ağacı yağı oranları			
	Kontrol (%0)	%10	%20	%40
Meliodent otopolimerize	0,40 ±0,06 ^{Aa}	0,45 ±0,09 ^{Aa}	0,61 ±0,12 ^{Ba}	0,74 ±0,10 ^{Ca}
Meliodent ısı ile polimerize	0,15 ±0,03 ^{Ab}	0,17 ±0,02 ^{Ab}	0,47 ±0,05 ^{Bb}	0,46 ±0,04 ^{Bb}
Diamond ısı ile polimerize	0,16 ±0,03 ^{Ab}	0,20 ±0,03 ^{Ab}	0,31 ±0,04 ^{Bc}	0,66 ±0,08 ^{Cc}

*Aynı satırdaki farklı büyük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05). Aynı sütundaki farklı küçük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05).

Yüzey pürüzlülük testine ait verilerin iki yönlü varyans analiz testine göre, akrilik rezinler ve çay ağacı yağı ilavesinin arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmüştür (p<0,05) (Tablo 4).

Tablo 4. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları

Bağımlı Değişken: SR

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik dağılımı	Kareler Toplamı	F*	p*
Düzeltilmiş model	4,545(a)	11	0,413	95,524	0,000
Sınır	19,112	1	19,112	4418,132	0,000
Çay ağacı yağı	2,863	3	0,954	220,585	0,000
Akrilik	1,341	2	0,671	155,018	0,000
Çay ağacı yağı*akrilik	0,342	6	0,057	13,161	0,000
Hata	0,467	108	0,004		
Toplam	24,125	120			
Düzeltilmiş model	5,013	119			

a R Kare = ,907 (Düzeltilmiş R Kare = ,897)

p*: anlamlılık ($p < 0,001$)

F*: faktörlerin dağılımı

Yüzey pürüzlülüğü değerleri için yapılan iki yönlü ANOVA analizi sonuçlarına göre; çay ağacı yağı eklenmesinin pürüzlülük üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmuştur ($p < 0,001$). Akrilik rezin çeşidinin pürüzlülük üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmuştur ($p < 0,001$). En yüksek ortalama yüzey pürüzlülüğü değeri otopolimerize akrilik gruplarında görülürken, en düşük pürüzlülük değerleri meliodent ısı ile polimerize rezinin kontrol grubunda gözlenmiştir. Farklı şekilde polimerize olan akrilik rezinlere, çay ağacı yağı ilaveleri yüzey pürüzlülük değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur ($p < 0,001$).

Farklı akrilik tiplerine karıştırılan aynı oranda çay ağacı yağının yüzey pürüzlülüğüne etkisi incelendiğinde; kontrol grubunda otopolimerize akril ile ısı ile polimerize akril grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı etki görülürken ($p < 0,001$); ısı ile polimerize akril grupları arasında yapılan ikili karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$).

%10'luk çay ağacı yağı eklenen akrilik rezinlerde polimerizasyon tipi yüzey pürüzlülüğünde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p < 0,001$) ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grupları arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,001$).

%20 ve %40 oranlarında çay ağacı yağı içeren gruplarda, bütün rezinler arasındaki pürüzlülük değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$). En yüksek

pürüzlülük değeri, %40 oranında çay ağacı yağı ilave edilen otopolimerize akrilik rezinde görülmüştür.

Çay ağacı yağı ilavesinin yüzey pürüzlülüğü üzerine etkisi incelendiğinde; otopolimerize akrilik grubunda, kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %20 ile %40 oranında çay ağacı yağı ilavesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında pürüzlülük üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur ($p<0,001$). Çay ağacı yağ ilavesinin %20'den %40'a çıkarılması durumunda pürüzlülük anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$).

Meliodent ısı ile polimerize akril grubunda, kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada pürüzlülük değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %20 ile %40'luk çay ağacı yağı içeren gruplar kontrol ile kıyaslandığında anlamlı derecede farklılık görülmüştür ($p<0,001$). %20 ile %40'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada pürüzlülük değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Çay ağacı yağı yüzdesinin artması pürüzlülük üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur ($p<0,001$).

Diamond ısı ile polimerize akril grubunda, kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada pürüzlülük değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %20 ile %40'luk çay ağacı yağı içeren gruplar kontrol ile kıyaslandığında anlamlı derecede farklılık görülmüştür ($p<0,001$). Çay ağacı yağı ilavesinin %20'den %40'a çıkarılması durumunda pürüzlülük değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 5. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar

			p
%0	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,865
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,865
%10	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,310
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,310
%20	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
%40	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
%40	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,007*
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**

***p<0,01**

****p<0,001**

Tablo 6. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar

			p
Meliodent otopolimerize	%0	%10	0,121
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%10	%0	0,121
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%20	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%40	0,000*
	%40	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%20	0,000*
Meliodent ısı ile polimerize	%0	%10	0,129
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%10	%0	0,129
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%20	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%40	0,000*
	%40	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%20	0,000*
Diamond ısı ile polimerize	%0	%10	0,498
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%10	%0	0,498
		%20	0,000*
		%40	0,000*
	%20	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%40	0,760
	%40	%0	0,000*
		%10	0,000*
		%20	0,760

***p<0,001**

4.2 Mikrobiyoloji Testine Ait Bulgular

4.2.1. Candida Albicans Yoğunluğunun Spektrofotometre ile Ölçülmesi Sonucu Elde Edilen Bulgular

Candida albicans'ın 24. ve 48. saatteki hücre yoğunluğunun spektrofotometre ile ölçülmesi sonucu elde edilen ortalama OD ve standart sapma değerleri sırasıyla Tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir.

Tablo 7. 24 saat sonunda besiyerinde üreyen kandida yoğunluğu (OD) ortalama ve standart sapma

Akriik çeşitleri	Çay ağacı yağı oranları			
	Kontrol (%0)	%10	%20	%40
Meliodent otopolimerize	6,04 ±0,43 ^{Aa}	5,35 ±0,68 ^{Ba}	4,33 ±0,47 ^{Ca}	3,49 ±0,87 ^{Da}
Meliodent ısı ile polimerize	5,85 ±0,26 ^{Aa}	5,65 ±0,21 ^{Aa}	5,54 ±0,35 ^{Ab}	5,25 ±0,18 ^{Bb}
Diamond ısı ile polimerize	5,85 ±0,23 ^{Aa}	5,47 ±0,18 ^{ABa}	5,41 ±0,24 ^{Bb}	4,54 ±0,39 ^{Cc}

*Aynı satırdaki farklı büyük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05). Aynı sütundaki farklı küçük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05).

Tablo 8. 48 saat sonunda besiyerinde üreyen kandida yoğunluğu (OD) ortalama ve standart sapma

Akrilik çeşitleri	Çay ağacı yağı oranları			
	Kontrol (%0)	%10	%20	%40
Meliodent otopolimerize	5,23 ±0,27 ^{Aa}	4,61 ±0,25 ^{Ba}	4,02 ±0,25 ^{Ca}	3,18 ±0,72 ^{Da}
Meliodent ısı ile polimerize	5,82 ±0,26 ^{Ab}	5,80 ±0,52 ^{Ab}	5,82 ±0,32 ^{Ab}	5,31 ±0,25 ^{Bb}
Diamond ısı ile polimerize	5,80 ±0,30 ^{Ab}	5,54 ±0,15 ^{Ab}	5,50 ±0,18 ^{Ab}	4,58 ±0,46 ^{Bc}

*Aynı satırdaki farklı büyük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder ($p<0,05$). Aynı sütundaki farklı küçük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder ($p<0,05$).

Spektrofotometre değerleri için yapılan iki yönlü ANOVA analizi sonuçlarına göre; akrilik rezinlere farklı oranlarda çay ağacı yağı eklenmesinin OD değerleri üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmuştur ($p<0,05$). Farklı şekilde polimerize olan akrilik rezinlerin OD değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir etkileşim görülmüştür ($p<0,05$)

Tablo 9. Örneklerin spektrofotometre değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları

Etki	Değer	F*	Standart dağılım	Hatanın serbestlik derecesi	p*
Zaman	0,153	15,222(a)	1,000	84,000	0,000**
Zaman*akrilik	0,473	37,711(a)	2,000	84,000	0,000**
Zaman*çay ağacı yağı	0,133	4,277(a)	3,000	84,000	0,007*
Zaman*akrilik*çay ağacı yağı	0,92	1,412(a)	6,000	84,000	0,220

p*: anlamlılık (* $p<0,01$), (** $p<0,001$)

F*: faktörlerin dağılımı

Spektrofotometre değerleri için yapılan iki yönlü ANOVA analizi sonuçlarına göre; zamanın tek başına ($p<0,001$); zaman ve akrilik ($p<0,001$); zaman ve çay ağacı yağı ($p<0,01$) etkileşimleri OD değerleri üzerinde etkilidir. Zaman, akrilik ve çay ağacı yağı etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 9).

En yüksek OD ortalama ölçümü 24. saatte otopolimerize akrilik rezin kontrol grubunda görülürken, en düşük OD ise 48. saatte %40 oranında çay ağacı yağı içeren otopolimerize akrilik rezin grubunda gözlenmiştir.

Akrilik materyaline farklı oranlarda çay ağacı yağı karıştırılmasının Candida albicans üzerine etkisi incelendiğinde; otopolimerize akrilik grubunda, çay ağacı yağı yüzdesinin artması her iki zaman diliminde OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur ($p<0,01$).

24. saat meliodent ısı ile polimerize akrilik grubunda, kontrol ile %10 ve %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %10 ile %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %20 ile %40'lık çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Kontrol ile %40'lık ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,01$).

48. saat ısı ile polimerize meliodent akrilik kontrol ile %10'luk ve %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %10 ile %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %40'lık çay ağacı yağı oranlı grubun tüm gruplarla yapılan ikili karşılaştırmalarında OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,001$).

Isı ile polimerize diamond akrilik grubunda, 24. saat kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Kontrol ile %20 grubu arasında ($p<0,05$), kontrol ile %40 çay ağacı yağı içeren grup arasında ($p<0,001$) farklılık görülmüştür. 24. saat %10 ile %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). 24. saat %40'lık çay

ağacı yağı oranlı grubun tüm diğer diamond gruplarla yapılan ikili karşılaştırmalarında OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,001$).

48. saatte ise kontrol ile %10 ve %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %10 ile %20'lik çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). %40'lık çay ağacı yağı oranlı grubun tüm gruplarla yapılan ikili karşılaştırmalarında OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,001$).

Farklı akrilik tiplerine karıştırılan aynı oranda çay ağacı yağının *Candida albicans* yoğunluğu üzerindeki etkisi incelendiğinde; 24. saat kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

48. saat kontrol grubunda polimerizasyon tipi OD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p<0,01$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

24. saat %10'luk çay ağacı yağı içeren gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$).

48. saat %10'luk çay ağacı yağı eklenen grupta polimerizasyon tipi OD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p<0,001$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

24. saat %20'lik çay ağacı yağı eklenen grupta polimerizasyon tipi OD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p<0,001$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

48. saat %20'lik çay ağacı yağı eklenen grupta polimerizasyon tipi OD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p<0,001$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

24. ve 48. saat %40'lık çay ağacı yağı eklenen gruplarda polimerizasyon tipi OD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur ($p<0,001$). Isı ile polimerize

olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

Zamanın *Candida albicans* yoğunluğu üzerindeki etkisi incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde yapılan spektrofotometre ölçümleri kıyaslandığında, otopolimerize akriliğin tüm gruplarında anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ($p<0,01$). Isı ile polimerize diamond ile meliodent akriliklerinin tüm gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Tablo 10, 11, 12 ve 13'te gösterilmiştir.



