



**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ**  
**DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PROTEZ KAİDE MATERYALİ DEZENFEKSİYONUNDA FOTODİNAMİK**  
**TERAPİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**ASLI SINCI**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Işıl TURP**

**MAYIS-2022**



**BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ**  
**DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ**

**PROTEZ KAİDE MATERYALİ DEZENFEKSİYONUNDA FOTODİNAMİK**  
**TERAPİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**  
**ASLI SINCI**

**Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Işıl TURP**

**MAYIS-2022**

## Tez Onay Formu



## **İTHAF**

Tezimi bugünlere gelmemde, büyük emeği olan değerli aileme ithaf ediyorum.



## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma 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.

Aslı SINCI

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren pozitif enerjisi, güler yüzü ve cana yakınlığıyla her zaman yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini büyük bir keyif ve sonsuz bir sabırla paylaşmaktan çekinmeyen, tezimin her aşamasında büyük katkısı ve emeği olan, mesleki, akademik ve sosyal anlamda desteğini her zaman arkamda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğretim Üyesi Işıl TURP'a,

Mesleki eğitimimde kıymetli fikirlerini, akademik bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen ve içtenlikle paylaşan, değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Özgün Yusuf ÖZYILMAZ, Doç. Dr. Özlem KARA, Uzm. Dr. Abdurrahman ŞAHİNBAŞ, Dr. Öğretim Üyesi Şule Tuğba DENİZ, Uzm. Dr. Defne BURDUROĞLU ve Uzm. Dr. Burcu DİKER'e,

Tezimin mikrobiyolojik deneylerinin yürütülmesine büyük bir özveri ile katkı sağlayan, değerli tecrübelerini, bilgilerini ve zamanını benimle paylaşan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Özcan ERDOĞAN'a,

Uzmanlık eğitimi sürem boyunca beraber zaman geçirme fırsatı bulduğum, birbirinden güzel ve değerli anılar biriktirdiğim, mutluluğu, zorluğu, başarı ve başarısızlığı paylaştığım sevgili asistan arkadaşlarıma,

Hayatımı değerli ve anlamlı kılan, sevgilerini, desteklerini ve olanaklarını hiçbir zaman esirgemeyen, en önce iyi bir insan olmanın gerekliliğini öğütleyen, yaşamımın her anında büyük bir sevgi, saygı ve gururla isimlerini dile getirdiğim, annem Asalet SINCI'ya, babam Aziz SINCI'ya, kardeşim Umut SINCI'ya,

En içten teşekkürlerimi sunarım...

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 20210608 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iv
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLO LİSTESİ .....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiv
SUMMARY .....	xv
1. GİRİŞ... ..	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Polimetil Metakrilat Akrilik Reçine .....	4
2.1.1. PMMA Tozu .....	5
2.1.2. PMMA Likiti.....	5
2.1.3. Protez kaide akriliklerinin sınıflandırılması .....	6
2.1.4. Polimerizasyon reaksiyonu .....	7
2.1.5. Isı ile polimerizasyon yöntemi .....	7
2.2. Ağız Mikrobiyolojisi .....	8
2.2.1. Biyofilm ve biyofilm oluşumunun klinik önemi.....	8
2.2.2. <i>C. albicans</i> .....	10
2.2.3. <i>C. albicans</i> 'ın virülans faktörleri .....	11
2.2.3.1. Morfolojik geçişler .....	11
2.2.3.2. Adezyon .....	12
2.2.3.3. <i>C. albicans</i> enzimleri.....	13
2.2.4. Protez biyofilminde <i>C. albicans</i> kolonilerinin oluşumu .....	14
2.2.5. <i>C. albicans</i> 'ın akriliğe tutunmasını etkileyen faktörler .....	15
2.2.5.1. Protez yüzeyinin etkisi .....	15
2.2.5.2. Tükürüğün etkisi .....	16
2.3. Protez Stomatiti .....	17
2.3.1. Protez stomatiti sınıflaması.....	18
2.3.2. Protez stomatiti etiyolojisi.....	19

2.3.2.1. Mukoza travması.....	20
2.3.2.2. Oral hijyen eksikliği.....	20
2.3.2.3. İlaç kullanımı ve diyet.....	21
2.3.3. Protez stomatitinde tedavi protokolleri .....	21
2.3.3.1. Antifungal ilaç tedavileri.....	22
2.3.3.2. Protez hijyeni .....	23
2.4. Fotodinamik Terapi (PDT) .....	27
2.4.1. Fotodinamik terapinin etki mekanizması .....	27
2.4.2. Fotosensitizörler .....	30
2.4.2.1. Indosiyanin yeşili (ICG).....	33
2.4.3. Fotodinamik terapide ışık kaynakları .....	35
2.4.4. Diş hekimliğinde Fotodinamik terapi uygulamaları .....	35
2.4.4.1. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisinde Fotodinamik terapi.....	35
2.4.4.2. Endodontide Fotodinamik terapi .....	37
2.4.4.3. Periodontolojide Fotodinamik terapi.....	37
2.4.4.4. Restoratif Tedavide Fotodinamik terapi.....	38
2.4.5. Fotodinamik terapinin avantajları .....	38
2.4.6. Fotodinamik terapinin limitasyonları .....	39
2.4.7. Fotodinamik terapinin yan etkileri .....	39
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>40</b>
3.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi.....	40
3.2. Deney Örneklerinin Hazırlanması .....	41
3.3. <i>C. albicans</i> Kültürü.....	48
3.4. Biyofilm formasyonu.....	49
3.5. Biyofilmlerin Tedavisi.....	50
3.5.1. Kontrol grubu (K) .....	50
3.5.2. Nistatin grubu (N) .....	52
3.5.3. Mikrodalga dezenfeksiyonu grubu (M) .....	53
3.5.4. Sadece lazer uygulanan grup (L).....	54
3.5.5. Sadece ICG uygulanan grup (ICG10).....	55
3.5.6. 10, 5, 2 ve 1 mg/ml ICG'nin lazer ile birlikte uygulandığı gruplar (L-ICG10, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1).....	57
3.6. Koloni Sayımı.....	59
3.7. SEM Analizleri .....	61
3.8. İstatistiksel Değerlendirme .....	63
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>64</b>
4.1. Koloni Sayısı Bulguları .....	64

4.2. Ortalama Koloni Sayılarının Birbirleriyle Karşılaştırılması .....	66
4.3. SEM Analiz Bulguları .....	67
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>75</b>
5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması.....	75
5.2. Bulguların Tartışılması .....	78
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>87</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>88</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>



## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

AIDS	: Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
ALS	: Aglütinin benzeri sekans
aPDT	: Antimikrobiyal fotodinamik terapi
ATCC	: American Type Culture Collection
CFU	: Koloni oluşturan birim
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EGDMA	: Etilenglikoldimetakrilat
EPS	: Ekstrasellüler polisakkarit
Er: YAG	: Erbium Yttrium-Aluminium-Garnet
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
IADS	: Uluslararası Amerikan Diş Hekimleri Birliği
ICG	: İndosiyanın yeşili
IgA	: İmmunglobulin A
IL	: İnterlökin
ISO	: International Standards Organization
IU	: International unit
LASER	: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LED	: Light Emitting Diode
Mg	: Miligram
MMA	: Metilmetakrilat
mW	: Miliwatt
NAC	: Non- <i>C. albicans</i>
Nd: YAG	: Neodymium Yttrium-Aluminium - Garnet
Nm	: Nanometre
PDT	: Fotodinamik terapi
pH	: Potansiyel hidrojen
PMMA	: Polimetilmetakrilat
PS	: Fotosensitizörler
Ra	: Yüzey Pürüzlülüğü
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
SAP	: Aspartil proteazlar
SDA	: Saboroud dextrose agar
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	: Ultraviyole
$\mu$ L	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
$\mu$ s	: Mikrosaniye

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 2. 1:</b> PMMA toz ve likitinin içindekiler [24]. .....	4
<b>Tablo 3.1:</b> Çalışmamız için oluşturulan deney grupları .....	41
<b>Tablo 4.1:</b> <i>C. albicans</i> koloni sayıları .....	64
<b>Tablo 4.2:</b> Ortalama koloni sayıları ve standart sapmaları.....	65
<b>Tablo 4.3:</b> Gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri .....	66

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Metil Metakrilat Monomer Molekülü [22].....	6
Şekil 2.2: <i>C. albicans</i> 'ın fenotipik formları [53]. .....	11
Şekil 2.3: Akrilik yüzeyde <i>C. albicans</i> biyofilminin SEM görüntüleri [74]. .....	15
Şekil 2.4: <i>C. albicans</i> biyofilmi SEM görüntüleri [70]. .....	15
Şekil 2.5: Protez stomatitli hastaların protezlerinin SEM görselleri [95].....	18
Şekil 2.6: Protez Stomatiti Tipleri. ....	19
Şekil 2.7: PDT'nin seçicilik faktörleri [136]. .....	28
Şekil 2.8: PDT'nin fotokimyasal mekanizması [146]. .....	29
Şekil 2.9: PDT'de Tip I ve Tip II reaksiyonlar [150]. .....	30
Şekil 2.10: ICG'nin kimyasal formülü [166].....	33
Şekil 2.11: ICG'nin absorpsiyon spektrumu[167].....	34
Şekil 2.12: Lingual <i>Candida</i> lezyonuna PDT uygulaması [144].....	36
Şekil 2.13: Endodontik tedavide PDT örneği [144]. .....	37
Şekil 2.14: Periimplantitis tedavisinde PDT örneği [144].....	38
Şekil 3.1: Hassas kesme cihazı .....	41
Şekil 3.2: Teflon silindirden hazırlanan kalıp diskler.....	42
Şekil 3.3: Çalışmamızda kullanılan sert alçı .....	43
Şekil 3.4: İzolasyon için kullanılan lak.....	43
Şekil 3.5: Alçı içine gömülmüş teflon ana modeller .....	43
Şekil 3.6: Muflalarda akrilik diskler için oluşturulmuş boşluklar .....	44
Şekil 3.7: PMMA toz ve likidi.....	44
Şekil 3.8: Preste bekletilen mufla .....	45
Şekil 3.9: Yaylı brit ile muflaların sıkıştırılması .....	45
Şekil 3.10: Kullanılan kaynatma cihazı .....	46
Şekil 3.11: Akrilik disklerin zımparalanması .....	47
Şekil 3.12: Akrilik disklerin boyutlarının elektronik kumpasla ölçülmesi.....	47
Şekil 3.13: Akrilik Disk Örneklerin Hazırlanması .....	48

Şekil 3.14: Akrilik örneklerin son hali .....	48
Şekil 3.15: Sabouroud Dekstroz Broth besiyeri .....	49
Şekil 3.16: Deney düzeneği şeması .....	49
Şekil 3.17: İçinde dokuz adet akrilik disk bulunan falkon tüpler .....	50
Şekil 3.18: Akriklik disklerin kurutulması.....	50
Şekil 3.19: Vorteks cihazı ile karıştırma işlemi.....	51
Şekil 3.20: Çalışmadaki seri dilüsyon şeması.....	52
Şekil 3.21: Nistatin preparatı ve 1 ml miktarının ayarlanması .....	53
Şekil 3.22: Mikrodalga fırın.....	54
Şekil 3.23: Lazer cihazı ve uygulanan lazer parametreleri.....	55
Şekil 3.24: Çalışmamızda kullanılan ICG preparatı .....	56
Şekil 3.25: ICG solüsyonlarının 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanması.....	56
Şekil 3.26: 20 µl olarak ayarlanmış mikropipet tabancası.....	56
Şekil 3.27: Akriklik diske 20 µl ICG uygulaması .....	57
Şekil 3.28: 10 mg/ml ICG uygulanmış akrilik diskler .....	58
Şekil 3.29: 2 mg/ml ICG uygulanmış akrilik diskler.....	58
Şekil 3.30: ICG ile kaplanmış akrilik diske lazer ışını uygulanması.....	59
Şekil 3.31: Kullanılan etüv cihazı.....	60
Şekil 3.32: Koloni sayma cihazı .....	60
Şekil 3.33: Petri kaplarında <i>C. albicans</i> kolonileri.....	61
Şekil 3.34: Taramalı elektron mikroskobu.....	61
Şekil 3.35: Altın kaplama cihazı.....	62
Şekil 3.36: Örneklerin altın kaplama cihazına yerleştirilmesi.....	62
Şekil 3.37: Altın kaplanmış örnekler .....	63
Şekil 4.1:Ortalama koloni sayıları .....	65
Şekil 4.2: Gruplar arası karşılaştırma .....	66
Şekil 4.3: Kontrol grubunun SEM görüntüsü .....	67
Şekil 4.4: Kontrol grubunun SEM görüntüsü .....	68
Şekil 4.5: Kontrol grubunun SEM görüntüsü .....	68
Şekil 4.6: Nistatin grubunun SEM görüntüsü.....	69
Şekil 4.7 :Mikrodalga grubunun SEM görüntüsü.....	69
Şekil 4.8: Lazer grubunun SEM görüntüsü .....	70
Şekil 4.9: ICG10 grubunun SEM görüntüsü .....	70

<b>Şekil 4.10:</b> L-ICG10 grubunun SEM görüntüsü.....	71
<b>Şekil 4.11:</b> L-ICG10 grubunun SEM görüntüsü.....	71
<b>Şekil 4.12:</b> L-ICG5 grubunun SEM görüntüsü.....	72
<b>Şekil 4.13:</b> L-ICG2 grubunun SEM görüntüsü.....	72
<b>Şekil 4.14:</b> L-ICG2 grubunun SEM görüntüsü.....	73
<b>Şekil 4.15:</b> L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü.....	73
<b>Şekil 4.16:</b> L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü.....	74
<b>Şekil 4.17:</b> L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü.....	74



## PROTEZ KAİDE MATERYALİ DEZENFEKSİYONUNDA FOTODİNAMİK TERAPİNİN ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, protez kaide materyali üzerinde çoğalabilen *C. albicans*'a karşı, indosiyanin yeşili (ICG) aracılı fotodinamik terapinin (PDT) etkinliğinin değerlendirilmesidir.

Protez kaide materyalini taklit etmesi için 2 mm kalınlığında, 10 mm çapında polimetilmetakrilat (PMMA) yapısında 108 adet disk üretilmiştir. Örnekler, *C. albicans* ile kontamine edilmiş ve yüzeylerinde çoğalması sağlanmıştır. Yüzeylerinde *C. albicans* çoğaltılmış akrilik disklere uygulanacak işlemlere göre 9 örneklem grubu (n=11) oluşturulmuştur. Gruplar; kontrol grubu (K), nistatin (1 ml, 100.000 IU/ml) uygulanan grup (N), mikrodalga dezenfeksiyonu (650W, 3dk) uygulanan grup (M), sadece lazer (810 nm, diod laser, devamlı mod 30 sn, 24 J/ cm<sup>2</sup>, 300mW) uygulanan grup (L), sadece 10 mg/ml konsantrasyonda ICG uygulanan grup (ICG10) ve farklı konsantrasyonlarda (10, 5, 2 ve 1 mg/ml) ICG aracılı PDT uygulanan gruplar (L-ICG10, L-ICG5, L-ICG2 ve L-ICG1) olarak belirlenmiştir. İşlemler sonrasında akrilik örneklerdeki *C. albicans* biyofilmlerinin koloni sayımı yapılmıştır ve her grup için 1 adet fazla hazırlanan örneğin SEM görüntüsü alınmıştır.

L-ICG10, L-ICG5 ve ICG10 grupları protez kaide plağındaki *C. albicans* koloni sayısını azaltmada etkili bulunmuştur. SEM görüntülerinde L-ICG10 grubunun kesitinde *C. albicans* tespit edilmemiştir. K, N, M, ICG10, L, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1 gruplarının kesitlerinde ise maya ve hif formlarında *C. albicans*'lar tespit edilmiştir.

Protez stomatiti tedavisinde ICG aracılı PDT ile dezenfeksiyon uygulaması umut verici sonuçlar ortaya koymuştur ancak bu yöntemi klinikte uygulamak ve güvenli protokolleri belirlemek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *C. albicans*, akrilik reçine, protez stomatiti, fotodinamik terapi (PDT), fotosensitizör (PS), indosiyanin yeşili (ICG).

## EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF PHOTODYNAMIC THERAPY IN DISINFECTION OF DENTURE BASE MATERIAL

### SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the efficacy of indocyanine green (ICG) mediated photodynamic therapy (PDT) against *C. albicans* that can grow on denture base material.

In order to imitate the denture base material, 108 polymethylmethacrylate (PMMA) discs of 2 mm thickness and 10 mm diameter were produced. The samples were contaminated with *C. albicans* and allowed to grow on surfaces of samples. Nine groups (n=11) were formed according to the procedures to be applied to acrylic discs with *C. albicans* reproduced on their surfaces. Groups; control group (K), nystatin (1 ml, 100,000 IU) applied group (N), microwave disinfection (650W, 3min) group (M), laser-only (810 nm, diode laser, continuous mode 30 sec, 24 J/ cm<sup>2</sup>, 300mW) group (L), group treated with ICG only at 10 mg/ml concentration (ICG10), and groups treated with ICG-mediated PDT at different concentrations (10, 5, 2 and 1 mg/ml) (L-ICG10, L -ICG5, L-ICG2 and L-ICG1). After the procedures, colony counts of *C. albicans* biofilms on acrylic samples were made and SEM images of 1 more sample were taken for each group.

L-ICG10, L-ICG5 and ICG10 groups were found to be effective in reducing the number of *C. albicans* colonies on the denture base. *C. albicans* was not detected in the cross-section of the L-ICG10 group in SEM images. In the cross-sections of K, N, M, ICG10, L, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1 groups, *C. albicans* were detected in yeast and hyphae forms.

The application of disinfection with ICG-mediated PDT in the treatment of denture stomatitis has shown promising results, but further studies are needed to apply this method in the clinic and to determine safe protocols.

Keywords: *C. albicans*, acrylic resin, denture stomatitis, photodynamic therapy (PDT), photosensitizer (PS), indocyanine green (ICG).

## 1. GİRİŞ

Parsiyel ve tam dişsiz hastaların oral rehabilitasyonunda hareketli protezler sıklıkla kullanılmaktadır. Akrilik reçine olarak bilinen polimetil metakrilat (PMMA) materyali, pek çok olumlu özelliği nedeni ile hareketli protezlerin üretiminde geleneksel olarak kullanılan kaide materyalidir. Ancak PMMA protez kaidesinde bakteri ve mantarlar kolonize olarak oral mukozada inflamasyona neden olabilmektedir. Bu durum genellikle zayıf ağız hijyeni ve uyumu kötü protezleri olan hastalarda görülmektedir [1]. Oral kandidiazisin, oral mukozayı etkileyen fırsatçı enfeksiyonlardan en sık görüleni olduğu bildirilmiştir [2]. Oral kandidiazisin protez stomatiti formu ise protez kullanan hastalarda en sık görülen mantar enfeksiyonudur [3]. Protez stomatitinde en dominant şekilde tespit edilen ve en etkin olduğu bildirilen mikroorganizma *Candida albicans* (*C.albicans*)'tır [2, 3]. *C. albicans* ağız boşluğunda sert ve yumuşak dokularda biofilm oluşturabilmektedir [4]. Ayrıca *C. albicans*'ın akrilik yüzeylere ve içerisine penetre olabildiği de yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [4, 5].

Protez stomatiti tedavisinde gece protezlerin çıkarılması, protezlerin iç yüzeyinin düzenlenerek uyumunun artırılması ve hatta protezlerin yenilenmesi önerilerinde bulunulmuştur [3]. Bunun yanı sıra enfeksiyonun medikal tedavisinde topikal ve sistemik antifungaller kullanılmaktadır [6]. Tedavide topikal antifungal ilaçlar kullanıldığında tükürüğün yıkayıcı etkisi nedeniyle konsantrasyonları; dolayısıyla etkileri azalmaktadır. Sistemik antifungaller ise doğrudan protez yüzeylerine etki edememektedir. Bu nedenlerden dolayı tedaviler uzamaktadır ve nüks oranları yüksektir [3]. Ayrıca *Candida* suşlarının özellikle invaziv formlarının, bazı sistemik antifungal ilaçlara, özellikle uzun süreli ve tekrarlayan kullanımlarda direnç geliştirebildiği bildirilmiştir [3, 6]. Tüm bu durumlar protez stomatiti tedavisinde yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekliliğini doğurmuştur.

Fotodinamik terapi (PDT), toksik olmayan bir fotosensitizör (PS) ile düşük enerjili ışık kaynağının etkileşimine dayanan yeni bir yaklaşımdır [7, 8]. PDT;

malign ve malign olmayan çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [9]. PDT, ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel, antifungal, antiviral etkili alternatif bir tedavidir [7, 8]. Oksijen varlığında PS madde ve ışık arasındaki etkileşim; singlet oksijen ve serbest radikaller gibi reaktif ürünler üretir ve bu da mikroorganizmada hücre hasarına ve ölümüne neden olur [3]. Diş hekimliğinde PDT'nin, periimplant ve periodontal hastalıklarda geleneksel tedavilere ek olarak dental implantların ve diş yüzeylerinin dezenfeksiyonunda kullanıldığı ve inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir [1]. PDT'nin restorasyon öncesinde dişte kavite dezenfeksiyonunda kullanımı da son yıllarda araştırılmaktadır ve *S. mutans* biofilmleri üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir [10, 11]. PDT'nin avantajları; tedavi sonunda mikrobiyal direnç gelişmemesi, hızlı mikrobiyal eliminasyon sağlaması, işlemin sitotoksik olmaması ve kullanım kolaylığı olarak sıralanmaktadır [12-15].

PDT'de; toluidin mavisi, metilen mavisi, indosiyanin yeşili (ICG) gibi çeşitli fotosensitizör (PS) maddeler, farklı dalga boylarında ışık kaynakları ile kullanılmaktadır. PS olarak ICG'nin diğer PS'lerden farklı olarak dokularda daha derine etki edebildiği bildirilmiştir [16]. Ayrıca toksik olmadığı için oftalmolojide diagnostik amaçlarla PS olarak kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır [9, 16]. İyi güvenlik profili sayesinde, ICG oftalmik anjiyografi, kardiyak çıktı ölçümü, kapiller mikroskopi ve karaciğer fonksiyon testleri dahil olmak üzere çeşitli tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır [10].

Çok sayıda avantajı ve farklı kullanım alanları olan PDT yönteminin akrilik yüzeylerin dezenfeksiyonunda etkinliğini araştıran çalışmalarda çeşitli PS maddeler, çeşitli ışık kaynakları ve ışınlama parametreleri farklı mikroorganizmalara karşı değerlendirilmiştir [1]. Akriliğin dezenfeksiyonunda *C. albicans*' a karşı daha önce metilen mavisi, toluidin mavisi, porfirin türevleri gibi PS'ler araştırılmıştır ancak bu çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır [7, 17-19]. ICG aracılı PDT'nin, *C. albicans*' a karşı etkili olduğu bazı in vitro çalışmalarda gösterilmiştir [2, 6, 20, 21] ancak akriliğin dezenfeksiyonunda ICG aracılı PDT'nin etkinliği daha önce değerlendirilmemiştir. Literatürde protez stomatiti tedavisinde mukozada ve protez yüzeylerinde ICG aracılı PDT'nin etkinliğinin araştırıldığı bir klinik çalışma bulunmaktadır [16].

Bu çalışmanın amacı, protez stomatitinde akrilik reçine içine yerleşen *C. albicans*'a karşı, alternatif bir tedavi olan PDT'nin ICG'nin farklı konsantrasyonları ile etkinliğini değerlendirmek, konvansiyonel medikal tedavi ve mikrodalga enerjisi ile dezenfeksiyon yöntemleri ile karşılaştırmaktır. Sıfır hipotezi; ICG aracılı PDT'nin *C. albicans*'a etkisi yoktur şeklindedir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Polimetil Metakrilat Akrilik Reçine

Akrilik reçineler, akrilik asit ve türevlerinden edilen polimerlerdir. Ticari akrilik reçine polimerleri genellikle akrilik asit, metakrilik asit, akrilik asit esterleri, metakrilik asit esterleri, akrilonitril ve akrilamid monomerlerinin polimerizasyonu ile üretilmektedir [22]. Polimetil metakrilat (PMMA), 1937'de piyasaya girmesinden bu zamana kadar hareketli protezlerin üretiminde kullanılan en popüler materyal olmuştur [23, 24]. Sentetik olarak elde edilen ve metakrilik asidin esteri olan PMMA, akrilik reçineler içinde önemli bir yer tutmaktadır. PMMA oluşumu için; düşük moleküler ağırlıklı monomerler, yüksek molekül ağırlıklı polimerlere dönüştürülür [25].

PMMA, 18-20 arasında knoop sertlik değerine sahip bir reçinedir. Çekme kuvveti 59 MPa ve özgül ağırlığı  $1,19 \text{ g/cm}^3$  olarak bildirilmiştir. Saf PMMA şeffaf renktedir ve dokuya benzeyen renkleri oluşturmak amacıyla birçok pigmentle beraber kullanılabilir [22, 26].

Diş hekimliğinde PMMA çoğunlukla toz ve likit şeklinde kullanılmaktadır [22, 24, 27, 28] (Tablo 2.1).

**Tablo 2. 1:** PMMA toz ve likitinin içindekiler [24].

<b>Toz</b>	<b>Likit</b>
Akrilik polimer ya da kopolimer taneleri	Monomer
Başlatıcı	Hızlandırıcı
Pigmentler	Çapraz bağlantı ajanları
Opaklaştırıcı maddeler	Başlatıcı (kimyasal polimerize akrilikte)
Plastikleştirici maddeler	İnhibitör
İnorganik partiküller	Plastikleştirici maddeler
Organik fiber boyalar	

### 2.1.1.PMMA Tozu

PMMA tozunun içindekiler;

**Polimerler ve kopolimerler;** tozun en büyük kısmını oluşturur ve çapları 35-200 µm arası değişmektedir. PMMA berrak camsı bir polimerdir [22, 26].

**Reaksiyon başlatıcı madde** olarak %0,5 oranında benzol peroksit bulunur. Akrilik reçine esaslı protez kaide polimerlerinde polimerizasyon, benzol peroksitin parçalanması (dekompoze olması) ile başlamaktadır [22].

**Pigment ve boyalar** protezin ağız dokularına benzer bir görünüm elde etmesi için tozun içine konmaktadır. Bu maddeler; sülfid, kadmiyum selenid, ferrik oksit veya karbon siyahı gibi maddelerdir. Pigmentler, polimerizasyon sırasında veya polimerizasyon sonrasında mekanik yolla polimerlere katılırlar. Pigmentin protez içerisinde eşit olmayan dağılımı doğal bir görünüm oluşmasını sağlamaktadır. Akriliğin renklendirilmesinde boyalar da kullanılmaktadır ancak pigmentler kadar başarılı değildirler çünkü ağız sıvılarının etkisi ile ağız ortamına salınırlar ve protezin renginde bozulmalara neden olurlar [24, 26].

**Opaklaştırıcı maddeler,** çinko oksit ve titanyum oksit tozları kullanılır [22, 24, 26].

**Plastikleştirici maddeler,** genelde monomer içinde çok yavaş çözünen PMMA küreciklerinin çözünürlüğünü artırmak için kullanılır. Bu amaçla en sık kullanılan kimyasal madde dibütil ftalattır. [22, 24, 26].

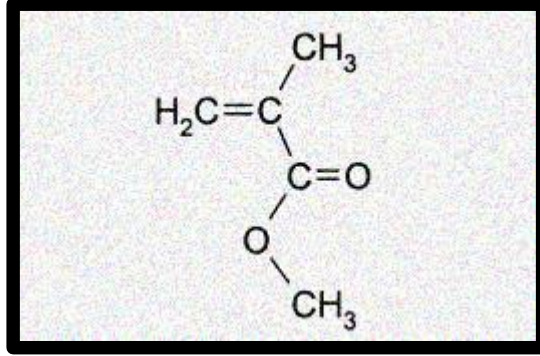
**Organik ve inorganik partiküller** reçinelerin ıslanabilirliğini ve sertliğini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Toz komponente cam fiberler veya zirkonyum silikat gibi inorganik partiküller ilave edilebilmektedir [22, 24, 26].

### 2.1.2.PMMA Likiti

PMMA likitinin içindekiler;

**Monomer** likidin en önemli parçasını oluşturan metilmetakrilat (MMA)' tır (Şekil 2.1). Berrak, renksiz ve düşük viskoziteli bir sıvıdır. Kaynama noktası 100,3°C' dir. Oda sıcaklığında uçucudur. Yoğunluğu 20°C' de 0,945 g/ml, polimerleşme ısısı 12,9 kcal/Mol' dür. Mükemmel bir çözücüdür. Saf metilmetakrilat

monomerinin polimerizasyonu esnasında % 21'lik bir hacimsel büzülme meydana gelir [22, 29].



Şekil 2.1: Metil Metakrilat Monomer Molekülü [22].

**İnhibitör maddeler** likidin raf ömrünü artırmak için eklenmiştir. İnhibitör olmadığı takdirde oda sıcaklığında veya daha soğuk ortamda bile polimerizasyon meydana gelebilir. İnhibitör olarak genellikle hidrokinon kullanılır, likit içerisinde olumu olan serbest radikallerle hızla reaksiyona girerek onları stabilize eder ve polimerizasyonun balamasını engeller [22, 24, 29].

**Çapraz bağlantı ajanları** PMMA' nın fiziksel özelliklerini geliştirmek için likitin içine konmaktadır. En çok kullanılan çapraz bağlantı ajanı glikol dimetilakrilattır. 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 [22]. Akriľiđin çatlamalara ve çizilmelere karşı dayanıklılığını artırır [22, 24, 26, 29-31].

### 2.1.3. Protez kaide akriliklerinin sınıflandırılması

Protez kaide akrilikleri genel hatlarıyla Şu Şekilde sınıflandırılır;

1. Isı ile polimerize olan akrilikler
2. Kimyasal olarak polimerize olan akrilikler
3. Işık ile polimerize olan akrilikler
4. Mikrodalga enerjisi ile polimerize olan akrilikler [24].

Protezlerin retiminde en fazla ısı ile polimerize olan PMMA kullanılır. Isıyla polimerize ve kimyasal olarak polimerize olan akrilik reçineler arasındaki temel fark,

monomerlerin polimerizasyonunu başlatan benzol peroksiti aktifleştirmek için kullanılan yöntemdir. Isıyla polimerize olan akrilik reçinelerde, ısı yoluyla serbest kökler açığa çıkar ve polimerizasyon reaksiyonu başlar. Kimyasal olarak polimerize olan akriliklerde, monomere genellikle dimetil-paratoluidine (kimyasal tersiyer amin hızlandırıcı) eklenir, böylece polimerizasyon oda ısısında gerçekleşir [24].

#### **2.1.4. Polimerizasyon reaksiyonu**

Polimerizasyon reaksiyonu, polimer oluşturmak için monomerlerin kimyasal olarak birbirine bağlanması olarak tanımlanır. PMMA polimerizasyonu, monomerlerdeki karbon-karbon çift bağları arasına serbest kökler eklenen ilave tipte polimerizasyon reaksiyonudur [22, 24, 26].

Polimerizasyon reaksiyonu için temel adımlar: başlama, çoğalma, zincir transferi ve sonlanmadır. Başlama aşamasında benzol peroksit gibi bir başlatıcı, serbest kökler açığa çıkarır ve zincir reaksiyonu başlatır. Çoğalma aşamasında, zincir reaksiyonu ile monomer zincirleri oluşur. Zincir reaksiyonu direkt çift bağlarla ya da büyümüş bir zincirden diğer bir zincire hidrojen atomunun geçmesiyle sona erer böylece yoğun bir makromolekül ağı oluşturulmuş olur [22, 24, 28, 31].

#### **2.1.5. Isı ile polimerizasyon yöntemi**

Protez kaide maddelerinin çoğu ısı ile polimerize edilmektedir [32]. Protez kaide maddeleri şu şekilde hazırlanır: Üretici firma tarafından belirlenen oranlarda PMMA toz ve likidi karıştırılarak akrilik reçine hamuru hazırlanır. Bu hamur, mufla içindeki kalıba basınç altında yerleştirilir. Basınç altında tutulan mufla bir su banyosunun içine yerleştirilir ve bu suya dışarıdan ısı vermek suretiyle polimerizasyon reaksiyonu gerçekleşir [22, 26]. Plastik kıvamdaki hamurun sıcaklığı 70 °C'ye ulaştığında reaksiyon başlatıcı olan benzol peroksit ayrılarak serbest kökler açığa çıkarır ve polimerizasyon reaksiyonunu başlatır [22].

Isı ile polimerize olan protez kaide maddelerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri polimerizasyon sıcaklığına ve süresine bağlı olarak değişir [22, 33]. Kontrol edilmeyen ısı artışı sonucunda porozite oluşumu gibi istenmeyen etkilerin önlenmesi amacıyla polimerizasyon işleminin kontrollü olarak gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Polimerize edilecek materyale uygulanan ısıtma işleminin koşulları

ve süresi polimerizasyon siklusu olarak tanımlanmaktadır. Polimerizasyon sikluslarının birçok varyasyonu bulunmaktadır [22, 24, 26, 32, 34];

**Hızlı polimerizasyon**, yönteminde akrilik reçinenin bulunduğu muflalar oda sıcaklığındaki suya koyulduktan sonra sıcaklık yarım saat içinde 100 °C' ye çıkartılır ve yarım saat kaynatılır [22, 24, 31, 32, 34, 35].

**Kısa süreli polimerizasyon**, muflaların 73 °C' de 90 dakika bekletildikten sonra 100 °C'de 30 dakika kaynatılması yöntemidir [24].

**Tersine polimerizasyon yönteminde**, muflalar önce kaynamakta olan suyun içine konur ve ısı kaynağı kapatıldıktan sonra 20 dakika kadar tutulur, sonra su tekrar ısıtılır ve muflalar suyun içinde 20 dakika daha kaynatılır [24, 35].

**Yavaş polimerizasyon yöntemi**, akrilik rezinin ısıtmalı bir su banyosu içinde 74°C de 8 saat süre ile polimerize edildiği ve kaynatma işleminin yapılmadığı bir süreci ifade eder [22, 24, 31, 32, 34, 35].