Tablo 10. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar. -24. saat

24. Saat		p
Meliodent otopolimerize	%0	%10 0,002**
		%20 0,000***
		%40 0,000***
	%10	%0 0,002**
		%20 0,000***
		%40 0,000***
	%20	%0 0,000***
		%10 0,000***
		%40 0,000***
	%40	%0 0,000***
		%10 0,000***
		%20 0,000***
Meliodent ısı ile polimerize	%0	%10 0,347
		%20 0,138
		%40 0,005**
	%10	%0 0,347
		%20 0,583
		%40 0,060
	%20	%0 0,138
		%10 0,583
		%40 0,179
	%40	%0 0,005**
		%10 0,060
		%20 0,179
Diamond ısı ile polimerize	%0	%10 0,077
		%20 0,041*
		%40 0,000***
	%10	%0 0,077
		%20 0,774
		%40 0,000***
	%20	%0 0,041*
		%10 0,774
		%40 0,000***
	%40	%0 0,000***
		%10 0,000***
		%20 0,000***

*p<0,05

**p<0,01

***p<0,001

Tablo 11. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar. -48. saat

48. Saat		p
Meliodent otopolimerize	%0	%10
		%20
		%40
	%10	%0
		%20
		%40
	%20	%0
		%10
		%40
	%40	%0
		%10
		%20
Meliodent ısı ile polimerize	%0	%10
		%20
		%40
	%10	%0
		%20
		%40
	%20	%0
		%10
		%40
	%40	%0
		%10
		%20
Diamond ısı ile polimerize	%0	%10
		%20
		%40
	%10	%0
		%20
		%40
	%20	%0
		%10
		%40
	%40	%0
		%10
		%20

*p<0,01

**p<0,001

Tablo 12. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar.
-24.saat

24. Saat		p	
%0	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,384
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,384
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,384
		Meliodent 1s1 ile polimerize	1,000
%10	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,384
		Diamond 1s1 ile polimerize	1,000
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,555
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,154
%20	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,555
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,400
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,154
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,400
%40	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,563
%40	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,563
	Diamond 1s1 ile polimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,001*
%40	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,001*

*p<0,01

**p<0,001

Tablo 13. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar.
-48.saat

48. Saat		p
%0	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize 0,002*
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,001*
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,002*
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,896
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,001*
		Diamond 1s1 ile polimerize 0,896
	%10	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,163
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize 0,163
%20	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,081
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize 0,081
	%40	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,000**
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Meliodent 1s1 ile polimerize 0,000**
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize 0,000**
		Diamond 1s1 ile polimerize 0,000**

*p<0,01

**p<0,001

4.2.2. Candida Albicans Koloni Sayımı Bulguları

Candida albicans mikroorganizmasının 1 mL'deki ortalama koloni sayıları (CFU/mL) ve standart sapmaları Tablo 14'te gösterilmiştir. Candida albicans koloni sayımları için yapılan iki yönlü ANOVA analizi sonuçlarına göre; çay ağacı yağı eklenmesinin eklenmeyen kontrol grupları ile karşılaştırıldığında Candida albicans koloni sayımları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmuştur ($p<0,001$). Akrilik rezin çeşidinin Candida albicans koloni sayımları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmüştür ($p<0,001$). Çay ağacı yağı oranları ile akrilik çeşitlerinin ikili etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 15).

Tablo 14. Candida albicans koloni sayımı ortalama ve standart sapma değerleri ($\times 10^8$) (CFU/mL)

Akrilik çeşitleri	Çay ağacı yağı oranları			
	Kontrol (%0)	%10	%20	%40
Meliodent otopolimerize	226,13 $\pm$ 14,44 ^{Aa}	125,63 $\pm$ 15,22 ^{Ba}	85 $\pm$ 30,71 ^{Ca}	45 $\pm$ 16,04 ^{Da}
Meliodent ısı ile polimerize	147,38 $\pm$ 16,77 ^{Ab}	132,75 $\pm$ 14,23 ^{Aab}	100,38 $\pm$ 7,58 ^{Ba}	77,75 $\pm$ 15,96 ^{Cb}
Diamond ısı ile polimerize	157,88 $\pm$ 5,72 ^{Ab}	146,88 $\pm$ 11,72 ^{Ab}	128,75 $\pm$ 14,78 ^{Bb}	92,25 $\pm$ 11,04 ^{Cb}

*Aynı satırdaki farklı büyük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder ($p<0,05$). Aynı sütundaki farklı küçük harfler gruplar arası anlamlı farklılığı ifade eder ($p<0,05$).

Tablo 15. Candida albicans koloni sayımı değerlerine ait iki yönlü ANOVA analiz sonuçları

Bağımlı Değişken:

Koloni 48saat

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik dağılımı	Kareler Toplamı	f	p
Düzeltilmiş model	193395,708(a)	11	17581,428	71,600	0,000
Sınır	1432282,042	1	1432282,042	5832,941	0,000
Akrilik	4696,333	2	2348,167	9,563	0,000
Çay ağacı yağı	145015,208	3	48338,403	196,857	0,000
Akrilik*çay ağacı yağı	43684,167	6	7280,694	29,650	0,000
Hata	20626,250	84	245,551		
Toplam	1646304,000	96			
Düzeltilmiş model	214021,958	95			

a R Kare = ,904 (Düzeltilmiş R Kare = ,891)

*p<0,001

Akrilik materyaline farklı oranlarda çay ağacı yağı karıştırılmasının Candida albicans koloni sayımı üzerine etkisi incelendiğinde; otopolimerize akriliğin tüm gruplarında çay ağacı yağı yüzdesinin artması Candida albicans koloni sayım değerlerini anlamlı şekilde azaltmıştır (p<0,001).

Isı ile polimerize olan meliodent akril grubunda, kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada Candida albicans koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05). %20 ve %40 yağ ilaveli gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla Candida albicans koloni sayım değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,001).

Isı ile polimerize olan diamond akril grubunda, kontrol ile %10'luk çay ağacı yağı oranları arasında yapılan ikili karşılaştırmada Candida albicans koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05). %20 ve %40 yağ ilaveli gruplarda ise kontrol grubuna kıyasla Candida albicans koloni sayım değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (p<0,001).

Farklı akrilik tiplerine karıştırılan aynı oranda çay ağacı yağının Candida albicans koloni sayım değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde; kontrol gruplarında polimerizasyon tipi Candida albicans koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etki

oluştururken ($p<0,001$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

%10'luk çay ağacı yağı eklenen grupta otopolimerize ile ısı ile polimerize olan diamond grupları arasında yapılan ikili karşılaştırmada *Candida albicans* koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,01$). Isı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

%20'lik çay ağacı yağı eklenen grupta otopolimerize ile ısı ile polimerize olan diamond grupları arasında yapılan ikili karşılaştırmada *Candida albicans* koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ($p<0,001$). Isı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,001$).

%40'lik çay ağacı yağı eklenen grupta polimerizasyon tipi *Candida albicans* koloni sayım değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etki oluştururken ($p<0,001$); ısı ile polimerize olan meliodent ile diamond grubu arasında yapılan ikili karşılaştırmada değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Gruplar arası ikili karşılaştırmalar Tablo 16 ve 17'de gösterilmiştir.

Tablo 16. Aynı akrilik rezin tipinde test grupları arası ikili karşılaştırmalar

			p
Meliodent otopolimerize	%0	%10	0,000***
		%20	0,000***
		%40	0,000***
	%10	%0	0,000***
		%20	0,000***
		%40	0,000***
	%20	%0	0,000***
		%10	0,000***
		%40	0,000***
	%40	%0	0,000***
		%10	0,000***
		%20	0,000***
Meliodent ısı ile polimerize	%0	%10	0,065
		%20	0,000***
		%40	0,000***
	%10	%0	0,065
		%20	0,000***
		%40	0,000***
	%20	%0	0,000***
		%10	0,000***
		%40	0,005**
	%40	%0	0,000***
		%10	0,000***
		%20	0,005**
Diamond ısı ile polimerize	%0	%10	0,164
		%20	0,000***
		%40	0,000***
	%10	%0	0,164
		%20	0,023*
		%40	0,000***
	%20	%0	0,000***
		%10	0,023*
		%40	0,000***
	%40	%0	0,000***
		%10	0,000***
		%20	0,000***

*p<0,05

**p<0,01

***p<0,001

Tablo 17. Aynı çay ağacı yağı oranında farklı akrilik rezin grupları arası ikili karşılaştırmalar

			p
%0	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000***
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,184
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000***
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,184
%10	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,008**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,366
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,008**
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,075*
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,366
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,075
%20	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,053
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000***
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,053
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,000***
%40	Meliodent otopolimerize	Diamond 1s1 ile polimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,000***
	Diamond 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000***
		Meliodent 1s1 ile polimerize	0,068
	Meliodent 1s1 ile polimerize	Meliodent otopolimerize	0,000***
		Diamond 1s1 ile polimerize	0,068

*p<0,05

**p<0,01

***p<0,001

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu in vitro çalışmada farklı kimyasal yapı ve polimerizasyon şekillerindeki akrilik rezinlere farklı oranlarda çay ağacı yağı ilave edilerek; akrilik rezinlerin yüzey pürüzlülük özellikleri ve yüzeylerinde *Candida albicans* üreme özellikleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre çay ağacı yağı ilavesi ile akrilik rezinlerin pürüzlülük ve yüzeylerinde kandida üreme özellikleri değişmiştir.

Günümüzde akrilik rezin protezlerde kırık görülmesi sık karşılaşılan ve tamir işlemi gerektiren bir durumdur. Bu nedenle bu çalışmada hem ısı ile polimerize kaide rezini hem de protezlerin tamirinde kullanılan otopolimerize akrilik rezin kullanılmıştır. Isı ile polimerize ve otopolimerize olan PMMA rezinleri, ağız içerisinde uzun süreli kullanım için biyolojik açıdan uygundur. Ancak, bu materyallerin önemli bir dezavantajı kullanılan diğer materyallere göre daha poröz yapıda olmaları nedeniyle mikrobiyal yerleşmeye daha elverişli olmalarıdır.

Hareketli protezlerde çatlak ve/veya kırık oluşumu, kaide materyallerinin mekanik özelliklerinin geliştirilmesi yönündeki çalışmaların yapılmasına sebep olmuştur. Bu doğrultuda yapılan uygulamalar arasında; akrilik rezinlere ağ yapılarının katılması, etilen glikoldimetakrilat gibi çapraz bağlantı ajanı veya lastik ilave edilmesiyle güçlendirilmesi sayılabilir. Bundan dolayı çalışmamızda içeriğinde glikol dimetakrilat miktarı fazla olan ısı ile polimerize diamond güçlendirilmiş akrilik rezini çay ağacı yağı eklenmesinin kimyasal yapı farkına etkisini görmek amacıyla kullanılmıştır (273).

Yüzey pürüzlülüğü, protezle ilişkili stomatitin patogenezinde önem taşıyan *Candida albicans*'ın kaide materyalinin yüzeyine yapışması ve tutunmasını etkilemektedir. İdeal olarak, materyalin plak birikimini en aza indirmek veya ortadan kaldırmak için cilalı yüzeye sahip olmalıdır (274). Yüzey pürüzlülüğü; polimerizasyon yöntemi, kullanılan malzeme ve yüzey bitim işlemi gibi faktörlerden etkilenmektedir (198). Cilalı yüzey bitirme işleminin, protez kaynaklı stomatitin sebebi olan *Candida albicans*'ın tutunmasını azalttığı gözlenmiştir (133, 198). Bazı in vivo çalışmalar yüzey pürüzlülüğü için eşik değeri ($R_a=0,2\mu m$) önermişlerdir, bu değer altındaki yüzey pürüzlülük değerlerinde plak birikiminde önemli bir değişiklik beklenmemektedir (275). Isı ile polimerize akrillere kontrol ve %10 oranında çay ağacı yağı içeren grupları eşik değer olan $0,2\mu m$ 'nin altında çıkmıştır. Bu sonuca bağlı olarak klinik kullanım için önerilebilecek çay ağacı yağı oranı %10 olarak belirlenebilir.

Çalışmamızda çay ağacı yağı ilave edilmeyen kontrol grubunda en yüksek pürüzlülük değeri otopolimerize akrilde gözlenmiştir. Otopolimerize akrilik rezinler yapısı gereği ısı ile polimerize olan akrilik rezinlere göre daha fazla poröz ve gözenekli yapıdadır (276). Yapılan bir çalışmada hem otopolimerize hem de ısı ile polimerize akrilik için, bekletilme süresi ve artan yüzey pürüzlülüğü ile bakteri tutunması arasında doğru orantısal bir artış olduğu gösterilmiştir ve bu değerler otopolimerize akril gruplarında daha fazla bulunmuştur (277). Elde edilen bulgular, daha önce yayınlanmış makalelere benzer şekildedir. Bunun muhtemel sebebi, otopolimerize akrilik rezinlerin yüzey yapısının gözenekli olmasıdır (69). Çalışmamızda otopolimerize akril gruplarında ısı ile polimerize olan akril gruplarından daha fazla Ra değeri elde edilmiştir. Isı ile polimerize olan PMMA materyalleri, otopolimerize olan PMMA'ya kıyasla daha iyi seviyede polimerizasyon, daha az artık monomer ve daha iyi kimyasal özellikler sergiler (59). Daha önce yapılmış olan çalışmalar da polisajın otopolimerize akril üzerinde yapıldığında gözenekli kaldığını ve bunun plak oluşumunu ve bakteriyel kontaminasyonu desteklediğini göstermiştir (276, 278). Yapılan bir başka çalışmada otopolimerize akril rezin ile ısı ile polimerize akriliklerin daha yüksek pürüzlülük değerleri gösterdiği bildirilmiştir ve bu durum bizim çalışmamızla doğru orantılıdır. Bunun sebebi olarak akrilik rezin içinde bulunan polimerizasyon başlatıcılarının farklı olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir (278). Bir başka sebep olarak, karıştırma sırasında monomer sıvısı ile temas etmemiş ve polimerizasyonu tamamlanmamış akrilik rezin tozu partiküllerinin varlığı düşünülebilir (275). Akrilik rezinlerde malzemenin homojen yapıda olması için ortalama 3 mm kalınlıkta hazırlanması önerilmiştir (279). Bu bilgi doğrultusunda in vitro çalışmamızda yüzey pürüzlülüğü ölçümleri için 10x20x3mm kalınlığında akrilik rezin örnekler hazırladık.

En düşük ortalama pürüzlülük değeri ısı ile polimerize meliodent grubunda görülmüştür. Çalışmada kullanılan tüm akrilik rezinlerde ise, %10'luk çay ağacı yağı eklenen gruplar ile kontrol gruplarıyla arasında ortalama pürüzlülük değerleri açısından anlamlı bir fark görülmemiştir. %10 ve üzerinde eklenen otopolimerize akril gruplarının tamamı ve ısı ile polimerize olan akrillere %20 ve %40 çay ağacı yağı ilave edilmesi pürüzlülük değerlerinin kabul edilebilir eşik değer olan 0,2µm'den daha yüksek görülmesine neden olmuştur. Çay ağacı yağı ilave edilirken eşik değerın üzerine çıkılan oranlarda ilavelerin yapılmaması önerilebilir. İlave edilmesi durumunda pürüzlülük değerlerinin artabileceği göz önünde bulundurulmalı ve protezlerin daha sık kontrollere çağırılarak yeniden cilalanması gerekebilir.

Isı ile polimerize olan iki farklı akrilik rezinde, %20 ve %40 oranında çay ağacı yağı içeren gruplarda pürüzlülük değerlerinin farklı olması kimyasal içeriğin farklı olması ile açıklanabilir. Isı ile polimerize diamond akrilik rezin içeriğinde meliodent akrilden farklı olarak %10 oranında etilen glukoldimetakrilat çapraz bağlantı ajanı bulunmaktadır. Çay ağacı yağının artmasıyla birlikte akrilik rezinin çapraz bağlı matris yapısı ve polimerizasyon derecesi etkilenmiş ve çay ağacı yağı plastizer etki göstermiş olabilir. Bunun dışında rezin yapısına eklenen çay ağacı yağı polimer yapıya gevşek bağlanarak partikül kümelerinin oluşması ile boşlukların oluşumuna sebep olduğu düşünülebilir. Burada materyalin yüzey sertliğinin değerlendirilmesiyle birlikte maksimum saturasyon değeri ve polimerizasyon dönüşüm derecesi gibi değerlerinin de incelenmesi gerekmektedir.

Antifungal etkiye sahip bir protez kaidesinin üretimi dikkate değer bir başarı olacaktır. Ancak; aynı zamanda fiziksel özelliklerinin de negatif yönde etkilenmemesi gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışmada çay ağacı yağı ilavesi ile rezinlerin yüzeyindeki *Candida albicans* sayımı ile beraber yüzey pürüzlülük değerleri de incelenmiştir.

Protez kaide materyalinin yüzey özellikleri, doğrudan temas halindeki dokuların sağlığını etkilediği için önemlidir. Mikroorganizmaların ilk yapışması doğrudan yüzey pürüzlülüğünden etkilendiğinden yüzey pürüzlülüğü; mikrobiyal yapışmayı, kolonizasyonu ve biyofilm olgunlaşmasını artırabilir veya azaltabilir (280). Yüksek Ra değerlerine sahip akrilik rezinlerin geniş bir yüzey alanı sağlayan ve daha erişilebilir aktif alanlar olan pürüzlü yüzeylerin, iyi cilalanmış yüzeylere kıyasla daha yüksek sayıda *Candida albicans* tutunumu sergilediği bildirilmiştir (181).

Verran ve ark. (281), yaptıkları bir çalışmada farklı pürüzlülük değerlerine sahip akrilik yüzeylere *Candida albicans* ve *Streptococcus oralis* türlerinin adezyonunu incelemişler ve pürüzlü yüzeylerde daha yüksek sayılarda mikroorganizma varlığı tespit etmişlerdir. Bu bulguyu destekleyen başka çalışmalar da mevcuttur (281, 282).

Kandidal enfeksiyon tablosundan korunabilmesi için protez hijyenini etkileyen bir faktör olan yüzey pürüzlülüğü kabul edilebilir sınırlar içinde tutulmalıdır (283). 0,2µm yüzey pürüzlülüğüne sahip hareketli bir protez klinik kullanım için kabul edilir değer olarak düşünülmektedir (284). 0,2µm değerinden daha büyük yüzey pürüzlülüğü gösteren akrilik rezin yüzeylerinin, bakteriyel kolonizasyona daha elverişli olduğu bildirilmiştir (285).

%10 oranında çay ağacı yağı eklenmesi kontrol ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Kontrol ve %10 oranında çay ağacı içeren ısı ile

polimerize meliodent ve diamond akril grupları klinik olarak kabul edilebilir değer olan 0.2µm Ra değerinin altında seyretmiştir. Bunun dışında çay ağacı yağı oranının artması ve polimerizasyon şeklinin değişmesi kabul edilebilir değerlerin üstünde Ra değerlerinin alınmasına sebep olmuştur.

Bitki ekstraktı ve antimikrobiyal ajanların rezinlerin yapısına eklenmesinin pürüzlülüğe etkisinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Yüksek timokinon konsantrasyonları ile artan Ra değerleri, rezin yüzeyinde oluşan gevşek şekilde bağlanmış timokinon partikül kümelerinin oluşması ile açıklanırken, bunun bitirme ve cilalama prosedürleri sırasında boşluklar oluşmasına sebep olduğu düşünülmüştür (286). Bir başka çalışmada, antimikrobiyal poli2-tert-butilaminoetil metakrilat (PTBAEMA) polimerinin yüzey pürüzlülüğü üzerindeki etkisi incelenmiş ve PTBAEMA'nın PMMA akrilik rezine eklenmesinin Ra değerlerini artırdığı bulunmuştur (20). Literatürdeki sonuçlar, mevcut çalışmamızın sonuçlarıyla paraleldir. Bu çalışmalardan farklı olarak Regis ve ark., antimikrobiyal monomer olan MUPB'yi ağırlıkça %0.3, %0.6 oranlarında akrilik rezin yapısına katmış ve cilalı akrilik rezinlerde yüzey pürüzlülüğü üzerinde hiçbir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir (287). Sonuçlardaki farklılıklar, eklenen antimikrobiyal ajanların kimyasal yapısına, konsantrasyonlara, ekleme yöntemlerine veya kullanılan PMMA protez kaide materyalinin içeriğine bağlı olarak değişebilmektedir.

Protez stomatiti, protez plağına bağlı gelişen enfeksiyonlar arasında en yaygın görülen tablodur. Protez stomatitinin gelişmesinde tükürük akışı, protez temizliği, protez kaide materyalinin türü, protez travması, kötü ağız hijyeni, immün sistemdeki zafiyetler, dokuya uyumunu kaybetmiş eski protezlerin kullanımı, sigara ve beslenme gibi faktörler etkilidir (10, 136, 288). Diyabet, anemi ve immün yetmezlik durumları gibi bazı sistemik hastalıkların oral mikrobiyal florada dengesizliğe neden olduğu ve doku toleransını olumsuz etkilediği, bunun sonucunda protez kullanımıyla mukozal inflamasyonun arttığı bildirilmiştir (289). Antikolinerjik, antihistaminik ve sakinleştirici gibi bazı ilaçların kullanılmasının tükürük akışını azalttığı, mukozal iltihaplanma ve enfeksiyon için uygun bir ortam sağladığı gösterilmiştir (290).

Stomatit tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlar arasında imidazole, nistatin ve amfoteresin B sayılabilir (291). Bununla birlikte, bu antifungal ilaçların yaptığı toksisite ve bunlara karşı oluşan direnç, değişken sonuçların gözlenmesine ve nüks oranının yüksek olması gibi problemlere sebep olmaktadır. Azol antimikotiklerinin yaygın kullanımı, ERG

genlerindeki nokta mutasyonları ve efluks pompalarının yukarı regülasyonu direnç gelişiminin arkasındaki etkili güç olmuştur (292). Ayrıca, azollerin biyofilmlere karşı hem fenotipik hem de genotipik olarak çok az etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (293).

Protez plağına bağlı gelişen enfeksiyonların tedavi edilmesinin yerine, protez plağının oluşumunun engellenmesi daha etkili ve uzun dönemde başarılı bir yöntemdir (294). Protez kullananların ağız sağlığını iyileştirmek amacıyla yapılan birçok çalışma, oral enfeksiyonları kontrol etmenin olası bir alternatif yöntemi olabilecek PMMA akrilik rezine antifungal ajanların eklenmesini önermektedir. Bu amaçla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Vukosavljevic ve ark. (295), PMMA yüzeyine bağlanan, antifungal bir ajan olan histatin 5'in *Candida albicans* adezyonu üzerindeki etkisini incelemişler ve 24 saat sonunda histatin 5'in kolonizasyonu inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Acosta-Torres ve ark.'nın (294), yürüttüğü bir çalışmada ise, içerisine gümüş nanopartikül ilave edilen PMMA kaide materyalinde *Candida albicans* tutunmasının anlamlı derecede azaldığı belirtilmiştir.

Literatürde kullanılan çeşitli maddelere alternatif olarak çay ağacı yağı oral kandidiyazis oluşumunun önlenmesi için faydalı bir bitkisel madde olabileceğinden dikkatleri üzerine çekmiştir. Merta ve ark. (296), tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada; çay ağacı yağının, flukonazolün dirençli suşlarına karşı aktivitesini arttırdığı ve çay ağacı yağının tek bir tedavi olarak veya zor mantar enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılabilen flukonazol gibi diğer geleneksel ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılabileceğini bildirmiştir.

Ağız bakım ürünlerinde kullanılan konsantrasyonlarında azol türevi antifungallere dirençli mayaların çay ağacı yağına karşı duyarlı olduğu gözlenmiştir (270). Ek olarak, çay ağacı yağı geleneksel antifungallere cevap vermeyen şiddetli orofaringeal kandidiyazis enfeksiyonlarını tedavi etmek için palyatif bakım hastalarında başarıyla kullanılmıştır. Ayrıca protez stomatitinde iltihabı azaltmak için başarıyla kullanılmaktadır (32).

Çay ağacı yağında terpinen-4-ol temel antimikrobiyal bileşen olarak kabul edilmektedir (263). ISO standartlarına göre çay ağacı yağı içerisinde terpinen-4-ol minimum %30 oranında içermelidir. Bundan dolayı *in vitro* çalışmamızda içeriği standardize edilmiş %39 oranında terpinen-4-ol içeren çay ağacı yağı kullanılmıştır. Yaptığımız ön çalışma doğrultusunda da çay ağacı yağı oranları hacimce %10, %20 ve %40 olacak şekilde belirlenmiştir.

Mikrobiyoloji testlerinde kullanılan akrilik rezin örneklerin yüzeylerinde standart bir yüzey oluşturmak için pürüzlülük testinde uyguladığımız gibi yüzeyler olabildiğince homojen pürüzlülükte yapılmaya çalışılmıştır. Yaptığımız in vitro çalışmada homojen bir yüzey elde edebilmek amacıyla gruptaki örneklerin yüzeylerine; tungsten karbid canavar frezle akrilik fazlalıkları alındıktan sonra sırasıyla sert (yeşil), orta (gri) ve ince (sarı) grenli silikon frezlerle tesviye işlemleri uygulandı. Pomza ve polisaj (Universal polishing paste, Ivoclar, Lihtenştayn) patıyla cila işlemleri bitirildi (286).

Mukozal epitel hücrelerini ve protez yüzeylerini kaplayan pelikülün kandida kolonizasyonu arttırdığı gösterilmiştir (203). Tükürük bileşenlerinin, tükürük ile kaplı protez akrilik örneklerine Candida albicans yapışmasını arttırdığı gözlemlenmiş ve bu da edinilmiş tükürük pelikülünün, akrilik protezin Candida albicans tarafından kolonizasyonunda önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (204). İn vitro çalışmamızda ağız ortamını taklit etmesi amacıyla mikrobiyoloji örnekleri yapay tükürükte bekletilmiştir. Mikrobiyoloji örneklerinin besiyeri içerisine tamamen gömülmesi gerekliliği nedeniyle ve hareketli protezlerde minimum kaide plağı kalınlığı göz önünde bulundurularak disk kalınlıkları 2mm olarak hazırlanmıştır (297).

Emira ve ark. (298), bitki esansiyel yağlarının düşük konsantrasyonlarda biyofilm oluşumunu önemli ölçüde önlediğini ve çay ağacı yağındaki potansiyel biyoaktif bileşiklerin, söz konusu adımlardan herhangi birine müdahale ederek kandida hücre büyümesi, fonksiyonu ve biyofilm oluşumu üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu öne sürmüşlerdir. Chandra ve ark. (156), akrilik diskler üzerinde kandidal biyofilm oluşumunu evrelere ayırmıştır. Bu oluşum evreleri 0-11 saat, 12-30 saat ve 38-72 saat olarak sınıflandırılabilir. Bu bilgi doğrultusunda in vitro çalışmamızda akrilik diskler kandidal süspansiyonda 24 ve 48 saat zaman dilimlerinde bekletildikten sonra süspansiyonların spektrofotometre ile optik yoğunluk (OD) ölçümleri yapılmıştır.

Isı ile polimerize meliodent akril grubunda 24. saat OD sonuçlarında sadece %40'lık oranda anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. 48. saat sonuçlarında ise 24 saate benzer şekilde %10 ve %20'nin OD değerleri kontrol grubunun değerlerine yakın gözlenmiş, sadece %40'lık grupta diğer test grupları arasında anlamlı fark görülmüştür. Isı ile polimerize meliodent grubunda en etkili kandida kontrolü yüzde %40 oranında çay ağacı yağı içeren örneklerde olmuştur. Meliodent rezini kaide materyali olarak kullanılacaksa ilave edilecek çay ağacı yağı oranı %40 olarak belirlenmelidir.