Akrilik kütlesi içerisinde daima reaksiyona girmemiş bir miktar artık monomer kalmaktadır. Polimerize olmuş akrilik reçine yapısı içerisinde kalan artık monomer akrilik reçinenin mekanik ve fiziksel özelliklerini değiştirir, dayanıklılığı düşürür ve alerjik reaksiyonlara neden olur. Akrilik reçine su banyosunda 1 saatten az kaynatılırsa artık monomer miktarı belirgin derecede fazla (%1-3) olur. Bunun için alternatif polimerizasyon siklusları önerilmiştir. 70 °C'de 7 saat ve takiben 100 °C'de 3 saat süre ile veya 70 °C'de 7 saat ve takiben 100 °C'de 1 saat süre ile yapılan polimerizasyon yöntemlerinde artık monomer minimuma (% 0,4) iner. Bu yöntemler ile polimerizasyonun en iyi özellikte akrilik kaide materyali sağladığı bildirilmiştir [24, 34]. Muflanın 70 °C'de 7 saat tutulmasıyla monomerlerin büyük çoğunluğu polimere dönüşür, bunu takiben suyun 100 °C'de belli bir süre tutulmasıyla da protezin ince kısımlarında polimerizasyon tamamlanır [24, 35].

## **2.2. Ağız Mikrobiyolojisi**

### **2.2.1. Biyofilm ve biyofilm oluşumunun klinik önemi**

Sahip olduğumuz oral florayı, mukoza ve diş yüzeylerinde biyofilm adı verilen ekstraselüler polisakkarit matrisine gömülü kendi içinde organize, interaktif ve çok çeşitli mikroorganizma toplulukları oluşturur [36].

Ağız florasında sıklıkla bulunan başlıca mikroorganizmalar şu şekildedir:

1. *Streptokoklar*
2. Diğer anaeroplara
3. *Actinobacillus*
4. *Stafilokoklar*
5. *C. albicans* [37].

Biyofilm, içinde bulundurduğu mikroorganizmalara koruma sağlar ve katalaz, süperoksit dismutaz gibi biyokimyasal maddelerin katkısı ile organizmaların kendi aralarında etkileşimini kolaylaştırır [38]. Biyofilm tabakasının gelişimi, biyofilm içindeki mikroorganizmaları etkileyen diyet, tükürük ve çevresel faktörlere bağlıdır ve ağızda bulunan her yüzeyde, mikrobiyal çeşitlilik farklılık gösterebilir [39].

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. Biyofilm oluşumunun, mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara duyarlılığını azalttığı ve bunun da daha sonra patojenitede artışa neden olabileceği bildirilmiştir [38]. Bu fenomenin, antimikrobiyal ajanların biyofilmin matrisine nüfuz etmesini kısıtlaması nedeniyle ortaya çıktığı öne sürülmektedir. Bazı durumlarda, biyofilmdeki bir patojenin direnci bir antimikrobiyal ajana karşı 1000 katına çıkabilmektedir [40].

Bir biyofilmdeki mikroorganizmaların antimikrobiyal ilaçlara karşı daha az duyarlı hale gelmesi ise klinik açıdan önemlidir. Buna sebep olarak farklı mekanizmalar gösterilebilir. Bunlardan biri biyofilmdeki mikroorganizmalar tarafından üretilen ekstrasellüler polisakkarit (EPS) matris yapısının antibiyotiklerin yavaş ve başarısız penetrasyonuna neden olmasıdır [41]. EPS matrisi hücre duvarı ile birleşmiş veya büyük miktarlarda hücre duvarı dışında birikmiş şeker ünitelerinden oluşan yapılardır. Biyofilmler mecazi olarak "mikroplar şehri" olarak adlandırılırsa EPS, "biyofilm hücrelerinin evi"ni temsil eder ve biyofilm hücrelerinin yaşam koşullarını belirler [42]. Antibakteriyel ilaçların duyarlılığını azaltan diğer durumlar,

bazı bakteri ve mantarların koruma oluşturması veya atık ürün birikimi ile antibiyotik etkisinin antagonize edilmesidir [41].

### **2.2.2. *C. albicans***

*C. albicans*, insan vücudunda başlıca ağız boşluğu olmak üzere; epidermis, genital bölge ve mide-bağırsak yolunda kommensal (tek taraflı yarar sağlayan parazitik birliktelik) olarak yaşar. *C. albicans*, ağız boşluğundan izole edilen mantar türlerinin %75'ini oluşturmaktadır [43]. Sağlıklı yetişkin bireylerin %30 ile %90'ının ağız boşluğundan izole edilebilir. Ancak çoğu durumda kolonize olanlar enfeksiyon belirtileri veya semptom göstermezler [44].

*C. albicans*, tüm kandida türleri arasında en yaygın görülen ve en patojenik tür olarak kabul görendir. *C. albicans* olmayan Candida türleri, NAC türler olarak adlandırılır ve görülme sıklığına göre *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ve *C. krusei* olarak sıralanabilir [45, 46].

*C. albicans*'ın çürük lezyonlarının çevresinde, dişlerin plak yüzeylerinde, subgingival florada, ilerlemiş periodontal apselerin dişeti dokularında ve AIDS hastalarının ileri periodontitisinde mevcut olduğu bildirilmiştir [47]. Sağlıklı bireylerde, *C. albicans*'ın ağız boşluğu boyunca düzgün dağılmadığı, özellikle de fazla miktarda dil sırtında sirkumfolat papillaya yakın bölgede yerleştiği gözlenmiştir [48].

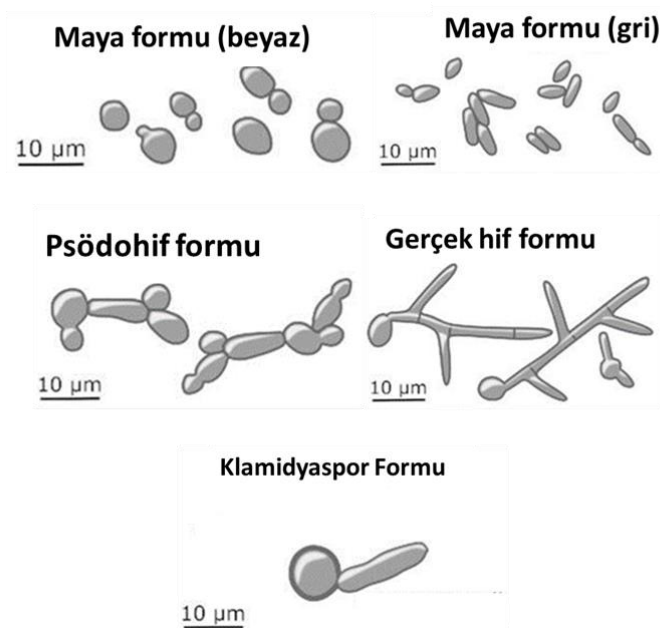
*Candida* sayısı; özellikle üst akrilik protezlerin doku yüzeyinde, protez veya ortodontik aparey gibi ağız içi aparey varlığı ile artmaktadır [49]. Protezin varlığı, tükürüğün protez akriliği ile damak dokusu arasındaki alana erişimini azaltarak ortam koşullarını değiştirir, böylece ağız boşluğundaki tükürüğün temizleme etkisini azaltır. Bundan dolayı kullanılan protez *Candida* türlerinin büyümesi ve kolonize olmaları için elverişli bir ortam oluşturur [50]. Stomatit gelişiminde *C. albicans*'ın etkisi, protez yüzeyinde ve oral mukozada patojenik etki oluşturmak için florada baskın hale gelmesiyle artar. Artan *Candida* yükünün, protez stomatitin ortaya çıkması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [51].

### 2.2.3. *C. albicans*'ın virülans faktörleri

*C. albicans*'ın hastalık yapıcı faktörleri; çeşitli morfolojik formları arasında geçiş yapabilmesi, adezyon proteinleri salgılayabilmesi, biyofilm oluşumuna ve devamlılığına katılması ve çeşitli hidrolitik enzimler salgılaması olarak sıralanır [52].

#### 2.2.3.1. Morfolojik geçişler

*C. albicans*'ın maya, psödohif, gerçek hif ve klamidyaspor olmak üzere çeşitli fenotipik formları vardır. Maya formu, tek hücreli formdur. Beyaz ve gri maya formu olarak ikiye ayrılır. Beyaz maya formları oval şekilli tek hücrelerden oluşur, gri maya formları elipsoid şekilli ve beyaz maya formundan daha küçük tek hücrelerden oluşur. Psödohif formu, tomurcuklanarak birbirine tutunan oval maya hücreleri ve uzun elipsoid hücrelerin birleşiminden oluşan boğumlu şekilli, çok hücreli formdur. Gerçek hif formu ise maya hücrelerinin boğumlanmadan paralel duvarlı olarak birleşiminden ve dallanmalarından meydana gelen çok hücreli formdur. Psödohif ve gerçek hif formları ipliksi uzun yapıdadır ve filamentöz formlar olarak da bilinir. Klamidyaspor formu, maya hücresi sonunda büyük yuvarlak şekilli kalın hücre duvarı içeren formdur, morfolojik geçiş sırasında oluşan spor benzeri yapılardır. *C. albicans*'ın fenotipik formları Şekil 2.2'te gösterilmiştir. [53].



Şekil 2.2: *C. albicans*'ın fenotipik formları [53].

*C. albicans*, bu formlar arasında geçiş yapma özelliğine sahiptir bu özellik dimorfizm olarak tanımlanır. Formlar arasındaki geçiş, 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 [54, 55]. *C. albicans*, fenotipik değişkenlik yoluyla çeşitli konakçı koşullarına adapte olabilmektedir [56]. Hif formu, mantarın protez yüzeyine daha fazla tutunmasını ve kolonileştirme kabiliyetine sahip olmasını sağlar. Aynı zamanda mantarın daha istilacı formu olarak adlandırılır. Çalışmalar, *C. albicans*'ın stomatit hastalarının protez tabanından izole edildiğinde, mayaların aktif bir büyüme aşamasında olduğunu belirleyen hiflerin mevcut olduğunu göstermiştir. Hif formları enfeksiyon için gereklidir. Hif tarafından üretilen basıncın, *C. albicans*'ın epitel hücrelerine etkili bir şekilde sızmasını sağladığı düşünülmektedir. Hifal form, konakçı hücreleri ve protez yüzeylerini istila etmek için daha büyük bir kapasiteye sahiptir. *C. albicans* hiflerinin protez stomatiti gelişimini kaçınılmaz kıldığı bildirilmiştir [52]. *C. albicans*'ın nüfuz edici doğasının kendine özgü olduğu ve temas ettikleri herhangi bir yüzeye sızacak şekilde programlandıkları ileri sürülmüştür [57]. Hifal hücreler, *C. albicans*'ın konağın epiteline yapışmasına ve nüfuz etmesine izin veren bir dizi faktörü oluşturur. *C. albicans* hif formu ayrıca aspartil proteazlar, fosfolipazlar ve lipazlar gibi enzimleri salgılar [43, 58].

### **2.2.3.2. Adezyon**

*Candida* türleri ağız boşluğunda hem epitelyal dokuda hem de akrilik protez gibi malzemelerde biyofilm oluşturabilir, biyofilm oluşumunu *C. albicans*'ın adezyon proteinleri başlatır. *C. albicans*; diğer *C. albicans* hücrelerine, diğer mikroorganizmalara, abiyotik yüzeylere (diş ve protez yüzeylerine), konakçı epitel hücrelerine ve tükürük proteinlerine adezyon sağlayan özel bir protein serisine sahiptir [59]. Hücre duvarında bulunan bu tür proteinlere adhezin denilmektedir ve adhezinler diğer hücre yüzeylerindeki amino asit veya şeker gruplarına bağlanarak etki gösterir. *C. 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 [60]. Adezyon proteinleri, *C. albicans*'ın hücre duvarı polisakkaritlerine kovalent olarak

bağlanır ve virülansında önemli bir rol oynarlar. Hücre duvarı bütünlüğüne ve biyofilm oluşumuna katkıda bulunurlar [43, 59, 61]. *C. albicans*'a özgü bir adezyon proteini olan CaEap1, hücre duvarı yüzeyinde bulunur ve hidrofobik yüzeylere yapışmayı sağlayarak akrilik protez yüzeylerinde adezyonu gerçekleştirir [62].

Proteze yapışan *S. mutans* da ürettiği ekstrasellüler polisakkaritler ile *Candida* hücrelerinin kolonizasyonunu destekler. *S. mutans* tarafından metabolik yan ürün olarak laktik asit üretimi, mantar türlerinin büyümesini kolaylaştırır [63].

### **2.2.3.3. *C. albicans* enzimleri**

*C. albicans*'ın enfeksiyona katkıda bulunabilecek proteazlar ve fosfolipazlar dahil olmak üzere çeşitli enzimler salgıladığı bildirilmiştir [43]. Maya hücreleri tarafından salgılanan parçalayıcı proteaz enzimleri beslenme amaçlı dokuyu parçalamak için kullanılır. Salgılanan aspartil proteazlar (SAP), *C. albicans*'ın salgıladığı en etkili parçalayıcı enzimlerdir [64]. SAP'lar asidik koşullarda aktivite gösterirler. SAP'lar hücre zarlarını sindirerek ve konakçı yüzey moleküllerini bozarak doku istilasında görev alırlar [65]. Protez doku yüzeyindeki protez plağının oral mukozaya yakınlığı ve ortamın asidik olması enzimlerin etkisini artırır *C. albicans*'ın invazyonuna katkıda bulunur.

*C. albicans*'ın fosfolipaz enzimleri arasında lizofosfolipaz-transaminaz ve fosfolipazlar A, B, C ve D bulunmaktadır [65, 66]. Fosfolipazlar, membran homeostazı, besinlerin elde edilmesi ve biyoaktif moleküllerin oluşumu gibi çeşitli süreçlerde yer alan enzimlerdir [67]. Fosfolipazlar, genellikle hücre zarlarında bulunan gliserofosfolipidleri hidrolize ederek işlev görür ve konakçı hücrenin mukozal epitelinin istilasına yardımcı olduğu gösterilmiştir [65].

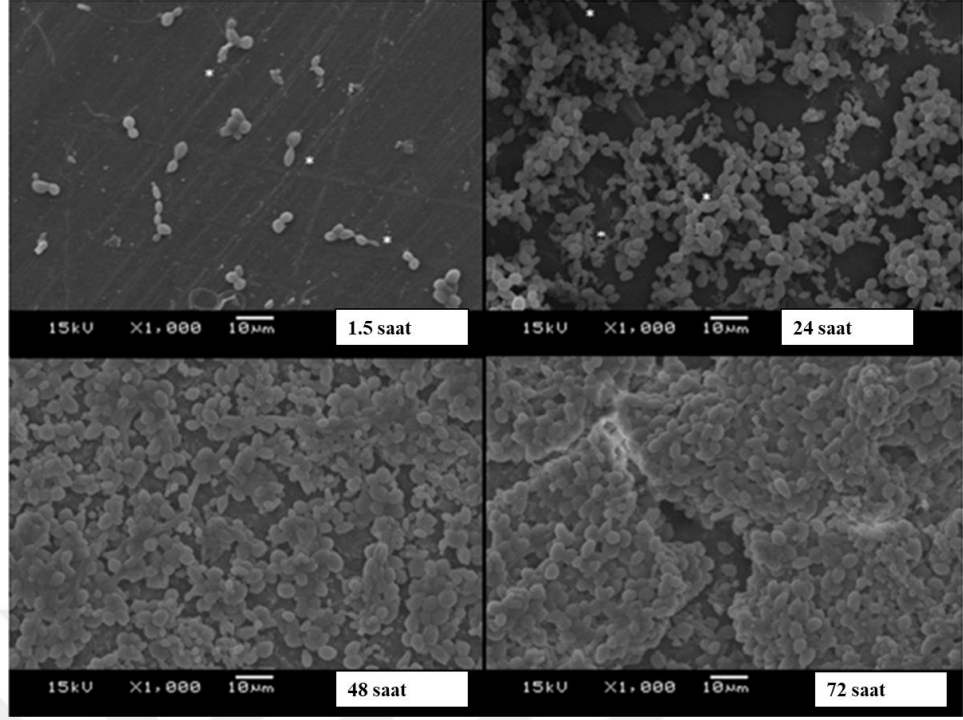
Candidalizin, en yeni bulunan *C. albicans* enzimi ve virülans faktörüdür. Özellikle *C. albicans*'ların patojenik hifal formlarından salgılanan sitolitik bir peptit olarak tanımlanmıştır. İlginç bir şekilde, Candidalizin, büyük ölçüde nötrofil ve interlökin (IL)-17 yanıtları tarafından yönetilen enfeksiyon sırasında doğuştan gelen antifungal bağışıklığı tetiklemede önemli bir rol oynar. IL-17 aracılı sinyallerin başlatılması, epitel bariyerlerinin aşılması ve kanserle ilişkili büyüme faktörlerinin salgılanmaya başlaması, *C. albicans*'ın Candidalizin virülans faktörünün kanserle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir [68].

#### 2.2.4. Protez biyofilminde *C. albicans* kolonilerinin oluşumu

Erken evre (0-12 saat): Biyofilm oluşumunun ilk 2 saatinde, PMMA yüzeyine yapışan *C. albicans* maya formları olarak gözlenmiştir. 3. ve 4. saatte ise mikro koloniler ortaya çıkmaktadır. Hif oluşumu genellikle maya hücrelerinin ilk kolonizasyonundan 3-6 saat sonra gerçekleşmektedir [69].

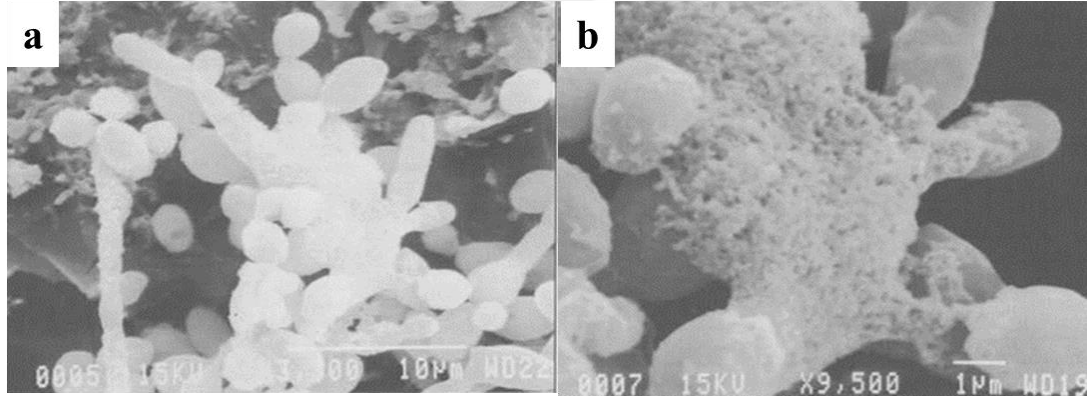
Gelişimsel evre (12-30 saat): *Candida* biyofilm yapısı artık, hücre dışı polimerik maddelerden oluşan bir matris ile mayalar ve genç hiflerden oluşan çift tabakaya dönüşmektedir [70, 71].

Olgunlaşma evresi (48-72 saat): 48 saat sonra, olgun bir biyofilm tipik olarak hif ve psödohif içeren hücreler içerir [72]. Olgun biyofilm, ekstrasellüler polisakkarit matrisi (EPS) ile çevrili, iyi organize edilmiş ve uzamsal olarak yapılandırılmış bir komplekstir. Son adım, “Quorum sensing” (çoğunluk algılanması) olarak bilinen işlemle tetiklenir. Quorum sensing, mikroorganizmaların birbirini algıladığı bir dizi sinyal mekanizmasından oluşan mikroorganizmaların birbiriyle haberleşme dili olarak tanımlanır. Çoğunluk algılanması veya hücre-hücre sinyali aşırı popülasyonu önleyerek ve rekabeti kontrol ederek biyofilme fayda sağlar ve biyofilmin devamlılığını sürdürmesine yardım eder [70, 73]. *C. albicans* biyofilmlerinin örnek SEM görüntüleri Şekil 2.3 ve Şekil 2.4’te gösterilmiştir.



**Şekil 2.3:** Akrilik yüzeyde *C. albicans* biyofilminin SEM görüntüleri [74].

Biyofilmlerin 1.5 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra görüntüleri. (\*) işaretleri biyofilm oluşumunun erken evrelerinde (1,5 saat ve 24 saat) psödohife benzer yapıları göstermektedir.



**Şekil 2.4:** *C. albicans* biyofilmi SEM görüntüleri [70].

- a) Biyofilm matrisi ile kaplı mantar hücrelerini gösteren bir *C. albicans* mono-tür biyofilmi SEM görüntüsü (3300x) Bazı hif formları da görülmektedir. b) Ekstrasellüler polimerik matrisine gömülü *C. albicans* hücreleri SEM görüntüsü (9500x).

## 2.2.5. *C. albicans*'ın akriliğe tutunmasını etkileyen faktörler

### 2.2.5.1. Protez yüzeyinin etkisi

*C. albicans* kolonilerinin büyümesi ve gelişmesi protez doku yüzeyinin fiziksel özellikleri tarafından etkilenmektedir. Akrilik yüzeylere *C. albicans*'ın tutunmasını ve biyofilm oluşturmasını etkileyen faktörlerden biri protez kaidesinin

yüzey pürüzlülüğüdür. Yüzey pürüzlülüğünün miktarı, yüzey alanını arttırdığı ve kolonizasyon için uygun alanlar oluşturduğu için *C. albicans*'ın hem ilk yerleşimini ve hem de çoğalmasını etkiler. Bazı çalışmalar yüzey pürüzlülüğü miktarı ile *C. albicans* koloni miktarı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu göstermiştir, yüzey pürüzlülüğü arttıkça plak birikimi ve *C. albicans*'ın protez kaidesine tutunması artmaktadır [75-77]. 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 *C. albicans* kolonizasyonuna elverişli alan oluşturduğu bildirilmiştir [78].

Yüzey pürüzlülüğü; polimerizasyon yöntemi, kullanılan malzeme ve yüzey bitim işlemi gibi faktörlerden etkilenmektedir [79]. Protez materyallerinin türü ve polimerizasyon yöntemi *C. albicans*'ın yüzeye tutunması üzerinde etkilidir. Isı ile polimerize akrilikte kimyasal olarak polimerize olan akriliğe göre *C. albicans* tutunma miktarı daha az gözlenmiştir [80]. Yüzey hidrofobikliği ve yüzey serbest enerjisinin *Candida* türlerinin akriliğe tutunmasını etkilediği gösterilmiştir. Akrilik yüzeyindekine yakın yüzey serbest enerjisine sahip hücreler akrilik yüzeyine daha fazla tutunma sağlamıştır [74, 81].

#### **2.2.5.2. Tükürüğün etkisi**

*Candida* kolonizasyonunda tükürüğün rolü hala tam olarak net değildir. Devamlı tükürük akışı, tutunmuş *C. albicans*'ların giderilmesini sağlamakta ve böylece oral kavitede kolonizasyonu engellemektedir. Bazı tükürük proteinleri; laktoferrin, lizozim, defensinler, histatinler, kalprotektin ve IgA, *Candida* büyümesini engellerken, statherinler ve müsünler *Candida* türlerinin adezyonunu kolaylaştırır [82].

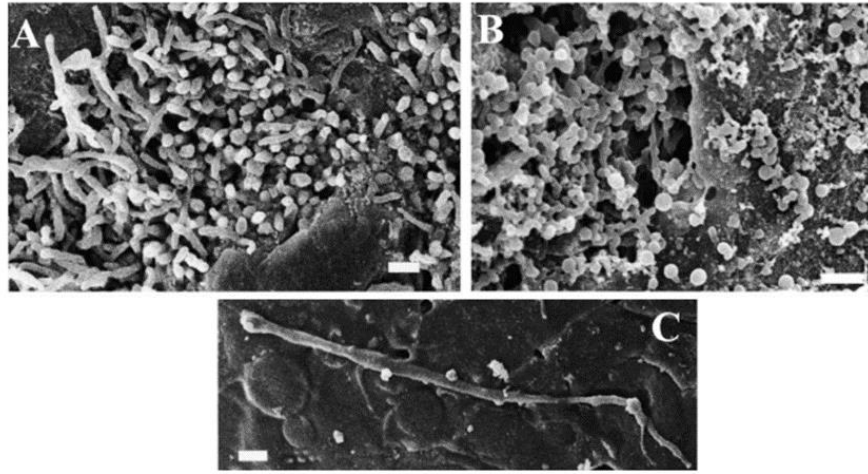
Protez yüzeyinde oluşan pelikül formasyonunun protez serbest yüzey enerjisini arttırdığı yapılan çalışmalarla bulunmuştur. Pelikül ile kaplı protezlerin yüzeyinde oluşan *C. albicans* biyofilmlerinde, *C. albicans*'ın dokulardaki proteolitik aktivitesinden sorumlu fosfolipaz ve proteinaz enzimleri pelikül ile kaplı olmayanlara göre daha yüksek oranda bulunmuştur [74, 83].

Kserostomi, normal oral mikroflorada bir dengesizlik oluşturarak *S. aureus*, *Lactobacillus* gibi bazı bakterilerin ve *Candida* gibi mantarların büyümesini destekler. *S. aureus*, *Lactobacillus* bakterileri metabolik ürünleri ile düşük tükürük pH'ına neden olur. Düşük tükürük pH'ı *Candida* türlerinin virülansı için önemli olan lipazların ve proteinazların enzimatik aktivitelerini artırarak, *Candida* türlerinin yapışma ve çoğalma şansını da artırır [82]. Sükroz veya glikoz gibi besinlerin varlığının *Candida* türlerinin akrilik protezlere yapışmasını arttırdığı bildirilmiştir [46].

### 2.3. Protez Stomatiti

Protez stomatiti, protez kullanan bireylerde sıklıkla gözlenen, protez doku yüzeyinde plak birikiminin görüldüğü bölgeye komşu olan ağız mukozasının inflamasyonu ve eritemi ile karakterize bir hastalıktır [84]. Protez stomatiti, protez kullanan bireyler için yaygın ve problemlidir. Genellikle zayıf ağız hijyeni ve uyumu kötü protezleri olan hastalarda görülmektedir. En sık olarak üst damak mukozasında gözlenmektedir [85]. Mandibular mukoza daha az sıklıkla etkilenebilir [63]. Protez stomatitinin klinik belirtileri mukozada lokal veya yaygın inflamasyon şeklindedir. Lezyonlar asemptomatik olabildiği gibi yumuşak dokuda kanama, şişme, yanma, ağız kuruluğu, ağız kokusu ve hoş olmayan tat ile kendini gösterebilir [86]. Hastalarda rahatsızlığa ve dokuda şişmeye, protez stabilitesinin bozulmasına ve fonksiyon kaybına sebep olabilir [87]. Bu durum, protez kullanan bireylerin yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebilmektedir [88]. Protez stomatitinde ve oral mukozal inflamasyonda öncelikli etiyolojik faktör protez yüzeyinde görülen plak birikimidir, mikrobiyal faktörlerle özellikle *C. albicans* enfeksiyonuyla ilişkilidir [2, 3, 28, 89-91]. 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 [92]. Protezlerin üzerinde oluşan mikrobiyal flora araştırıldığında, mikrobiyal kompozisyonun *C. albicans*'a ek olarak, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus anginosus*, *Staphylococci* gibi gram pozitif bakterileri de içerdiği bulunmuştur [93]. Protez doku yüzeyindeki plakların asidik yapıda olduğu, bu nedenle asidojenik mikroorganizmaların ve *C. albicans*'ın büyümesini desteklediği bilinmektedir [94].

Protez stomatitinin teşhisi; klinik görüntüye ek olarak direkt smear ile *Candida* türlerinin hif ve psödohif yapıda tespit edilmesi veya çok sayıda (>50 koloni) *Candida* kolonisinin izolasyonu ile yapılır. Genellikle, koloni sayısı protezin dokuya değen iç yüzeyinde, protez yüzeyine karşılık gelen mukozadakine göre daha fazla tespit edilir, bu da primer enfeksiyon kaynağının dokuya temas eden protez yüzeyinde gerçekleşen *Candida* adezyonu olduğunu göstermektedir [28]. Protez stomatiti olan hastalardan alınan plak biyofilmleri elektron mikroskobu ile incelenmiş, bu inceleme sonucunda protez stomatitinde *C. albicans* biyofilmlerinin önemli bir rol oynadığını gösteren büyük miktarda yerleşik maya ve hifal hücre kaydedilmiştir (Şekil 2.5) [95, 96].



**Şekil 2.5:** Protez stomatitli hastaların protezlerinin SEM görselleri [95].

A ve B: Protezin çatlakları ve düzensizlikleri içine gömülü maya ve filamentöz formları gösteren *Candida* biyofilmleri. C: Protez yüzeyinden izole edilmiş 5 µm uzunluğunda *C. albicans* hifal formu.

### 2.3.1. Protez stomatiti sınıflaması

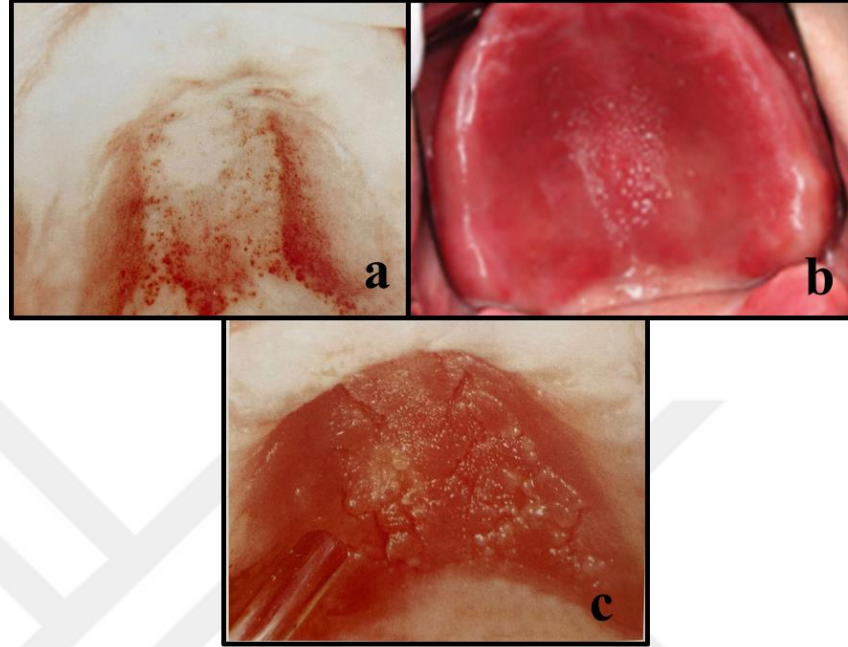
En sık kullanılan sınıflama, Newton Sınıflaması'dır. Hastalığın şiddeti, damağın rengi, dokusu ve genel görünümüne göre Newton Sınıflaması üç tipten oluşmaktadır:

Tip I: Lokalize basit iltihaplanma veya toplu iğne başı şeklinde hiperemi.

Tip II: Protez ile kaplı mukozanın bir kısmını veya tamamını içeren daha genel bir eritematöz alan.

Tip III: Granüler iltihaplanma veya iltihaplı papiller hiperplazi. Tip I ve II'nin birleşimine ek olarak genellikle sert damak orta hattını ve alveol kretleri de tutan

granüler, inflamatuvar hiperplazi mevcuttur [28, 87, 97]. Protez stomatiti tipleri Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.6:** Protez Stomatiti Tipleri.

a) Tip I protez stomatiti [24], b) Tip II protez stomatiti [84] c) Tip III protez stomatiti [24].

### 2.3.2. Protez stomatiti etiyojisi

Protez stomatiti etiyojisi çok faktörlü olarak tanımlanmıştır. Bu faktörler arasında mukozal travmaya neden olan uyumu kötü protezler, *C. albicans* miktarında artış ve kötü ağız hijyeni; protez stomatiti semptomları ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Protezlerin gece ve gündüz sürekli kullanılması ve azalmış tükürük akışı gibi faktörler, *Candida* türlerinin protez yüzeylerinde kolonize olma yeteneğini arttırarak hastalığın gelişimine katkıda bulunur. Protez stomatiti ile ilişkili sistemik faktörler; ileri yaş, endokrin sistem bozuklukları, diabet, AIDS gibi bağışıklığı düşüren rahatsızlıklar, immunsupresif tedaviler, geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı ve beslenme yetersizliği gibi faktörlerdir [51, 84, 85, 98-101]. Oral kandidiyazisin klinik durumu ile konak durumu arasındaki ilişkinin, hastanın genel sağlığının bir yansıması olduğu unutulmamalıdır. Bu yaklaşım, daha ciddi ve altta yatan diğer hastalıkların erken teşhisine ve tedavisine yardımcı olabilir [28].

### 2.3.2.1. Mukoza travması

Protez stomatitinin, dokuya uyumu bozulan protezlerin neden olduğu travma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [102]. Doku uyumunu kaybetmiş protez kullanan hastaların yaklaşık yarısının lokalize Newton tip I stomatiti yaşadığı düşünülmektedir [103]. Protezlerin stabilitesinin iyi olmasının daha az mukozal travmaya neden olduğu ve stomatit gelişme olasılığını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir [104]. Protezin neden olduğu mukozal travmanın, epitelin geçirgenliğini arttırarak *C. albicans*'ın mukozaya nüfuz etme yeteneğini arttırdığı öne sürülmüştür. Her ne kadar travma olmadığında da *C. albicans* protezin ölçü yüzeyinden izole edilebilse de, oral mukozanın travmaya maruz kalması *C. albicans* üremesini artıran faktör olarak bildirilmiştir. Enflamasyon derecesi ve mantar kolonilerinin sayısı arasında bir ilişki vardır ve yaygın enflamasyonda *Candida* miktarı, lokalize enflamasyona göre daha fazla saptanmıştır [105].

### 2.3.2.2. Oral hijyen eksikliği

Birçok protez kullanıcısı yaşlıdır ve ağız hijyenini etkili bir şekilde gerçekleştirme yeteneklerini bozabilecek demans ve artrit gibi hastalıklara sahip olabilmektedir. Yaşla birlikte ağız hijyeni alışkanlıklarının azaldığı ve bununla birlikte *C. albicans* enfeksiyonlarının yaygınlaştığı gözlenmiştir [106]. Düzenli ve etkili protez hijyeni alışkanlığının olmadığı durumlarda, protez yüzeylerinin mikrobiyal kolonizasyona duyarlılığı artar. Yeterince temizlenmemiş protezler, biyofilm olarak bilinen karmaşık mikrobiyal topluluklar oluşturan mantarların ve bakterilerin kolonizasyonuna izin verir ve kontrol edilmediği takdirde oral mukozanın iltihaplanmasına yol açabilir [107]. Plak oluşumunu ölçen ve hastaların sadece %11,9'unun temiz protezlere sahip olduğunu bildiren bir çalışmada, kötü hijyeni olan protezler ile protez stomatiti oluşumu arasında anlamlı bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [108]. Protez hijyeni ve etkili antimikrobiyal temizleme yöntemlerinin geliştirilmesi bu nedenle büyük önem taşımaktadır [91, 109, 110].

Protezler tükürük akışıyla doğal temizliğe bir engel oluşturur; bu nedenle tükürük akışıyla sağlanan doğal mekanizmanın uyurken protezi çıkararak etki göstermesi için zaman tanımak gereklidir. Bununla birlikte, protezlerle uyumak hastalarda sıklıkla gözlenen bir durumdur. Bu, protez ve mukoza arasında anaerobik

bir ortamın oluşmasına yol açarak patojenik mikroorganizmaların sayısının artmasını destekler ve protez stomatiti gelişim riskinin artmasına neden olur [84, 111].

### **2.3.2.3. İlaç kullanımı ve diyet**

Genel sağlığı korumak için yaş ile birlikte daha fazla ilaç kullanılır, ancak bazı ilaçlar (anksiyolitik, antidepresan, antihipertansif) ağız enfeksiyonlarına karşı doğal bir koruyucu olan tükürüğün miktarında azalmaya neden olur. Fungal hücrelerinin çoğalmasıyla sonuçlanır [112].

*Candida* türleri, hayatta kalmak için glikoz da dahil olmak üzere çeşitli besinlere gereksinim duyar [77]. Karbonhidrat bakımından zengin bir diyetin *Candida* sayısını 17 kat arttırdığı bildirilmiştir. Bu nedenle, stomatit hastalarında karbonhidrat miktarı yüksek besin alımının azaltılması önerilmektedir [113].

### **2.3.3. Protez stomatitinde tedavi protokolleri**

Protez stomatiti için; çeşitli tedavi stratejileri önerilmiştir. Bu tedavilerden bazıları; nistatin, mikonazol, flukonazol gibi antifungal ilaçların ve klorheksidin glukonat, sodyum hipoklorit ve hidrojen peroksit gibi protez dezenfektanlarının kullanımını içerir. Tedavide antifungal ilaç ve protezlerin temiz tutulmasına yönelik yönergeler ile dezenfeksiyon yöntemi kombinasyonlarının kullanımı önerilmektedir [114]. Candidal adezyonu azaltmak için protez akrilik yüzeyinin üretiminde çeşitli modifikasyonların yapılması *C. albicans* ile mücadelede kullanılan bir diğer yöntemdir [63]. Tip III protez stomatiti vakalarında ise diğer tedavilere ek olarak, etkili mukozal hijyen için derin mukozal oluşumların cerrahi olarak ortadan kaldırılması gerekli olabilmektedir [28].

Eski ve uyumsuz protezler, mukozada travmaya sebep olur, protez stomatiti tespit edildiğinde tedavilere ek olarak dokuya oturan yüzeydeki düzensizlikler giderilmeli ve doku düzenleyiciler ile düzenlenmelidir. Bunun yanı sıra mikroorganizmaların protez iç yüzeyine yaklaşık 1 mm penetre olabildiği tespit edilmiştir. Bu nedenle bu yüzey protez stomatiti tedavisinde kaldırılmalı, astarlama yapılmalı ve tedavi bitene kadar bu geçici astar sık sık değiştirilmelidir. Hasta protez hijyeni alışkanlığı edindikten ve mukoza tam olarak iyileştikten sonra yeni protez yapılmalıdır [28].

### 2.3.3.1. Antifungal ilaç tedavileri

Protez stomatiti tedavisi için antifungal ilaçlar kullanılmaktadır. Antifungal ilaçlar, protez yüzeyinde ve oral mukozada *C. albicans* büyümesini azaltmak için kullanılabilir ancak oral hijyen sağlanmazsa sıklıkla nüks görülmektedir [28, 69, 114]. Antifungal ilaçların tedavide özellikle şu durumlarda kullanımı önerilmektedir;

- Klinik tanı mikolojik muayene ile doğrulandıktan sonra,
- Oral mukozadan kaynaklanan yanma hissi varsa,
- Oral mukozanın diğer bölgelerine veya farinkse yayılan enfeksiyon varsa,
- İmmun sistemi zayıflatan hastalıklar, ilaçlar veya radyasyon tedavisinin neden olduğu artan sistemik mikotik enfeksiyon riski varsa [28].

*Candida* türleri sistemik ilaçlara karşı sıklıkla direnç geliştirebildiği için, sistemik tedavide kullanılan flukonazol ve ketokonazol yerine; lokal tedavide kullanılan nistatin, amfoterisin B, mikonazol, klortrimazole önerilmektedir [28].

Nüksü azaltmak için;

- Antifungal ilaçlar ile tedavi 4 hafta sürmelidir
- Antifungal ilaç pastil formunda ise pastil ağza alındığında protezler ağızda olmamalıdır.
- Oral hijyen ve protez hijyeni titizlikle sağlanmalıdır
- Protezler mümkün olduğunca az takılmalı, geceleri protezler kuru tutulmalı veya %0,2-2 konsantrasyonlarda klorheksidin solüsyonunda saklanmalıdır [28].

Protez stomatiti tedavisi için kullanılabilen ilaç tipleri; azoller ve polienlerdir. Azoller; mikonazol, flukonazol, klotriminazol, ketokonazol ve itrakonazoldür. Polien çeşitleri, nistatin ve amfoterisin B 'dir [115]. Bu ilaçların geliştirilmesinde *C. albicans*'a özgü steroller, hücre duvarındaki karbonhidratlar ve nükleik asitler hedef alınmıştır [116]. Amfoterisin B ve flukonazol dahil olmak üzere belirli antifungallere karşı antifungal direnç oluşumu gözlenmiştir [69]. Antifungallerin topikal uygulanması genellikle kısa süreli etki gösterir ve bu ajanlar tükürük ile ağzın sürekli yıkanmasından olumsuz etkilenir [114, 117].

### **2.3.3.2. Protez hijyeni**

Protezlerden plakların temizlenmesi için hastalara genellikle iki ana yaklaşım önerilmektedir. Bunlar mekanik ve kimyasal yöntemlerdir. İdeal protez temizliği her ikisinin kombinasyonu ile yapılmalıdır.

#### **Protez temizliğinde mekanik yöntemler**

Mekanik yöntemler fırçalama (su ve sabun) ve ultrasonik temizleme veya mikrodalga fırın ile yapılabilir [118].

##### **Fırçalama**

Fırçalama, protez biyofilminin çıkarılması için basit, ucuz ve etkili bir yöntemdir. Protezlerin temizliğinde diş fırçaları kullanılabilir. Fakat, protezlerin temizliğine yönelik özel üretilen protez fırçaları daha etkilidir. Protezin günlük temizliği, musluk suyu altında sabun ile protezin fırçalanması şeklindedir. Souza ve ark. [119], protezlerin fırçalanmasıyla plakların kaldırılabilirliğini ve hem aerob hem de anaerob mikrobiyal yükün azaltılabileceğini bildirmişlerdir. Brondani ve ark. [130], fungal enfeksiyonların ve proteze bağlı stomatitin kontrolünde manuel temizlemenin hala en etkili olan yöntemlerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle protez stomatitli hastalarda olmak üzere protez ile kaide plağı altındaki doku da fırçalanmalıdır [119].

##### **Ultrasonik temizleme**

Protez plaklarının giderilmesinde ultrasonik aletler tek başına yeterince etkili değildirler [118]. Bu cihazlar mikroorganizmaların sayısını azaltmamaktadırlar. Bu nedenle, ultrasonik cihazlara dezenfektan solüsyonların eklenmesi gerekmektedir. Cihazın vibrasyon etkisi ile mikroorganizmalar yerinden çıkar ve dezenfektanlar bu mikroorganizmaları yok eder. Maliyeti düşük olan bu cihazlar fiziksel olarak kısıtlı olan bedensel özürlü veya felçli hastalarda tercih edilebilir [118].

##### **Mikrodalga**

Mikrodalga fırınlar, mekanik temizlik yöntemi olmasına rağmen son yıllarda kimyasal temizlik yöntemlerinin yerini almaya başlamıştır. Çünkü mikrodalga fırınlar, özel bir ortam kullanımına ihtiyaç duymazlar, son kullanma süreleri yoktur ve *C. albicans*'lara karşı etkilidirler [120-122]. Mikrodalga enerjisi sterilizasyon

sağlar fakat canlılığını kaybetmiş mikroorganizmaları ve ürünlerini protez yüzeyinden uzaklaştırılmaz. Bunun için ultrasonik temizleme veya fırçalama gerekir [123].

Yapılan çalışmalarda en etkili mikrodalga uygulamasının 650 Watt, 3 dakika süre olduğu bildirilmiştir [121, 124]. Ancak mikrodalga uygulaması ile protezlerde boyutsal değişikliklerin meydana geldiği tespit edilmiştir [122, 123, 125, 126].

### **Protez temizliğinde kimyasal yöntemler**

Kimyasal ajanlar mikroorganizmaları farklı yollarla etkilemektedir.

Bunlar;

- Yapışmış hücreleri kaldırma,
- Bakteriolitik ve candidalitik etki,
- Bakteriyel ürünleri azaltıcı etki,
- İnterselüler adezyonu azaltıcı etki olarak bildirilmektedir [118].

Literatürde protezlerin dezenfeksiyonuna yönelik çeşitli kimyasal temizleyicilerin etkinliklerini değerlendiren birçok araştırma mevcuttur. Bu araştırmalar, bazı kimyasal temizleyicilerin birbirlerine olan üstünlüklerini ortaya koymuş olmasına rağmen, halen ideal bir temizleyici üzerinde görüş birliği mevcut değildir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan kimyasal temizleyiciler şu şekilde sıralanabilir [118]:

- Alkalen peroksitler,
- Alkalen hipokloritler,
- Seyreltik asitler,
- Dezenfektanlar,
- Enzimlerdir.

### **Alkalen Peroksitler**

Toz şeklinde ya da efervesan tablet formunda üretilen bu ürünlerin içeriklerinde oksijen çıkarıcı etkisi olan sodyum perborat ya da perkarbonat gibi

maddeler, yüzey geriliminin azaltan, trisodyum fosfat gibi alkalen deterjanlar mevcuttur. Bu eriyikler çıkardıkları oksijen kabarcıkları ile yüzeye hafif şekilde tutunmuş olan kirleri mikromekanik şekilde temizlemektedirler [127]. Bu nedenle, peroksit temizleyiciler henüz yeterince yüzeye yapışmamış olan, yeni oluşan plak veya lekeler üzerinde oldukça etkilidirler. Yeni kullanılmaya başlanan bir protezin temizliği için baştan itibaren kullanıldığı takdirde müsin ve gıda artıklarının çıkarılmasını sağlarlar. Büyük çaplı ve yüzeye iyice tutunan plaklarda etkinlikleri kısıtlıdır [128, 129].

### **Alkale hipokloritler**

Boyaları giderici özelliği olan alkale hipokloritler, müsin tabakasını ve diğer organik yapıları çözmektedirler. Bu sayede bakterisidal ve fungusidal etki gösterirler. Oluşmuş tartarları eritmektedirler. Ancak tartarların oluşumuna zemin hazırlayan organik matriksi erittikleri için tartar oluşumunu engellemektedirler [127]. Bilinen bu etkileri yanında bazı araştırmalarda protezler üzerindeki çay lekesini çıkarıcı etkilerinden bahsedilmektedir [129]. Çeşitli mikroorganizmalar üzerinde sporları da içeren oldukça geniş spektrumlu bir etkisi vardır. Çalışmalar, %5'lik sodyum hipoklorit ile *C. albicans* ve *S. mutans* enfeksiyonlarının ve protez stomatitinin gerilediğini göstermiştir [130, 131]. Sodyum hipoklorit (% 0,5 konsantrasyonda 10 dk/gün) dental plağı elimine edebilir ancak metal korozyonuna ve mukoza iritasyonlarına sebep olur [132]. Bunun yanında protez kaide materyallerini ağartıcı etkisi de gösterilmiştir [129].

### **Seyreltik asitler**

Bu ürünler, kalkülüs birikimlerindeki organik fosfat kısmına saldırarak inatçı lekeler üzerinde oldukça etkilidirler. Peroksit temizleyicilere karşı dirençli lekelerde seyreltik asitler kullanılabilir. Genellikle hipoklorik asitin %25'lik eriyikleri şeklindedirler. Bununla birlikte fosforik asit'in %15-25'lik konsantrasyonları da tek başına ya da, hidroklorik asitli temizleyicilere ek olarak kullanılabilirler [129]. Sirke olarak bilinen %5'lik asetik asit ve benzoik asit de seyreltik asitlere örnektir. Solüsyon formunda bulunan asit temizleyiciler sıvı veya macun şeklinde olabilirler. Fırça, sünger veya özel aletlerle uygulanan bu ürünler fazla kalkulus birikimini eritmek için tercih edilmektedirler. Ancak protezdeki metal kısımlar üzerindeki korozyon etkisi nedeniyle dikkat edilmelidir [133].

## **Dezenfektanlar**

Protezlerin temizliğinde çeşitli dezenfektan solüsyonlar kullanılmaktadır. Bu solüsyonlar içerisinde potasyum permanganat, %2'lik glutraldehit, klorin dioksit ve klorheksidin glukonat gibi solüsyonlar bulunmaktadır. Mikroorganizmalar üzerinde oldukça etkili bir dezenfektan olan %2'lik glutraldehit solüsyonunun, 10 dakikalık bir sürede etkin bir dezenfeksiyon sağladığı bildirilmiştir [129]. Sodyum hipoklorit ve klorin dioksitin dezenfektan etkisinin karşılaştırıldığı çalışmalar neticesinde; klorin dioksitin bakterisidal etkisinin, sodyum hipoklorite göre daha belirgin olduğu tespit edilmiştir [134]. Dezenfektanların *C. albicans* üzerine etkinliğini araştıran çalışmalarda, klorheksidin glukonatın bu konuda etkisi gösterilmiştir [119], %0,2'lik klorheksidin glukonatın protezin altında kalan iltihabi dokuları iyileştirdiği ve protezler için kullanılabilir etkili bir dezenfektan olabileceği bildirilmiştir. Ancak tedavi sonrası enfeksiyonun nüks ettiği belirtilmiştir [129].

## **Enzimler**

Peptit bağlarını hedef alarak proteinleri parçalayan proteolitik enzimler, deterjanlara dahil edilen ilk enzimlerdir ve genel olarak deterjanlarda en yaygın olarak kullanılan birincil bileşen olmaya devam etmektedirler. En yaygın olarak kullanılan proteaz, *Bacillus* türlerinden elde edilen subtilisindir [135]. Protezlerin dezenfeksiyonunda kullanılan enzimatik solüsyonlar içerisinde; papain, mütaz ve amilaz gibi enzimler de bulunmaktadır. Enzim içeren temizleyiciler bakteri plağındaki glikoprotein, mukoprotein ve mukopolisakkaritleri parçalayarak etki göstermektedirler. Enzimler ile protezlerdeki organik maddeler çıkarılabilir. Bu solüsyonlara EDTA eklenerek inorganik birikintiler de uzaklaştırılabilmektedir [129]. Bir çalışmada temizleme solüsyonlarında kullanılabilir yeni bir enzim türü olarak bir örümcek türünden elde edilen ve bir metalloproteaz çeşidi olan arazim enzimi araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre arazim, yüksek proteolitik aktivite ile birlikte olağanüstü temizleme etkileri göstermiştir. Bu sonuçlar, etkili protez temizleyici solüsyonun geliştirilmesi için arazim enziminin umut verici olduğunu göstermektedir [135].

## **2.4. Fotodinamik Terapi (PDT)**

Fotodinamik terapi (PDT); hücrelerin, mikroorganizmaların ve moleküllerin ışıkla indüklenen inaktivasyonu olarak tanımlanan bir tedavi yöntemidir [6-9, 11, 14, 18, 20, 136-140]. PDT, hedef aldığı hücreye göre antimikrobiyal fotodinamik terapi (aPDT), fotodinamik antimikrobiyal kemoterapi (PACT), fotodinamik dezenfeksiyon, letal fotosensitizasyon, foto radyasyon terapi veya foto kemoterapi gibi farklı isimler alabilir [141, 142]. Thomas Dougherty tarafından Uluslararası Fotodinamik Kurumunun 1986'da kurulması, PDT uygulamalarına olan ilgiyi artırmıştır. Halen önemli sayıda araştırma; farklı hastalıklarda tedavi protokollerinin, PS maddelerinin (ışığa duyarlı boyalar) ve ışık kaynaklarının uygun kombinasyonunu belirlemek için yürütülmektedir [140, 143].

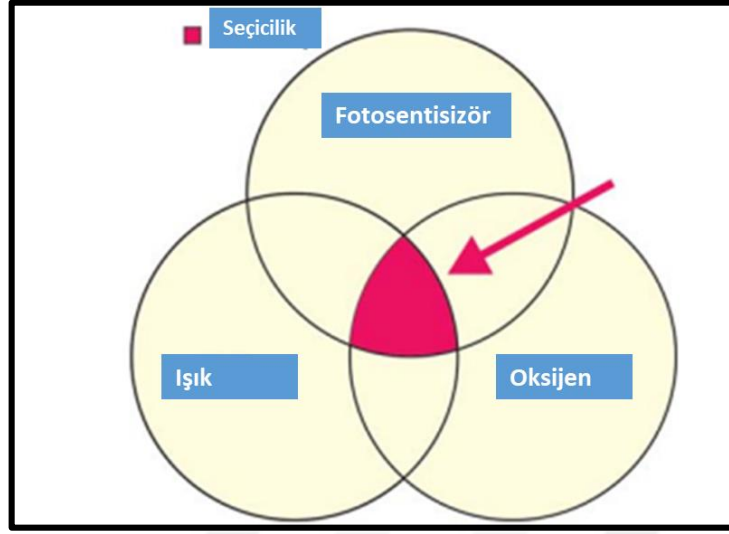
PDT tıpta kanser tedavisinden anjiyografiye pek çok alanda uygulanmaktadır [9]. Diş hekimliğinde PDT; tümörler, premalign lezyonlar, periodontitis, protez stomatiti gibi çeşitli hastalıklar için hedef dokuları ışığa duyarlı hale getiren bir ajan ile uygulanan bir tedavi olarak geliştirilmiştir [140].

Mikroorganizmalara karşı uygulanan fotodinamik terapi antimikrobiyal fotodinamik terapi (aPDT) adını alır. Antimikrobiyal fotodinamik terapi (aPDT) ilaca dirençli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel, antifungal, antiviral etkili alternatif bir tedavidir [7, 8].

### **2.4.1. Fotodinamik terapinin etki mekanizması**

PDT'nin başarılı olması için oksijen, PS ve ışık olmak üzere üç temel faktör gereklidir (Şekil 2.7). PDT yöntemi, oksijen varlığında düşük yoğunluktaki bir ışık kaynağı ile hedef mikroorganizma veya hücrede seçici olarak absorbe edilen ve toksik olmayan bir PS maddenin etkileşimine dayanır [136]. Bu yöntemde ışınlama sonrası üretilen oksijen radikali, inaktivasyonu sağlayan esas noktadır ve buna 'fotodinamik etki' denir [140, 144].

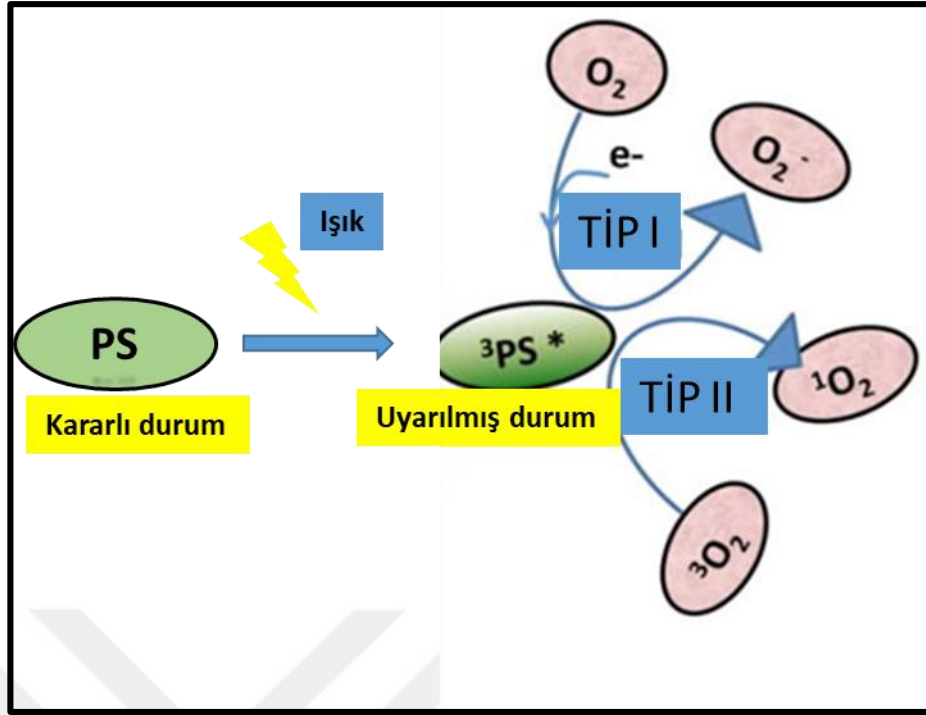
PS'ler, hedef hücre ile ilişkiye girerek hücreyi ışığa karşı duyarlı hale getiren maddelerdir [140]. Fotodinamik terapide; toluidine mavisi, metilen mavisi, indosiyanin yeşili gibi çeşitli PS maddeler; farklı dalga boylarında ışık kaynakları ile kullanılmaktadır [16, 140].



Şekil 2.7: PDT'nin seçicilik faktörleri [136].

PDT'de ışık kaynağından gönderilen foton PS tarafından absorbe edildiğinde, PS molekülü singlet (tekli, reaktif oksijen;  $^1O_2$ ) oksijeni oluşturacak enerjiyi oksijen molekülüne verir ve singlet oksijen ile serbest radikaller oluşur. Mikroorganizmada membran ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı oluşturan 'öldürücü fotosensitizasyon' olarak isimlendirilen bu süreç bakteri, virüs ve mantarların ölümüyle sonuçlanır. Yani PS'ün fotoindüklü aktivasyonu; oksijen varlığında, singlet oksijen moleküllerini ve serbest oksijen radikallerini üreten bir seri reaksiyon oluşturarak mikroorganizma ölümüne neden olur [7, 8, 145] (Şekil 2.8).

PDT'de PS'ün aktiflenmesi için uygun dalga boyunda ışık ile ışınlanması gerekir. Fotodinamik etki için esas mesele, spesifik dalga boyundaki ışık ile PS ve absorpsiyon bandı arasındaki uyumdur. Spesifik dalga boyunda ışık ile ışınlanan PS 'kararlı durum (ground state)'daki düşük-enerji-seviyesinden 'uyarılmış durum (triplet state)'daki yüksek-enerji seviyesine geçer [140, 141, 146, 147]. Uyarılmış durumdaki PS; serbest radikaller ve radikal iyonlar veya moleküler oksijenden singlet oksijen üretmek için biyomoleküllerle reaksiyona girer. Bu sitotoksik ürünler hücre zarları ve DNA gibi hücresel bileşenlerin oksidasyonuna neden olur [140, 141, 148-150]. Bakteriler, mantarlar, virüsler ve protozoalar gibi mikroorganizmalar singlet oksijen ürünleri ile öldürülebilir [141].



Şekil 2.8: PDT'nin fotokimyasal mekanizması [146].

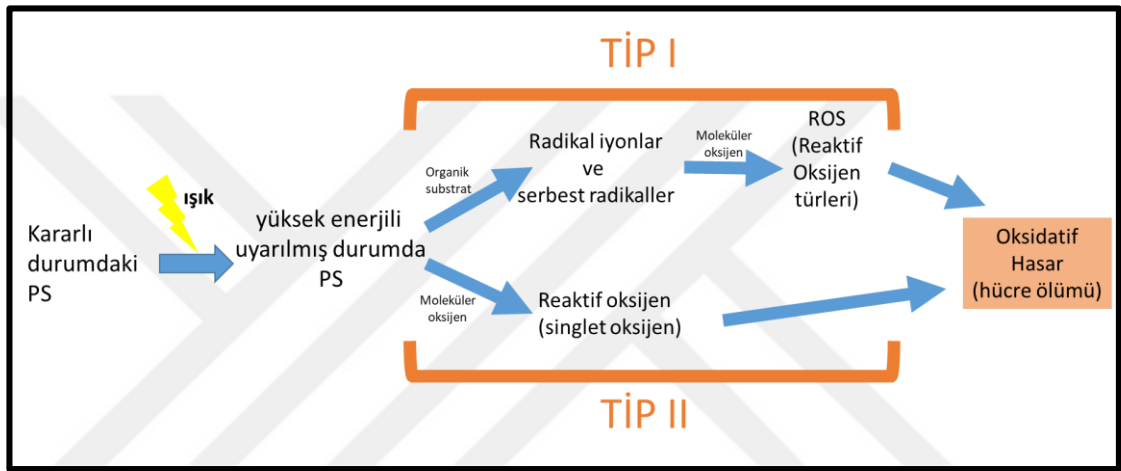
Uyarılmış PS'lerin biyomoleküller ile reaksiyona girmesinde iki mekanizma vardır (Şekil 2.9) [136, 140, 150];

Tip I mekanizma; uyarılmış PS ile hücrelerin organik substrat molekülleri arasında gerçekleşen bir dizi olaylar sonucu ortaya çıkan serbest radikaller ve radikal iyonlarını içermektedir. Bu serbest radikal türleri, genellikle yüksek reaktiviteye sahiptir ve endojen moleküler oksijen ile etkileşerek süperoksit, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi yüksek reaktif oksijen türleri üretirler. Bu reaktif oksijen türleri, hücre membranının bütünlüğüne zarar vererek onarılamaz biyolojik hasarlara neden olmaktadır [140, 144, 151-153].

Tip II mekanizmada, uyarılmış haldeki PS'ün oksijen ile reaksiyonu sonucu singlet oksijen olarak bilinen, oksijenin yüksek reaktif hali oluşmaktadır. Singlet oksijen, mikroorganizmaları hücre zarında ve hücre duvarında oksidatif hasar yaparak ortadan kaldırmaktadır ve mikroorganizmaları öldürebilmektedir [136, 140, 144, 151-153]. Ancak bu oksijenin biyolojik sistemlerdeki yarılanma ömrü ( $<0,04 \mu s$ ) ve hareket çapı ( $0,02 \mu m$ ) oldukça kısadır. Bunun sonucu olarak, singlet oksijenin meydana geldiği bölgeden çevreye hareketi sınırlıdır. Bu durum PDT ile hücre hasarı oluşturulurken PS'ün lokalizasyonunun önemini arttırmaktadır. Böylece sınırlı bir alanda gerçekleşen reaksiyon, lokalize bir etki oluşturduğundan daha

uzakta bulunan molekül, hücre ve organlara zarar vermemektedir [151]. Bu iki mekanizma arasındaki temel fark; Tip II mekanizmada hedeflenen hücre doğrudan singlet oksijen ile tek aşamada öldürülür, Tip I mekanizmada ise radikal iyonlar ve serbest radikallerden üretilen reaktif oksijen türleri ile iki aşamalı bir süreç sonunda hücre ölümü gerçekleşir.

Singlet oksijen, foto-oksidatif sürecin biyolojik etkilerinden sorumlu birincil sitotoksik ajandır. Bu nedenle, mikrobiyal hücre hasarı genellikle majör yol olarak tip II reaksiyon ile gerçekleşmektedir [138, 140, 148].



Şekil 2.9: PDT'de Tip I ve Tip II reaksiyonlar [150].

#### 2.4.2. Fotosensitizörler

PDT'nin başarılı olması için uygun, etkili, toksik olmayan ve kullanılan ışıkta yüksek etkinliğe sahip PS'lerin seçilmesi gereklidir [154]. Tedavide kullanılan ışığın dalga boyu kullanılacak olan PS'e göre değişmektedir. Çeşitli türde PS'ler lazerler ile uygulanabilir, fakat her birinin ışığın dalga boyunun absorpsiyonuna bağlı olarak etkinliği farklılık gösterir. Işığın dalga boyu arttıkça dokulara penetrasyonu da artar. PDT'de çoğunlukla 600-660 nm dalga boyunda kırmızı ışık kullanılmaktadır. Bu ışık, yoğunluğunu 3 mm'den sonra logaritmik olarak kaybederek dokulara 1 cm'ye kadar penetre olabilmektedir [155, 156]. Pek çok PS'ün penetrasyon derinliği 0,5 cm (630 nm)'den 1,5 cm (700 nm)'e karşılık gelen 630-700 nm aralığında ışık ile aktive edilir [140]. Örneğin, metilen mavisi için kullanılan ışığın dalga boyu 660 nm iken ICG için bu değer 810 nm'dir [140].

Literatürde bulunan ana PS'ler şu şekilde sıralanabilir:

- Metilen mavisi
- Toluidine mavisi
- Indosiyanin yeşili (ICG)
- Hematoporfirin türevleri
- Bengal kırmızısı
- Alüminyum disülfat fitalosiyanimler
- Klorinler (fotoklorin I, II, III)
- Hitalosiyanimler
- ALA (aminolevulinik asit) [139, 140, 154, 157].

Bağlanma özelliklerinden dolayı bazı PS'ler sınırlı mikrobiyal türe karşı aktiftirler. Ayrıca PS'ler mikrobiyal hücre membranı ile elektrostatik etkileşimdeki farklılıklardan dolayı çeşitli mikrop türleri ile farklı şekilde etkileşirler. Bu nedenle bir PS bir hedef hücrede hem hücre duvarına hem de nükleik asitlere bağlanırken başka bir hedef hücrede hücre duvarına bağlanarak hasara neden olabilir. Aksine tamamen farklı türlere karşı herhangi bir etki oluşmayabilir. PS'lerin antimikrobiyal etki oluşturmak için hücre içinde bulunma zorunluluğu yoktur [158].

PDT ile optimal sonuçları almak için PS'lerin şu özellikleri dikkate alınmalıdır [159]:

- PS'ün bağlanacağı hücre tipi
- Etkisinin en yüksek olduğu konsantrasyon
- Aktivasyon için gerekli dalga boyunda ışık ve ışığın yoğunluğu
- Suda çözünürlük
- Uyarılmış durumdaki etkisi
- Uyarılmış durumda ne kadar süre kaldığı

PS uygun dalga boyunda ışık ile aktive edilirse, hedef organizmada etkili bir yıkım gerçekleştirecektir. Absorpsiyon aralığının dışında dalga boyuna sahip ışık kaynağı kullanıldığında, lazer enerjisinin sadece küçük bir kısmı boya tarafından absorbe edilir. Sonuçta hedef patojende minimal öldürme oluşacaktır [160].

PDT’de tedaviyi etkileyen en önemli faktörlerden biri de PS maddenin fiziko-kimyasal özellikleridir. İdeal bir PS’ün taşınması gereken başlıca özellikler şu şekilde bildirilmiştir:

- Spesifik olarak hedeflenen bölgede birikebilmelidir.
- İnsan vücudunda toksik etki göstermemelidir.
- Hücrelerde yüksek oranda soğrulabilen terapötik bölgeye ait olan dalga boyundaki ışık kaynaklarını absorbe edebilmelidir. 900 nm’den uzun dalga boyunu absorbe eden PS’ler kullanıldığında reaktif oksijen türlerinin oluşumu yeterli olmamaktadır.
- Uyarılma reaksiyonu sonunda çok miktarda singlet oksijen ( $^1O_2$ ) üretebilmelidir.
- Gün ışığına duyarlılığı düşük olmalıdır.
- Ticarileşmiş ve onaylanmış PS’lerin üretimi tekrarlanabilir ve standartlaşmış olmalıdır [161-164].

PDT’de boya konsantrasyonunun etkisi dikkate alınmalıdır. Yüksek boya konsantrasyonu absorpsiyondan dolayı optik bariyer sağlarken düşük boya konsantrasyonu reaktif oksijen ürünlerinin sınırlı oluşumuna neden olacaktır ve daha uzun ışınlama süresi gerektirecektir. Boya konsantrasyonunun optimize etmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bhatti ve ark. toluidin mavisi boya konsantrasyonunu artırmanın (12,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ’den 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ’ye), PDT’nin etkisinin azalması ile sonuçlanabileceğini bildirmiştir. Bu etkinin açıklaması, bakteriyel hücrelerin doymasının sağlanabileceği ve bağlanmayan boyanın tüm sistemin etkinliğini azaltarak lazer ışığının penetrasyonunu azaltacağıdır [158].

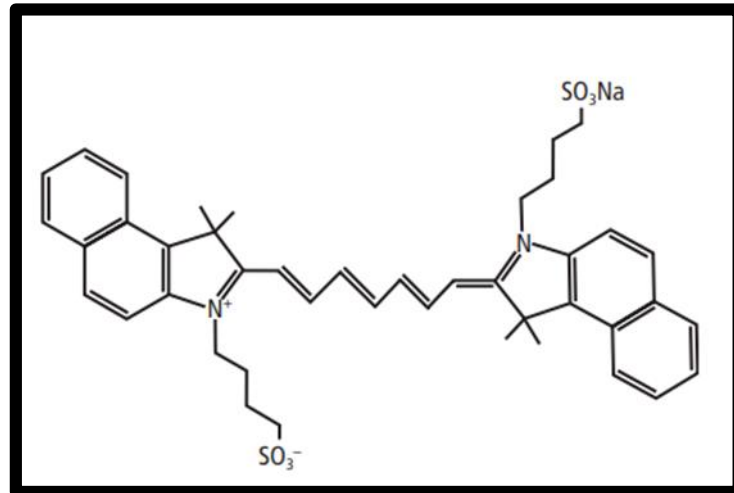
PDT’nin etkinliğinde karanlık toksisite kavramı karşımıza çıkmaktadır. Karanlık toksisite, PS’ün ışık olmadan tek başına etkili olmasıdır yani uygulanan konsantrasyonda hedef hücreye doğrudan toksik etki göstermesidir. Karanlık toksisite konsantrasyona bağlı olduğu gibi hedef alınan mikroorganizmaların ve hücrelerin özelliklerine de bağlıdır [20, 165].