Isı ile polimerize diamond akril grubunda 24. saat sonunda %20 ve %40'lık grupları kontrol ile karşılaştırıldığında OD değerlerinde anlamlı düşüş gözlenmiştir. 48. saat sonuçlarında da %10 ve %20'nin OD değerleri, kontrol grubunun değerlerine yakın gözlenmiştir. Sadece %40'lık grupla diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Isı ile polimerize olan diamond ve meliodent akril grubunda en fazla etkili olan %40 oranında çay ağacı yağı içeren grup olmuştur.

Ki-Young Nam ve ark. (299), yaptıkları çalışmada ısı ile polimerize lucitone 199 güçlendirilmiş akrilik içerisine %1,5, %10, %20 ve %30 oranlarında gümüş iyonu eklemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; %20 ve %30 oranında eklenen gruplarda antifungal etki oluşturduğu gözlenmiştir. %1,5 ve %10 oranlarında anlamlı etki görülmeyip, %20 ve %30 oranından itibaren anlamlı etkinin gözükmesi her bitkisel materyalin etkinliğini gösterebileceği minimum oranının belirlenmesi gerekliliğini düşündürmektedir. Çalışmamızda da ısı ile polimerize diamond akriliğin %10 çay ağacı yağı oranları üzerinde OD değerlerinde anlamlı etki oluşturması, klinik kullanım sırasında göz önünde bulundurulması gereken bir durumdur.

En yüksek OD ortalama ölçümü 24. saatte otopolimerize akrilik rezin kontrol grubunda görülürken, en düşük OD ise 48. saatte %40 oranında çay ağacı yağı içeren otopolimerize akrilik rezin grubunda gözlenmiştir. 48. saatte de devam eden çay ağacı yağı salınımı *Candida albicans* sayısının daha da azalmasına sebep olmuştur. Otopolimerize akril grubunda, çay ağacı yağı yüzdesinin artması her iki zaman diliminde OD değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmuştur. 24. saat ile 48. saat arasındaki spektrofotometre değerlerinde ısı ile polimerize olan meliodent ve diamond arasında hiçbir grupta anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu değerler çay ağacı yağına ısı uygulanmadığında etkinliğini daha uzun süre gösterdiğini düşündürmektedir. Çay ağacı yağının *Candida albicans* hif gelişiminin önlenmesi ve içeriğindeki terpinen4-ol'ün morfogenez ve biyofilm oluşumunu inhibe etmesi çıkan sonucu destekler niteliktedir (29).

Isıyla polimerize olan PMMA materyalleri, otopolimerize olan PMMA'ya kıyasla daha iyi seviyede polimerizasyon, daha az artık monomer ve daha iyi kimyasal özellikler sergiler (59). Polimerizasyon sonrasında serbest artık monomerler nedeniyle protez kaidelerinin yapılarında dikkate değer kimyasal değişiklikler olduğu bildirilmiştir ve suda bekletilen protez kaide materyallerinde en çok artık monomer salınımının 1. ve 2. günde olduğu belirtilmiştir. Akrilik rezin materyali örneklerinde artık monomerleri uzaklaştırmak

için 5 gün boyunca suda bekletilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (300, 301). Özellikle artık monomer içeriği daha fazla olan otopolimerize akriliklerde bekletilme sonucunda suya geçen artık monomer miktarı daha fazla olacaktır. Otopolimerize akril rezinlere ait tüm test gruplarında, 24. saat ile 48. saat arasındaki OD değerlerinde görülen azalma artık monomer geçişinin bir sonucu da olabilir.

24. ve 48. saat çay ağacı yağı içeren otopolimerize akril gruplarda ısı ile polimerize olanlara göre daha düşük OD değerleri görülmüştür ve ısı ile polimerize olan akril gruplarının OD değerlerinde kayda değer azalma gözlenmemiştir. Bunun sebebi olarak ısı ile polimerize olan akrillerin polimerizasyon sırasında oda sıcaklığının üzerinde sıcaklığa maruz kalması bir esansiyel yağ olan çay ağacı yağının yapısını etkilediği düşünülebilir. Çay ağacı yağı, hava ve ısıya maruz kaldığında oksidasyona meyillidir. İçeriğindeki terpenoidler hem uçucu hem de sıcaklıkla fiziksel, kimyasal, biyolojik olarak zarar görebilen moleküllerdir (302). Bu nedenle otopolimerize akril ile kullanıldığında yağın yapısal değişikliğe uğramaması ve böylece bozulmadan etkisini göstermiş olması kandida sayısında azalma sağlamış olabilir. Isı ile polimerize akril gruplarında kandida sayısı üzerindeki etkinliğin azalmasının muhtemel nedeni polimerizasyon sırasında yağın yüksek sıcaklığa maruz kalması olabilir.

Spektrofotometre değerleri ölçülen solüsyonun içinde canlı ve cansız hücrelerin toplamını içermektedir. Bununla birlikte, hücrelerin OD ölçümü sadece CFU'nun yaklaşık bir değeridir. Bu nedenle, petri sayımı ile teyit etme yapılan test üzerinde önemli bir kontroldür. Doğal süspansiyonda bulunan canlı patojenlerin sayısı CFU/g veya /mL cinsinden petri sayımı ile belirlenir (303, 304). Bu in vitro tez çalışmasında da spektrofotometre ölçümleri ve petri koloni sayımı ayrı ayrı uygulanmıştır. Petri sayımı ile elde edilen bulgular, OD değerleriyle uyumludur.

Candida albicans ile ilgili yürütülen in vitro çalışmalar gözden geçirildiğinde, örneklerin inkübasyonunda kullanılan Candida albicans süspansiyonunun konsantrasyon aralığının 10^5 CFU/mL ile $1,5 \times 10^8$ CFU/mL arasında değiştiği görülmektedir (32, 305). İn vitro çalışmamızda süspansiyon konsantrasyonu 10^7 CFU/mL olacak şekilde ayarlanmıştır ve 24 saatlik inkübasyon süresi uygulanmıştır. Sonrasında mantar hücrelerini canlılığının değerlendirilmesi ve koloni oluşturan birimlerin (CFU) hesaplanması için, çalkalama sonucu elde edilen mantar süspansiyonlarından besiyerlerine ekim yapılmıştır.

Shukur ve ark. (306), yaptıkları çalışmada %20 oranında çay ağacı yağı içeren ısı ile polimerize akrilik rezinin *Candida albicans* koloni sayısı üzerine 42 gün boyunca etkili olduğunu bulmuştur. Bu sonuçlar bizim in vitro çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Kontrol grubu koloni sayımlarında ısı ile polimerize olan ve kimyasal yapıları farklı olan meliodent ile diamond akrilikleri arasında farklılık gözlenmemiştir. Yapılan bir çalışmada, farklı kimyasal yapılara sahip ivocap ve lucitone protez akriliğinde *Candida albicans* biofilm büyümesi değerlendirilmiştir. Hem ivocap hem de lucitone'un tükürük ile kaplandıktan sonra eşit biyofilm büyümesini desteklediği bulunmuştur. Bu da akrilikler arasındaki kimyasal farklılıkların tükürük ile kaplandıktan sonra minimum olduğunu düşündürmektedir (307).

Yüzey pürüzlülüğünün 0.2µm Ra değerinin altında olması durumunda, materyalin mikrobiyal kolonizasyonu etkilemeyeceği savunulmuştur (16, 85). Başka bir çalışmada ise 0,15µm ve 0,18µm Ra değerlerindeki rezin örneklerde kandidal oluşumun görüldüğü bildirilmiştir. Bunun sebebi olarak da yapay tükürük kullanılması öne sürülmüştür (308). Bu çalışma sonucu bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Bu çalışmada da yapay tükürük kullanılmış ve 0.2µm Ra değerinin altında *Candida albicans* oluşumu gözlenmiştir.

Akrilik rezinlerin kontrol grupları incelendiğinde, yüzey pürüzlülüğün artmasıyla kandida oluşumu arasında doğrudan bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Otopolimerize akrilin poröz yapıda olması bunda etkili olmuştur. Bunun dışında çay ağacı yağının eklenmesi antifungal etki oluşturmuş ve kandida miktarında azalma meydana getirmiştir.

Bu in vitro tez çalışmasının limitasyonları olarak, ağız ortamında yalnızca *Candida albicans* değil, birçok mikroorganizma türü bulunması ve bunların bu çalışmaya dahil edilmemesi sayılabilir. Ek olarak, çalışmamızda herhangi bir yaşlandırma süreci uygulanmaması in vivo koşulların tam olarak yansıtılamamasına sebep olmuştur. Bundan sonraki araştırmalarda in vivo koşulların daha iyi simüle edildiği çalışmalar planlanmaktadır. Çay ağacı yağı ilavesi sonrasında rezinlerin yapısının çeşitli kimyasal yöntemlerle incelenmesi yağın etkinliğinin anlaşılması açısından daha faydalı olabilir. Ayrıca farklı antifungal ajanların *Candida albicans* adezyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması ve çay ağacı yağı ile karşılaştırılması ve çay ağacı yağının akrilik rezinlerin diğer fiziksel özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu in vitro çalışmanın limitleri dahilinde elde edilen bulgular ışığında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

1. Polimerizasyon tipi yüzey pürüzlülük özelliğini etkilemiştir. Otopolimerize meliodent akrilik, ısı ile polimerize olan akriliklere göre daha pürüzlü yüzeylere sahiptir. Tamir işlemlerinin yapıldığı ve otopolimerize akrilik kullanıldığı durumlarda bu durum göz önünde bulundurulmalıdır.
2. Isı ile polimerize meliodent ve diamond akriliklerinde %10 oranında çay ağacı yağı eklenmesi kabul edilebilir eşik değer olan $Ra:0,2\mu m$ 'den az bulunmuştur. Bunun üstünde eklenen %20 ve %40 oranlarında bu sınırdan fazla Ra değeri görülmüştür. Isı ile polimerize akriliklerde %10 oranında çay ağacı yağı eklenmesi önerilebilir.
3. 24. ve 48. saat çay ağacı yağı içeren otopolimerize akrilik gruplarında ısı ile polimerize olanlara göre daha düşük OD değerleri görülmüştür ve ısı ile polimerize olan akrilik gruplarının OD değerlerinde kayda değer azalma gözlenmemiştir. Çoğunlukla hareketli bölümlü ve tam protezlerde tamir işlemleri sırasında kullanılan otopolimerize akriliklerde çay ağacı yağı ilave edilmesi kandida tutunum kontrolünü sağlamada etkili bir yöntem olarak önerilebilir.
4. Koloni sayımlarında yüzey pürüzlülüğü kontrol grubunda pürüzlülüğün artmasıyla kandida oluşumu arasında doğrudan etkili olmuştur. Çay ağacı yağının eklenmesi antifungal etki oluşturmuş ve kandida miktarında azalma meydana getirmiştir. Bütün rezinlere çay ağacı yağı ilave edilerek yağın antifungal özelliğinden faydalanılabilir.
5. Isı ile polimerize akrilik grupları için pürüzlülük eşik değeri ve antifungal etki beraber düşünüldüğünde %10 oranında çay ağacı yağı eklenmesi optimum değer olarak düşünülebilir.
6. Isı ile polimerize akrilik grupları için %20 ve %40 oranında çay ağacı yağı eklenen gruplarda pürüzlülük değerleri kabul edilebilir eşik değer olan $Ra:0,2\mu m$ 'den daha fazla gözlenmiştir. Bu yüzdeleri içeren protezlerin daha sık kontrollere çağırılarak yeniden cilalanması önerilebilir.
7. Isı ile polimerize olan akriliklerde antifungal etkinin anlamlı şekilde görülmesi için en az %20 oranında çay ağacı yağı eklenmesi gereklidir. Bu değer otopolimerize akrilik için en az %10'dur.

8. Protez stomatitin tedavisinde yan etki görülebilecek konvansiyonel tedavilere alternatif olarak bitkisel bir tedavi olan çay ağacı yağı kullanımı güvenle önerilebilir.
9. İlave edilen antifungal ajanın etkinliğini ölçmek için koloni sayımı ve spektrofotometre değerlerinin beraber uygulanması ile mikrobiyolji testlerini daha güvenli sonuçlara ulaştırdığını düşünmekteyiz.
10. İlave edilen çay ağacı yağının 24 saat sonraki etkisinin 48 saat sonra da göstermesi etkinin devamlılığını kanıtlar niteliktedir.



7. KAYNAKLAR

1. Muenz R (2007). Aging and Demographic Change in European Societies : Main Trends and Alternative Policy Options. *SP Discussion Paper* 39174: 1–35.
2. Reynolds MA (2014). Modifiable risk factors in periodontitis: At the intersection of aging and disease. *Periodontology* 2000 64: 7–19.
3. LEDERBERG J, MCCRAY ATBT-TS (2001). `Ome Sweet `Omics--A Genealogical Treasury of Words 15: 8.
4. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, Lakshmanan A, Wade WG (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology* 192: 5002–5017.
5. Wade WG (2013). Characterisation of the human oral microbiome. *Journal of Oral Biosciences* 55: 143–148.
6. Kraneveld EA, Buijs MJ, Bonder MJ, Visser M, Keijser BJF, Crielaard W, Zaura E (2012). The Relation between Oral Candida Load and Bacterial Microbiome Profiles in Dutch Older Adults. *PLOS ONE* 7: e42770.
7. Pankhurst CL (2013). Candidiasis (oropharyngeal). *BMJ clinical evidence* 2013: 1304.
8. Pfaller MA, Diekema DJ (2010). *Epidemiology of invasive mycoses in North America. Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 36).
9. Pfaller MA, Diekema DJ (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews* 20: 133–163.
10. Gendreau L LZ (n.d.). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont* 20: 251–260.
11. Winkler S (1984). Denture base resins. *Dental clinics of North America* 28: 287–297.
12. Catalan A, Herrera R, Martinez A (1987). Denture plaque and palatal mucosa in denture stomatitis: Scanning electron microscopic and microbiologic study. *Journal of Prosthetic Dentistry* 57: 581–586.
13. Abelson DC (1981). Denture plaque and denture cleansers. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 45: 376–379.
14. Samaranayake LP, Geddes DA, Weetman DA, MacFarlane TW (1983). Growth and acid production of *Candida albicans* in carbohydrate supplemented media. *Microbios* 37: 105–115.

15. Verran J (1988). Preliminary Studies on Denture Plaque Microbiology and Acidogenicity. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1: 51–55.
16. Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD (1999). Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 10: 99–116.
17. Waters MGJ, Williams DW, Jagger RG, Lewis MAO (1997). Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. *Journal of Prosthetic Dentistry* 77: 306–312.
18. Ryu M, Ueda T, Saito T, Yasui M, Ishihara K, Sakurai K (2010). Oral environmental factors affecting number of microbes in saliva of complete denture wearers. *Journal of Oral Rehabilitation* 37: 194–201.
19. Yoshijima Y, Murakami K, Kayama S, Liu D, Hirota K, Ichikawa T, Miyake Y (2010). Effect of substrate surface hydrophobicity on the adherence of yeast and hyphal *Candida*: Original article. *Mycoses* 53: 221–226.
20. Compagnoni MA, Pero AC, Ramos SMM, Marra J, Paleari AG, Rodriguez LS (2014). Antimicrobial activity and surface properties of an acrylic resin containing a biocide polymer. *Gerodontology* 31: 220–226.
21. Ishikawa KH, Mayer MPA, Miyazima TY, Matsubara VH, Silva EG, Paula CR, Campos TT, Nakamae AEM (2015). A multispecies probiotic reduces oral candida colonization in denture wearers. *Journal of Prosthodontics* 24: 194–199.
22. Redding S, Bhatt B, Rawls HR, Siegel G, Scott K, Lopez-Ribot J (2009). Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation on denture material. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 107: 669–672.
23. European Environment Agency (EEA) (2019). Clinical management of oral and perioral candidosis. *Dermatol Clin* 53: 1689–1699.
24. Fotos PG, Vincent SD HJ (1992). Oral candidosis. Clinical, historical, and therapeutic features of 100 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 74: 41-49.
25. Taweechaisupapong S, Klanrit P, Singhara S, Pitiphat W, Wongkham S (2006). Inhibitory effect of *Streblus asper* leaf-extract on adhesion of *Candida albicans* to denture acrylic. *Journal of Ethnopharmacology* 106: 414–417.
26. Polaquini SRB, Svidzinski TIE, Kemmelmeier C, Gasparetto A (2006). Effect of

- aqueous extract from Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on hydrophobicity, biofilm formation and adhesion in composite resin by *Candida albicans*. *Archives of oral biology* 51: 482–490.
27. Sonmez S, Kirilmaz L, Yucesoy M, Yücel B, Yilmaz B (2005). The effect of bee propolis on oral pathogens and human gingival fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology* 102: 371–376.
 28. Brand C, Grimaldeston MA, Gamble JR, Drew J, Finlay-Jones JJ, Hart PH (2002). Tea tree oil reduces the swelling associated with the efferent phase of a contact hypersensitivity response. *Inflammation Research* 51: 236–244.
 29. Hammer KA, Carson CF, Riley T V. (2000). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. *Medical Mycology* 38: 355–362.
 30. Carson CF, Riley T V. (1993). Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Applied Microbiology* 16: 49–55.
 31. Nenoff P, Haustein U-F, Brandt W (1996). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil) against Pathogenic Fungi in vitro. *Skin Pharmacology and Physiology* 9: 388–394.
 32. Catalán A, Pacheco JG, Martínez A, Mondaca MA (2008). In vitro and in vivo activity of *Melaleuca alternifolia* mixed with tissue conditioner on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 105: 327–332.
 33. HR. R (2003). *Phillips' Science of Dental Materials*.
 34. Craig R, Mosby JP-L, 2002 undefined (n.d.). Restorative dental materials. 11 5. th ed St.
 35. Bortun CM, Ardelean L, Rusu L-C, Marcautuanu C (2012). *Importance of Modern Light-curing Resins in the Design of Removable Partial Dentures*. *REV CHIM (Bucharest)* (Vol. 63).
 36. Polymethyl methacrylate | chemical compound | Britannica (n.d.). .
 37. Zarb G, Bolender C, Eckert S, Co AF-M, Louis S, 2004 undefined (n.d.). Prostodontics Treatment for Edentulous Patients, 12th, CV.
 38. Chaing BKP (1984). Polymers in the service of prosthetic dentistry. *Journal of Dentistry* 12: 203–214.

39. Lee SY, Lai YL, Hsu TS (2002). Influence of polymerization conditions on monomer elution and microhardness of autopolymerized polymethyl methacrylate resin. *European journal of oral sciences* 110: 179–183.
40. Koda T, Tsuchiya H, Yamauchi M, Hoshino Y, Takagi N, Kawano J (1989). High-performance liquid chromatographic estimation of eluates from denture base polymers. *Journal of Dentistry* 17: 84–89.
41. Buykuilmaz2 S (1998). Effect of polymerization residual MMA content of the polymer. The lowest residual MMA content. *Eur J Oral Sci* 106: 588–593.
42. Brauer GM (1966). Dental applications of polymers: a review. *Journal of the American Dental Association (1939)* 72: 1151–1158.
43. Phoenix RD (1996). Denture base materials. *Dental clinics of North America* 40: 113–120.
44. HILL R, RG H (1981). THE CROSSLINKING AGENT ETHYLENE GLYCOL DIMETHACRYLATE CONTENT OF THE CURRENTLY AVAILABLE ACRYLIC DENTURE BASE RESINS. *THE CROSSLINKING AGENT ETHYLENE GLYCOL DIMETHACRYLATE CONTENT OF THE CURRENTLY AVAILABLE ACRYLIC DENTURE BASE RESINS*.
45. Phillips RW, Skinner EW (n.d.). *Skinner's Science Of Dental Materials*.
46. Stafford GD, Bates JF, Huggett R, Handley RW (1980). A review of the properties of some denture base polymers. *Journal of Dentistry* 8: 292–306.
47. Materials Science for Dentistry - B W Darvell - Google Kitaplar (n.d.). .
48. Parvizi A, Lindquist T, Schneider R, Williamson D, Boyer D, Dawson D V. (2004). Comparison of the Dimensional Accuracy of Injection-Molded Denture Base Materials to that of Conventional Pressure-Pack Acrylic Resin. *Journal of Prosthodontics* 13: 83–89.
49. Doğan A, Bek B, Çevik NN, Usanmaz A (1995). The effect of preparation conditions of acrylic denture base materials on the level of residual monomer, mechanical properties and water absorption. *Journal of Dentistry* 23: 313–318.
50. ISO 20795-1:2013(en), Dentistry — Base polymers — Part 1: Denture base polymers (n.d.). . Available at: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:20795:-1:ed-2:v1:en>. [Accessed: 22 October 2020].
51. Revised American Dental Association specification no. 12 for denture base

- polymers. (1975). *Journal of the American Dental Association (1939)* 90: 451–458.
52. Rickman LJ, Padipatvuthikul P, Satterthwaite JD (2012). Contemporary denture base resins: Part 1. *Dental Update* 39: 25–30.
 53. Sohail Zafar M, Amin F, Fareed MA, Ghabbani H, Riaz S, Khurshid Z, Kumar N (n.d.). biomimetics Biomimetic Aspects of Restorative Dentistry Biomaterials. *mdpi.com*.
 54. Cooper AI (2009). Conjugated microporous polymers. *Advanced Materials* 21: 1291–1295.
 55. Bayindir F, Kürklü D, dentistry NY-J of, 2012 undefined (n.d.). The effect of staining solutions on the color stability of provisional prosthodontic materials. *Elsevier*.
 56. Latief A (2012). *SORPTION AND SOLUBILITY OF A DENTURE BASE ACRYLIC*.
 57. Takahashi Y, Hamanaka I, Shimizu H (2013). *Acta Odontologica Scandinavica* Flexural properties of denture base resins subjected to long-term water immersion Flexural properties of denture base resins subjected to long-term water immersion. *Acta Odontologica Scandinavica* 71: 716–720.
 58. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y (2006). Influence of polymerization method, curing process, and length of time of storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 76: 340–345.
 59. Tuna S, Keyf F, Gumus H, of CU-E journal, 2008 undefined (n.d.). The evaluation of water sorption/solubility on various acrylic resins. *ncbi.nlm.nih.gov*.
 60. Gupta A, Contemporary MK-IJ of, 2011 U (n.d.). An evaluation of the effect of water sorption on dimensional stability of the acrylic resin denture bases. *search.proquest.com*.
 61. Arima T, Murata H, Hamada T (1996). The effects of cross-linking agents on the water sorption and solubility characteristics of denture base resin. *Journal of Oral Rehabilitation* 23: 476–480.
 62. Ali U, Juhanni Bt Abd Karim K, Aziah Buang N, Juhanni Abd Karim KB (n.d.). Polymer Reviews A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA) A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA).
 63. Krishna Alla Scholar R, Swamy Professor RK, Vyas R, Konakanchi A, Rama Krishna

- Alla Scholar C, Krishna Alla R, Swamy RK (2015). Conventional and Contemporary polymers for the fabrication of denture prosthesis: part I-Overview, composition and properties. ~ 82 ~ *International Journal of Applied Dental Sciences* 1: 82–89.
64. Sagsoz N, Yanikoglu N, Ulu H, of FB-OJ, 2014 undefined (n.d.). Color changes of polyamid and polymetyl methacrylate denture base materials. *scirp.org*.
 65. Lang LA, Mattie PA, Rawis HR (2000). The effect of triphenylbismuth on the radiopacity and performance properties of compression- and injection-molded denture resins. *Journal of Prosthodontics* 9: 23–29.
 66. Alhareb A, Akil H, Chemistry ZA-P, 2016 undefined (n.d.). Influence of Al₂O₃/Y-TSZ mixture as filler loading on the radiopacity of PMMA denture base composites. *Elsevier*.
 67. Ogle R, Sorensen S, Dentistry EL-J of P, 1986 undefined (n.d.). A new visible light-cured resin system applied to removable prosthodontics. *thejpd.org*.
 68. Dagnal H (n.d.). Dagnal, H., “Exploring Surface Texture”, Second...
 69. Morgan TD, Wilson M (2001). The effects of surface roughness and type of denture acrylic on biofilm formation by *Streptococcus oralis* in a constant depth film fermentor. *Journal of Applied Microbiology* 91: 47–53.
 70. Whitehead KA, Colligon J, Verran J (2005). Retention of microbial cells in substratum surface features of micrometer and sub-micrometer dimensions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 41: 129–138.
 71. Verran J, Maryan CJ (1997). Retention of *Candida albicans* on acrylic resin and silicone of different surface topography. *Journal of Prosthetic Dentistry* 77: 535–539.
 72. Engineering JG-P, 1982 undefined (n.d.). A new stylus instrument with a wide dynamic range for use in surface metrology. *Elsevier*.
 73. communities KS-C of the european, 1993 undefined (n.d.). The development of methods for the characterisation of roughness in three dimensions. *ci.nii.ac.jp*.
 74. and HC-HAT to YD, 2002 undefined (n.d.). Holography: A Tribute to Yuri Denisyuk and Emmett Leith. *ui.adsabs.harvard.edu*.
 75. Wang S, Tian Y, Tay C, optics CQ-A, 2003 undefined (n.d.). Development of a laser-scattering-based probe for on-line measurement of surface roughness.

osapublishing.org.