Işınlama öncesi süre (Pre-irradiation time) de PDT’de önemli bir faktördür. Işınlama öncesi süre; ilgili hücre, doku, mikroorganizmaya PS uygulandıktan sonra ışınlama yapılana kadar geçen süreyi ifade eder [153, 158]. Mikroorganizma hücre membranından absorbe edilen PS, daha fazla ışık emilimine izin verir bunun için de

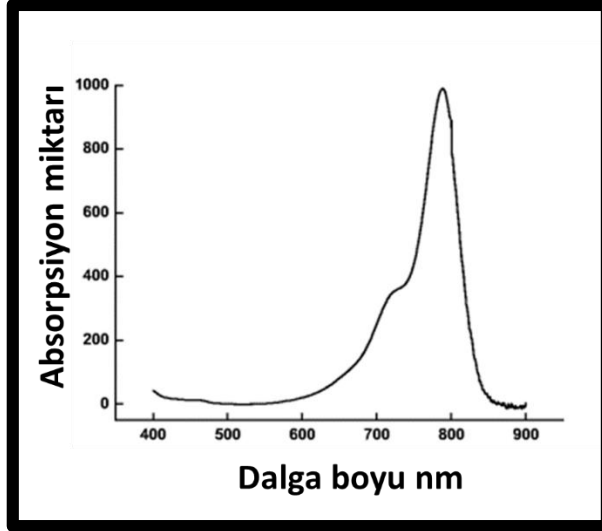
belirli bir zamana ihtiyaç vardır. Özellikle endodontide uygulanan PDT’de ışınlama öncesi süre PS’ün dentine nüfuz etmesine yardımcı olduğundan önem kazanır [153]. Işınlama öncesi sürenin ne kadar olacağı tartışmalıdır, akrilik yüzeylerdeki *C. albicans* hücrelerine karşı farklı PS’lerle uygulanan PDT’nin araştırıldığı çalışmalarda 5 ile 30 dakika arasında değişen ışınlama öncesi süreler kullanılmıştır [1]. Afroozi ve ark. [16]’nın, protez stomatitinde ICG aracılı PDT’nin etkinliğini değerlendirdiği in vivo çalışmasında ışınlama öncesi süre olarak 10 dk seçilmiştir. Mima ve ark. [3]’nın, protez stomatitinde hematoporfirin türevi bir PS’le PDT’nin etkinliğini değerlendirdiği in vivo çalışmasında ışınlama öncesi süre olarak 30 dk seçilmiştir.

#### 2.4.2.1. Indosiyanin yeşili (ICG)

ICG; insan vücuduna neredeyse hiç toksisitesi olmayan anyonik trikarbosiyanin bir boyadır ve 1956 yılında Amerika Birleşik Devletleri “Food and Drug Administration” (FDA) tarafından onaylanmıştır. Kimyasal formülü  $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$  (1,7-Bis[1,1-dimetil-3-(4-sulfobutil)1H-benz[e]indol-2-yl]heptamethinium-betain-Na) ‘dır (Şekil 2.10) [166]. Konsantrasyonuna ve çözücü sıvı çeşidine bağlı olarak 700-830 nm aralığında maksimum absorpsiyon gösteren (kırmızı ötesi spektrumdaki dalga boylarında) etkili bir PS’dür (Şekil 2.11) [166, 167].



Şekil 2.10: ICG’nin kimyasal formülü [166].



Şekil 2.11: ICG'nin absorpsiyon spektrumu[167].

Kızılötesi spektrumunda (700-830 nm) yüksek ışık absorpsiyonu sağlaması diğer birçok PS'le karşılaştırıldığında hücre, doku ve yüzeylere penetrasyon derinliğini artırır. Medikal uygulamalarda enjeksiyonla kullanıldığında, ICG, plazma proteinine bağlanır, vücutta kimyasal değişikliklere uğramaz ve hızla safrayla atılır. PS olarak ICG'nin kullanılan dalga boyundan dolayı diğer PS'lerden farklı olarak dokulara daha iyi penetre olabildiği bildirilmiştir [16].

ICG medikal uygulamalarda; kan hacmini, kalp debisini ve karaciğer fonksiyonlarını tespit etmede, kanser tedavilerinde, oftalmolojide kullanılmaktadır [10, 167]. Diş hekimliğinde ağız içi kanser tedavileri, periodontal tedaviler, periimplantitis tedavisi, protez stomatiti tedavisi, kanal dezenfeksiyonu, kavite dezenfeksiyonu gibi uygulamalar için etkinliği araştırılmaktadır [16, 140].

ICG'nin PS olarak kabul edilebilmek için gerekli özelliklere sahip olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmesine rağmen [168, 169], antifungal etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemel etki mekanizması için hem fototermal hem de fotodinamik etkilerin beraber gerçekleştiği düşünülmektedir [2].

ICG aracılı PDT'nin *C. albicans* üzerindeki etkileri literatürde araştırılmıştır [2, 6, 16, 20, 21]. Bu çalışmalarda kullanılan yöntem, lazer parametreleri, ICG konsantrasyonları gibi faktörler değişse de ICG aracılı PDT *C. albicans* hücreleri üzerinde etkili bulunmuştur.

### **2.4.3. Fotodinamik terapide ışık kaynakları**

Fotodinamik terapide ışığın aktive edilmesi çoğu kez lazerler, ark lambaları ya da floresan ışık kaynakları tarafından sağlanır. Tipik olarak ışık tanımlanan dalga boyunda olmalıdır; yine de geniş spektrumlu ışığın bile toluidine blue gibi PS'leri aktive edebildiği bildirilmiştir [140]. Lazerler PDT'de en çok tercih edilen ışık kaynaklarıdır. Çoğunlukla uygulanan lazerler; helyum-neon lazerler, diyot lazerler ve argon lazerlerdir. Light Emitting Diode (LED) gibi lazer olmayan kaynaklar da pahalı olmamalarından, esnekliklerinden ve hafiflik özelliklerinden dolayı PDT'de kullanılır [140, 141].

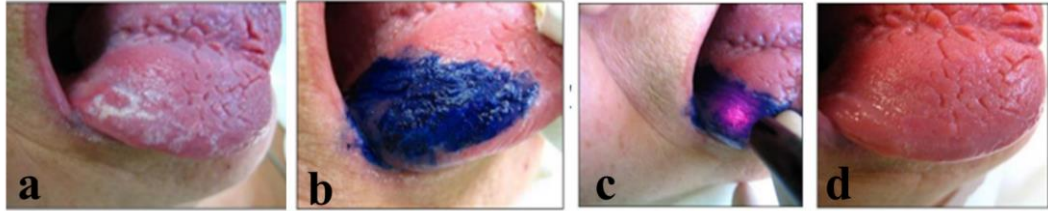
PDT, başarılı tedaviler için uygun ışık parametrelerinin seçimi önemli bir role sahiptir. Tedaviden önce PDT uygulanacak olan hücre veya doku tipine özgü ışık parametreleri seçilmelidir. Işık dalga boyu penetrasyon derinliği ile doğru orantılıdır. PDT'de kullanılan ışığın dalga boyu aralığı 600–900 nm arasında değişmektedir [144, 147]; 600 nm'den küçük dalga boyları vücutta üretilen moleküller tarafından yüksek absorpsiyona uğrar, konak dokudaki olası yan etkileri nedeniyle 600 nm'den küçük dalga boyları PDT için uygun değildir [147]. 900 nm'nin üzerinde ise fotonların enerjisi singlet oksijen ( $^1 O_2$ ) üretmek için yeterli değildir [144]. Işığın yumuşak ya da sert doku penetrasyon kapasitesinin, uygulanan dalga boyuna göre büyük oranda değiştiği göz önünde bulundurulmalıdır [170].

### **2.4.4. Diş hekimliğinde Fotodinamik terapi uygulamaları**

#### **2.4.4.1. Ağız, Diş ve Çene Cerrahisinde Fotodinamik terapi**

PDT, oral kavite de dahil baş boyun bölgesini içeren malign ve pre-malign lezyonların tedavisinde umut verici bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir. PDT'nin geleneksel tedavilere göre avantajı, minimal invazivliği ve sağlıklı dokuların korunması ile seçici tümör yıkımına dayanmaktadır. PDT oral kavitede diagnostik amaçla da kullanılabilir. Diagnostik tanı için PS'lerden özellikle ALA kullanılır. ALA, şüphelenilen lezyona topikal olarak uygulanır, burada birikir ve lezyon aydınlatıldığında doku floresanını artırır, bununla birlikte bu yöntem sadece yüzeysel lezyonlarda kullanılabilir [144].

PDT'nin oral kavitenin enfeksiyöz hastalıklarında kullanımına yönelik artan bir ilgi vardır. PDT, oral kandidiyaz tedavisinde umut verici sonuçlar göstermiştir (Şekil 2.12). Hücre bazlı seçicilik, PDT ile tedaviler sırasında dikkate alınması gereken önemli bir faktördür çünkü sağlıklı insan hücreleri ve *Candida* türleri ile enfekte ağız dokusunun da yok edilmesi söz konusu olabilir [144].



**Şekil 2.12:** Lingual *Candida* lezyonuna PDT uygulaması [144].

a: Tedaviden önce *C. albicans* enfeksiyonu, b: Fotosensitizörün uygulanması, c: Işınlama, d: PDT tedavisinden 36 saat sonra (*C. albicans* enfeksiyonu gerileme göstermiştir).

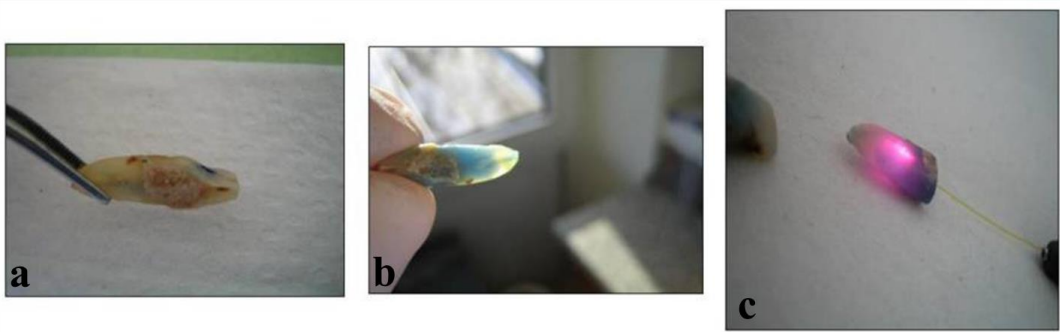
Protez stomatitinde *Candida* türlerine karşı fotodinamik terapinin etkinliği literatürde gösterilmiştir [3, 4, 16, 19, 171]. Arabia ve ark.[4]'nin *Candida* türlerine karşı nistatin ve PDT'nin etkinliğini karşılaştırdığı çalışmalarında PDT, nistatin tedavisi kadar etkili bulunmuştur. Protez yüzeyine penetre olan *Candida* türlerinin de elimine edilmesi adına PDT'nin geleneksel protez stomatiti tedavisine ek olarak uygulanması gerektiği söylenmiştir.

Afrozzi ve ark. [16], protez stomatiti tedavisine yönelik in vivo çalışmasında tek başına nistatin tedavisi ile nistatin tedavisi ve PDT'nin birlikte uygulandığı iki tedavi yöntemini karşılaştırmışlardır. PDT+nistatin grubunda elde edilen ortalama azalma tek başına nistatinden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Mima ve ark. [3] ise in vivo çalışmalarında protez stomatiti bulunan hastalarda *Candida* türlerinin koloni sayılarının azaltılmasında sadece PDT'nin, topikal nistatin tedavisi kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir. PDT'nin aynı zamanda, nistatin tedavisi kadar olmasa da protez stomatitin klinik belirtilerinin azalmasında da etkili olduğu belirtilmiştir..

PDT'nin, herpes simpleks virüsünün ağız boşluğunda neden olduğu lezyonların tedavisinde kullanımı da tarif edilmiştir. PS olarak metilen mavisi kullanılan PDT, herpes labialis tedavisinde bir seçenek olarak gösterilmiştir [172].

#### 2442. Endodontide Fotodinamik terapi

Endodontide, kök kanal dezenfeksiyonunda geleneksel kemo-mekanik preparatlarla birlikte PDT kullanımını da incelenmiştir (Şekil 2.13) [144, 153]. Geleneksel sodyum hipoklorit (kök kanal irrigasyonu için altın standart olarak kabul edilir) ile irrigasyonla karşılaştırıldığında, PDT umut verici sonuçlar göstermiştir. PDT'nin, hem Gram pozitif hem de Gram negatif endodontik bakterilere, özellikle de geleneksel kemo-mekanik yıkama sistemlerine karşı yüksek düzeyde dirence sahip olan *Enterococcus faecalis*'e karşı çok etkili bir antibakteriyel ajan olduğu kanıtlanmıştır [173]. Standart bir endodontik tedaviyle birlikte PDT kullanımının daha etkili bir kök kanal dezenfeksiyonu sağlayacağı bildirilmiştir [144].

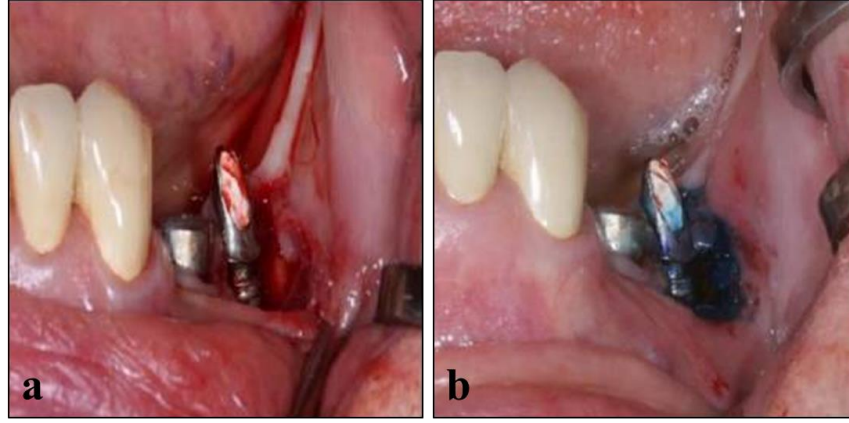


**Şekil 2.13:** Endodontik tedavide PDT örneği [144].

a: Fotosensitizör uygulanması, b: Uygulamadan 7 saat sonra (fotosensitizör apikal bölgeye ve kanallara penetrasyon gösterir), c: Lazer ışığı ile tedavi

#### 2443. Periodontolojide Fotodinamik terapi

Diş hekimliğinde periodontal hastalıklarda geleneksel tedavilere ek olarak dental implantların ve diş yüzeylerinin dezenfeksiyonunda kullanılan PDT'nin inflamasyonu azalttığı bildirilmiştir. PDT'nin peri-implantitis tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği, enfekte implant yüzeyi çevresinde mekanik debridman ile kombinasyon halinde kullanılmasının peri-implantitis tedavisine katkı sağladığı öne sürülmüştür (Şekil 2.14) [144].



**Şekil 2.14:** Periimplantitis tedavisinde PDT örneği [144].  
a: cerrahi flep elevasyonu, b: cerrahi debridmandan sonra PS uygulaması.

#### **2.4.4. Restoratif Tedavide Fotodinamik terapi**

Diş çürüğünün önlenmesi ve preperasyon sonrası kavite dezenfeksiyonunda PDT araştırılmıştır [147]. Kara ve ark. [174], kavite dezenfeksiyonunda IGC ve toluidin mavisi aracılı PDT uygulamasıyla proteolitik aktiviteden sorumlu endojen proteazların (katepsin-K ve matriks metalloproteinaz) aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir. PDT'nin diş çürüğünde etken mikroorganizmalar olan, Streptococcus mutans, Streptococcus sanguinis, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus türlerine karşı etkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [175-177]. Derin çürük kavitelere minimal invaziv prosedürlerle tedavisi için PDT'nin kullanılabilecek bir yöntem olduğu bildirilmiştir [178].

#### **2.4.5. Fotodinamik terapinin avantajları**

PDT, minimal invaziv bir yaklaşımdır. Geleneksel antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştiğinde antiseptik ve antibiyotiklere alternatif bir tedavi sunar. [144]. PDT'de tekrarlanan tedavilerde mikroorganizmalarda direnç gelişmez [138]. Ağız hastalıklarındaki pek çok anahtar patojen PDT ile öldürülmeye duyarlı olduğu için, ağız boşluğunun bu tedavi için özellikle uygun olduğu bildirilmiştir [155, 179].

Seçici hücre ölümü sağlaması, optik fiberler kullanarak lazer ışığının hassas olarak yönlendirilmesi, düşük lazer dozu kullanıldığı için skarlaşmanın olmaması PDT'nin ağız içi kullanımı için diğer avantajlarıdır [138].

#### **2.4.6. Fotodinamik terapinin limitasyonları**

PDT'nin baş ve boyun onkolojisinde kullanımı, PS'lerin dokulara derinlemesine nüfuz edememesi nedeniyle sınırlıdır, yani ileri karsinomlar için değil, yalnızca erken ve lokal neoplazmların tedavisinde kullanılabilir [144].

Organik materyallerin varlığı (serum ve tükürük gibi) öldürücü fotosensitizasyona karşı mikroorganizmalara bazı korumalar sunabilir. Tükürük veya serum varlığında PS'ün etkinliğinin azalması büyük olasılıkla protein içeriklerinden kaynaklanmaktadır, bu durumda aşağıdaki faktörlerden dolayı PDT'nin azalmış etkisi gözlenir:

- Tükürük ve serumdaki proteinler, lazer ışığını absorbe ederek PS tarafından absorbe edilecek ışık miktarını azaltabilir, böylece PS tarafından üretilen sitotoksik ürünler azalır.
- Tükürük ve serumdaki proteinler, PS moleküllerine bağlanmak için bakterilerle rekabet edebilir ve sonuçta hedef bakterilere bağlanan PS moleküllerinin sayısı azalır.
- Singlet oksijen son derece kısa bir yarı ömre sahiptir ve hücrelere yakın bir yerde üretilmedikçe herhangi bir sitotoksik etki üretmesi olası değildir. Sonuç olarak proteinler mikroorganizmalarla singlet oksijen arasında bir bariyer oluşturabilir.

Yine de mikroorganizma sayısında önemli seviyede azalma yeterli enerji dozu kullanılarak tükürük ya da serum varlığında bile başarılabılır [155].

#### **2.4.7. Fotodinamik terapinin yan etkileri**

İntravenöz PS'lerin kullanımından sonraki başlıca yan etki ışığa duyarlılıktır. PS'ün sistemik olarak uygulanması, ciltte birikmesinden dolayı cilt fotosensitivitesi ile sonuçlanır. Sistemik uygulanan PS, gün ışığına göre harekete geçebilir, birinci derece veya ikinci dereceden yanıklara neden olabilir ancak PDT'nin dış hekimliğinde kullanımı lokal bir uygulama olduğundan bu konuda kesin bir çıkarım bulunmamaktadır [138].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu in vitro çalışma, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğü tarafından 20210608 numaralı proje ile desteklenmiştir. Deney örnekleri Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvar'ında hazırlanmıştır. Deneyler ise Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

#### 3.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmamızda akrilik yüzeyde çoğalması sağlanmış *C. albicans*'lara karşı farklı konsantrasyonlarda ICG aracılı PDT'nin etkinliği değerlendirilmiştir. Daha önceki çalışmalar referans alınarak Windows'da IBM SPSS Statistics 20.0 programı (SPSS, IBM Corp. Version 20.0, Armonk, NY, USA) kullanılarak yapılan güç analizinde standart sapmanın 21,83 birim olduğu öngörüldüğünde %95 güven düzeyi ve %80 güç için 9 grupluk tasarımımda her bir gruba 11'er örnek gerektiği hesaplanmıştır. İncelenen deney grupları Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1:** Çalışmamız için oluşturulan deney grupları

Grup Kodu	Grup Açıklaması
K	Kontrol grubu
N	Nistatin uygulanan grup
M	Mikrodalga dezenfeksiyonu uygulanan grup
L	Sadece lazer uygulanan grup
ICG10	Sadece 10 mg/ml indosiyanin yeşili uygulanan grup
L-ICG10	10 mg/ml indosiyanin yeşilinin lazer ile aktive edildiği grup
L-ICG5	5 mg/ml indosiyanin yeşilinin lazer ile aktive edildiği grup
L-ICG2	2 mg/ml indosiyanin yeşilinin lazer ile aktive edildiği grup
L-ICG1	1 mg/ml indosiyanin yeşilinin lazer ile aktive edildiği grup

### 3.2. Deney Örneklerinin Hazırlanması

Akrilik örneklerin üretimi için teflon silindirden üretilen diskler kalıp olarak kullanılmıştır. Teflon silindir kesme işleminin rahat yapılabilmesi için akrilik bir kalıba sabitlendikten sonra, su soğutması altında elmas kesici diskle, (Metal Bond, Metkon Item 19-125, Türkiye) 300 rpm hızla hassas kesme cihazında (Mecatome T180, Presi, Budapest, Hungary) kesilerek 2,2 mm kalınlığında 10 mm çapında disk şeklinde modeller elde edilmiştir (Şekil 3.1 ve 3.2).



**Şekil 3.1:** Hassas kesme cihazı



**Şekil 3.2:** Teflon silindirden hazırlanan kalıp diskler

Akrilik örneklerin üretimi yaylı britlere sahip dental muflalar ile yapılmıştır. Bunun için öncelikle, Tip III sert alçı (Elite model tip III, Zhermack, İtalya) üretici firma talimatlarına uygun olarak 100 g toz/30 mL su oranında 1 dk süreyle karıştırılmıştır (Şekil 3.3). Alçı muflanın alt parçasına doldurulmuş ve daha sonra disk şeklindeki teflon kalıplar, kalınlıklarını geçmeyecek şekilde alçıya gömülmüştür. Alt parçadaki alçı sertleştikten ve yüzeyi temizlendikten sonra alçı yüzeyine lak (Isolant Separating Solution, Dentsply Corp., Dentsply, DeTrey, UK) fırça ile uygulanarak izole edilmiştir (Şekil 3.4). Muflanın üst kapağı yerleştirilmiştir. Alçı tekrar karıştırılıp mufla içine doldurulduktan sonra muflanın üst kapağı kapatılmış ve 2 atm basınç altında 45 dk sertleşmesi beklenmiştir. Alçı sertleştikten sonra alt ve üst parça ayrılmış, teflon örnekler alçı içinden dikkatli bir şekilde keskin bir spatül yardımıyla çıkarılmıştır. Böylece akrilik diskler için uygun kalıp boşlukları olan muflalar elde edilmiştir (Şekil 3.5 ve 3.6).



Şekil 3.3: Çalışmamızda kullanılan sert alçı



Şekil 3.4: İzolasyon için kullanılan lak



Şekil 3.5: Alçı içine gömülmüş teflon ana modeller



**Şekil 3.6:** Muflalarda akrilik diskler için oluşturulmuş boşluklar

Daha sonra akriliğin tepim işlemlerine geçilmiştir. Protez kaidesini taklit etmek amacıyla deney örnekleri, ısı ile polimerize olan PMMA kaide materyalinden (Meliodent Heat Cure, Heraeus Kulzer, Germany) üretilmiştir (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7:** PMMA toz ve likidi

Üretici firmanın talimatları doğrultusunda PMMA toz/likit oranı 23,4 gr/10 ml olacak şekilde cam bardakta karıştırılmış ve ağzı kapalı şekilde hamur kıvamına gelmesi beklenmiştir. Toz miktarının ayarlanması hassas terazi ile sıvı miktarının ayarlanması ise enjektörle yapılmıştır. Akrilik, alçı yüzeye yerleştirilmeden önce alçı yüzeyi lak kullanılarak izole edilmiştir. Akrilik hamur halindeyken mufla içerisindeki boşluklara yerleştirilmiştir. Muflanın üst kapağı kapatılarak 45 dk

2 atm basınç altında presleme işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.8). Polimerizasyon esnasında akriliğin distorsiyona uğramaması için muflalar yaylı britlere yerleştirilmiş ve britler el kuvveti ile sıkıştırılmıştır [24] (Şekil 3.9).



Şekil 3.8: Preste bekletilen mufla



Şekil 3.9: Yaylı brit ile muflaların sıkıştırılması

Akrilik reçinenin polimerizasyonu için Harrison ve ark. [34]'nın önerdiği şekilde muflalar 70°C su banyosuna 7 saat, bunu takiben 100°C 1 saat bırakılmıştır

(Şekil 3.10). Muflalar su banyosu kapatılıp soğuduktan sonra alınmıştır. Muflalar açılarak polimerize olmuş akrilik diskler çıkarılmıştır.



Şekil 3.10: Kullanılan kaynatma cihazı

Akrilik disklerin yüzeyindeki çapaklar tungsten karbid frez (Hm 251GX, Meisinger, Germany) ve piyasemen ile tesviye edilmiştir. Akrilik disklerin su soğutması altında zımpara cihazı (Minitech 233, PRESI GmbH, Almanya) ve 600 grenli silikon karbid zımpara kağıdı ile 200 rpm hızında ve su soğutması altında yüzeyleri düzeltilmiştir (Şekil 3.11) ve 2 mm kalınlık elde edilmiştir. Böylece örneklerin boyutlarının ve yüzey özelliklerinin aynı olması sağlanmıştır. Dijital kumpas ile disklerin kalınlık ve çapları her örnekten farklı noktalardan altışar adet ölçüm yapılarak kontrol edilmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.11: Akrilik disklerin zımparalanması



Şekil 3.12: Akrilik disklerin boyutlarının elektronik kumpasla ölçülmesi

Toplam 108 adet akrilik disk örnek hazırlanmıştır (Şekil 3.13 ve 3.14). Akrilik örnekler, polimerizasyondan sonra artık monomerleri uzaklaştırmak için 1 gün boyunca suda bekletilmiştir. Suda bekletme işleminden sonra örnekler cam petriler içinde otoklavda 121°C’de 15 dk steril edilmiştir.



**Şekil 3.13:** Akrilik Disk Örneklerin Hazırlanması

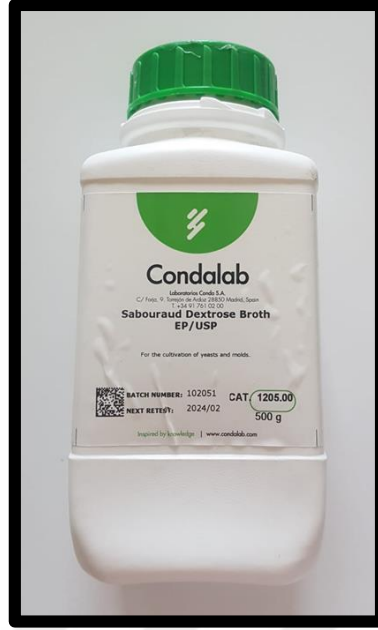
a) Polimerize olmuş akrilik disklerin muflalardan çıkarılmış hali, b) Tesviye sonrasında akrilik diskler c) Zımpara sonrasında akrilik diskler



**Şekil 3.14:** Akrilik örneklerin son hali

### 3.3. *C. albicans* Kültürü

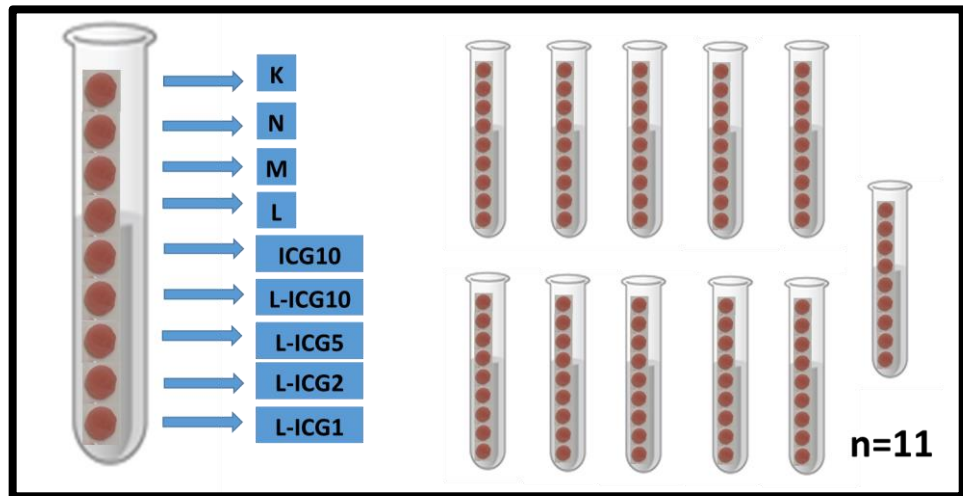
Çalışmada *C. albicans* ATCC 90028 referans suşu kullanılmıştır. Öncelikle *C. albicans*'ın taze kültürü için referans suş Sabouraud Dekstroz Broth besiyerine (Sabouraud Dextrose Broth, Condalab, İspanya) (Şekil 3.15) ekimi yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir, sonrasında taze kültürden Sabouraud Dekstroz Broth besiyerinde 0,5 McFarland standart solüsyonu hazırlanmıştır.



Şekil 3.15: Sabouroud Dekstroz Broth besiyeri

### 3.4. Biyofilm formasyonu

Akrilik diskler üzerinde biyofilm oluşmasını sağlamak amacıyla öncelikle diskler steril falkon tüplerine yerleştirilmiştir. Her bir falkon tüpüne her bir deney grubuna ve kontrol grubuna ait birer akrilik disk olmak üzere dokuz akrilik disk konmuştur. Böylece tüm deney gruplarının ve kontrollerinin aynı besiyeri ortamında beklemeleri sağlanmıştır (Şekil 3.16 ve 3.17). Üzerleri McFarland 0,5 standardında ayarlanmış *C. albicans* süspansiyonu ile kaplanarak 35 °C'de 5 gün süreyle inkübe edilmiştir. Akrilik diskler üzerinde biyofilm oluşumu sağlandıktan sonra deney aşamasına geçilmiştir.



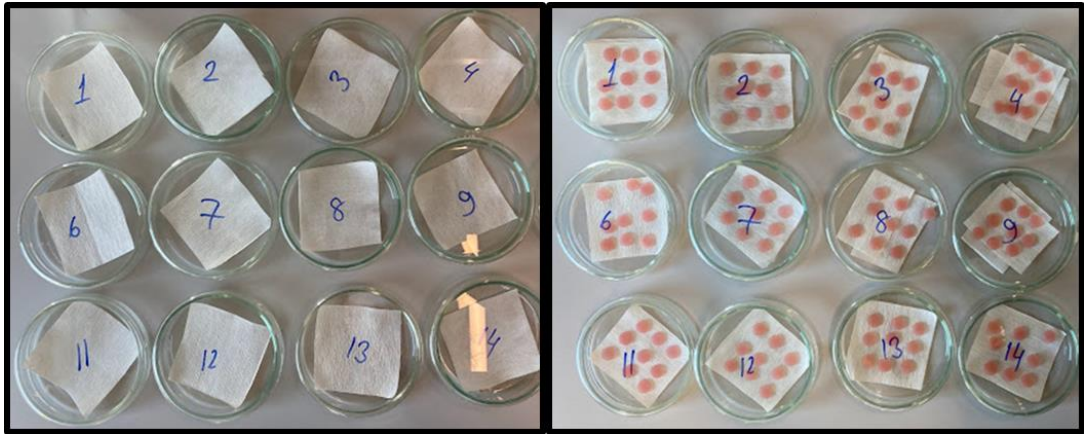
Şekil 3.16: Deney düzeneği şeması



Şekil 3.17: İçinde dokuz adet akrilik disk bulunan falkon tüpler

### 3.5.Biyofilmlerin Tedavisi

İnkübasyon sonrası üzerinde biyofilm oluşan diskler, kendi falkon tüplerinden steril petriler içindeki steril kurutma kağıtları üzerine konmuştur (Şekil 3.18).



Şekil 3.18: Akrilik disklerin kurutulması

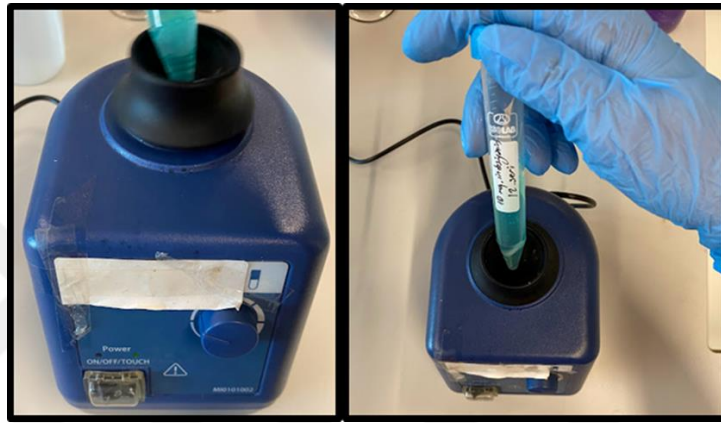
Biyofilm formasyonu oluşturulmuş olan akril disklere deney gruplarında belirtildiği üzere çeşitli tedavi protokolleri uygulanmıştır.

#### 3.5.1. Kontrol grubu (K)

Kontrol grubu için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için

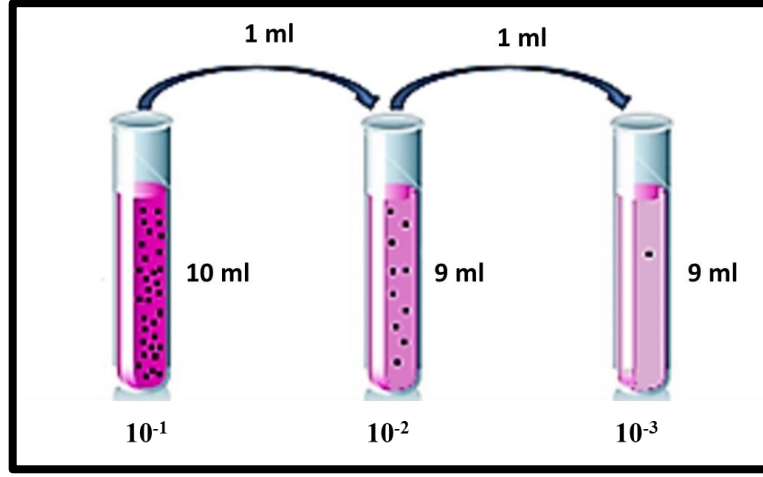
2 kez cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Seri dilüsyonlardan petri kaplarına ekim yapılması için önceden Sabouraud Dekstroz Broth besiyeri dökülmüş 3 ayrı petri kabı hazırlanmıştır.

Akrilik disk farklı bir steril falkon tüpe alınarak %0,9'luk 10 ml serum fizyolojik ile seri dilüsyon işlemine başlanmıştır Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile bekletilmiştir (Şekil 3.19) [180].