76. Blessing G, Slotwinski J, Eitzen D, optics HR-A, 1993 undefined (n.d.). Ultrasonic measurements of surface roughness. *osapublishing.org*.
77. Field J, Waterhouse P, German M (2010, March 1). Quantifying and qualifying surface changes on dental hard tissues in vitro. *Journal of Dentistry* 38.
78. Schmit J, Metrology V, Creath K, Wyant OJC (n.d.). *5 Surface Profilors, Multiple Wavelength, and White Light Intereferometry*.
79. Chappard D, Degasne I, Huré G, Legrand E, Audran M, Baslé MF (2003). Image analysis measurements of roughness by texture and fractal analysis correlate with contact profilometry. *Biomaterials* 24: 1399–1407.
80. Hocken RJ, Chakraborty N, Brown C (2005). Optical metrology of surfaces. *CIRP Annals - Manufacturing Technology* 54: 169–183.
81. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H (1985). *Hydrophobic Interaction in Candida albicans and Candida tropicalis Adherence to Various Denture Base Resin Materials. INFECTION AND IMMUNITY* (Vol. 47).
82. Taylor RL, Verran J, Lees GC, Ward AJP (1998). The influence of substratum topography on bacterial adhesion to polymethyl methacrylate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 9: 17–22.
83. Quirynen M, Bollen CML (1995). The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man: A review of the literature. *Journal of Clinical Periodontology* 22: 1–14.
84. Bollenl C, Lambrechts P, materials MQ-D, 1997 undefined (n.d.). Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Elsevier*.
85. Quirynen M, Marechal M, Busscher HJ, Weerkamp AH, Darius PL, van Steenberghe D (1990). The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation: An in vivo study in man. *Journal of Clinical Periodontology* 17: 138–144.
86. Grumezescu V, Grumezescu A (2019). *Materials for Biomedical Engineering: Thermoset and Thermoplastic Polymers*.
87. Zappini G, Kammann A, dentistry WW-T journal of prosthetic, 2003 undefined

- (n.d.). Comparison of fracture tests of denture base materials. *Elsevier*.
88. Stafford GD, Huggett R, Causton BE (1980). Fracture toughness of denture base acrylics. *Journal of Biomedical Materials Research* 14: 359–371.
 89. Pfeiffer P, Rolleke C, Sherif L (2005). Flexural strength and moduli of hypoallergenic denture base materials. *The Journal of prosthetic dentistry* 93: 372–7.
 90. Tandon R, Gupta S, Sci SA-IJD, 2010 undefined (n.d.). *Denture base materials: From past to future. archive.ijds.in*.
 91. Sohail Zafar M (2018). Materials Technology Advanced Performance Materials Wear behavior of various dental restorative materials Wear behavior of various dental restorative materials. *Taylor & Francis* 34: 25–31.
 92. Gautam R, Singh RD, Sharma VP, Siddhartha R, Chand P, Kumar R (2012, July). Biocompatibility of polymethylmethacrylate resins used in dentistry. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 100 B.
 93. Braun KO, Mello JAN, Rached RN, Del Bel Cury AA (2003). Surface texture and some properties of acrylic resins submitted to chemical polishing. *Journal of Oral Rehabilitation* 30: 91–98.
 94. Kedjarune U, Charoenworluk N, Koontongkaew S (1999). Release of methyl methacrylate from heat-cured and autopolymerized resins: Cytotoxicity testing related to residual monomer. *Australian Dental Journal* 44: 25–30.
 95. Thaitammayanon P, Sirichompun C, Wiwatwarrapan C (2017). Ultrasonic treatment reduced residual monomer in methyl methacrylate-based orthodontic base-plate materials. *Dental, Oral and Craniofacial Research* 4.
 96. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AL, Vergani CE (2003). Cytotoxicity of denture base acrylic resins: A literature review. *Journal of Prosthetic Dentistry* 90.
 97. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL, Pavarina AC, Carlos IZ (2007). Biocompatibility of denture base acrylic resins evaluated in culture of L929 cells. Effect of polymerisation cycle and post-polymerisation treatments. *Gerodontology* 24: 52–57.
 98. Association AF-J of the AM, 1954 undefined (n.d.). Allergic sensitization of the skin and oral mucosa to acrylic denture materials. *jamanetwork.com*.
 99. Barclay SC, Forsyth A, Felix DH, Watson IB (1999). Hypersensitivity to denture

- materials. *British Dental Journal* 187: 350–352.
100. van Joost T, van Ulsen J, van Loon LAJ (1988). Contact allergy to denture materials in the burning mouth syndrome. *Contact Dermatitis* 18: 97–99.
 101. Rai R, Dinakar D, Kurian S, Bindoo Y (2014). Investigation of contact allergy to dental materials by patch testing. *Indian Dermatology Online Journal* 5: 282.
 102. Gawkrödger DJ (2005, September). Investigation of reactions to dental materials. *British Journal of Dermatology* 153.
 103. ÖZKAN YK (2016). *TAM PROTEZLER: Problemler ve Çözüm Yolları*.
 104. Mucogingival overgrowth in a geriatric patient (n.d.). *escholarship.org*.
 105. -Borrás MT, ... ED-M (2005). Removal of hyperplastic lesions of the oral cavity . A retrospective study of 128 cases *oral and surgery buccal*.
 106. Samaranayake LP, Keung Leung W, Jin L (2009). Oral mucosal fungal infections. *Periodontology* 2000 49: 39–59.
 107. Lombardi T, ... EB-J of prosthodontics and, 1993 undefined (n.d.). Treatment of denture-induced stomatitis: a review. *europemc.org*.
 108. Ryan K (2010). Candida Albicans Adhesion and Biofilm Formation on Phosphated and Non-Phosphate Containing Poly(Methylmethacrylate) Polymers. *Master's Theses (2009 -)*.
 109. Olsen I (1974). Denture stomatitis occurrence and distribution of fungi. *Acta Odontologica Scandinavica* 32: 329–333.
 110. ARENDORF TM, WALKER DM (1987). Denture stomatitis: a review. *Journal of Oral Rehabilitation* 14: 217–227.
 111. Polzer I, Schimmel M, Müller F, Biffar R (2010). Edentulism as part of the general health problems of elderly adults*. *International Dental Journal* 60: 143–155.
 112. J TA the N-BD, 1962 undefined (n.d.). Denture sore mouth. *ci.nii.ac.jp*.
 113. journal JW-B dental, 1998 undefined (n.d.). The aetiology, diagnosis and management of denture stomatitis. *nature.com*.
 114. Ramage G, Tomsett K, Wickes BL, López-Ribot JL, Redding SW (2004). Denture stomatitis: A role for Candida biofilms. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 98: 53–59.
 115. Barbeau J, Séguin J, Goulet J, Surgery L de K-O, Oral undefined, 2003 undefined

- (n.d.). Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. *Elsevier*.
116. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP, Harty DWS, Knox KW (1998). Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part 2. Oral diseases caused by candida species. *Australian Dental Journal* 43: 160–166.
 117. Pires FR, Santos EBD, Bonan PRF, De Almeida OP, Lopes MA (2002). Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *Journal of Oral Rehabilitation* 29: 1115–1119.
 118. Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C (2007). Denture-related stomatitis: Identification of aetiological and predisposing factors - A large cohort. *Journal of Oral Rehabilitation* 34: 448–455.
 119. Mumcu G, Cimilli H, Sur H, Hayran O, Atalay T (2005). Prevalence and distribution of oral lesions: a cross-sectional study in Turkey. *Oral Diseases* 11: 81–87.
 120. Budtz-Jørgensen E, Bertram U (1970). Denture stomatitis I. The etiology in relation to trauma and infection. *Acta Odontologica Scandinavica* 28: 71–92.
 121. Emami E, De Grandmont P, Rompré PH, Barbeau J, Pan S, Feine JS (2008). Favoring trauma as an etiological factor in denture stomatitis. *Journal of Dental Research* 87: 440–444.
 122. Cawson RA (1965). Symposium on denture sore mouth. II. The role of *Candida*. *The Dental practitioner and dental record* 16: 138–142.
 123. ÖZKAN YK (2016). Tam Protezler: Problemler ve Çözüm Yolları Cilt 1: 88.
 124. Mah T, microbiology GO-T in, 2001 undefined (n.d.). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Elsevier*.
 125. Flemming H-C, Wingender J (2014). The Biofilm Matrix Biofouling View project household water installation with respect to energy and hygiene View project.
 126. Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A (2002). Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *Journal of Oral Rehabilitation* 29: 300–304.
 127. Dikbas I, Koksall T, Calikkocaoglu S (2006). Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. *The International journal of prosthodontics* 19: 294–298.

128. Närhi TO, Ainamo A, Meurman JH (1993). Salivary Yeasts, Saliva, and Oral Mucosa in the Elderly. *Journal of Dental Research* 72: 1009–1014.
129. Papas A, Niessen L, Chauncey H (1991). Geriatric dentistry: aging and oral health.
130. Cassolato SF, Turnbull RS (2003). Xerostomia: clinical aspects and treatment. *Gerodontology* 20.
131. Jaya CJ", Seneviratne ", Zhang C, Samaranayake LP (2011). *Article in The Chinese journal of dental research: the official journal of the Scientific Section of the Chinese Stomatological Association (CSA) · . Jaya" Seneviratne on.*
132. Shulman J, Beach M, American FR-H-TJ of the, 2004 undefined (n.d.). The prevalence of oral mucosal lesions in US adults: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Elsevier*.
133. Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM (2008). Development of Candida-associated denture stomatitis: New insights. *Journal of Applied Oral Science* 16.
134. Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NAR (2014, November 1). Metabolism impacts upon candida immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends in Microbiology* 22.
135. Gornitsky M, Paradisi I, Landaverde G, Malo A-M, Velly AM (2002). A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. *Journal (Canadian Dental Association)* 68: 39–45.
136. Soysa NS, Ellepola ANB (2005, September). The impact of cigarette/tobacco smoking on oral candidosis: An overview. *Oral Diseases* 11.
137. Abu-Elteen K, microbiologica RA-A-T new, 1998 undefined (n.d.). The prevalence of Candida albicans populations in the mouths of complete denture wearers. *ncbi.nlm.nih.gov*.
138. Crockett DN, O'Grady JF, Reade PC (1992). Candida species and Candida albicans morphotypes in erythematous candidiasis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 73: 559–563.
139. Dubois AE, Bennett ZC, Khalid U, Khalid A, Meece RA, Difiore GJ, Gregory RL (2014). *NICOTINE: ITS STIMULATING AND INHIBITORY EFFECTS ON ORAL MICROORGANISMS CORRESPONDING AUTHOR. ZCB ARE JOINT FIRST AUTHORS OF*

THIS WORK.

140. Do T, Devine D, Marsh PD (2013). Oral biofilms: Molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry* 5.
141. Balaban N, Stoodley P, Fux C, ... SW-... R (1976-2007, 2005 undefined (n.d.). Prevention of staphylococcal biofilm-associated infections by the quorum sensing inhibitor RIP. *journals.lww.com*.
142. Aydin M, Mısırlıgil A (2012). *Agiz mikrobiyolojisi [Oral microbiology]*.
143. Marsh PD, Marsh D (2004). Dental Plaque as a Microbial Biofilm. *Caries Res* 38: 204–211.
144. Marsh PD (2006). Dental plaque as a biofilm and a microbial community - Implications for health and disease. *BMC Oral Health* (Vol. 6).
145. Gevers D, Knight R, Petrosino JF, Huang K, McGuire AL, Birren BW, Nelson KE, White O, Methé BA, Huttenhower C (2012). The Human Microbiome Project: A Community Resource for the Healthy Human Microbiome. *PLoS Biology* 10: e1001377.
146. Hannig M (1999). Transmission electron microscopy of early plaque formation on dental materials in vivo. *European Journal of Oral Sciences* 107: 55–64.
147. Kolenbrander PE (2000). Oral Microbial Communities: Biofilms, Interactions, and Genetic Systems. *Annual Review of Microbiology* 54: 413–437.
148. Walker JT, Bradshaw DJ, Bennett AM, Fulford MR, Martin M V., Marsh PD (2000). Microbial biofilm formation and contamination of dental-unit water systems in general dental practice. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3363–3367.
149. SCHONFELD, E. S (1992). Oral microbial ecology. *Contemporary oral microbiology and immunology* 267–274.
150. Murray PA, Prakobphol A, Lee T, Hoover CI, Fisher SJ (1992). Adherence of oral streptococci to salivary glycoproteins. *Infection and Immunity* 60.
151. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS (2010, June 1). Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Reviews Microbiology* 8.
152. Kaplan JB (2010). Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential

- therapeutic uses. *J Dent Res* 89: 205–218.
153. Gilbert P, Allison DG, McBain AJ (2002). Biofilms in vitro and in vivo: Do singular mechanisms imply cross-resistance? *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement* (Vol. 92), John Wiley & Sons, Ltd, pp 98S-110S.
 154. Stewart P, lancet JC-T, 2001 undefined (n.d.). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Elsevier*.
 155. Marsh PD (2005). Dental plaque: Biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of Clinical Periodontology* (Vol. 32), pp 7–15.
 156. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD, Faddoul FF, Hoyer LL, Douglas LJ, Ghannoum MA (2001). Antifungal resistance of Candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *Journal of Dental Research* 80: 903–908.
 157. Seneviratne CJ, Jin L, Samaranayake LP (2008, October). Biofilm lifestyle of Candida: A mini review. *Oral Diseases* 14.
 158. Ten Cate JM, Klis FM, Pereira-Cenci T, Crielaard W, De Groot PWJ (2009). Molecular and cellular mechanisms that lead to Candida biofilm formation. *Journal of Dental Research* 88.
 159. Nickerson KW, Atkin AL, Hornby JM (2006). Quorum Sensing in Dimorphic Fungi: Farnesol and Beyond. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* 72: 3805–3813.
 160. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, López-Ribot JL (2005). Candida Biofilms: an Update †. *EUKARYOTIC CELL* 4: 633–638.
 161. Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T (1998, May 1). Denture plaque - Past and recent concerns. *Journal of Dentistry* 26.
 162. Nikawa H, Hamada T, ... HY-IJ, 1999 undefined (n.d.). A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *search.ebscohost.com*.
 163. Leathen W, Kinsel N, ... CB-TJ of the, 1960 undefined (n.d.). The microbiology of plastic dentures. *Elsevier*.
 164. Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, Guida A, Petruzzi M, Serpico R (2011). Candida-associated denture stomatitis. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal* 16.
 165. Cavalcanti IMG, Nobbs AH, Ricomini-Filho AP, Jenkinson HF, Del Bel Cury AA (2016).