**Şekil 3.19:** Vorteks cihazı ile karıştırma işlemi

Daha sonra bu solüsyondan ilk petri kabına ekim yapılmıştır. İkinci petri kabına bu falkon tüpten alınan sıvı yeni bir falkon tüpte 1/10 oranında dilüe edildikten sonra ekim yapılmıştır. Üçüncü petri kabına ise ikinci falkon tüpten alınan sıvı yine 1/10 oranında dilüe edildikten sonra ekim yapılmıştır. Böylece  $10^{-3}$ 'e kadar seri dilüsyon işlemi tamamlanmıştır (Şekil 3.20).



Şekil 3.20: Çalışmadaki seri dilüsyon şeması

Ekim yapılmış petri kapları ve 37°C deki etüvde 24 saat beklemeye bırakılmıştır ve *C. albicans* kolonilerinin görünür ve sayılır olması sağlanmıştır.

### 3.5.2. Nistatin grubu (N)

Nistatin grubu için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra aynı falkon tüpe 1 ml nistatin (Mikostatin 100.000 IU/ml, Deva, Türkiye) solüsyonu koyularak 1 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.21). Nistatin uygulama işleminden sonra akrilik disk farklı bir steril falkon tüpe alınmıştır ve nistatin artıklarının giderilmesi amacıyla cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkama yapılmıştır. Daha sonra içerisine 10 ml %0,9'luk serum fizyolojik eklenmiştir. Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile bekletilmiştir. Daha sonra kontrol grubundaki prosedürün aynısı ile seri dilüsyonlar uygulanarak besiyeri bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.21: Nistatin preparatı ve 1 ml miktarının ayarlanması

### 3.5.3. Mikrodalga dezenfeksiyonu grubu (M)

Mikrodalga dezenfeksiyonu için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra falkon tüpten alınan örnekler steril petrilere konularak mikrodalga dezenfeksiyonu işlemine başlanmıştır. Her bir akrilik disk 650 W 3 dak olmak üzere mikrodalga fırında (Samsung MW81Y-WP, Güney Kore) bekletilmiştir (Şekil 3.22). Mikrodalga dezenfeksiyonu işleminden sonra akrilik disk farklı bir steril falkon tüpe alınmıştır ve cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkama yapıldıktan sonra içerisine 10 ml %0,9'luk serum fizyolojik eklenmiştir. Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile bekletilmiştir. Daha sonra kontrol grubundaki prosedürün aynısı ile seri dilüsyonlar uygulanarak besiyeri bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.22: Mikrodalga fırın

#### 3.5.4. Sadece lazer uygulanan grup (L)

Sadece lazer uygulanan örnekler için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra falkon tüpten steril petri kabına alınan akrilik disklerin lazer uygulamasına geçilmiştir. Her bir akrilik disk için, 810 nm dalga boyunda, devamlı modda 60sn, 24 J/ cm<sup>2</sup> doz, 300mW güçte diod lazer (Cheese dental diode laser, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., Wuhan, Çin) ile tüm yüzey taranmıştır (Şekil 3.23). Akrilik diskin her iki yüzeyi de 60'ar saniye süreyle ışınlanmıştır. Lazer uygulama işleminden sonra akrilik disk petri kabından farklı bir steril falkon tüpe alınmıştır, cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkandıktan sonra ve içerisine %0,9'luk 10 ml serum fizyolojik eklenmiştir. Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile bekletilmiştir. Daha sonra kontrol grubundaki prosedürün aynısı ile seri dilüsyonlar uygulanarak besiyeri bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.23: Lazer cihazı ve uygulanan lazer parametreleri

### 3.5.5. Sadece ICG uygulanan grup (ICG10)

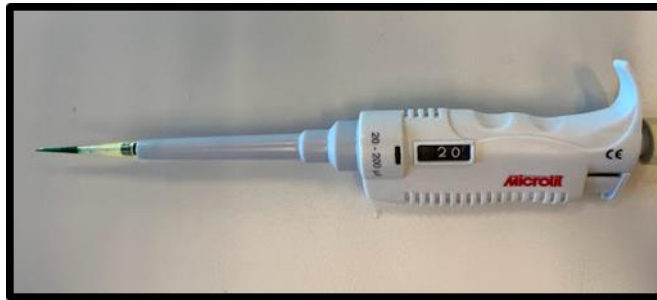
Sadece ICG uygulanan grup için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra falkon tüpten steril petri kabına alınan akrilik disklerin ICG uygulaması işlemine geçilmiştir. ICG (Verdye, 25 mg, Diagnostic Green GmbH, Aschheim-Dornach, Germany) serum fizyolojik ile seyreltilerek 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanmıştır (Şekil 3.24 ve 3.25). Her akrilik disk yüzeyine, 20 µl miktarda ICG solüsyonu mikropipet tabancası ile uygulanmıştır, akrilik disklerin her iki yüzeyinin de solüsyonla temas etmesi sağlanmıştır (Şekil 3.26 ve 3.27). Solüsyon akrilik diskler üzerinde 10 dakika süre ile bekletilmiştir. ICG uygulamasını takiben petri kaplarından alınan her bir akrilik disk farklı bir steril falkon tüpe alınmıştır ve akrilik disklerdeki ICG artıklarını gidermek için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra falkon tüp içerisine 10 ml %0,9'luk serum fizyolojik eklenmiştir. Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile bekletilmiştir. Daha sonra kontrol grubundaki gibi seri dilüsyonlar uygulanarak besiyeri bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır.



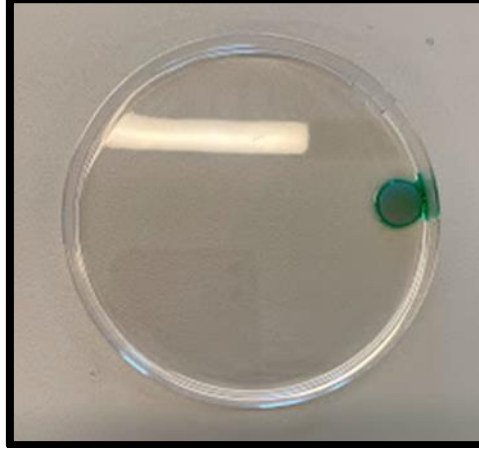
Şekil 3.24: Çalışmamızda kullanılan ICG preparatı



Şekil 3.25: ICG solüsyonlarının 10 mg/ml konsantrasyonda hazırlanması



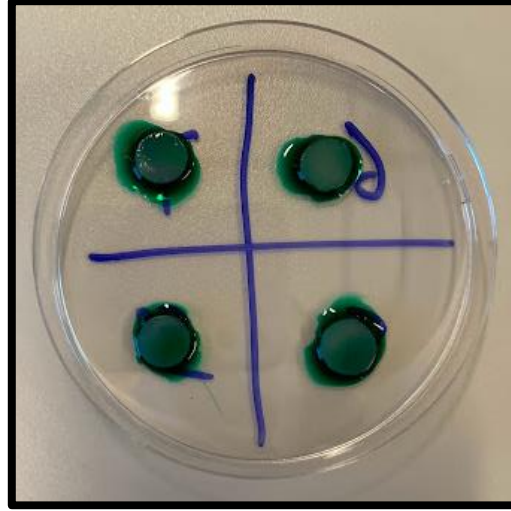
Şekil 3.26: 20 µl olarak ayarlanmış mikropipet tabancası



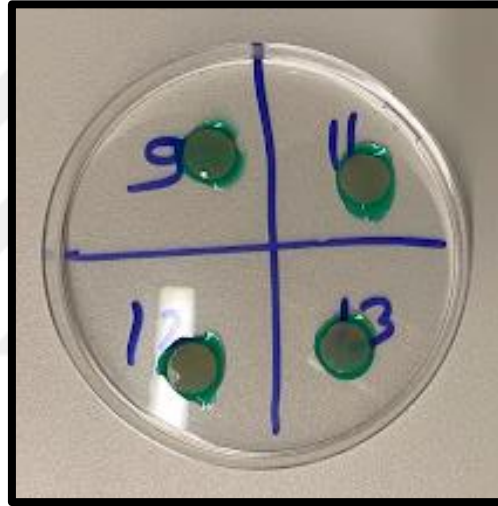
Şekil 3.27: Akrilik diske 20 µl ICG uygulaması

### 3.5.6. 10, 5, 2 ve 1 mg/ml ICG'nin lazer ile birlikte uygulandığı gruplar (L-ICG10, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1)

Dört farklı konsantrasyonda ICG'nin lazer ile birlikte uygulandığı gruplar için her bir petriden alınan bir adet akrilik disk steril falkon tüpe konmuş ve yüzeylerindeki bağlanmamış *C. albicans* hücrelerinin ayrılması için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkanmıştır. Daha sonra falkon tüpten boş steril petri kabına alınan akrilik disklerin farklı konsantrasyonlarda ICG ile teması işlemine geçilmiştir. ICG steril serum fizyolojik (%0,9 NaCl) ile seyreltilerek 1, 2, 5, 10 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Hazırlanan PS solüsyonları diğer işlemler yapılırken karanlık ortamda saklanmıştır. Biyofilmlerin ışığa karşı duyarlı hale gelmesi için her bir akrilik disk yüzeyi L-ICG10 grubu için 10 mg/ml konsantrasyonda, L-ICG5 grubu için 5 mg/ml konsantrasyonda, L-ICG2 grubu için 2 mg/ml konsantrasyonda ve L-ICG1 grubu için 1 mg/ml konsantrasyonda 20 µl ICG solüsyonu ile muamele edilmiştir, akrilik disklerin her iki yüzeyinin tamamının da solüsyonla temas etmesi sağlanmıştır (Şekil 3.28 ve 3.29). Solüsyon akrilik diskler üzerinde 10 dakika süre ile bekletilmiştir ve lazer uygulaması işlemine geçilmiştir.



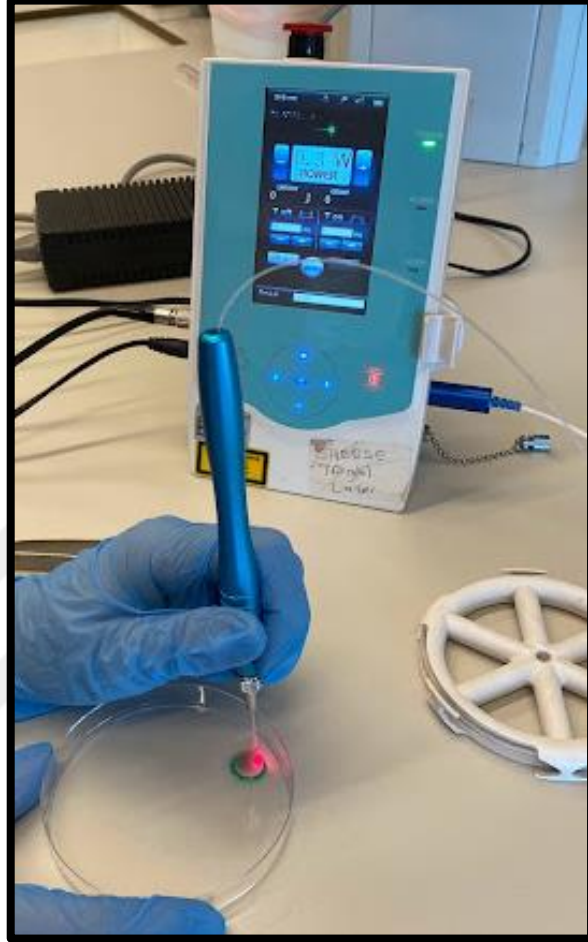
Şekil 3.28: 10 mg/ml ICG uygulanmış akrilik diskler



Şekil 3.29: 2 mg/ml ICG uygulanmış akrilik diskler

Daha sonra her bir akrilik disk, 810 nm dalga boyunda, devamlı modda, 24 J/cm<sup>2</sup> doz, 300mW güçte diod lazer (Cheese dental diode laser, Wuhan Gigaa Optronics Technology Co., Ltd., Wuhan, Çin) ile 60 sn ışınlanmıştır. Akrilik disklerin her iki yüzeyi de 60'ar saniye süreyle lazer ile taranmıştır (Şekil 3.30). Lazer uygulama işleminden sonra petri kaplarından alınan her bir akrilik disk farklı bir steril falkon tüpe alınmıştır ve akrilik disklerdeki ICG artıklarını gidermek için cam pipet yardımıyla 10 ml steril distile su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra falkon tüp içerisine 10 ml %0,9'luk serum fizyolojik eklenmiştir. Akrilik diskin bulunduğu falkon tüp akriliklerin içindeki *C. albicans*'ların da yüzeye çıkması amacıyla önce 1 dakika vorteks işlemine tabi tutulmuş, sonra 9 dakika süre ile

bekletilmiştir. Daha sonra kontrol grubundaki gibi seri dilüsyonlar uygulanarak besiyeri bulunan petri kaplarına ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.30: ICG ile kaplanmış akrilik diske lazer ışını uygulanması

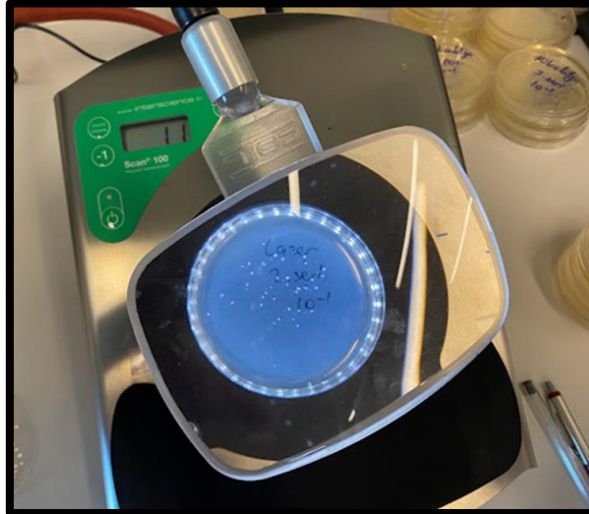
### 3.6.Koloni Sayımı

Biyofilmlere her grup için işlemler uygulandıktan sonra ekim yapılmış petri kapları ve 37°C deki etüvde 24 saat inkübe edilmiştir (Şekil 3.31). *C. albicans* kolonilerinin görülür ve sayılır olması sağlanmıştır.

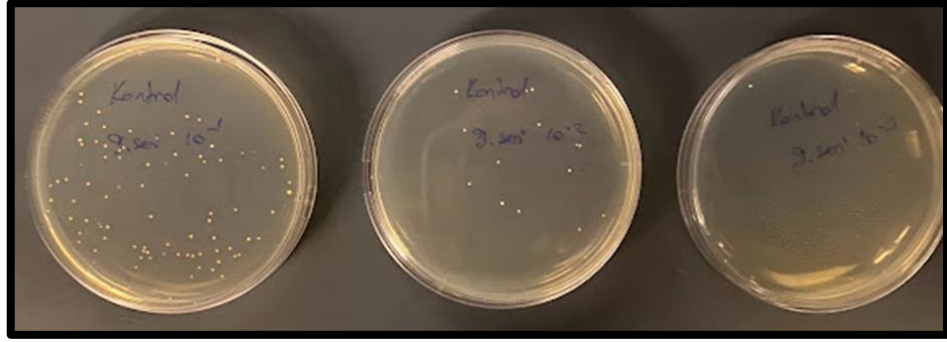


**Şekil 3.31:** Kullanılan etüv cihazı

Petri kaplarındaki koloni sayıları 24 saat sonra koloni sayma cihazında (Scan® 100 – INTERSCIENCE, Fransa) sayılmıştır ve koloni sayısı verileri kaydedilmiştir (Şekil 3.32 ve 3.33).



**Şekil 3.32:** Koloni sayma cihazı



Şekil 3.33: Petri kaplarında *C. albicans* kolonileri

### 3.7. SEM Analizleri

Her bir deney grubundan birer örnek işlemler uygulandıktan sonra seri dilüsyon ve besiyerlerine ekimleri yapılmadan SEM analizi için ayrılmıştır. Seçilen örnekler su soğutması altında piyasemen ve separe ile iki parçaya ayrılmıştır ve ara yüzlerin SEM görüntüsü alınmıştır.

SEM analizleri Yıldız Teknik Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan SEM cihazı (ZEISS EVO 10 SEM, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.34). Görüntüleme öncesi örneklerin üzeri 10 mA'de 120 saniye boyunca altın ile kaplanmıştır (Quorum Technologies Ltd, Laughton, İngiltere) (Şekil 3.35, 3.36 ve 3.37).



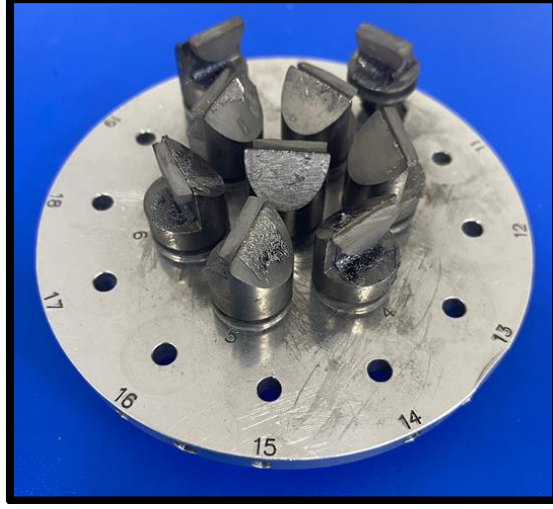
Şekil 3.34: Taramalı elektron mikroskobu



Şekil 3.35: Altın kaplama cihazı



Şekil 3.36: Örneklerin altın kaplama cihazına yerleştirilmesi



**Şekil 3.37:** Altın kaplanmış örnekler

### **3.8.İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel analizlerde Statistical Package for the Social Sciences programı (SPSS, IBM Corp. Version 22.0, Armonk, NY, USA) kullanılmıştır. Nicel veriler ortalama ve standart sapmaları ile belirtilmiştir. Verilerin normallik dağılımının kontrolü Kolmogorov-Smirnov testi ile yapılmıştır. Bonferroni düzeltmeli Kruskal-Wallis testi ile de gruplar arası karşılaştırmalar yapılmıştır.  $p \leq 0,05$  olduğunda istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Koloni Sayısı Bulguları

Deney gruplarına işlemler uygulandıktan sonra koloni sayım cihazında her bir örneğin  $10^{-1}$  dilüsyonu için tespit edilen *C. albicans* koloni sayıları Tablo 4.1’de verilmiştir.  $10^{-1}$  solüsyonlardaki koloni sayıları sayılabilir olduğu için istatistiksel analizlerde  $10^{-1}$  değerleri kullanılmıştır,  $10^{-2}$  ve  $10^{-3}$  değerlerinin istatistiksel analizinin yapılmasına gerek kalmamıştır.

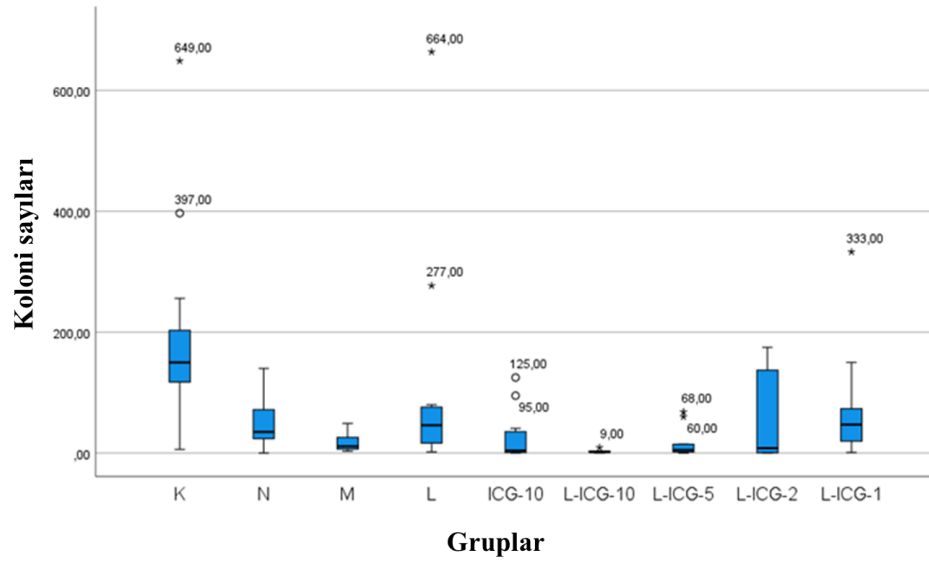
**Tablo 4.1:** *C. albicans* koloni sayıları

ÖRNEK NO	K	N	M	ICG10	L-ICG10	L-ICG5	L-ICG2	L-ICG1
1	43	86	35	17	3	2	6	150
2	150	30	11	16	2	2	175	47
3	6	0	16	2	2	60	0	18
4	150	32	36	8	9	8	70	21
5	85	140	11	46	1	5	0	50
6	150	100	4	72	3	3	8	26
7	150	58	17	80	0	14	150	73
8	150	18	3	50	2	0	150	74
9	256	11	5	20	2	15	0	7
10	649	56	49	664	0	68	1	1
11	397	35	8	277	3	1	124	333

Deney gruplarına işlemler uygulandıktan sonra gruptaki ortalama koloni sayıları ve standart sapmaları Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.2:** Ortalama koloni sayıları ve standart sapmaları

GRUP	Ortalama	Standart Sapma
<b>K</b>	198,72	182,08
<b>N</b>	51,45	42,38
<b>M</b>	17,72	15,38
<b>L</b>	113,81	198,07
<b>ICG10</b>	28,09	43,19
<b>L-ICG10</b>	2,45	2,42
<b>L-ICG5</b>	16,18	24,23
<b>L-ICG2</b>	62,18	73,12
<b>L-ICG1</b>	72,72	96,02



**Şekil 4.1:** Ortalama koloni sayıları

Tüm grupların ortalama koloni sayılarına bakıldığında en düşük değer L-ICG10 grubunda gözlenirken en yüksek değer K grubunda gözlenmiştir. Ortalama

koloni sayıları en düşükten en yükseğe doğru sırasıyla L-ICG10, L-ICG5, M, ICG10, N, L-ICG2, L-ICG1, L, K olarak tespit edilmiştir.

#### 4.2. Ortalama Koloni Sayılarının Birbirleriyle Karşılaştırılması

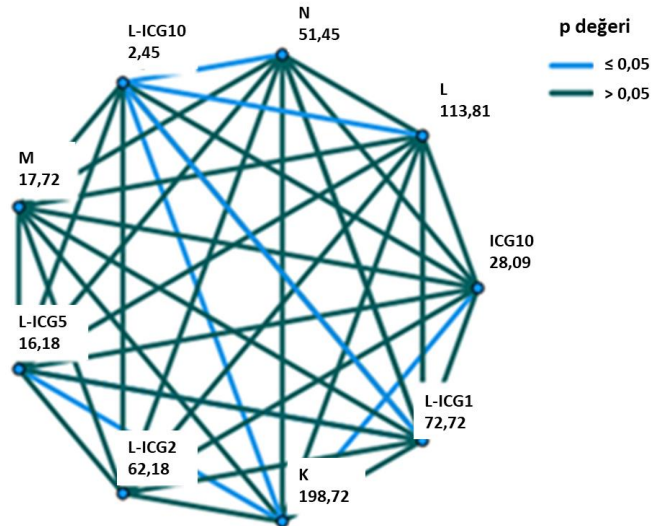
Deney gruplarının ortalama koloni sayısı birbirleriyle ve kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri Tablo 4.3’de verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ( $p \leq 0,05$ ) saptanan gruplar Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 4.3:** Gruplar arası karşılaştırmanın p değerleri

	K	N	M	L	ICG10	L-ICG10	L-ICG5	L-ICG2	L-ICG1
K	---	1	0,078	1	<b>0,009</b>	0	<b>0,004</b>	0,161	1
N	1	---	1	1	1	<b>0,038</b>	1	1	1
M	0,078	1	---	1	1	1	1	1	1
L	1	1	1	---	1	<b>0,018</b>	0,947	1	1
ICG10	<b>0,009</b>	1	1	1	---	1	1	1	1
L-ICG10	<b>0</b>	<b>0,038</b>	1	<b>0,018</b>	1	---	1	0,795	<b>0,022</b>
L-ICG5	<b>0,004</b>	1	1	0,947	1	1	---	1	1
L-ICG2	0,161	1	1	1	1	0,795	1	---	1
L-ICG1	1	1	1	1	1	<b>0,022</b>	1	1	---

Bonferroni düzeltmeli Kruskal Wallis testi

p: Anlamlılık değeri.  $p \leq 0,05$ : İstatistiksel olarak anlamlı.  $p > 0,05$ : İstatistiksel olarak anlamlı değil



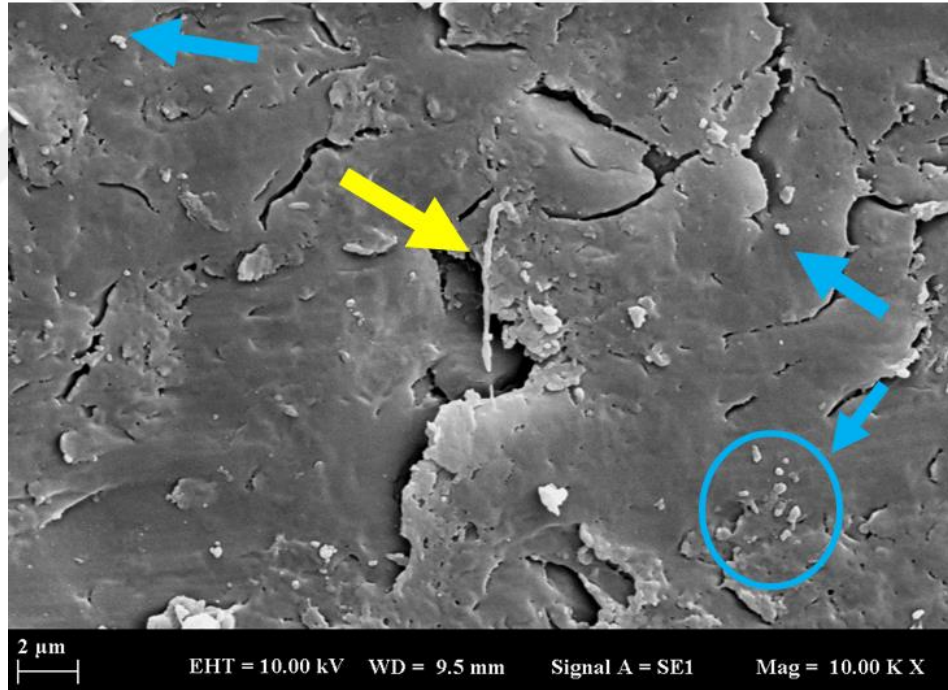
**Şekil 4.2:** Gruplar arası karşılaştırma

En yüksek koloni sayısı değeri gösteren K grubu ile L-ICG10, L-ICG5 ve ICG10 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ( $p \leq 0,05$ ) saptanmıştır (Şekil 4.2). En düşük koloni sayısı değeri gösteren L-ICG10 grubu ile K, N, L ve L-ICG1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ( $p \leq 0,05$ ) saptanmıştır (Şekil 4.2).

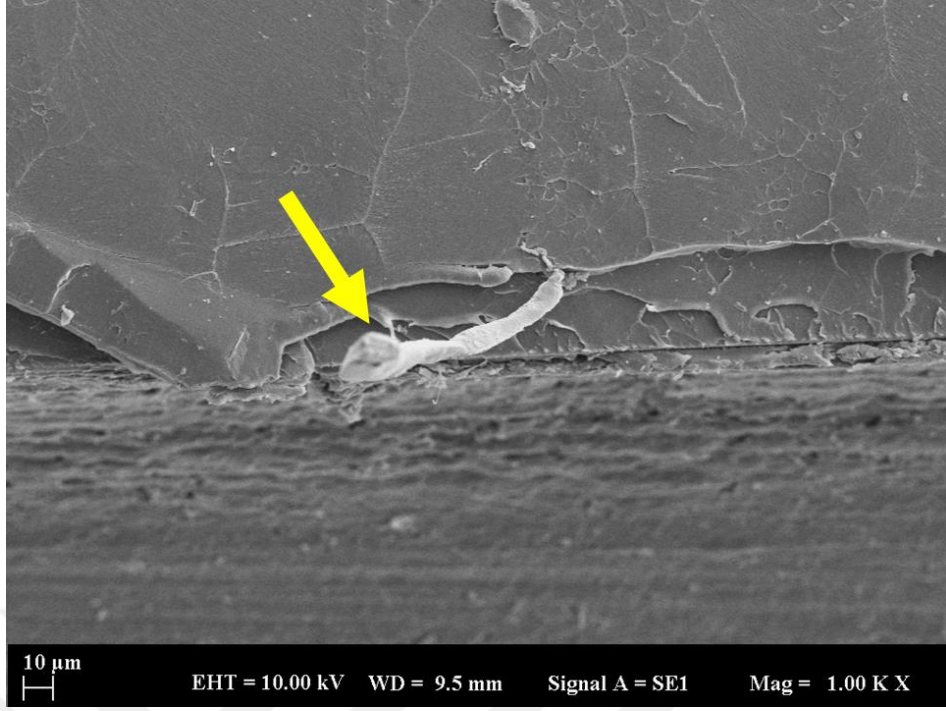
L-ICG5 grubu, L-ICG10 grubundan sonra en düşük koloni değeri gösteren grup olarak tespit edilmiş ve K grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ( $p \leq 0,05$ ) tespit edilmiştir. L-ICG5 ve L-ICG10 grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

### 4.3. SEM Analiz Bulguları

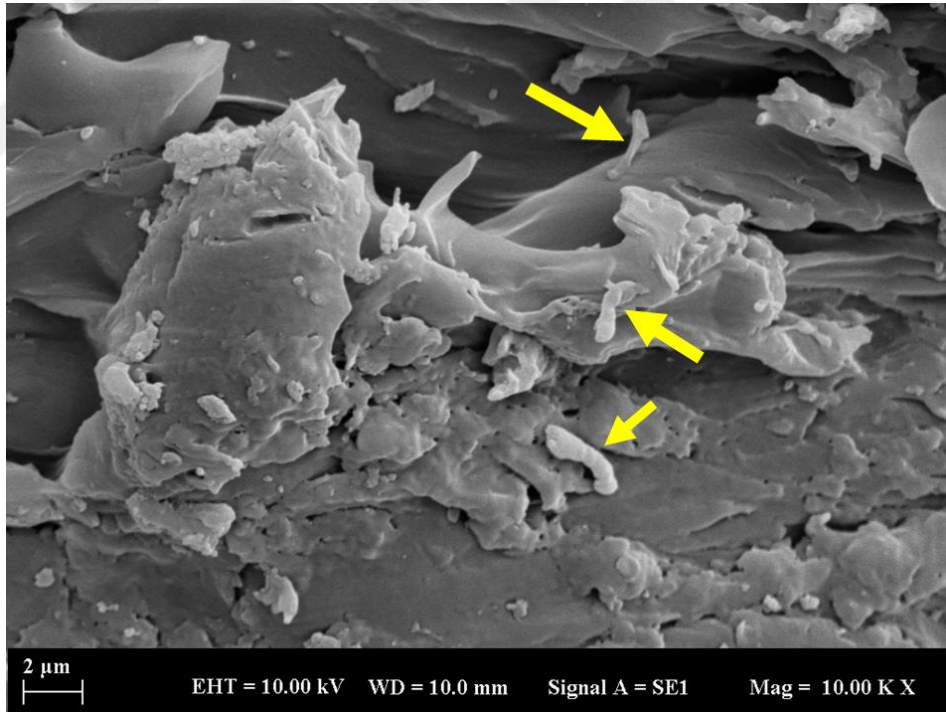
SEM için örneklerin işlemler sonrasında alınan görüntüleri Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17’de verilmiştir.



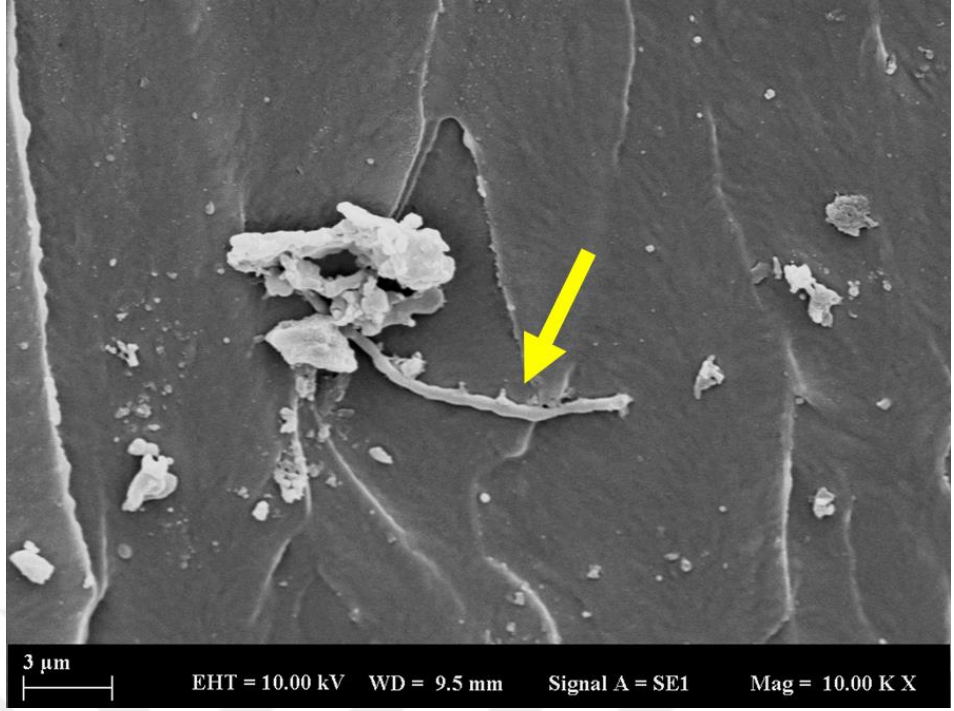
Şekil 4.3: Kontrol grubunun SEM görüntüsü



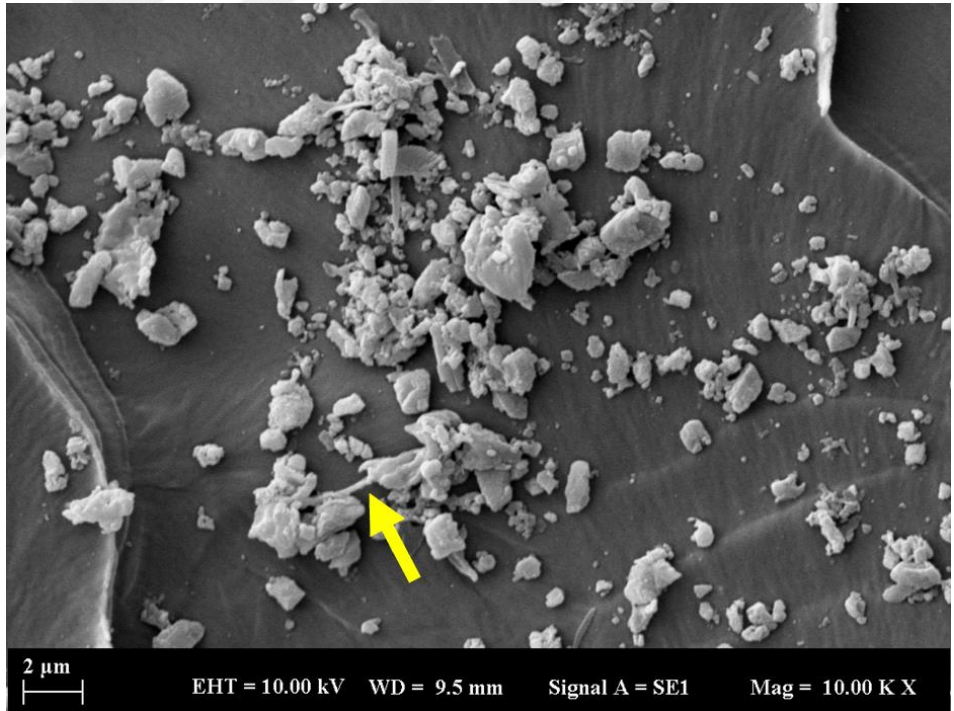
Şekil 4.4: Kontrol grubunun SEM görüntüsü



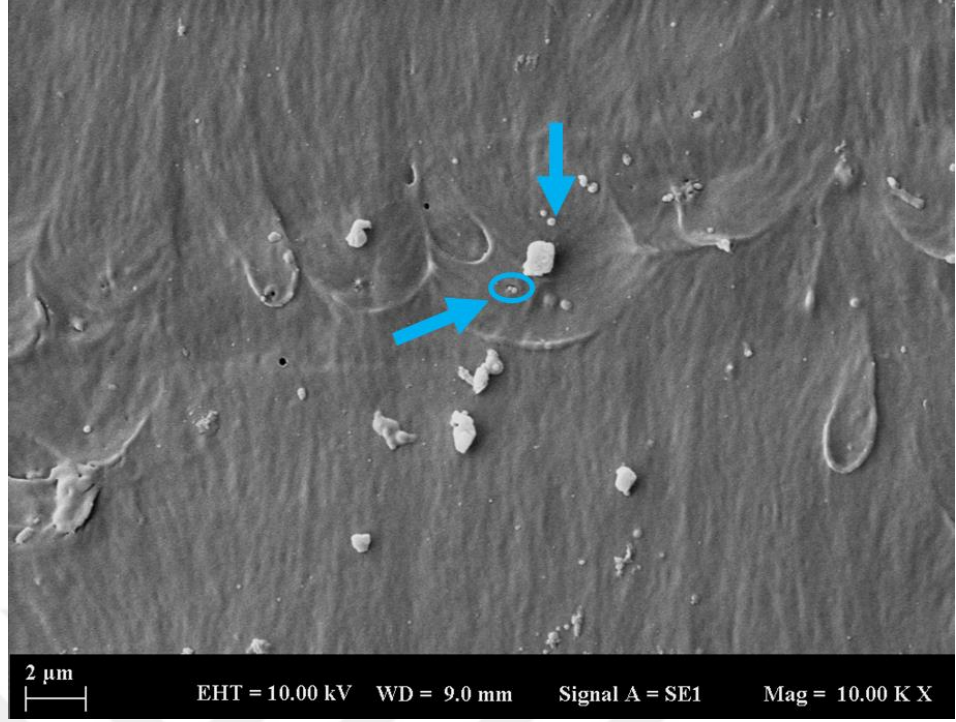
Şekil 4.5: Kontrol grubunun SEM görüntüsü



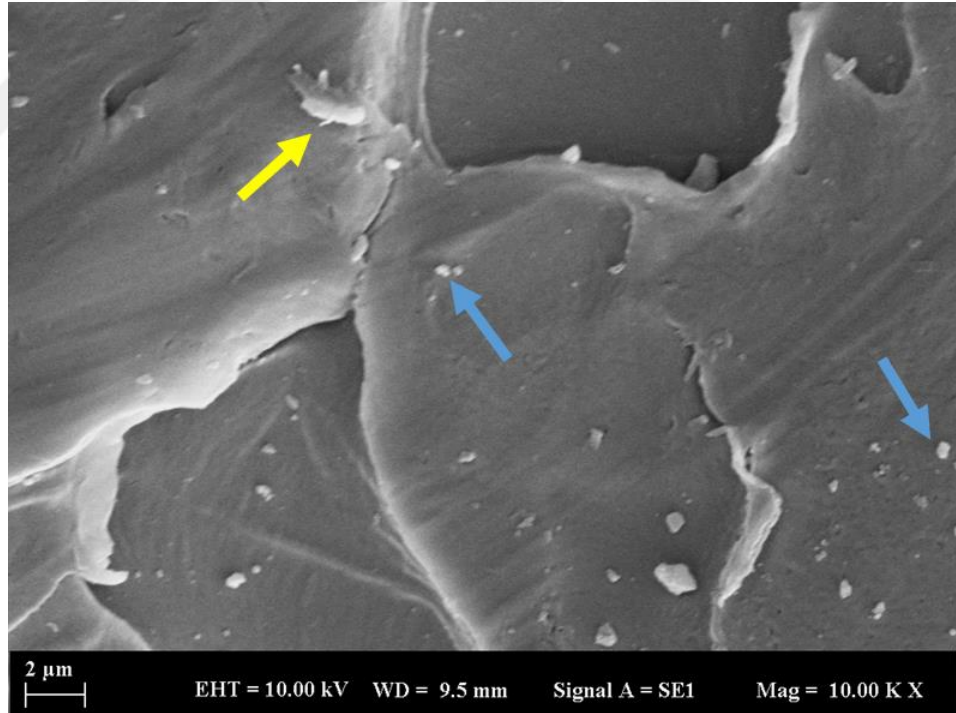
Şekil 4.6: Nistatin grubunun SEM görüntüsü



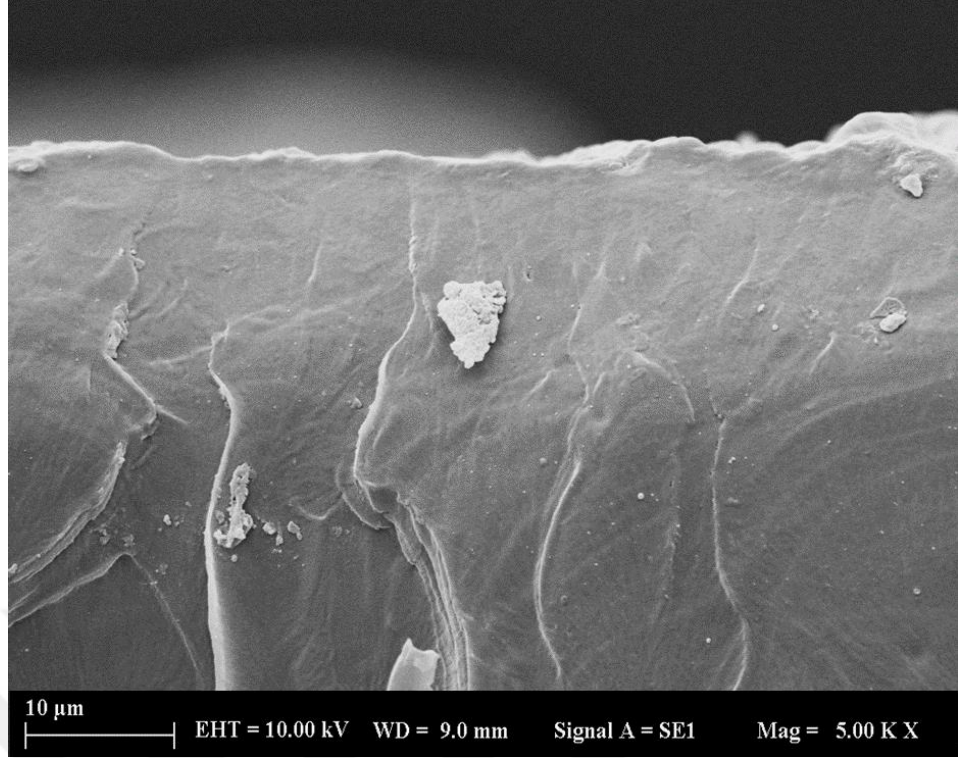
Şekil 4.7 :Mikrodalga grubunun SEM görüntüsü



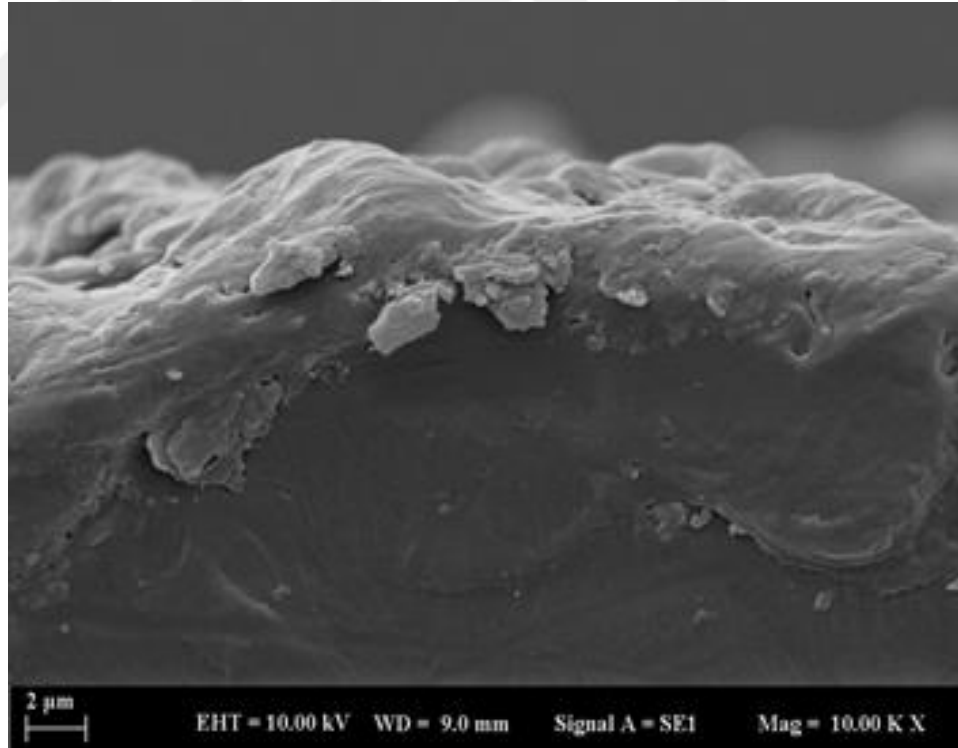
Şekil 4.8: Lazer grubunun SEM görüntüsü



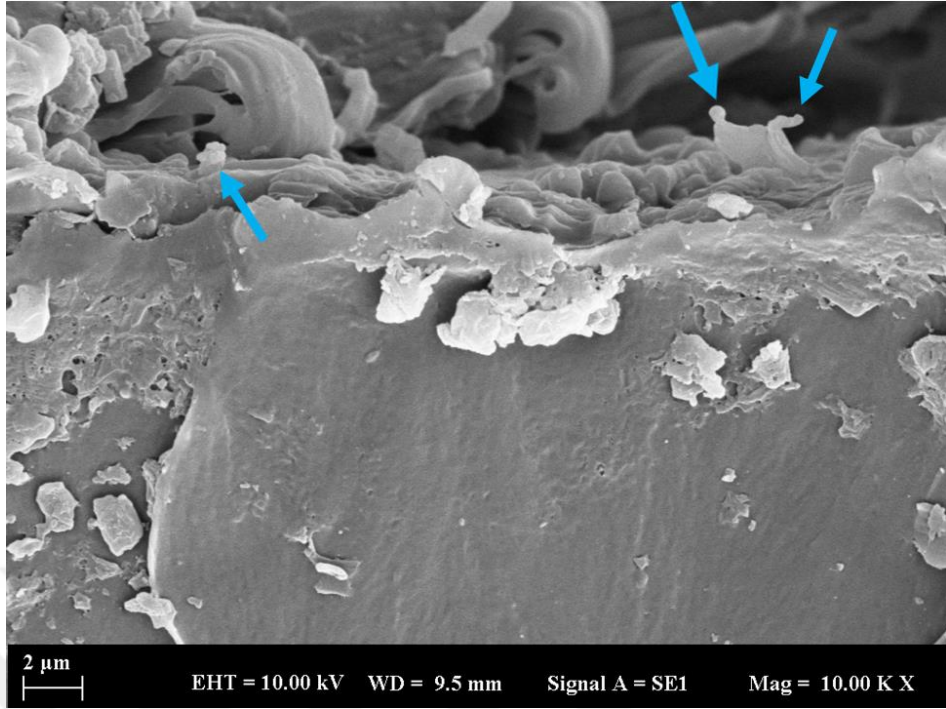
Şekil 4.9: ICG10 grubunun SEM görüntüsü



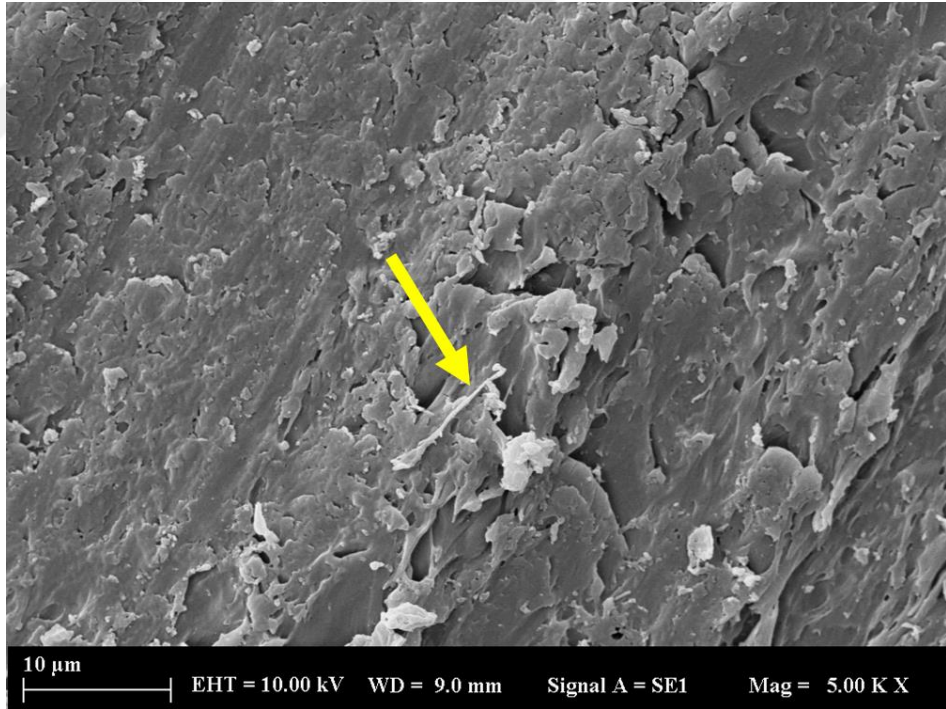
**Şekil 4.10:** L-ICG10 grubunun SEM görüntüsü



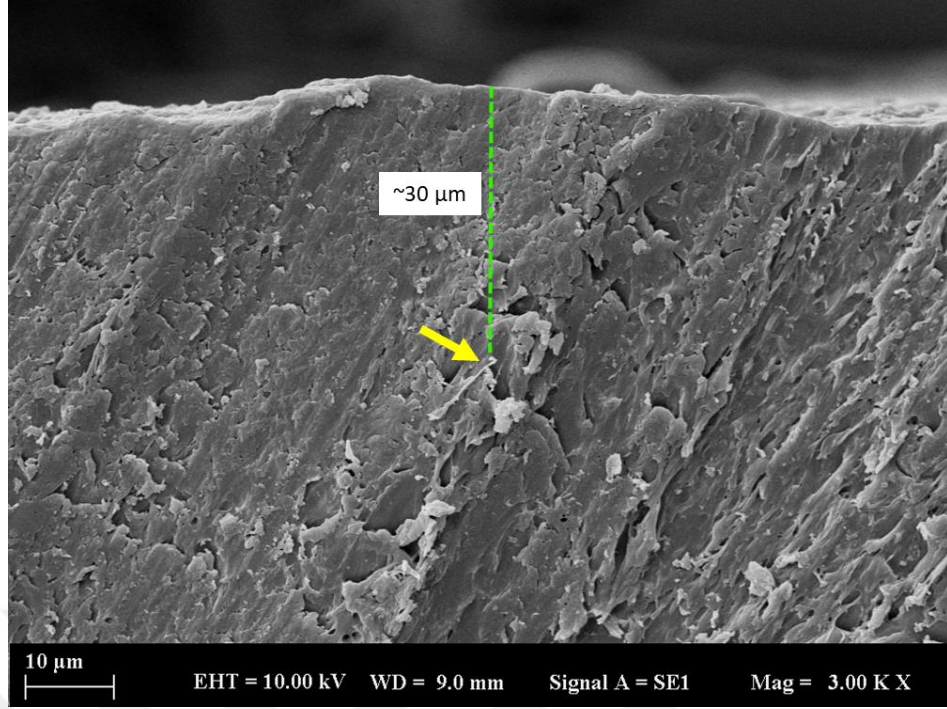
**Şekil 4.11:** L-ICG10 grubunun SEM görüntüsü



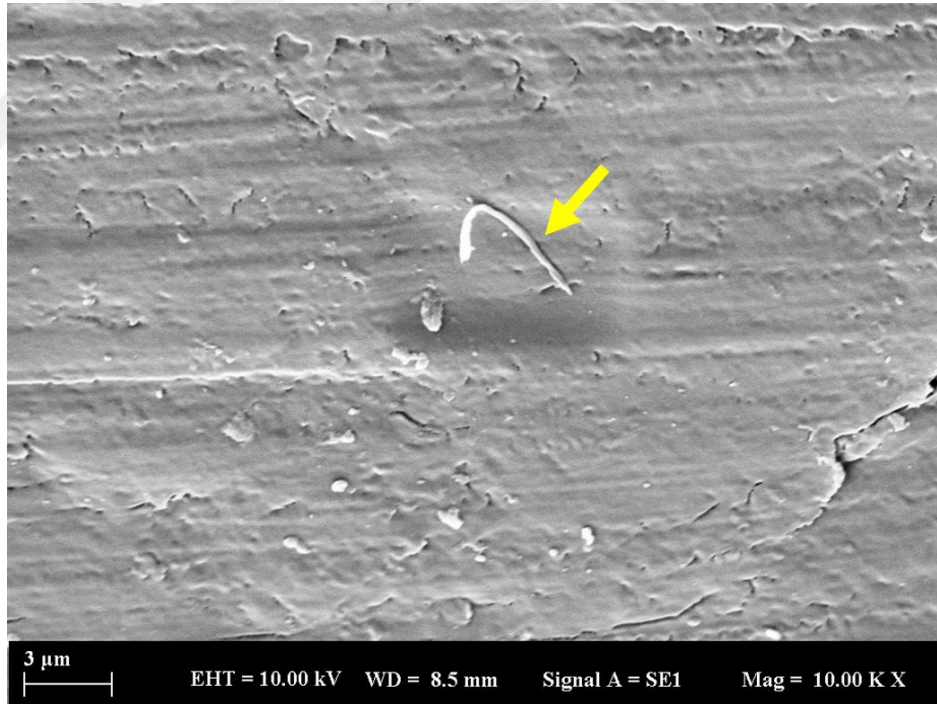
Şekil 4.12: L-ICG5 grubunun SEM görüntüsü



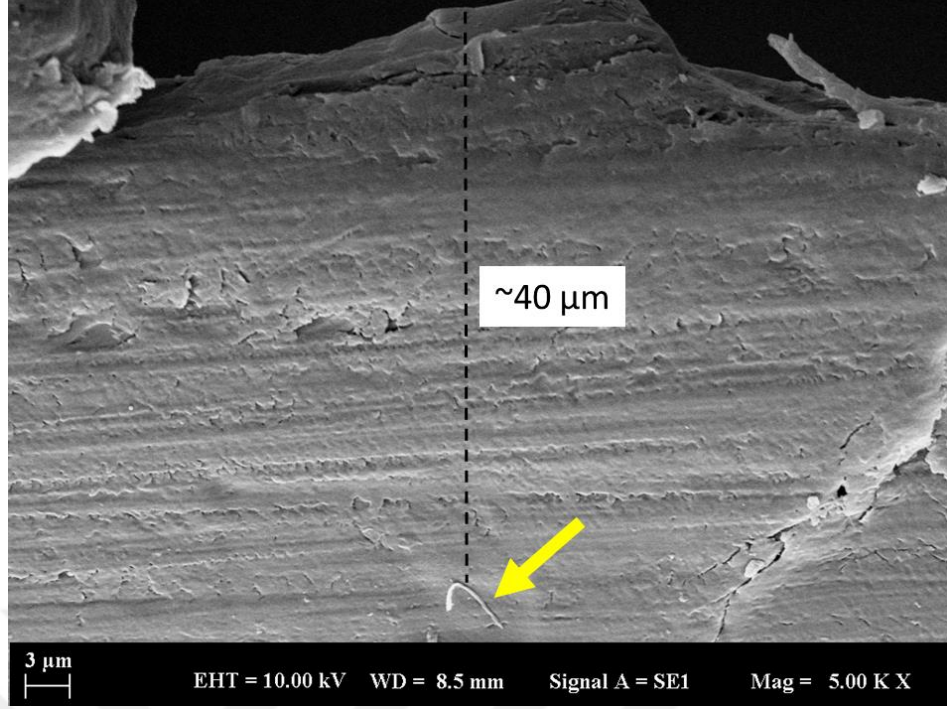
Şekil 4.13: L-ICG2 grubunun SEM görüntüsü



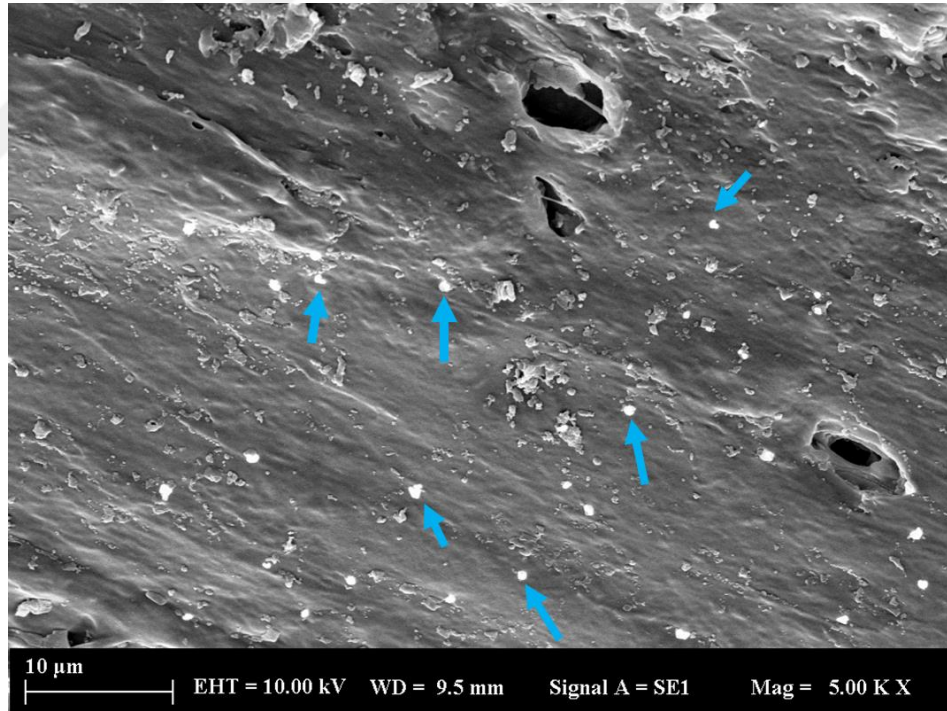
Şekil 4.14: L-ICG2 grubunun SEM görüntüsü



Şekil 4.15: L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü



Şekil 4.16: L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü



Şekil 4.17: L-ICG1 grubunun SEM görüntüsü

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Gereç ve Yöntemin Tartışılması

Bu in vitro çalışmada, ısı ile polimerize akrilik reçinede çoğalabilen *C. albicans* suşunun, akrilik reçineden uzaklaştırılmasında farklı konsantrasyonlarda ICG aracılı PDT'nin etkinliği değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, örnekler ısı ile polimerize olan PMMA materyalinden 10 mm çapında ve 2 mm kalınlığında hazırlanmıştır. Kalınlık seçiminde hareketli protezlerde minimum kaide plağı kalınlığı göz önünde bulundurulmuştur [181]. Akrilik reçinenin polimerizasyonu sonrasında, örneklerin yüzeylerindeki düzensizliklerin giderilmesi ve standardize edilmesi amacıyla, pek çok çalışmada çeşitli gren boyutlarına sahip (100, 320, 400, 600, 800, 1000, 1200) silikon karbid zımparalar kullanılmıştır [182-185]. Protez kaidelerinde *C. albicans*'lar protezin dokuya bakan ölçü yüzeyinde üremektedirler. Bu yüzey, doku ile uyumun bozulmaması için tesviye edilmemekte ve cilanmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada zımpara işlemi örnekleri pürüzsüz hale getirmek amacı ile değil, örneğin kalınlığının homojen 2 mm olabilmesi için uygulanmıştır. Örnekleri 600 numara silikon karbid zımpara ile aşındırmanın yeterli olacağı, daha ince grenlerin uygulanmasının hem gereksiz hem de gerçeği yansıtmayan bir uygulama olacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda akrilik örneklerin polimerizasyonunda, polimerizasyon siklusu olarak 70 °C'de 7 saat ve 100 °C'de 1 saat süre ile yapılan polimerizasyon siklusu kullanılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalarda bu yöntem ile polimerize edilen protez kaide maddelerinde en iyi özelliklerin elde edildiği tespit edildiği için bu yöntem kullanılmıştır [33].

Polimerizasyonda akriliğin boyutsal olarak stabil kalabilmesi için muflanın iki parçasının hafifçe aralanmasının önüne geçebilmek amacı ile yaylı brit kullanılmıştır [24].

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. günde olduğu belirtilmiştir [186, 187]. Çalışmamızda akrilik örnekler, polimerizasyondan sonra artık monomerleri uzaklaştırmak için 1 gün boyunca suda bekletilmiştir.

Protez stomatiti, protezlerdeki mikrobiyal adezyona bağlı gelişen enfeksiyonlar arasında en yaygın görülen enfeksiyondur [2, 3]. Protez stomatitinin en temel etyolojisi olarak *C. albicans*'ın aşırı çoğalması bildirilmiştir [2, 3, 28, 89-91]. Bu nedenle çalışmamızda *C. albicans* suşu kullanılmıştır [6].

*Candida* türlerinin PMMA protez kaide maddesine adezyonunu inceleyen çeşitli çalışmalar literatürde bulunmaktadır [81, 188-195]. Bu çalışmalar kullanılan materyaller, inceleme yöntemleri, değerlendirilen parametreler açısından farklılık göstermektedir. PMMA protez kaide maddesi örneklerine bağlanan mantar hücrelerinin sayısını belirlemede ışık mikroskobu [188, 190] ve taramalı elektron mikroskobu kullanıldığı gibi [194, 195] koloni oluşturan mantar hücrelerinin besiyerinde sayılmasına dayalı yöntem de kullanılmaktadır [191-193]. Çalışmamızda nicel değerlendirme ve istatistiksel analizler yapılabilmesi için, örneklerle bağlanan *C.albicans* suşunun dekstrozlu broth besiyerinde oluşturduğu ortalama koloni sayısına göre antifungal özelliği değerlendirilmiştir.

Literatürde *C. albicans*'a karşı farklı PS'ler uygulanarak PDT'nin etkinliğinin gösterildiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. *In vitro* çalışmalarda; metilen mavisi, rose bengal, riboflavin, hematoporfirin türevi ve ICG aracılı PDT, *C. albicans*'a karşı etkili bulunmuştur [2, 6, 8, 16, 20, 21, 196]. Akrilik yüzeylerde toluidin mavisi ve metilen mavisi aracılı PDT'nin *C. albicans* hücrelerine karşı etkinliği gösterilmiştir [7, 18]. *In vivo* çalışmalarda protez stomatiti tedavisinde, hematoporfirin türevi ve metilen mavisi aracılı PDT'nin nistatin tedavisi kadar etkili olduğu bildirilmiştir [3, 4]. ICG aracılı PDT'nin nistatin tedavisiyle birlikte protez yüzeylerine ve mukozaya uygulandığı bir *in vivo* çalışmada PDT ile birlikte nistatin tedavisi, tek başına nistatin

tedavisinden daha etkili bulunmuştur ancak ICG aracılı PDT tek başına değerlendirilmemiştir [16]. Bu çalışmalar dikkate alındığında akrilik yüzeylerde üretilmiş *C. albicans* hücrelerine karşı ICG aracılı PDT'nin tek başına değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Literatürde daha önce, akrilik yüzeylere uygulanan farklı konsantrasyonlarda ICG aracılı PDT'nin etkinliği araştırılmadığından çalışmamızda PS madde olarak ICG seçilmiştir. ICG'nin aktif olduğu dalga boyu nedeniyle doku ve yüzeylerde daha derine etki edebildiği bildirildiği için çalışmamızda PS madde olarak ICG tercih edilmiştir [16] .

Çalışmamızda, ICG aracılı PDT'nin etkinliğinin değerlendirilmesinde 4 farklı konsantrasyon (10, 5, 2, 1, mg/ml) karşılaştırılmıştır. Konsantrasyonların seçiminde *C.albicans*'ın özellikleri dikkate alınmıştır çünkü hedeflenen mikroorganizmanın özellikleri, PDT başarısında anahtar role sahiptir. Her ne kadar *C.albicans* üzerinde PDT'nin etkili olduğu gösterilmiş olsa da, *C.albicans*'ın bu tedavi yöntemine gram pozitif bakterilere göre daha dirençli olduğu bildirilmiştir. ICG aracılı PDT'de Gram pozitif bakterilere kıyasla gram negatif bakterileri yok etmek için daha yüksek ICG konsantrasyonu belirtilmektedir (*S.aureus* için 6–25 µg/ml ve *P.aeruginosa* için 125–200 µg/ml aralığında ) [20, 165]. *C.albicans*, hücre boyutu bakterilerden on kat daha büyüktür ayrıca *C. albicans* bir nükleer membrana ve çift katmanlı bir hücre duvarına sahiptir. Bu nedenlerden dolayı ICG aracılı PDT'de bakterilere kıyasla *C.albicans*'a karşı daha yüksek konsantrasyonda ICG gereklidir [21]. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda bakteriler için kullanılan ICG konsantrasyonlarından daha yüksek ICG konsantrasyonları tercih edilmiştir.

Işınlama öncesi süre (Pre-irradiation time) kavramı da PDT'de önemli bir faktördür. Işınlama öncesi süre; ilgili hücre, doku, mikroorganizmaya PS uygulandıktan sonra ışınlama yapılana kadar geçen süreyi ifade eder. Hücre membranından absorbe edilen PS, daha fazla ışık emilimine izin verir bunun için de belli bir zamana ihtiyaç vardır. Işınlama öncesi süre, özellikle endodontide uygulanan PDT'de, PS'ün dentine nüfuz etmesine yardımcı olduğundan önem kazanmaktadır [153]. Abels ve ark. [197]'nin insan keratinositleri üzerinde ICG fototoksitesini araştırdığı çalışmalarında, ICG fototoksitesinin ışınlama öncesi süreye bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Akrilik yüzeylerdeki *C. albicans* hücrelerine karşı farklı PS'lerle uygulanan PDT'nin araştırıldığı çalışmalarda 5 ile 30 dakika

arasında değişen ışınlama öncesi süreleri kullanılmıştır [1]. Fekrazad ve ark.[2, 21]'nın, *C. albicans* türüne karşı, 1 mg/ml ICG aracılı PDT'nin etkinliğini değerlendirdiği çalışmalarında, 5 dakika ışınlama öncesi süre seçilmiştir. Afroozi ve ark. [16]'nın, protez stomatitinde ICG aracılı PDT'nin etkinliğini değerlendirdiği *in vivo* çalışmasında ışınlama öncesi süre olarak 10 dk seçilmiştir. Mima ve ark. [3]'nın, protez stomatitinde hematoporfirin türevi bir PS ile PDT'nin etkinliğini değerlendirdiği *in vivo* çalışmasında ışınlama öncesi süre olarak 30 dk seçilmiştir. Işınlama öncesi sürenin ne kadar olacağı tartışmalıdır [1], ancak benzer çalışmalar temel alınarak çalışmamızda ışınlama öncesi süre olarak 10 dk seçilmiştir.

Nistatin protez stomatiti tedavisinde oldukça sık kullanılan bir ilaçtır [198]. *Candida* suşları üzerindeki kanıtlanmış etkileri nedeniyle çalışmamızda pozitif kontrol grubu olarak nistatin seçilmiştir ve PDT ile karşılaştırılmıştır [4, 6].

Protez dezenfeksiyonu için mikrodalga ışını kullanılmasının basit, etkili ve ucuz bir yöntem olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [199-201]. Yapılan çalışmalarda en etkili mikrodalga uygulamasının 650 Watt, 3 dakika süre olduğu belirtilmiştir [121, 124]. Bu nedenle çalışmamızda mikrodalga ile dezenfeksiyon yönteminin etkinliği de bir grupta değerlendirilmiş ve mikrodalga enerjisinin parametresi olarak 650 Watt ve 3 dakika süre kullanılmıştır.