- Interkingdom cooperation between *Candida albicans*, *Streptococcus oralis* and *Actinomyces oris* modulates early biofilm development on denture material. *Pathogens and disease* 74: 2.
166. Hoffman IP, Haidaris CG (1993). *Analysis of Candida albicans Adhesion to Salivary Mucin*. *INFECTION AND IMMUNITY* (Vol. 61).
 167. Nikawa H, Iwanaga H, Kameda M, Hamada T (1992). In vitro evaluation of *Candida albicans* adherence to soft denture-lining materials. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 68: 804–808.
 168. Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO (2005). *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal* 10 Suppl 1: E27-39.
 169. Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC (1995). Oral *Candida*: Clearance, Colonization, or Candidiasis? *Journal of Dental Research* 74: 1152–1161.
 170. McCullough MJ, Savage NW (2005). Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. *Australian Dental Journal* 50.
 171. Budtz-Jensen E (1990). Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontologica Scandinavica* 48: 61–69.
 172. Bahn AN, Quillman PD, Kendrick FJ (1962). Intraoral Localization of Micro-organisms. *Journal of Dental Research* 41: 715.
 173. Olsen I, Stenderup A (1990). Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontologica Scandinavica* 48: 11–18.
 174. Arendorf T, biology DW-A of oral, 1980 undefined (n.d.). The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Elsevier*.
 175. Iacopino A, Dental WW-TJ of the A, 1992 undefined (n.d.). Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *jada.ada.org*.
 176. Sudbery P, Gow N, Berman J (2004, July 1). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology* 12.
 177. Molero G, Dfcs-Orejas R, Navarro-García F, Monleoliva L, Pla J, Gil C, Sánchez-Pérez M, Nombela C (1998). *Candida albicans*: Genetics, dimorphism and pathogenicity. *International Microbiology* 1: 95–106.

178. Clinics BM-D, 2005 undefined (n.d.). Oral fungal infections. *dental.theclinics.com*.
179. Lamfon H, Porter S, ... MM-J of A, 2004 undefined (n.d.). Susceptibility of *Candida albicans* biofilms grown in a constant depth film fermentor to chlorhexidine, fluconazole and miconazole: a longitudinal study. *academic.oup.com*.
180. Bilhan H, Sulun T, Erkoş G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O, Bilgin T (2009). The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clinical Oral Investigations* 13: 363–368.
181. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, Walter JD (1998). Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *Journal of Dentistry* 26: 577–583.
182. Dalle F, Wächtler B, L'Ollivier C, Holland G, Bannert N, Wilson D, Labruère C, Bonnin A, Hube B (2010). Cellular interactions of *Candida albicans* with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cellular microbiology* 12: 248–271.
183. Wächtler B, Wilson D, Haedicke K, Dalle F, Hube B (2011). From Attachment to Damage: Defined Genes of *Candida albicans* Mediate Adhesion, Invasion and Damage during Interaction with Oral Epithelial Cells. (C. Munro, editor) *PLoS ONE* 6: e17046.
184. Verstrepen KJ, Klis FM (2006, April). Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Molecular Microbiology* 60.
185. Pendrak M, letters SK-F microbiology, 1995 undefined (n.d.). Adherence of *Candida albicans* to host cells. *academic.oup.com*.
186. Hoyer LL, Green CB, Oh SH, Zhao X (2008). Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family - A sticky pursuit. *Medical Mycology* 46: 1–15.
187. Klotz SA, Gaur NK, De Armond R, Sheppard D, Khardori N, Edwards JE, Lipke PN, El-Azizi M (2007). *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. *Medical Mycology* 45: 363–370.
188. Li F, Palecek SP (2003). EAP1, a *Candida albicans* Gene Involved in Binding Human Epithelial Cells. *EUKARYOTIC CELL* 2: 1266–1273.
189. Hube B (1996, December 1). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases. *Current topics in medical mycology* 7.

190. Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B (2005, November 1). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses* 48.
191. Mukherjee PK, Seshan KR, Leidich SD, Chandra J, Cole GT, Ghannoum MA (2001). Reintroduction of the PLB1 gene into *Candida albicans* restores virulence in vivo. *Microbiology* 147: 2585–2597.
192. Theiss S, Ishdorj G, Brenot A, Kretschmar M, Lan CY, Nichterlein T, Hacker J, Nigam S, Agabian N, Köhler GA (2006). Inactivation of the phospholipase B gene PLB5 in wild-type *Candida albicans* reduces cell-associated phospholipase A2 activity and attenuates virulence. *International Journal of Medical Microbiology* 296: 405–420.
193. Leidich SD, Ibrahim AS, Fu Y, Koul A, Jessup C, Vitullo J, Fonzi W, Mirbod F, Nakashima S, Nozawa Y, *et al.* (1998). Cloning and disruption of caPLB1, a phospholipase B gene involved in the pathogenicity of *Candida albicans*. *The Journal of biological chemistry* 273: 26078–26086.
194. Baillie GS, Douglas LJ (1999). Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. *Journal of Medical Microbiology* 48: 671–679.
195. Gow NAR, Brown AJP, Odds FC (2002, August 1). Fungal morphogenesis and host invasion. *Current Opinion in Microbiology* 5.
196. Sweeney M, Williams C, Kennedy C, Macpherson L, Turner S, Bagg J (2007). Oral health care and status of elderly care home residents in Glasgow. *undefined*.
197. Yoshinari M, Kato T, Matsuzaka K, Hayakawa T, Inoue T, Oda Y, Okuda K, Shimono M (2006). Adsorption behavior of antimicrobial peptide histatin 5 on PMMA. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 77B: 47–54.
198. Ae LK, Can G, Burak AE, Ae Y, Ayhan N, Olcay AE, Ae S, Levent H (n.d.). The adherence of *Candida albicans* to acrylic resin reinforced with different fibers. *Springer*.
199. He XY, Meurman JH, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake LP (2006). In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses* 49: 80–84.
200. Allison R, Dentistry WD-J of, 1973 undefined (n.d.). Micro-colonization of the denture-fitting surface by *Candida albicans*. *Elsevier*.
201. Gibbons RJ, Houte J V. (1975). Bacterial adherence in oral microbial ecology. *Annual review of microbiology* 29: 19–44.

202. Jendresen MD, Glantz PO (1981). Clinical adhesiveness of selected dental materials: An in-vivo study. *Acta Odontologica Scandinavica* 39: 39–45.
203. Samaranayake LP, MacFarlane TW (1982). The effect of dietary carbohydrates on the in-vitro adhesion of *Candida albicans* to epithelial cells. *Journal of Medical Microbiology* 15: 511–517.
204. Vasilas A, Molina L, Hoffman M, Biology CH-A of O, 1992 undefined (n.d.). The influence of morphological variation on *Candida albicans* adhesion to denture acrylic in vitro. *Elsevier*.
205. Samaranayake L, McCourtie J, Biology TM-A of O, 1980 undefined (n.d.). Factors affecting the in-vitro adherence of *Candida albicans* to acrylic surfaces. *Elsevier*.
206. Nikawa, Nishimura, Makihira, Hamada, Sadamori, Samaranayake (2000). Effect of serum concentration on *Candida* biofilm formation on acrylic surfaces. *Mycoses* 43: 139–143.
207. Backenstose W, Dentistry JW-J of P, 1977 undefined (n.d.). Side effects of immersion-type cleansers on the metal components of dentures. *thejpd.org*.
208. Martin B, Corlew M, Wood H, Olson D, Dysphagia LG-, 1994 undefined (n.d.). The association of swallowing dysfunction and aspiration pneumonia. *Springer*.
209. Moskona D, dentistry IK-C preventive, 1992 undefined (n.d.). Oral lesions in elderly denture wearers. *europemc.org*.
210. Haselden C, Hobkirk J, ... GP-J of oral, 1998 undefined (n.d.). A comparison between the wear resistance of three types of denture resin to three different dentifrices. *europemc.org*.
211. Bachmann SP, VandeWalle K, Ramage G, Patterson TF, Wickes BL, Graybill JR, López-Ribot JL (2002). In vitro activity of caspofungin against *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 3591–3596.
212. Gajwani-Jain S, Magdum D, Karagir A, Pharane P (2015). Denture Cleansers: A Review. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) e-ISSN 14*: 94–96.
213. Shay K (2000). Denture hygiene: A review and update. *Journal of Contemporary Dental Practice* 1.
214. Jagger D, journal AH-B dental, 1995 undefined (n.d.). Denture cleansing--the best approach. *nature.com*.

215. Glass RT, Conrad RS, Bullard JW, Goodson LB, Mehta N, Lech SJ, Loewy ZG (2011). Evaluation of cleansing methods for previously worn prostheses. *Compendium of continuing education in dentistry (Jamesburg, NJ : 1995)* 32: 68–73.
216. Paranhos H de FO, Peracini A, Pisani MX, Oliveira V de C, Souza RF de, Silva-Lovato CH (2013). Color stability, surface roughness and flexural strength of an acrylic resin submitted to simulated overnight immersion in denture cleansers. *Brazilian Dental Journal* 24: 152–156.
217. Tortora GJ (2007). *Microbiology: an introduction* Pearson.
218. WEISS RA, GOLDMAN MP (1998). Transillumination Mapping Prior To Ambulatory Phlebectomy. *Dermatologic Surgery* 24: 447–450.
219. Myers JA, Curtis BS, Curtis WR (2013). Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density. *BMC Biophysics* 6: 4.
220. Sutton S (2011). *Microbiology Topics. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. 46 JOURNAL OF VALIDATION TECHNOLOGY.*
221. Goldman E, Green L (2015). Practical handbook of microbiology.
222. Lalla R, ... LP-J of the C, 2013 undefined (n.d.). Oral candidiasis: pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and treatment strategies. *europemc.org*.
223. Ashman RB, Farah CS (2005). Oral Candidiasis: Clinical Manifestations and Cellular Adaptive Host Responses. *Fungal Immunology* Springer US, pp 59–83.
224. Farah CS, Lynch N, McCullough MJ (2010). Oral fungal infections: an update for the general practitioner. *Australian dental journal* 55 Suppl 1.
225. Dodd C, Greenspan D, Katz M, Aids JW-, 1991 undefined (n.d.). Oral candidiasis in HIV infection: pseudomembranous and erythematous candidiasis show similar rates of progression to AIDS. *journals.lww.com*.
226. Akpan A, Morgan R (2002, August 1). Oral candidiasis. *Postgraduate Medical Journal* 78.
227. Sanketh DS, Patil S, Rao RS (2016). Estimating the frequency of Candida in oral squamous cell carcinoma using Calcofluor White fluorescent stain. *Journal of investigative and clinical dentistry* 7: 304–307.
228. Williams D, Lewis M (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of Oral Microbiology* 3: 5771.

229. Silverman S, Luangjarmekorn L, Greenspan D (1984). Occurrence of oral *Candida* in irradiated head and neck cancer patients. *Journal of Oral Medicine* 39: 194–196.
230. Sharon V, Fazel N (2010). Oral candidiasis and angular cheilitis. *Dermatologic Therapy* 23.
231. Kanbe T, Li R-K, Wadsworth E, Calderone RA, Cutler' JE (1991). *Evidence for Expression of the C3d Receptor of Candida albicans In Vitro and In Vivo Obtained by Immunofluorescence and Immunoelectron Microscopy. INFECTION AND IMMUNITY* (Vol. 59).
232. MacFarlane T, TW M, SJ H (1976). The microbiology of angular cheilitis.
233. Shay K, Truhlar MR, Renner RP (1997). Oropharyngeal candidosis in the older patient. *Journal of the American Geriatrics Society* 45.
234. Ellepola ANB, Samaranayake LP (2000). Oral candidal infections and antimycotics. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 11.
235. Samaranayake L, reviews MF-A drug delivery, 1994 undefined (n.d.). Delivery of antifungal agents to the oral cavity. *Elsevier*.
236. Fotos P, clinics JL-D, 1996 undefined (n.d.). Clinical management of oral and perioral candidosis. *derm.theclinics.com*.
237. Association CA-TJ of the AD, 1992 undefined (n.d.). Diagnosing and managing oral candidiasis. *jada.ada.org*.
238. Bissell V, Felix D, surgery DW-O, medicine oral, pathology oral, 1993 undefined (n.d.). Comparative trial of fluconazole and amphotericin in the treatment of denture stomatitis. *Elsevier*.
239. Odds FC (2003). Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication. *Mycologist* 17.
240. Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL, López-Ribot JL (2001). Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45: 2475–2479.
241. Ghannoum MA, Rice LB (1999). *Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS* (Vol. 12).
242. Anil S, Ellepola ANB, Samaranayake LP (2002). The impact of polyene, azole, and

- DNA analogue antimycotics on the cell surface hydrophobicity of *Candida albicans* and *Candida tropicalis* in HIV infection. *Mycopathologia* 153: 179–185.
243. Kullberg BJ, Sobel JD, Ruhnke M, Pappas PG, Viscoli C, Rex JH, Cleary JD, Rubinstein E, Church LWP, Brown JM, *et al.* (2005). Voriconazole versus a regimen of amphotericin B followed by fluconazole for candidaemia in non-neutropenic patients: A randomised non-inferiority trial. *Lancet* 366: 1435–1442.
 244. Vanden Bossche H, Marichal P, Odds FC (1994). Molecular mechanisms of drug resistance in fungi. *Trends in Microbiology* 2: 393–400.
 245. Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL, Perfect JR, Horwith G, Lee L, Silber JL, DiNubile MJ, Reboli A, Bow E, *et al.* (1998). Amphotericin B Lipid Complex for Invasive Fungal Infections: Analysis of Safety and Efficacy in 556 Cases. *Clinical Infectious Diseases* 26: 1383–1396.
 246. Vermes A, ... HG-J of A, 2000 undefined (2000). *Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions*. *academic.oup.com*.
 247. Bellmann R (2007). Clinical Pharmacokinetics of Systemically Administered Antimycotics. *Current Clinical Pharmacology* 2: 37–58.
 248. Karlowsky JA, Hoban DJ, Zhanel GG, Goldstein BP (2006). In vitro interactions of anidulafungin with azole antifungals, amphotericin B and 5-fluorocytosine against *Candida* species. *International Journal of Antimicrobial Agents* 27: 174–177.
 249. Denning DW (2003, October 4). Echinocandin antifungal drugs. *Lancet* 362.
 250. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines* 3: 25.
 251. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals* 6: 1451–1474.
 252. Bakkali F, Averbeck S, ... DA-F and chemical, 2008 undefined (n.d.). Biological effects of essential oils—a review. *Elsevier*.
 253. Dagli N, Dagli R, Mahmoud R, Baroudi K (2015). Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry* 5: 335.