## 5.2. Bulguların Tartışılması

Deney gruplarına işlemler uygulandıktan sonra koloni sayım cihazında her bir örneğin  $10^{-1}$  dilüsyonu için tespit edilen *C. albicans* koloni sayıları Tablo 4.1'de verilmiştir. *C. albicans* suşunun eklendiği 11 falkon tüpte her gruptan birer adet olmak üzere 9 adet akrilik disk 5 gün süre ile bekletilmiştir. Dolayısıyla her akrilik disk kendi serisindeki kontrol grubu *C. albicans* koloni sayısı ile karşılaştırılabilmiştir. Ancak bazı serilerin kontrol grubunda *C. albicans* üremesi daha az olurken bazı serilerde daha fazla üreme gerçekleşmiştir. Bu durum seriler arasında karşılaştırmayı güçleştirirse de koloni sayısı sıfır olan yani uygulanan işlemin *C. albicans* hücrelerini tamamen öldürdüğu değerler ve çok az koloni sayısı bulunan değerler mikrobiyolojik açıdan önem arz etmektedir. Örneğin L-ICG10 grubunda *C. albicans* koloni sayısı tüm serilerde 10'dan düşüktür ve iki seride sıfırdır. L-ICG5 grubunda 7 seride 10'dan düşük değerler mevcuttur ve 1 seride sıfır *C. albicans* koloni sayısı tespit edilmiştir.

N, M, ICG10, L-ICG1 serilerinde de 10'dan büyük 100'den küçük değerler tespit edilmiştir. L-ICG2 grubuna bakıldığında çok düşük değerler görülürken 100'den büyük değerler de tespit edilmiştir.

Çalışmamızda K grubunun ortalama koloni miktarı ile L-ICG10, L-ICG5 ve ICG10 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık ( $p \leq 0,05$ ) saptanmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2). Dolayısıyla akrilik disklerle penetre olabilen *C. albicans*'lara karşı ICG aracılı PDT'nin etkinliği yoktur şeklindeki sıfır hipotezi reddedilmiştir. Çalışmamızda ortalama koloni sayısının kontrol grubuna göre L-ICG10 ve L-ICG5 gruplarında daha düşük tespit edilmesi, *C. albicans* hücrelerinin ICG aracılı PDT'ye duyarlı olduğunu göstermektedir.

PDT'ye eşlik eden farklı PS'ler; (metilen mavisi, toluidin mavisi, ALA ve ICG) literatürde antifungal etkileri için incelenmiştir. Araştırmalar *Candida* türlerinin dirençli suşlar dahil, PDT'ye duyarlı olduğunu göstermiştir [2, 6-8, 16, 18, 20, 21, 196]. Sonuçlar üzerinde bir fikir birliği olmamakla birlikte; PS'nin türünden bağımsız olarak PDT'nin antifungal etkisi herkes tarafından kabul edilmektedir. ICG aracılı PDT'nin etkinliği ile ilgili literatürde çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen, bu yöntemin *C. albicans* üzerindeki etkileri hakkında sınırlı sayıda makale mevcuttur [2, 6, 16, 20, 21] ve bu makalelerde doğrudan *C. albicans* hücreleri üzerinde çalışılmıştır; protez kaide plağı üzerinde tek başına PDT'nin etkisinin incelendiği bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışmalarda kullanılan yöntem, lazer parametreleri, ICG konsantrasyonları gibi faktörler değişse de çalışmamızın sonuçlarında olduğu gibi ICG aracılı PDT *C. albicans* hücreleri üzerinde etkili bulunmuştur.

PDT'nin başarısında, uygulanan PS'ün konsantrasyonu önemli faktörlerden biridir. Çalışmamızda 10 mg/ml ve 5 mg/ml ICG'nin lazer ışını ile birlikte uygulandığı gruplarda (L-ICG10, L-ICG5), *C. albicans* ortalama koloni sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az sayıda tespit edilmiştir. ICG aracılı PDT'nin *C.albicans* hücrelerine karşı etkinliğinin araştırıldığı çalışmalara bakıldığında, ICG'nin farklı konsantrasyonlarının değerlendirildiği görülmektedir. Tavangar ve ark.[20], çalışmamız bulguları ile uyumlu şekilde, *in vitro* çalışmalarında *C. albicans*'a karşı 5 mg/ml konsantrasyonda ICG kullanmışlar

ve ICG aracılı PDT uygulanan grupta, kontrol grubuna göre *C. albicans* koloni sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızda 2 mg/ml ve 1 mg/ml ICG'nin lazer ile uygulandığı gruplar ile (L-ICG2 ve L-ICG1), kontrol grubu (K) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Çalışmamızın aksine Fekrazad ve ark. [2, 21] ise *C. albicans* suşuna karşı 1 mg/ml ICG aracılı PDT'nin etkinliğini değerlendirmişler ve *C. albicans* sağkalımını azaltmada 1 mg/ml ICG aracılı PDT'nin etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Yazarların bu bulgusu, çalışmamız sonuçları ile çelişmektedir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın yöntemsel değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızdan farklı olarak bu çalışmalarda akrilikler yüzeyler üzerinde çalışılmamıştır. Ayrıca bu çalışmalarda uygulanan lazer parametreleri de çalışmamızla farklılıklar göstermektedir.

Çalışmamızda L-ICG10 ve L-ICG1 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ve L-ICG10 grubundaki koloni sayısı L-ICG1 grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir. Bu veriye göre PS konsantrasyonunu belirgin şekilde arttırmanın daha fazla *C. albicans* hücre ölümüyle sonuçlanabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda, L-ICG2 grubunun bazı serilerinde koloni miktarının sıfır olduğu gözlenmiştir. Bu grupta bazı serilerde etkinliğin yüksek olmasının nedeni, bu konsantrasyonda boyanın *Candida* hücreleri üzerine direkt toksik etki göstermeyip optik bariyer de oluşturmadan daha fazla ışık geçişine izin vermesi olabilir. Yani *Candida* hücreleri bu konsantrasyonda boyaya tam olarak doymuş olabilir ve bağlanmayan boya miktarı da düşük olduğu için optik bariyere neden olmadan lazer ışığının penetrasyonuna izin vermiş olabilir.

PDT'nin etkili olabilmesi için üç faktörün varlığı gereklidir, bunlar; PS, ışık ve oksijendir. Tek başına PS veya tek başına ışığın etkisiz olması beklenmelidir [16]. PS'ün ışık olmadan tek başına etkili olması uygulanan hücreye karşı karanlık toksisite göstermesi yani o konsantrasyonda doğrudan toksik olması olarak açıklanır [165]. Çalışmamızda 10 mg/ml ICG'nin lazer ışığı olmadan uygulandığı grupta (ICG10), ortalama *C. albicans* koloni sayısı kontrol grubuna (K) göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni ICG'nin 10 mg/ml konsantrasyonda *C. albicans* hücrelerine karşı karanlık toksisite göstermesi

olabilir. Tavangar ve ark.[20]'nın 5 mg/ml konsantrasyonda ICG kullanarak farklı *Candida* suşlarına karşı PDT'nin etkinliğini değerlendirdiği çalışmasında tek başına ICG'nin etkinliği de incelenmiştir. Bu konsantrasyonda tek başına ICG, kontrol grubuna kıyasla, *C. albicans* dışında diğer *Candida* türlerine (*Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*) antimikrobiyal etki göstermiştir. Ancak bu çalışmada 10 mg/ml konsantrasyonda ICG ile çalışılmamıştır. Karanlık toksisite PS'ün konsantrasyonuna bağlı olduğu gibi etki ettiği mikroorganizmaya da bağlıdır. Kim ve ark. [10]'nın ICG aracılı PDT'nin hidroksiapatit diskler üzerindeki *S.mutans* hücrelerine karşı etkinliğini araştırdığı çalışmasında da lazer ışını uygulanmadan tek başına 2 mg/ml ICG'nin koloni sayısını düşürdüğü gözlenmiştir. Yazarlar, bu durumu karanlık toksisite veya karanlık toksisiteden ayrı olarak ICG'nin mümkün olduğunca karanlık ortamda saklanmasına rağmen hafif ışığa maruz kalma neticesinde bile fotoreaksiyon gerçekleşmesi ile açıklamışlardır. Çalışmamızda, ICG akrilik diskler üzerine uygulandıktan sonra 10 dk karanlık ortamda bekletilmiştir ve mümkün olduğunca gün ışığına maruz kalmamasına dikkat edilmiştir, yine de çok sınırlı da olsa gün ışığından etkilenecek fotoreaksiyon gerçekleşmiş olabilir.

Çalışmamızda 10 mg/ml ICG aracılı PDT, nistatin tedavisine göre daha düşük koloni sayısı göstermektedir ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmaktadır ancak 5 mg/ml ICG aracılı PDT ile nistatin tedavisi arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır. Tavangar ve ark.[20]'nın *Candida* suşlarına karşı 5 mg/ml konsantrasyonda ICG aracılı PDT ile nistatin tedavilerinin etkinliklerini karşılaştırdığı çalışmasında, çalışmamıza benzer şekilde nistatin tedavisi ile 5 mg/ml konsantrasyonda ICG aracılı PDT uygulaması arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmediği tespit edilmiştir.

Azizi ve ark. [6], çalışmalarında ICG aracılı PDT'nin *C. albicans* üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve bu yöntemi nistatin ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmaya göre PDT'de farklı lazer modları (devamlı ve atımlı) kullanılmıştır ve nistatin tedavisi *C. albicans* eliminasyonunda devamlı modda PDT'den daha iyi sonuçlar göstermiştir. Ancak ICG aracılı PDT atımlı lazer modunda kullanıldığında PDT'nin nistatinden daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. PDT'nin nistatin tedavisi ile karşılaştırıldığı bu çalışmada akrilik diskler üzerindeki değil doğrudan *C. albicans* üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çalışma ile çalışmamız arasında

kullanılan lazer parametrelerinde de farklılıklar bulunmaktadır. Bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda akrilik diskler üzerinde PDT'nin etkinliği araştırılmıştır. Çalışmamızda nistatin akrilik disklerin yüzeyindeki *C. albicans* hücrelerine daha yoğun şekilde etki etmiş olabilir, oysa ki *C. albicans* hücreleri özellikle hif formları akriliğin derinlerine nüfuz edebilir [4, 5]. Nistatinin aksine ICG aracılı PDT'nin ise etkili olduğu dalga boyundan dolayı dokularda ve yüzeylerde derine etki edebildiği bildirilmiştir [9, 16, 167, 197]. Çalışmamızda da ICG aracılı PDT akrilik disklerde daha derini etkilemiş ve *C.albicans* hücrelerini nistatinden daha fazla öldürmüş olabilir. Akrilik diskler tedavilerden sonra vorteks işlemine tabi tutulmuştur. Nistatin tedavisi yapılmış akrilik disklerin yüzeylerindeki *Candida* sayısı azalmış olsa bile derinliklerinde yer alan *C. albicans* hücreleri ICG aracılı PDT'ye göre daha çok olduğu için vorteks işlemiyle, yüzeyden sürüntü alınan çalışmalara göre daha fazla *C. albicans* solüsyona aktarılmış olabilir.

Mevcut bilgilerimize göre literatürde daha önce akrilik yüzeyler üzerinde mikrodalga dezenfeksiyonu ile PDT'nin etkilerinin karşılaştırıldığı çalışma bulunmamaktadır. Protez stomatinin tedavisinde nistatin tedavisi ile mikrodalga dezenfeksiyonunun karşılaştırıldığı çalışmalara bakıldığında; Silva ve ark.[202], 14 günlük bir tedavi periyodu ve 30, 60, 90 günlük takipler sonrasında protezlerin haftada bir kez 650 W ve 3 dakika ev tipi mikrodalga fırın ile dezenfeksiyonu işleminin, günde 4 kez 14 gün nistatin kullanımı kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir. Mikrodalga dezenfeksiyonunun protez stomatiti tedavisi için komplike durumlar hariç birçok hastada ilaç tedavisi olmadan yeterli olacağını savunmuşlardır. Mikrodalga dezenfeksiyonunun, protez yüzeylerinde özellikle *C. albicans*'ın invaziv formlarını yani psödohif ve hif formlarını azalttığı, böylece mantar hücrelerinin yüzeyde olgunlaşmış yerleşik bir biyofilm oluşturmasını engellediği belirtilmiştir. Hareketli protezlerin kaide plağı, protez stomatitinde asıl enfeksiyon kaynağıdır ve *Candida* suşları ve diğer mikroorganizmalar için rezervuar görevi görür. Bu nedenle nistatin gibi sadece mukoza tedavisini hedefleyen tedaviler yerine mikrodalga dezenfeksiyonu gibi protez yüzeyine yönelik işlemlerin yapılması gerektiği bildirilmiştir [202]. Sanita ve ark [203], benzer şekilde protez stomatitinde mikrodalga dezenfeksiyonunun nistatin tedavisi kadar etkili olduğunu bildirmişlerdir ancak mikrodalga uygulaması ile protezlerde boyutsal değişikliklerin meydana geldiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [122, 123, 125, 126]. Çalışmamızın

bulgularına göre ise ne nistatin (N) grubu ile, ne PDT grupları (L-ICG10, L-ICG5, L-ICG2, LICG1) ile, ne de kontrol grubu (K) ile mikrodalga grubu (M) arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Mikrodalga dezenfeksiyonunu etkili bulan çalışmalarla çalışmamızın bulguları arasındaki farklılığın *C. albicans* koloni sayısını değerlendirme yönteminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda akrilik örnekler vorteks işlemine tabi tutularak akrilik içine nüfuz etmiş olan *C. albicans* hücrelerinin de solüsyona çıkması sağlanmıştır. Ancak diğer çalışmalar, protez kaide materyalinin sadece yüzeyinden sürüntü alınarak yapılmıştır.

Endodontide sadece lazer uygulaması endodontik patojen bakteriler üzerinde etkili bulunmuştur [204-206]. Bunun nedeninin fototermal etki, yani diod lazer kaynaklı ısı artışı olabileceği öne sürülmüştür. Kim ve ark. [10]'nın ICG aracılı PDT'nin hidroksiapatit diskler üzerindeki *S. mutans* hücrelerine karşı etkinliğini araştırdığı çalışmasında sadece lazer uygulanan gruplarda biyofilm sıcaklığının 10, 20 ve 60 sn uygulamalarda sırasıyla 5.2°C, 8.7°C ve 11°C arttığı bulunmuştur. Kim ve ark.[10], ICG aracılı PDT uygulamasının fotodinamik terapi veya fototermal terapi olarak tanımlanması yerine fotodinamik ve fototermal etkilerin beraber meydana geldiği bir fotoreaksiyon olarak tanımlanmasını önermişlerdir. Ancak çalışmamızda sadece lazer uygulamasının akrilik yüzeyinde bulunan ve akrilik içine nüfuz etmiş *C. albicans* hücrelerine bu şekilde bir etkisi olduğu söylenemez çünkü kontrol grubu (K) ile sadece lazer uygulanan grup (L) arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmamızın aksine, Tavangar ve ark.'larının [20] çalışmasında sadece lazer veya ICG aracılı PDT'nin ikisi de *C.albicans*'a karşı etkili bulunmuştur. Bu durum farklı lazer parametreleri gibi yöntemsel farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca bu çalışmada akrilik disklerdeki *C. albicans*'larla değil, doğrudan *C. albicans* ile çalışılmıştır.

Çalışmamızda her bir akrilik diskin tüm yüzeyi, 810 nm dalga boyunda, devamlı modda 60 sn, 24 J/ cm<sup>2</sup> doz, 300 mW güçte diod lazer ile taranmıştır. Akrilik diskler, her iki yüzey de 60'ar saniye olacak şekilde toplam 120 saniye ışınlanmıştır. Literatürde ICG aracılı PDT'nin *C. albicans* hücrelerine karşı etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda lazer parametreleri farklılıklar göstermektedir ve literatür birliği bulunmamaktadır.

Azizi ve ark. [6]'nın, *C. albicans* hücrelerine karşı ICG aracılı PDT uygulamasını araştırdığı çalışmada diyet lazer ile devamlı modda, 808 nm dalga boyunda, 10 J/cm<sup>2</sup> dozunda, 100 mW çıkış gücünde, 100 sn süre ışınlama yapılmıştır. Aynı çalışmada lazerin farklı modlarının etkinliğini değerlendirmek için bir grupta da diğer parametreler aynı tutularak atımlı modda lazer 200 sn boyunca kullanılmıştır ve *C. albicans* koloni sayısını azaltmada ICG ile birlikte atımlı 200 sn kullanılan lazerin, devamlı modda 100 sn uygulanan lazere göre daha etkili olduğu bulunmuştur.

Tavangar ve ark.[20]'nın, *C. albicans* hücrelerine karşı ICG aracılı PDT uygulamasını araştırdığı çalışmada, 808 nm dalga boyunda 100 mW güçte, 10 J/cm<sup>2</sup> dozda 1 cm çapta diod lazer 100 sn devamlı ve non-kontakt modda uygulanmıştır.

Fekrazad ve ark.[2]'nin, *C. albicans* hücrelerine karşı ICG aracılı PDT uygulamasını araştırdığı çalışmada, 810 nm dalga boyunda 300 mW güçte, sürekli modda, 55 J/cm<sup>2</sup> enerji yoğunluğunda ve 4,5 mm çapta diod lazer 30 sn süresince uygulanmıştır.

Afroozi ve ark. [16] protez stomatitinde *C. albicans* kolonizasyonunu azaltmak için hem protez yüzeyine hem de hastaların damak yüzeyindeki lezyonlara, ICG aracılı PDT uygulamışlardır. Lazer parametrelerini, 810 nm dalga boyu, devamlı mod, 56 J/cm<sup>2</sup> doz olarak seçmişlerdir ve her ışınlama noktası birbirinden 1 cm uzaklıkta olacak şekilde 30 saniye boyunca ışınlamışlardır.

Tüm bu çalışmalarda, PDT uygulamalarında farklı lazer parametreleri kullansa da *C. albicans* hücrelerine karşı etkili bulunmuştur, yine de PDT protokolünde standardizasyona ihtiyaç vardır. Çünkü lazer parametrelerinin özellikle uygulanan sürenin değiştirilmesi hem açığa çıkan ısı miktarını hem de PDT etkinliğini; dolayısıyla hedef hücrede azalma miktarını değiştirebilir. Sürenin arttırılması daha fazla *C. albicans* hücre ölümünü sağlayabilir Protez yüzeyinde kullanıldığında ısı artışının akriliğin özelliklerini etkileyip etkilemeyeceği ise değerlendirilmesi gereken başka bir konudur.

SEM görüntülemelerinde akrilik örneklerin derinlerine yerleşen *C. albicans* hücrelerinin tespiti amaçlanmıştır. SEM görüntülerinde L-ICG10 grubunun kesitinde

*C. albicans* tespit edilmemiştir (Şekil 4.10 ve 4.11). K, N, M, ICG10, L, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1 gruplarının kesitlerinde ise *C. albicans*'lar tespit edilmiştir (Şekil 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.12, 4.13, 4.15 ve 4.17). Mavi ok ile maya formları, sarı ok ile hif formları görüntüler üzerinde gösterilmiştir. Maya formları oval ve elipsoid şekilli tek hücre olarak veya tomurcuklanan tek hücre olarak gözlenmiştir. Hif formlarının karakteristik olarak boğumlu yapı gösterdiği görülmektedir. Ayrıca L-ICG2 grubundaki hif formu akriliğin yüzeyinden itibaren yaklaşık 30 µm derinde, L-ICG1 grubunda ise hif formu akriliğin yüzeyinden itibaren yaklaşık 40 µm derinde tespit edilmiştir (Şekil 4.14 ve 4.16). *C. albicans*'ın akriliğin içerisine penetre olabildiği çalışmamızda olduğu gibi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [4, 5]. L-ICG10 grubunda, *Candida* tespit edilmemesi kesitten sadece belirli bir bölgeden görüntü alınması ile veya uygulanan işlemin *Candida* üzerine etkili olması ile açıklanabilir.

*In vitro* çalışmalar ne kadar hassas planlanırlarsa planlansınlar, *in vivo* koşulları tam olarak sağlayamamaktadırlar ve çeşitli sınırlamaları bulunmaktadır. Çalışmamızda bulunan sınırlamalar şu şekilde sıranabilir:

Akrilik örneklerin üretiminde her ne kadar firma talimatlarına uyulsa da, üretim sürecinden kaynaklı akrilik disklerin tamamen standart şekilde üretilebilmeleri güçtür. Akrilik disklerin içerisindeki boşluk miktarlarının farklılık göstermesi ise hem *C. albicans*'ın buralara yerleşmesini, hem de uygulanan dezenfeksiyon yönteminin etkinliğini etkilemiş olabilir.

Çalışmada, ağız ortamı veya uzun yıllar ağızda kullanılmış olgun biyofilm içeren protez yüzeyleri taklit edilememiştir. Protez stomatitinde en çok suçlanan mikroorganizma *C. albicans* olsa da EPS matrisi ile çevrilmiş birden çok tür içeren kompleks biyo-filmelerin tedavilere karşı kendilerine daha iyi bir savunma hattı oluşturabildiği unutulmamalıdır. Pereira ve ark. [18], *in vitro* çalışmalarında akrilik yüzeylerde üretilmiş *C. albicans*, *S. aureus*, ve *S. mutans* mikroorganizmalarının tekli, ikili ve üçlü biyo-filmlerine karşı metilen mavisi ile birlikte uygulanan PDT'nin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Tek tür biyo-filmelerde koloni sayısı azalışının, belirgin olarak ikili ve üçlü biyo-filmelere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak, *C. albicans*'ın ortadan kaldırılmasında ICG aracılı PDT etkili olduğu bildirilmektedir ancak deneysel ve klinik koşullar arasındaki farklar göz

önüne alındığında, bu konu ile ilgili daha fazla klinik ve laboratuvar çalışmalarına ihtiyaç vardır. En uygun sonucu elde etmek için; farklı ICG konsantrasyonları, *C.albicans*'a karşı ICG toksisitesi, lazer parametreleri, uygulama süreleri, ışınlama öncesi süreler gibi faktörlerin araştırılması gerekmektedir. Ayrıca PDT tedavisinin akriliğin fiziksel ve mekanik özellikleri üzerindeki etkisinin ve ICG gibi PS'lerin renk veren boyalar olması dolayısıyla olası renk değişikliğinin ileriki çalışmalarda araştırılması önerilmektedir.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sınırlamaları dahilinde şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. 10 ve 5 mg/ml konsantrasyonlarda ICG ile birlikte 810 nm dalga boyunda, devamlı modda 60 sn, 24 J/ cm<sup>2</sup> doz, 300mW güçte diod lazer uygulaması, protez kaide plağındaki *C. albicans* koloni sayısını azaltmada etkilidir.
2. Tek başına 10 mg/ml konsantrasyonda ICG, *C. albicans* hücrelerine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir.
3. SEM görüntülerinde L-ICG10 grubunun kesitinde *C. albicans* tespit edilmemiştir. K, N, M, ICG10, L, L-ICG5, L-ICG2, L-ICG1 gruplarının kesitlerinde ise maya ve hif formlarında *C. albicans*'lar tespit edilmiştir.
4. Protez stomatiti tedavisinde ICG aracılı PDT ile dezenfeksiyon uygulaması umut verici sonuçlar ortaya koymuştur ancak bu yöntemi klinik pratikte uygulamak ve güvenli protokolleri belirlemek için hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

- [1] **Varela Kellesarian, S., Abduljabbar, T., Vohra, F., Malmstrom, H., Yunker, M., Varela Kellesarian, T., Romanos, G. E. and Javed, F.** (2017). Efficacy of antimicrobial photodynamic therapy in the disinfection of acrylic denture surfaces: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 17, 103-110.
- [2] **Fekrazad, R., Ghasemi Barghi, V., Poorsattar Bejeh Mir, A. and Shams-Ghahfarokhi, M.** (2015). In vitro photodynamic inactivation of *Candida albicans* by phenothiazine dye (new methylene blue) and Indocyanine green (EmunDo(R)). *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 12(1), 52-57.
- [3] **Mima, E. G., Vergani, C. E., Machado, A. L., Massucato, E. M., Colombo, A. L., Bagnato, V. S. and Pavarina, A. C.** (2012). Comparison of Photodynamic Therapy versus conventional antifungal therapy for the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical trial. *Clin Microbiol Infect*, 18(10), E380-388.
- [4] **Alrabiah, M., Alsahhaf, A., Alofi, R. S., Al-Aali, K. A., Abduljabbar, T. and Vohra, F.** (2019). Efficacy of photodynamic therapy versus local nystatin in the treatment of denture stomatitis: A randomized clinical study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 28, 98-101.
- [5] **Latib, Y. O., Owen, C. P. and Patel, M.** (2018). Viability of *Candida albicans* in Denture Base Resin After Disinfection: A Preliminary Study. *Int J Prosthodont*, 31(5), 436-439.
- [6] **Azizi, A., Amirzadeh, Z., Rezai, M., Lawaf, S. and Rahimi, A.** (2016). Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans*. *J Photochem Photobiol B*, 158, 267-273.
- [7] **Wiench, R., Skaba, D., Stefanik, N., Kepa, M., Gilowski, L., Cieslar, G. and Kawczyk-Krupka, A.** (2019). Assessment of sensitivity of selected *Candida* strains on antimicrobial photodynamic therapy using diode laser 635 nm and toluidine blue - In vitro research. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 27, 241-247.
- [8] **Guzel Tunccan, O., Kalkanci, A., Unal, E. A., Abdulmajed, O., Erdogan, M., Dizbay, M. and Caglar, K.** (2018). The in vitro effect of antimicrobial photodynamic therapy on *Candida* and *Staphylococcus* biofilms. *Turk J Med Sci*, 48(4), 873-879.
- [9] **Pourhajibagher, M., Chiniforush, N., Parker, S., Shahabi, S., Ghorbanzadeh, R., Kharazifard, M. J. and Bahador, A.** (2016). Evaluation of antimicrobial photodynamic therapy with indocyanine green and curcumin on human gingival fibroblast cells: An in vitro photocytotoxicity investigation. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 15, 13-18.
- [10] **Kim, Y., Park, H., Lee, J., Seo, H. and Lee, S.** (2020). Effect of Indocyanine Green and Infrared Diode Laser to *Streptococcus mutans* Biofilms. *Photobiomodul Photomed Laser Surg*, 38(10), 646-652.
- [11] **Aytac Bal, F., Ozkocak, I., Cadirci, B. H., Sirin Karaarslan, E., Cakdinleyen, M. and Agaccioglu, M.** (2019). Effects of photodynamic therapy with indocyanine green on *Streptococcus mutans* biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 26, 229-234.

- [12] **Q Mesquita, M., J Dias, C., PMS Neves, M. G., Almeida, A. and F Faustino, M. A.** (2018). Revisiting current photoactive materials for antimicrobial photodynamic therapy. *Molecules*, 23(10), 2424.
- [13] **Freire, F.** (2017). Expressão dos genes ALS3, HWP1, BCR1, TEC1, CPH1 e EFG1 de *Candida albicans* em biofilmes após inativação fotodinâmica.
- [14] **Cieplik, F., Tabenski, L., Buchalla, W. and Maisch, T.** (2014). Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. *Front Microbiol*, 5, 405.
- [15] **Rajesh, S., Koshi, E., Philip, K. and Mohan, A.** (2011). Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. *J Indian Soc Periodontol*, 15(4), 323-327.
- [16] **Afrozzi, B., Zomorodian, K., Lavaee, F., Zare Shahrabadi, Z. and Mardani, M.** (2019). Comparison of the efficacy of indocyanine green-mediated photodynamic therapy and nystatin therapy in treatment of denture stomatitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 27, 193-197.
- [17] **Mima, E. G., Pavarina, A. C., Ribeiro, D. G., Dovigo, L. N., Vergani, C. E. and Bagnato, V. S.** (2011). Effectiveness of photodynamic therapy for the inactivation of *Candida* spp. on dentures: in vitro study. *Photomed Laser Surg*, 29(12), 827-833.
- [18] **Pereira, C. A., Romeiro, R. L., Costa, A. C., Machado, A. K., Junqueira, J. C. and Jorge, A. O.** (2011). Susceptibility of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic inactivation: an in vitro study. *Lasers Med Sci*, 26(3), 341-348.
- [19] **Sousa, A. S., Prates, R. A., de Santi, M. E., Lopes, R. G., Bussadori, S. K., Ferreira, L. R. and Deana, A. M.** (2016). Photodynamic inactivation of *Candida albicans* biofilm: Influence of the radiant energy and photosensitizer charge. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 14, 111-114.
- [20] **Tavangar, A., Khozimeh, F., Razzaghi-Abyaneh, M. and Sherkat, S.** (2021). Sensitivity of Four Various *Candida* Species to Photodynamic Therapy Mediated by Indocyanine Green, an in vitro Study. *J Dent (Shiraz)*, 22(2), 118-124.
- [21] **Fekrazad, R., Poorsattar Bejeh Mir, A., Ghasemi Barghi, V. and Shams-Ghahfarokhi, M.** (2015). Eradication of *C. albicans* and *T. rubrum* with photoactivated indocyanine green, Citrus aurantifolia essential oil and fluconazole. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 12(2), 289-297.
- [22] **Kenneth J. Anusavice, D., PhD, Chiayi Shen and H. Ralph Rawls.** (2013). *Phillips' Science of Dental Materials, 12th Edition.*
- [23] **Craig, R. G. a. P., J.M.** (2002). *Restorative dental materials. 11th edition.*
- [24] **Çalikkocaoğlu, S.** (2010). *Dişsiz hastaların protetik tedavisi: klasik tam protezler.* Quintessence.
- [25] **Bortun, C. M., Ardelean, L., Rusu, L. and Corina, M.** (2012). Importance of Modern Light-curing Resins in the Design of Removable Partial Dentures. *Revista de Chimie*, 63, 428-431.
- [26] **Sakaguchi, R. L. and Powers, J. M.** (2012). *Craig's restorative dental materials-e-book.* Elsevier Health Sciences.
- [27] **Chaing, B. K. P.** (1984). Polymers in the service of prosthetic dentistry. *Journal of Dentistry*, 12(3), 203-214.
- [28] **George A. Zarb, J. H., Steven Eckert, Rhonda Jacob.** (2013). *Prosthodontic Treatment for Edentulous Patients: Complete Dentures and Implant Supported Prostheses.* Elsevier Health Sciences.
- [29] **O'brien, W. J.** (2002). Dental materials and their selection, 2002. *Quintessence.*
- [30] **Braden, M., Clarke, R. L., Nicholson, J. and Parker, S.** (2012). *Polymeric dental materials.* Springer Science & Business Media.

- [31] **Bartoloni, J., Murchison, D., Wofford, D. and Sarkar, N.** (2000). Degree of conversion in denture base materials for varied polymerization techniques 1. *Journal of oral rehabilitation*, 27(6), 488-493.
- [32] **Zafar, M. S.** (2020). Prosthodontic Applications of Polymethyl Methacrylate (PMMA): An Update. *Polymers*, 12(10), 2299.
- [33] **Honorez, P., Catalan, A., Angnes, U. and Grimonster, J.** (1989). The effect of three processing cycles on some physical and chemical properties of a heat-cured acrylic resin. *The Journal of prosthetic dentistry*, 61(4), 510-517.
- [34] **Harrison, A. and Huggett, R.** (1992). Effect of the curing cycle on residual monomer levels of acrylic resin denture base polymers. *Journal of dentistry*, 20(6), 370-374.
- [35] **Saraç, Ş.** (2001). Farklı Polimerizasyon Yöntemlerinin Kaide Akriliklerinin Transvers Dayanıklılığı Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 11, 13-16.
- [36] **Do, T., Devine, D. and Marsh, P. D.** (2013). Oral biofilms: molecular analysis, challenges, and future prospects in dental diagnostics. *Clin Cosmet Investig Dent*, 5, 11-19.
- [37] **Aydin M, M. A.** (2012). *Ağız mikrobiyolojisi*.
- [38] **Marsh, P. D.** (2006). Dental plaque as a biofilm and a microbial community – implications for health and disease. *BMC Oral Health*, 6(1), S14.
- [39] **Gevers, D., Knight, R., Petrosino, J. F., Huang, K., McGuire, A. L., Birren, B. W., Nelson, K. E., White, O., Methé, B. A. and Huttenhower, C.** (2012). The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome. *PLoS Biol*, 10(8), e1001377.
- [40] **Gilbert, P., Allison, D. G. and McBain, A. J.** (2002). Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance? *J Appl Microbiol*, 92 Suppl, 98s-110s.
- [41] **Stewart, P. S. and Costerton, J. W.** (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358(9276), 135-138.
- [42] **Flemming, H.-C., Neu, T. R. and Wozniak, D. J.** (2007). The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *Journal of bacteriology*, 189(22), 7945-7947.
- [43] **Cannon, R. D., Holmes, A. R., Mason, A. B. and Monk, B. C.** (1995). Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis? *J Dent Res*, 74(5), 1152-1161.
- [44] **McCullough, M. J. and Savage, N. W.** (2005). Oral candidosis and the therapeutic use of antifungal agents in dentistry. *Aust Dent J*, 50(4 Suppl 2), S36-39.
- [45] **Budtz-Jørgensen, E.** (1990). Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand*, 48(1), 61-69.
- [46] **Lu, S. Y.** (2021). Oral Candidosis: Pathophysiology and Best Practice for Diagnosis, Classification, and Successful Management. *J Fungi (Basel)*, 7(7).
- [47] **Olsen, I. and Stenderup, A.** (1990). Clinical-mycologic diagnosis of oral yeast infections. *Acta Odontologica Scandinavica*, 48(1), 11-18.
- [48] **Arendorf, T. M. and Walker, D. M.** (1980). The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. *Arch Oral Biol*, 25(1), 1-10.
- [49] **Muzyka, B. C.** (2005). Oral fungal infections. *Dent Clin North Am*, 49(1), 49-65, viii.
- [50] **Lamfon, H., Porter, S. R., McCullough, M. and Pratten, J.** (2004). Susceptibility of *Candida albicans* biofilms grown in a constant depth film fermentor to chlorhexidine, fluconazole and miconazole: a longitudinal study. *J Antimicrob Chemother*, 53(2), 383-385.
- [51] **Barbeau, J., Séguin, J., Goulet, J. P., de Koninck, L., Avon, S. L., Lalonde, B., Rompré, P. and Deslauriers, N.** (2003). Reassessing the presence of *Candida albicans* in denture-related stomatitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 95(1), 51-59.