254. Leach DN, Wyllie SG, Hall JG, Kyratzis I (1993). Enantiomeric Composition of the Principal Components of the Oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 1627–1632.
255. Johns MR, Johns JE, Rudolph V (1992). Steam distillation of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58: 49–53.
256. Brophy JJ, Davies NW, Southwell IA, Stiff IA, Williams LR (1989). Gas Chromatographic Quality Control for Oil of *Melaleuca* Terpinen-4-ol Type (Australian Tea Tree). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37: 1330–1335.
257. ISO - ISO 4730:2017 - Essential oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil) (n.d.). . Available at: <https://www.iso.org/standard/69082.html>. [Accessed: 13 March 2021].
258. Aburjai T, Natsheh FM (2003, November). Plants Used in Cosmetics. *Phytotherapy Research* 17.
259. Carson CF, Riley T V. (1994). The antimicrobial activity of tea tree oil [5]. *Medical Journal of Australia* 160.
260. Gustafson J, Mann J, Markham J, Cox S, Gustafson J, Mann C, Markham J, Liew Y, Hartland R, Bell H, *et al.* (1998). Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli* Impact of Smoking Bans on Environmental Tobacco Smoke Exposure View project Tea tree oil causes K + leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli* Concentrations of tea tree. *Article in Letters in Applied Microbiology* 26: 355–358.
261. Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: 170–175.
262. Hammer KA (2004). Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53: 1081–1085.
263. Riley C& (1995). Tea tree oil as an alternative topical decolonization agent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Elsevier*.
264. Gustafson JE, Cox SD, Liew YC, Wyllie SG, Warmington JR (2001). The bacterial multiple antibiotic resistant (MAR) phenotype leads to increased tolerance to tea

- tree oil. *Pathology* 33: 211–215.
265. Syed TA, Qureshi ZA, Ali SM, Ahmad S, Ahmad SA (1999). Treatment of toenail onychomycosis with 2% butenafine and 5% Melaleuca alternifolia (tea tree) oil in cream. *Tropical Medicine and International Health* 4: 284–287.
 266. Tong MM, Altman PM, Barnetson RSC (1992). TEA TREE OIL IN THE TREATMENT OF TINEA PEDIS. *Australasian Journal of Dermatology* 33: 145–149.
 267. Jandourek A, Vaishampayan J, Aids JV-, 1998 undefined (n.d.). Efficacy of melaleuca oral solution for the treatment of fluconazole refractory oral candidiasis in AIDS patients. *journals.lww.com*.
 268. Hammer KA, Carson CF, Riley T V. (1999). Influence of organic matter, cations and surfactants on the antimicrobial activity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil in vitro. *Journal of Applied Microbiology* 86: 446–452.
 269. de Campos Rasteiro MM, da Costa PCBP, Araújo FF, de Barros PP, Rossoni DD, Anbinder LL, Jorge COC, Junqueira CC (2014). Essential oil of Melaleuca alternifolia for the treatment of oral candidiasis induced in an immunosuppressed mouse model. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14.
 270. Bagg J, Jackson MS, Petrina Sweeney M, Ramage G, Davies AN (2006). Susceptibility to Melaleuca alternifolia (tea tree) oil of yeasts isolated from the mouths of patients with advanced cancer. *Oral Oncology* 42: 487–492.
 271. D'Auria FD, Laino L, Strippoli V, Tecca M, Salvatore G, Battinelli L, Mazzanti G (2001). In vitro activity of tea tree oil against Candida albicans mycelial conversion and other pathogenic fungi. *Journal of Chemotherapy* 13: 377–383.
 272. Kim D-J, Chung S-G, Lee S-H, Choi J-W (2012). Relation of microbial biomass to counting units for Pseudomonas aeruginosa. *African Journal of Microbiology Research* 6: 4620–4622.
 273. Jagger D, Harrison A, Vowles R, Jagger R (2008). The effect of the addition of surface treated chopped and continuous poly (methyl methacrylate) fibres on some properties of acrylic resin. *Journal of Oral Rehabilitation* 28: 865–872.
 274. Zissis A, Polyzois G, ... SY-IJ of, 2000 undefined (n.d.). *Roughness of Denture Materials Zissis et al Materials and Methods. quintpub.com*.
 275. Kuhar M, dentistry NF-TJ of prosthetic, 2005 undefined (n.d.). Effects of polishing

- techniques on the surface roughness of acrylic denture base resins. *Elsevier*.
276. Gladwin M, Bagby M (2009). [PDF] *Clinical Aspects Of Dental Materials: Theory, Practice, And Cases [With Access Code]-4th Edition CLICK HERE FOR DOWNLOAD*.
 277. Charman KM, Fernandez P, Loewy Z, Middleton AM (2009). Attachment of *Streptococcus oralis* on acrylic substrates of varying roughness. *Letters in Applied Microbiology* 48: 472–477.
 278. Berger JC, Driscoll CF, Romberg E, Luo Q, Thompson G (2006). Surface Roughness of Denture Base Acrylic Resins After Processing and After Polishing. *Journal of Prosthodontics* 15: 180–186.
 279. Doori D Al, Huggett R, Bates J, Materials SB-D, 1988 undefined (n.d.). A comparison of denture base acrylic resins polymerised by microwave irradiation and by conventional water bath curing systems. *Elsevier*.
 280. Zamperini CA, MacHado AL, Vergani CE, Pavarina AC, Giampaolo ET, Da Cruz NC (2010). Adherence in vitro of *Candida albicans* to plasma treated acrylic resin. Effect of plasma parameters, surface roughness and salivary pellicle. *Archives of Oral Biology* 55: 763–770.
 281. Jackson S, Coulthwaite L, Loewy Z, Scallan A, Verran J (2014). Biofilm development by blastospores and hyphae of *Candida albicans* on abraded denture acrylic resin surfaces. *Journal of Prosthetic Dentistry* 112: 988–993.
 282. Lazarin AA, MacHado AL, Zamperini CA, Wady AF, Spolidorio DMP, Vergani CE (2013). Effect of experimental photopolymerized coatings on the hydrophobicity of a denture base acrylic resin and on *Candida albicans* adhesion. *Archives of Oral Biology* 58: 1–9.
 283. Perezous L, Flaitz C, ... MG-TJ of prosthetic, 2005 undefined (n.d.). Colonization of *Candida* species in denture wearers with emphasis on HIV infection: a literature review. *Elsevier*.
 284. Arora P, Singh SP, Arora V (2015). Effect of alumina addition on properties of polymethylmethacrylate—a comprehensive review. *Int J Biotech Trends Technol* 9: 1–7.
 285. Schwindling FS, Rammelsberg P, Stober T (2014). Effect of chemical disinfection on the surface roughness of hard denture base materials: a systematic literature

- review. *International Journal of Prosthodontics* 27.
286. Gad MM, Al-Thobity AM, Fouda SM, Näpänkangas R, Raustia A (2020). Flexural and Surface Properties of PMMA Denture Base Material Modified with Thymoquinone as an Antifungal Agent. *Journal of Prosthodontics* 29: 243–250.
 287. Regis RR, Zanini AP, Della Vecchia MP, Silva-Lovato CH, Oliveira Paranhos HF, de Souza RF (2011). Physical Properties of an Acrylic Resin after Incorporation of an Antimicrobial Monomer. *Journal of Prosthodontics* 20: 372–379.
 288. Soysa NS, Samaranayake LP, Ellepola ANB (2006, May). Diabetes mellitus as a contributory factor in oral candidosis. *Diabetic Medicine* 23.
 289. Nishimaki F, Yamada S ichi, Kawamoto M, Sakurai A, Hayashi K, Kurita H (2019). Relationship Between the Quantity of Oral Candida and Systemic Condition/Diseases of the Host: Oral Candida Increases with Advancing Age and Anemia. *Mycopathologia* 184: 251–260.
 290. Millsop JW, Fazel N (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology* 34: 487–494.
 291. Garcia-Cuesta C, Sarrion-Pérez MG, Bagán J V. (2014). Current treatment of oral candidiasis: A literature review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 6: e576–e582.
 292. Niimi M, Firth NA, Cannon RD (2010, February 16). Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology* 98.
 293. VEDIYAPPAN G, ROSSIGNOL T, D'ENFERT C (2010). Interaction of Candida albicans Biofilms with Antifungals: Transcriptional Response and Binding of Antifungals to Beta-Glucans †. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* 54: 2096–2111.
 294. Acosta-Torres L, ... IM-I journal, 2012 undefined (n.d.). Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *ncbi.nlm.nih.gov*.
 295. Vukosavljevic D, Custodio W, Del Bel Cury AA, Siqueira WL (2012). The effect of histatin 5, adsorbed on PMMA and hydroxyapatite, on Candida albicans colonization. *Yeast* 29: 459–466.
 296. Mertas A, Garbusińska A, ... ES-B research, 2015 undefined (n.d.). The influence of tea tree oil (Melaleuca alternifolia) on fluconazole activity against fluconazole-resistant Candida albicans strains. *hindawi.com*.
 297. Wen J, Yeh CK, Sun Y (2016). Functionalized Denture Resins as Drug Delivery

- Biomaterials to Control Fungal Biofilms. *ACS Biomaterials Science and Engineering* 2: 224–230.
298. Emira N, Mejdi S, Aouni M (2013). In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils on oral *Candida* biofilm formation on polymethylmethacrylate. *Journal of Medicinal Plants Research* 7: 1461–1466.
 299. Nam K-Y, Lee C-H, Lee C-J (2012). Antifungal and physical characteristics of modified denture base acrylic incorporated with silver nanoparticles. *Wiley Online Library* 29.
 300. Ebrahimi Saravi M, Vojdani M, Bahrani F (2012). Evaluation of cellular toxicity of three denture base acrylic resins. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)* 9: 180–8.
 301. Huang F, Tai K, Hu C, Of YC-I journal, 2001 U (2001). *Huang et al Cytotoxic Effects of Denture Base Materials. quintpub.com.*
 302. Scott RPW (2005). Essential oils, Encyclopedia of analytical science.
 303. Jimenez L, Ignar R, Smalls S, Grech P, Hamilton J, Bosko Y, English D (1999). *Molecular detection of bacterial indicators in cosmetic/ pharmaceuticals and raw materials. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* (Vol. 22).
 304. Huang J, Hitchins A, Tran T, Spring JM-: S, MD undefined, USA undefined, 2017 undefined (n.d.). Bam Chapter 23: Methods for Cosmetics. *fda.gov*.
 305. Dalwai S, Rodrigues S, Baliga S, ... VS-, 2016 U (2014). Comparative evaluation of antifungal action of tea tree oil, chlorhexidine gluconate and fluconazole on heat polymerized acrylic denture base resin-an in vitro study. *Wiley Online Library* 33: 402–409.
 306. Rasheed S, Ahmed SM (2019). *evaluation-of-anti-candida-effect-of-melaleuca-alternifolia-on-heat-cured-acrylic-resin. Article in International Journal of Medical Research & Health Sciences.*
 307. Pusateri C, Monaco E, biology ME-A of oral, 2009 undefined (n.d.). Sensitivity of *Candida albicans* biofilm cells grown on denture acrylic to antifungal proteins and chlorhexidine. *Elsevier*.
 308. Da Silva WJ, Gonçalves LMH, Viu FC, Leal CMB, Barbosa CMR, Del Bel Cury AA (2016). Surface roughness influences *Candida albicans* biofilm formation on denture materials. *Revista Odonto Ciencia* 31: 54–58.