- [52] **Bilhan, H., Sulun, T., Erkose, G., Kurt, H., Erturan, Z., Kutay, O. and Bilgin, T.** (2008). The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clinical Oral Investigations*, 13(4), 363.
- [53] **d'Enfert, C., Kaune, A. K., Alaban, L. R., Chakraborty, S., Cole, N., Delavy, M., Kosmala, D., Marsaux, B., Fróis-Martins, R., Morelli, M., Rosati, D., Valentine, M., Xie, Z., Emritloll, Y., Warn, P. A., Bequet, F., Bougnoux, M. E., Bornes, S., Gresnigt, M. S., Hube, B., Jacobsen, I. D., Legrand, M., Leibundgut-Landmann, S., Manichanh, C., Munro, C. A., Netea, M. G., Queiroz, K., Roget, K., Thomas, V., Thorat, C., Van den Abbeele, P., Walker, A. W. and Brown, A. J. P.** (2021). The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. *FEMS Microbiol Rev*, 45(3).
- [54] **Sudbery, P., Gow, N. and Berman, J.** (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, 12(7), 317-324.
- [55] **Chow, E. W. L., Pang, L. M. and Wang, Y.** (2021). From Jekyll to Hyde: The Yeast-Hyphal Transition of *Candida albicans*. *Pathogens*, 10(7).
- [56] **Iacopino, A. M. and Wathen, W. F.** (1992). Oral candidal infection and denture stomatitis: a comprehensive review. *J Am Dent Assoc*, 123(1), 46-51.
- [57] **Gow, N. A., Brown, A. J. and Odds, F. C.** (2002). Fungal morphogenesis and host invasion. *Curr Opin Microbiol*, 5(4), 366-371.
- [58] **Pendrak, M. L. and Klotz, S. A.** (1995). Adherence of *Candida albicans* to host cells. *FEMS Microbiol Lett*, 129(2-3), 103-113.
- [59] **Wächtler, B., Wilson, D., Haedicke, K., Dalle, F. and Hube, B.** (2011). From attachment to damage: defined genes of *Candida albicans* mediate adhesion, invasion and damage during interaction with oral epithelial cells. *PLoS One*, 6(2), e17046-e17046.
- [60] **Hoyer, L. L. and Cota, E.** (2016). *Candida albicans* Agglutinin-Like Sequence (Als) Family Vignettes: A Review of Als Protein Structure and Function. *Front Microbiol*, 7, 280-280.
- [61] **Klotz, S. A., Gaur, N. K., De Armond, R., Sheppard, D., Khardori, N., Edwards, J. E., Jr., Lipke, P. N. and El-Azizi, M.** (2007). *Candida albicans* Als proteins mediate aggregation with bacteria and yeasts. *Med Mycol*, 45(4), 363-370.
- [62] **Li, F. and Palecek, S. P.** (2003). EAP1, a *Candida albicans* gene involved in binding human epithelial cells. *Eukaryotic cell*, 2(6), 1266-1273.
- [63] **Bajunaid, S. O., Baras, B. H., Balhaddad, A. A., Weir, M. D. and Xu, H. H. K.** (2021). Antibiofilm and Protein-Repellent Polymethylmethacrylate Denture Base Acrylic Resin for Treatment of Denture Stomatitis. *Materials (Basel)*, 14(5).
- [64] **Hube, B.** (1996). *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases. *Curr Top Med Mycol*, 7(1), 55-69.
- [65] **Schaller, M., Borelli, C., Korting, H. C. and Hube, B.** (2005). Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 48(6), 365-377.
- [66] **Mukherjee, P. K., Seshan, K. R., Leidich, S. D., Chandra, J., Cole, G. T. and Ghannoum, M. A.** (2001). Reintroduction of the PLB1 gene into *Candida albicans* restores virulence in vivo. *Microbiology (Reading)*, 147(Pt 9), 2585-2597.
- [67] **Theiss, S., Ishdorj, G., Brenot, A., Kretschmar, M., Lan, C. Y., Nichterlein, T., Hacker, J., Nigam, S., Agabian, N. and Köhler, G. A.** (2006). Inactivation of the phospholipase B gene PLB5 in wild-type *Candida albicans* reduces cell-associated phospholipase A2 activity and attenuates virulence. *Int J Med Microbiol*, 296(6), 405-420.
- [68] **Ho, J., Camilli, G., Griffiths, J. S., Richardson, J. P., Kichik, N. and Naglik, J. R.** (2021). *Candida albicans* and candidalysin in inflammatory disorders and cancer. *Immunology*, 162(1), 11-16.

- [69] **Chandra, J., Mukherjee, P. K., Leidich, S. D., Faddoul, F. F., Hoyer, L. L., Douglas, L. J. and Ghannoum, M. A.** (2001). Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res*, 80(3), 903-908.
- [70] **Seneviratne, C. J., Jin, L. and Samaranayake, L. P.** (2008). Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. *Oral Dis*, 14(7), 582-590.
- [71] **ten Cate, J. M., Klis, F. M., Pereira-Cenci, T., Crielaard, W. and de Groot, P. W.** (2009). Molecular and cellular mechanisms that lead to *Candida* biofilm formation. *J Dent Res*, 88(2), 105-115.
- [72] **Nickerson, K. W., Atkin, A. L. and Hornby, J. M.** (2006). Quorum sensing in dimorphic fungi: farnesol and beyond. *Appl Environ Microbiol*, 72(6), 3805-3813.
- [73] **Ramage, G., Saville, S. P., Thomas, D. P. and López-Ribot, J. L.** (2005). *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot Cell*, 4(4), 633-638.
- [74] **Cavalcanti, Y. W., Wilson, M., Lewis, M., Williams, D., Senna, P. M., Del-Bel-Cury, A. A. and da Silva, W. J.** (2016). Salivary pellicles equalise surfaces' charges and modulate the virulence of *Candida albicans* biofilm. *Arch Oral Biol*, 66, 129-140.
- [75] **Radford, D. R., Challacombe, S. J. and Walter, J. D.** (1999). Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med*, 10(1), 99-116.
- [76] **Waters, M. G., Williams, D. W., Jagger, R. G. and Lewis, M. A.** (1997). Adherence of *Candida albicans* to experimental denture soft lining materials. *J Prosthet Dent*, 77(3), 306-312.
- [77] **Pereira-Cenci, T., Del Bel Cury, A. A., Crielaard, W. and Ten Cate, J. M.** (2008). Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci*, 16(2), 86-94.
- [78] **Allison, R. T. and Douglas, W. H.** (1973). Micro-colonization of the denture-fitting surface by *Candida albicans*. *J Dent*, 1(5), 198-201.
- [79] **Karaagaciloglu, L., Can, G., Yilmaz, B., Ayhan, N., Semiz, O. and Levent, H.** (2008). The adherence of *Candida albicans* to acrylic resin reinforced with different fibers. *J Mater Sci Mater Med*, 19(2), 959-963.
- [80] **He, X. Y., Meurman, J. H., Kari, K., Rautemaa, R. and Samaranayake, L. P.** (2006). In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses*, 49(2), 80-84.
- [81] **Minagi, S., Miyake, Y., Inagaki, K., Tsuru, H. and Suginaka, H.** (1985). Hydrophobic interaction in *Candida albicans* and *Candida tropicalis* adherence to various denture base resin materials. *Infection and immunity*, 47(1), 11-14.
- [82] **Khan, I., Ahmad, T., Manzoor, N., Rizvi, M. A., Raza, U. and Premchandani, S.** (2020). Evaluating the role of local host factors in the candidal colonization of oral cavity: A review update. *Natl J Maxillofac Surg*, 11(2), 169-175.
- [83] **Custodio, W., Silva, W. J., Paes Leme, A. F., Cury, J. A. and Del Bel Cury, A. A.** (2015). Plasma proteins in the acquired denture pellicle enhance substrate surface free energy and *Candida albicans* phospholipase and proteinase activities. *J Invest Clin Dent*, 6(4), 273-281.
- [84] **Gendreau, L. and Loewy, Z. G.** (2011). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*, 20(4), 251-260.
- [85] **Garg, S. K., Singh, V. A., Garg, S. K., Mittal, S. and Chahal, G. K.** (2012). Effect of denture wearing on occurrence of fungal isolates in the oral cavity: A pilot study. *J Clin Exp Dent*, 4(2), e86-90.
- [86] **Arendorf, T. M. and Walker, D. M.** (1987). Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*, 14(3), 217-227.

- [87] **Taebunpakul, P. and Jirawechwongsakul, P.** (2021). Palatal Inflammation and the Presence of Candida in Denture-Wearing Patients. *J Int Soc Prev Community Dent*, 11(3), 272-280.
- [88] **Polzer, I., Schimmel, M., Müller, F. and Biffar, R.** (2010). Edentulism as part of the general health problems of elderly adults\*. *International Dental Journal*, 60(3), 143-155.
- [89] **Abelson, D. C.** (1981). Denture plaque and denture cleansers. *J Prosthet Dent*, 45(4), 376-379.
- [90] **Catalan, A., Herrera, R. and Martinez, A.** (1987). Denture plaque and palatal mucosa in denture stomatitis: scanning electron microscopic and microbiologic study. *J Prosthet Dent*, 57(5), 581-586.
- [91] **Lombardi, T. and Budtz-Jørgensen, E.** (1993). Treatment of denture-induced stomatitis: a review. *Eur J Prosthodont Restor Dent*, 2(1), 17-22.
- [92] **Nikawa, H., Hamada, T., Yamashiro, H. and Kumagai, H.** (1999). A review of in vitro and in vivo methods to evaluate the efficacy of denture cleansers. *Int J Prosthodont*, 12(2), 153-159.
- [93] **Salerno, C., Pascale, M., Contaldo, M., Esposito, V., Busciolano, M., Milillo, L., Guida, A., Petruzzi, M. and Serpico, R.** (2011). Candida-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 16(2), e139-143.
- [94] **Samaranayake, L. P., Geddes, D. A., Weetman, D. A. and MacFarlane, T. W.** (1983). Growth and acid production of *Candida albicans* in carbohydrate supplemented media. *Microbios*, 37(148), 105-115.
- [95] **Ramage, G., Tomsett, K., Wickes, B. L., López-Ribot, J. L. and Redding, S. W.** (2004). Denture stomatitis: a role for *Candida* biofilms. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 98(1), 53-59.
- [96] **Walczak, K., Schierz, G., Basche, S., Petto, C., Boening, K. and Wieckiewicz, M.** (2020). Antifungal and Surface Properties of Chitosan-Salts Modified PMMA Denture Base Material. *Molecules*, 25(24).
- [97] **Bastiaan, R. J.** (1976). Denture sore mouth. Aetiological aspects and treatment. *Aust Dent J*, 21(5), 375-382.
- [98] **Ryu, M., Ueda, T., Saito, T., Yasui, M., Ishihara, K. and Sakurai, K.** (2010). Oral environmental factors affecting number of microbes in saliva of complete denture wearers. *J Oral Rehabil*, 37(3), 194-201.
- [99] **Flores, I. L., Souza, L. T. and Gomes, A. P. N.** (2017). Is Topical Antifungal the Appropriate First Choice for Denture Stomatitis. *Annals of Clinical and Laboratory Research*, 5.
- [100] **Pankhurst, C. L.** (2013). Candidiasis (oropharyngeal). *BMJ Clin Evid*, 2013, 1304.
- [101] **Pires, F. R., Santos, E. B., Bonan, P. R., De Almeida, O. P. and Lopes, M. A.** (2002). Denture stomatitis and salivary *Candida* in Brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil*, 29(11), 1115-1119.
- [102] **Figueiral, M. H., Azul, A., Pinto, E., Fonseca, P. A., Branco, F. M. and Scully, C.** (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil*, 34(6), 448-455.
- [103] **Mumcu, G., Cimilli, H., Sur, H., Hayran, O. and Atalay, T.** (2005). Prevalence and distribution of oral lesions: a cross-sectional study in Turkey. *Oral Dis*, 11(2), 81-87.
- [104] **Emami, E., de Grandmont, P., Rompré, P. H., Barbeau, J., Pan, S. and Feine, J. S.** (2008). Favoring trauma as an etiological factor in denture stomatitis. *J Dent Res*, 87(5), 440-444.
- [105] **Özkan Kulak, Y.** (2016). *Tam Protezler; Problemler ve Çözüm Yolları*.

- [106] **Gornitsky, M., Paradis, I. I., Landaverde, G., Malo, A. M. and Velly, A. M.** (2002). A clinical and microbiological evaluation of denture cleansers for geriatric patients in long-term care institutions. *J Can Dent Assoc*, 68(1), 39-45.
- [107] **Kulak-Ozkan, Y., Kazazoglu, E. and Arikan, A.** (2002). Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeasts and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil*, 29(3), 300-304.
- [108] **Dikbas, I., Koksai, T. and Calikkocaoglu, S.** (2006). Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. *Int J Prosthodont*, 19(3), 294-298.
- [109] **Mah, T. F. and O'Toole, G. A.** (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol*, 9(1), 34-39.
- [110] **Flemming H-C, W. J.** (2014). *The Biofilm Matrix Biofouling View project household water installation with respect to energy and hygiene View project*.
- [111] **Shulman, J. D., Beach, M. M. and Rivera-Hidalgo, F.** (2004). The prevalence of oral mucosal lesions in U.S. adults: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Am Dent Assoc*, 135(9), 1279-1286.
- [112] **Papas, A. S., Niessen, Linda C., Chauncey, Howard H.** (1991). *Geriatric Dentistry: Aging and Oral Health 1st Edition*. 1st ed.
- [113] **Brown, A. J. P., Brown, G. D., Netea, M. G. and Gow, N. A. R.** (2014). Metabolism impacts upon Candida immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends in microbiology*, 22(11), 614-622.
- [114] **Martins, K. and Gontijo, S.** (2017). Treatment of denture stomatitis: literature review. *Revistas*, 74, 215.
- [115] **Amin, W. M., Al-Ali, M. H., Salim, N. A. and Al-Tarawneh, S. K.** (2009). A new form of intraoral delivery of antifungal drugs for the treatment of denture-induced oral candidosis. *Eur J Dent*, 3(4), 257-266.
- [116] **Ellepolo, A. N. and Samaranayake, L. P.** (2000). Oral candidal infections and antimycotics. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11(2), 172-198.
- [117] **Byrd, W. C., Schwartz-Baxter, S., Carlson, J., Barros, S., Offenbacher, S. and Bencharit, S.** (2014). Role of salivary and candidal proteins in denture stomatitis: an exploratory proteomic analysis. *Mol Biosyst*, 10(9), 2299-2304.
- [118] **Akan, E., Çölgeçen, Ö. and Meşe, İ. T.** (2015). Sterilization and Disinfection of the Prosthodontic Materials. *EÜ Dişhek Fak Derg*, 36(3), 105-114.
- [119] **de Souza, R. F., de Freitas Oliveira Paranhos, H., Lovato da Silva, C. H., Abu-Naba'a, L., Fedorowicz, Z. and Gurgan, C. A.** (2009). Interventions for cleaning dentures in adults. *Cochrane Database Syst Rev*, (4), Cd007395.
- [120] **Mojarad, N., Khalili, Z. and Aalaei, S.** (2017). A comparison of the efficacy of mechanical, chemical, and microwave radiation methods in disinfecting complete dentures. *Dent Res J (Isfahan)*, 14(2), 131-136.
- [121] **Mima, E. G., Pavarina, A. C., Neppelenbroek, K. H., Vergani, C. E., Spolidorio, D. M. and Machado, A. L.** (2008). Effect of different exposure times on microwave irradiation on the disinfection of a hard chairside relined resin. *J Prosthodont*, 17(4), 312-317.
- [122] **Nirale, R. M., Thombre, R. and Kubasad, G.** (2012). Comparative evaluation of sodium hypochlorite and microwave disinfection on dimensional stability of denture bases. *J Adv Prosthodont*, 4(1), 24-29.
- [123] **Seo, R. S., Vergani, C. E., Pavarina, A. C., Compagnoni, M. A. and Machado, A. L.** (2007). Influence of microwave disinfection on the dimensional stability of intact and relined acrylic resin denture bases. *J Prosthet Dent*, 98(3), 216-223.
- [124] **Consani, R. L., Iwasaki, R. Y., Mesquita, M. F., Mendes, W. B. and Consani, S.** (2008). Effect of repeated simulated disinfections by microwave energy on the complete denture base adaptation. *Open Dent J*, 2, 61-66.

- [125] **Hussen, A. M., Rejab, L. T. and Abbood, L. N.** (2008). The Effect of Microwave Disinfection on the Dimensional Change of Acrylic Resins. *Al-Rafidain Dental Journal*, 8(1), 38-43.
- [126] **Sartori, E. A., Schmidt, C. B., Walber, L. F. and Shinkai, R. S.** (2006). Effect of microwave disinfection on denture base adaptation and resin surface roughness. *Braz Dent J*, 17(3), 195-200.
- [127] **Peracini, A., Regis, R. R., Souza, R. F., Pagnano, V. O., Silva, C. H. and Paranhos, H. F.** (2016). Alkaline Peroxides Versus Sodium Hypochlorite for Removing Denture Biofilm: a Crossover Randomized Trial. *Braz Dent J*, 27(6), 700-704.
- [128] **Duyck, J., Vandamme, K., Muller, P. and Teughels, W.** (2013). Overnight storage of removable dentures in alkaline peroxide-based tablets affects biofilm mass and composition. *J Dent*, 41(12), 1281-1289.
- [129] **Felton, D., Cooper, L., Duqum, I., Minsley, G., Guckes, A., Haug, S., Meredith, P., Solie, C., Avery, D. and Deal Chandler, N.** (2011). Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont*, 20 Suppl 1, S1-s12.
- [130] **Gleiznys, A., Zdanavičienė, E. and Žilinskas, J.** (2015). *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija*, 17(2), 54-66.
- [131] **Barnabé, W., de Mendonça Neto, T., Pimenta, F. C., Pegoraro, L. F. and Scolaro, J. M.** (2004). Efficacy of sodium hypochlorite and coconut soap used as disinfecting agents in the reduction of denture stomatitis, *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *J Oral Rehabil*, 31(5), 453-459.
- [132] **Gad, M. M. and Fouda, S. M.** (2020). Current perspectives and the future of *Candida albicans*-associated denture stomatitis treatment. *Dent Med Probl*, 57(1), 95-102.
- [133] **Davi, L. R., Felipucci, D. N., de Souza, R. F., Bezzon, O. L., Lovato-Silva, C. H., Pagnano, V. O. and Paranhos Hde, F.** (2012). Effect of denture cleansers on metal ion release and surface roughness of denture base materials. *Braz Dent J*, 23(4), 387-393.
- [134] **Uludamar, A., Özyeşil, A. G. and Ozkan, Y. K.** (2011). Clinical and microbiological efficacy of three different treatment methods in the management of denture stomatitis. *Gerodontology*, 28(2), 104-110.
- [135] **Kim, J.-H., Lee, H.-N., Bae, S.-K., Shin, D.-H., Ku, B.-H., Park, H.-Y. and Jeong, T.-S.** (2021). Development of a novel denture care agent with highly active enzyme, arazyme. *BMC Oral Health*, 21(1), 365.
- [136] **Khandge, N., Pradhan, S., Doshi, Y., Kulkarni, A. and Dhruva, I.** (2013). *Photodynamic Therapy (Part 1: Applications in Dentistry)*.
- [137] **Kharkwal, G. B., Sharma, S. K., Huang, Y. Y., Dai, T. and Hamblin, M. R.** (2011). Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers in surgery and medicine*, 43(7), 755-767.
- [138] **Konopka, K. and Goslinski, T.** (2007). Photodynamic therapy in dentistry. *Journal of dental research*, 86(8), 694-707.
- [139] **Pinheiro, S. L., Schenka, A. A., Neto, A. A., de Souza, C. P., Rodriguez, H. M. H. and Ribeiro, M. C.** (2009). Photodynamic therapy in endodontic treatment of deciduous teeth. *Lasers in medical science*, 24(4), 521-526.
- [140] **Gursoy, H., Ozcakir-Tomruk, C., Tanalp, J. and Yilmaz, S.** (2013). Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clinical oral investigations*, 17(4), 1113-1125.
- [141] **Takasaki, A. A., Aoki, A., Mizutani, K., Schwarz, F., Sculean, A., Wang, C., Geena, K., Romanos, G., Ishikawa, I. and Izumi, Y.** (2009). Application of antimicrobial

- photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontology* 2000, 51(1), 109-140.
- [142] **Wainwright, M. and Crossley, K. B.** (2004). Photosensitising agents—circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. *International biodeterioration & biodegradation*, 53(2), 119-126.
- [143] **Dougherty, T. J.** (2002). An update on photodynamic therapy applications. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 20(1), 3-7.
- [144] **Stájer, A., Kajári, S., Gajdács, M., Musah-Eroje, A. and Baráth, Z.** (2020). Utility of Photodynamic Therapy in Dentistry: Current Concepts. *Dent J (Basel)*, 8(2), 43.
- [145] **Sharwani, A., Jerjes, W., Salih, V., MacRobert, A., El-Maaytah, M., Khalil, H. and Hopper, C.** (2006). Fluorescence spectroscopy combined with 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence in detecting oral premalignancy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 83(1), 27-33.
- [146] **Vatanever, F., de Melo, W. C., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A., Chandran, R., Karimi, M., Parizotto, N. A. and Yin, R.** (2013). Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species—bactericidal antibiotics, photodynamic therapy, and beyond. *FEMS Microbiol Rev*, 37(6), 955-989.
- [147] **Peker Tekdal, G. and Gürkan, A.** (2014). Photodynamic Therapy Applications in Dentistry and Periodontology. *EÜ Dişhek Fak Derg*, 35(3), 8-22.
- [148] **Wainwright, M.** (1998). Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 42(1), 13-28.
- [149] **Babilas, P., Schreml, S., Landthaler, M. and Szeimies, R. M.** (2010). Photodynamic therapy in dermatology: state-of-the-art. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine*, 26(3), 118-132.
- [150] **Maisch, T., Szeimies, R.-M., Jori, G. and Abels, C.** (2004). Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 3(10), 907-917.
- [151] **Foote, C. S.** (1991). Definition of type I and type II photosensitized oxidation. Wiley Online Library; p. 659-659.
- [152] **Moan, J. and Berg, K.** (1991). The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *Photochemistry and photobiology*, 53(4), 549-553.
- [153] **Plotino, G., Grande, N. M. and Mercade, M.** (2019). Photodynamic therapy in endodontics. *Int Endod J*, 52(6), 760-774.
- [154] **Meisel, P. and Kocher, T.** (2005). Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology*, 79(2), 159-170.
- [155] **Kömerik, N. and Wilson, M.** (2002). Factors influencing the susceptibility of Gram-negative bacteria to toluidine blue O-mediated lethal photosensitization. *Journal of Applied microbiology*, 92(4), 618-623.
- [156] **Maisch, T.** (2007). Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Med Sci*, 22(2), 83-91.
- [157] **Sigusch, B. W., Pfitzner, A., Albrecht, V. and Glockmann, E.** (2005). Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *Journal of periodontology*, 76(7), 1100-1105.
- [158] **Bhatti, M., MacRobert, A., Meghji, S., Henderson, B. and Wilson, M.** (1997). Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis* in vitro. *Photochem Photobiol*, 65(6), 1026-1031.

- [159] **O'Neill, J. F., Hope, C. K. and Wilson, M.** (2002). Oral bacteria in multi-species biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue. *Lasers in surgery and medicine*, 31(2), 86-90.
- [160] **Moritz, A., & Beer, F.** (2006). *Oral Laser Application*. Quintessence Publishing Company, Incorporated.
- [161] **Dolmans, D. E., Fukumura, D. and Jain, R. K.** (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature reviews cancer*, 3(5), 380-387.
- [162] **Bacellar, I. O., Tsubone, T. M., Pavani, C. and Baptista, M. S.** (2015). Photodynamic efficiency: from molecular photochemistry to cell death. *International journal of molecular sciences*, 16(9), 20523-20559.
- [163] **Tang, H. M., Hamblin, M. R. and Yow, C.** (2007). A comparative in vitro photoinactivation study of clinical isolates of multidrug-resistant pathogens. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 13(2), 87-91.
- [164] **Allison, R. R. and Sibata, C. H.** (2010). Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 7(2), 61-75.
- [165] **Omar, G. S., Wilson, M. and Nair, S. P.** (2008). Lethal photosensitization of wound-associated microbes using indocyanine green and near-infrared light. *BMC Microbiol*, 8, 111-111.
- [166] **Hopp, M. and Biffar, R.** (2013). Photodynamische Therapie–Blau vs. Grün. *Laser J*, 16(1), 14-25.
- [167] **Genina, E., Bashkatov, A., Simonenko, G., Odoevskaya, O., Tuchin, V. and Altschuler, G.** (2004). Low-Intensity Indocyanine-Green Laser Phototherapy of Acne Vulgaris: Pilot Study. *Journal of biomedical optics*, 9, 828-834.
- [168] **Sawa, M., Awazu, K., Takahashi, T., Sakaguchi, H., Horiike, H., Ohji, M. and Tano, Y.** (2004). Application of femtosecond ultrashort pulse laser to photodynamic therapy mediated by indocyanine green. *Br J Ophthalmol*, 88(6), 826-831.
- [169] **Bäumler, W., Abels, C., Karrer, S., Weiss, T., Messmann, H., Landthaler, M. and Szeimies, R. M.** (1999). Photo-oxidative killing of human colonic cancer cells using indocyanine green and infrared light. *Br J Cancer*, 80(3-4), 360-363.
- [170] **Odor, T., Watson, T., Ford, T. P. and McDonald, F.** (1996). Pattern of transmission of laser light in teeth. *International Endodontic Journal*, 29(4), 228-234.
- [171] **Roomaney, I. A., Holmes, H. K. and Engel, M. M.** (2021). Treatment of oral fungal infections using photodynamic therapy: Systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Dent Res*, 7(3), 354-364.
- [172] **Marotti, J., Aranha, A. C., Eduardo Cde, P. and Ribeiro, M. S.** (2009). Photodynamic therapy can be effective as a treatment for herpes simplex labialis. *Photomed Laser Surg*, 27(2), 357-363.
- [173] **Demidova, T. N. and Hamblin, M. R.** (2005). Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(6), 2329-2335.
- [174] **Kara, O., Seseogullari Dirihan, R., Sayin Ozel, G., Tezvergil Mutluay, A. and Usumez, A.** (2021). Inhibition of cathepsin-K and matrix metalloproteinase by photodynamic therapy. *Dent Mater*, 37(10), e485-e492.
- [175] **Bevilacqua, I. M., Nicolau, R. A., Khouri, S., Brugnera, A., Jr., Teodoro, G. R., Zângaro, R. A. and Pacheco, M. T.** (2007). The impact of photodynamic therapy on the viability of *Streptococcus mutans* in a planktonic culture. *Photomed Laser Surg*, 25(6), 513-518.
- [176] **Merigo, E., Conti, S., Ciociola, T., Manfredi, M., Vescovi, P. and Fornaini, C.** (2019). Antimicrobial Photodynamic Therapy Protocols on *Streptococcus mutans* with

Different Combinations of Wavelengths and Photosensitizing Dyes. *Bioengineering (Basel)*, 6(2), 42.

- [177] **Vahabi, S., Fekrazad, R., Ayremlou, S., Taheri, S. and Zangeneh, N.** (2011). The effect of antimicrobial photodynamic therapy with radachlorin and toluidine blue on streptococcus mutans: an in vitro study. *J Dent (Tehran)*, 8(2), 48-54.
- [178] **Guglielmi, C., Simionato, M., Ramalho, K., Imparato, J., Pinheiro, S. and Luz, M. A.** (2011). Clinical use of photodynamic antimicrobial chemotherapy for the treatment of deep carious lesions. *Journal of biomedical optics*, 16, 088003.
- [179] **Kömerik, N., Nakanishi, H., MacRobert, A., Henderson, B., Speight, P. and Wilson, M.** (2003). In vivo killing of Porphyromonas gingivalis by toluidine blue-mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(3), 932-940.
- [180] **Regis, R. R., Della Vecchia, M. P., Pizzolitto, A. C., Compagnoni, M. A., Souza, P. P. and de Souza, R. F.** (2012). Antimicrobial properties and cytotoxicity of an antimicrobial monomer for application in prosthodontics. *J Prosthodont*, 21(4), 283-290.
- [181] **Wen, J., Yeh, C.-K. and Sun, Y.** (2016). Functionalized denture resins as drug delivery biomaterials to control fungal biofilms. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2(2), 224-230.
- [182] **Sipahi, C., Anil, N. and Bayramli, E.** (2001). The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *Journal of dentistry*, 29(3), 197-204.
- [183] **Vukosavljevic, D., Custodio, W., Del Bel Cury, A. and Siqueira, W.** (2012). The effect of histatin 5, adsorbed on PMMA and hydroxyapatite, on Candida albicans colonization. *Yeast*, 29(11), 459-466.
- [184] **Da Silva, W. J., Seneviratne, J., Samaranayake, L. P. and Del Bel Cury, A. A.** (2010). Bioactivity and architecture of Candida albicans biofilms developed on poly (methyl methacrylate) resin surface. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 94(1), 149-156.
- [185] **Mayahara, M., Kataoka, R., Arimoto, T., Tamaki, Y., Yamaguchi, N., Watanabe, Y., Yamasaki, Y. and Miyazaki, T.** (2014). Effects of surface roughness and dimorphism on the adhesion of Candida albicans to the surface of resins: scanning electron microscope analyses of mode and number of adhesions. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 5(4), 307-312.
- [186] **Saravi, M. E., Vojdani, M. and Bahrani, F.** (2012). Evaluation of cellular toxicity of three denture base acrylic resins. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 9(4), 180.
- [187] **Huang, F.-M., Tai, K.-W., Hu, C.-C. and Chang, Y.-C.** (2001). Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblasts in vitro. *International journal of prosthodontics*, 14(5).
- [188] **Akalın-Evren, B., Kulak-Özkan, Y., Özcan, M. and Kadir, T.** (2014). Candida albicans adhesion on reinforced polymethylmethacrylate denture resin: effect of fibre architecture and exposure to saliva. *Gerodontology*, 31(3), 194-201.
- [189] **Edgerton, M. and Levine, M. J.** (1992). Characterization of acquired denture pellicle from healthy and stomatitis patients. *The Journal of prosthetic dentistry*, 68(4), 683-691.
- [190] **He, X., Meurman, J. H., Kari, K., Rautemaa, R. and Samaranayake, L.** (2006). In vitro adhesion of Candida species to denture base materials. *Mycoses*, 49(2), 80-84.
- [191] **Li, L., Finnegan, M., Özkan, S., Kim, Y., Lillehoj, P., Ho, C. M., Lux, R., Mito, R., Loewy, Z. and Shi, W.** (2010). In vitro study of biofilm formation and effectiveness

- of antimicrobial treatment on various dental material surfaces. *Molecular oral microbiology*, 25(6), 384-390.
- [192] **Monteiro, D. R., Gorup, L. F., Takamiya, A. S., de Camargo, E. R., Filho, A. C. R. and Barbosa, D. B.** (2012). Silver distribution and release from an antimicrobial denture base resin containing silver colloidal nanoparticles. *Journal of Prosthodontics: Implant, Esthetic and Reconstructive Dentistry*, 21(1), 7-15.
- [193] **Nam, K. Y., Lee, C. H. and Lee, C. J.** (2012). Antifungal and physical characteristics of modified denture base acrylic incorporated with silver nanoparticles. *Gerodontology*, 29(2), e413-e419.
- [194] **Odagiri, K., Sawada, T., Hori, N., Seimiya, K., Otsuji, T., Hamada, N. and Kimoto, K.** (2012). Evaluation of denture base resin after disinfection method using reactive oxygen species (ROS). *Dental materials journal*, 2011-2155.
- [195] **Yu, R., Zhou, Y., Feng, H. and Liu, X.** (2008). Silver-ion release and particle distribution of denture base resin containing nanometer-sized silver-supported antimicrobial agent. *Zhonghua kou Qiang yi xue za zhi= Zhonghua Kouqiang Yixue Zazhi= Chinese Journal of Stomatology*, 43(1), 54-56.
- [196] **Dovigo, L. N., Pavarina, A. C., Mima, E. G., Giampaolo, E. T., Vergani, C. E. and Bagnato, V. S.** (2011). Fungicidal effect of photodynamic therapy against fluconazole-resistant *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Mycoses*, 54(2), 123-130.
- [197] **Abels, C., Fickweiler, S., Weiderer, P., Bäumlner, W., Hofstädter, F., Landthaler, M. and Szeimies, R. M.** (2000). Indocyanine green (ICG) and laser irradiation induce photooxidation. *Arch Dermatol Res*, 292(8), 404-411.
- [198] **Al-Shayyab, M. H., Abu-Hammad, O. A., Al-Omiri, M. K. and Dar-Odeh, N. S.** (2015). Antifungal prescribing pattern and attitude towards the treatment of oral candidiasis among dentists in Jordan. *International dental journal*, 65(4), 216-226.
- [199] **Banting, D. W. and Hill, S. A.** (2001). Microwave disinfection of dentures for the treatment of oral candidiasis. *Special Care in Dentistry*, 21(1), 4-8.
- [200] **Dixon, D. L., Breeding, L. C. and Faler, T. A.** (1999). Microwave disinfection of denture base materials colonized with *Candida albicans*. *The Journal of prosthetic dentistry*, 81(2), 207-214.
- [201] **Webb, B. C., Thomas, C. J. and Whittle, T.** (2005). A 2-year study of *Candida*-associated denture stomatitis treatment in aged care subjects. *Gerodontology*, 22(3), 168-176.
- [202] **Silva, M. M., Mima, E. G., Colombo, A. L., Sanitá, P. V., Jorge, J. H., Massucato, E. M. and Vergani, C. E.** (2012). Comparison of denture microwave disinfection and conventional antifungal therapy in the treatment of denture stomatitis: a randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 114(4), 469-479.
- [203] **Sanita, P. V., Machado, A. L., Pavarina, A. C., Massucato, E. M., Colombo, A. L. and Vergani, C. E.** (2012). Microwave denture disinfection versus nystatin in treating patients with well-controlled type 2 diabetes and denture stomatitis: a randomized clinical trial. *Int J Prosthodont*, 25(3), 232-244.
- [204] **Moritz, A., Gutknecht, N., Goharkhay, K., Schoop, U., Wernisch, J. and Sperr, W.** (1997). In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. *Quintessence international*, 28(3).
- [205] **Xhevdet, A., Stubljarić, D., Kriznar, I., Jukić, T., Skvarc, M., Veranić, P. and Ihan, A.** (2014). The disinfecting efficacy of root canals with laser photodynamic therapy. *Journal of lasers in medical sciences*, 5(1), 19.

- [206] **Gutknecht, N., Franzen, R., Schippers, M. and Lampert, F.** (2004). Bactericidal effect of a 980-nm diode laser in the root canal wall dentin of bovine teeth. *Journal of clinical laser medicine & surgery*, 22(1), 9-13.

