

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI



**TİYOL İÇERİKLİ PLAZMA POLİMERİZASYON TEKNİĞİ İLE YÜZEY
KOŞULLARI DEĞİŞTİRİLMİŞ TİTANYUM İMPLANT
MATERYALİNİN YÜZEY ÖZELLİKLERİNİN VE BAKTERİYEL
TUTULUMA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Soykan KÖKLÜ

Ankara 2009

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
PROTETİK DİŞ TEDAVİSİ ANABİLİM DALI**



**TİYOL İÇERİKLİ PLAZMA POLİMERİZASYON TEKNİĞİ İLE YÜZEY
KOŞULLARI DEĞİŞTİRİLMİŞ TİTANYUM İMPLANT
MATERYALİNİN YÜZEY ÖZELLİKLERİNİN VE BAKTERİYEL
TUTULUMA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Dt. Soykan KÖKLÜ

Danışman: Doç. Dr. Pervin İMİRZALIOĞLU

Ankara 2009

T.C
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Protetik Diş Tedavisi Dalında Doktora Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/09/2009

“Tiyol İçerikli Plazma Polimerizasyon Tekniği ile Yüzey Koşulları Değiştirilmiş Titanyum İmplant Materyalinin Yüzey Özelliklerinin ve Bakteriyel Tutulumuna Etkisinin İncelenmesi”

TEZ DANIŞMANI: DOÇ.DR.PERVİN İMİRZALIOĞLU

TEZ JÜRİSİ ÜYELERİ

Prof.Dr. Bülent DAYANGAÇ

Prof.Dr. Semih BERKSUN

Doç.Dr. Pervin İMİRZALIOĞLU

Doç.Dr. Selim ERKUT

Doç.Dr.Müge DEMİRBILEK

ONAY:Bu tez Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Yönetim Kurulu'nun 25 / 09 / 2009 tarih, 5AB E/2009 / 87 sayılı kararıyla kabul edilmiştir.


Prof.Dr.Rengin Erdal
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın oluşumundan sonuçlanmasına kadar her aşamasında, ilgi, destek ve bilgisini esirgemeyen, tez danışmanım ve değerli hocam Doç. Dr. Pervin İmirzalıoğlu' na,

Doktora eğitimimde büyük emekleri olan Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Doktora tezimin mikrobiyoloji bölümündeki çalışmaları sırasındaki yardımları için Yrd. Doç. Dr. Müge Demirbilek'e,

Doktora tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımlarım esnasında büyük katkıları olan Yrd. Doç. Dr. Dilek Çökeliler'e,

Doktora eğitimim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, bilgi ve deneyimleriyle bana ışık tutan değerli hocam Doç. Dr. Tuğrul Altay' a,

Birlikte çalışmaktan ve vakit geçirmekten zevk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan sevgili anne ve babama teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Bu in vitro çalışmada tiyol içerikli monomer ile plazma polimerizasyon yönteminin, implant materyali olarak sıklıkla kullanılan titanyum üzerine uygulanabilirliği ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesiyle bakteri tutulmasına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda tip 4 titanyum metali kullanılmıştır. 4mm çapında, 1mm kalınlığında olmak üzere 20 adet titanyum disk hazırlanmış, bütün örneklerle eşit koşullarda polisaj işlemleri uygulanmıştır. Örneklerden 10 tanesine aynı şartlarda olmak üzere plazma polimerizasyon yöntemi ile yüzey kaplaması uygulanmış, kalan 10 örnek kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Yüzey pürüzlülükleri atomik kuvvet mikroskobu kullanılarak ölçülmüştür. Oluşan film tabakasının kalınlığı elipsometre kullanılarak belirlenmiştir. Temas açısı ölçümleri için damlacık profil fotoğrafları çekilmiştir. OCA temas açısı programı ve bilgisayar kullanılarak fotoğrafların incelenmesi yapılmıştır. Farklı titanyum yüzeylerindeki bakteriyel kolonizasyonun incelenmesi için örnekler mutans grubu streptokok içeren 5 ml süspansiyon içerisinde inkübe edilmiştir. Mikrokoloniler 2.5% gluteraldehit ile yüzeye fikse edilip, floresan mikroskopta incelenmek üzere 1% akridin turuncusu boyası ile 1 saat boyanmıştır. Mikroskop incelemesinde, her örneğin rastgele seçilen 5 bölgesinde, 40x büyütmede mikrokoloniler sayılmıştır.

Plazma polimerizasyon uygulanan örneklerde, cilalı titanyum yüzeyinden daha düşük yüzey pürüzlülük değeri görülmüştür. Oluşan ince film tabakasının ortalama kalınlığı 49.4 nm olarak ölçülmüştür. Temas açısı ölçümlerine dayanarak cilalı titanyum yüzeyine göre daha hidrofilik bir yüzey meydana geldiği tespit edilmiştir. Yüzey kaplaması uygulanan örneklerde bakteri tutulumundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Titanyum, yüzey kaplama, yüzey topografisi, serbest yüzey enerjisi, bakteriyel tutulum

ABSTRACT

The aim of this in vitro study was to evaluate the applicability of the plasma polymerization technique with monomer containing thiol functional group on frequently used titanium implant biomaterial surfaces and the effect of the surface modification on microorganism adhesion.

The study was performed using grade 4 commercial type (cp-Ti) pure titanium. Twenty discs of 4mm diameter and 1 mm height were prepared and each samples' surface was metallographically polished with a diamond paste. Ten of these samples were modified with the plasma polymerization technique under equal conditions. The remaining 10 samples of unmodified polished titanium were used as the control group. Surface roughness was determined by using atomic force microscopy. Thickness of the plasma polymerized film was measured by an ellipsometer. Contact angle measurements were performed with the sessile drop method using the OCA 20 contact angle system. Thereby, a video camera equipped with an image analyser visualizes the shape of the drop and the contact angle. The corresponding picture is saved in the computer and the contact angle is determined by software. In order to evaluate the bacterial colonization on different titanium surfaces, titanium discs were incubated in 5 ml of a suspension containing streptococcus mutans. Bacterial microcolonies were fixed in 2.5% glutaraldehyde followed by an additional fixation step in 1% Acridine Orange at room temperature for 1 hour. Quantitative analysis was performed using a fluorescence microscope. Samples were examined at 40-fold magnification and the number of microcolonies was determined on five randomly selected representative fields on each disc.

The study determined that plasma polymerized sample surfaces were smoother than the uncoated sample surfaces. Also, improvements in the hydrophilic character on modified titanium were determined by the contact angle measurements. After modification with the plasma polymerization technique, thickness of the plasma polymerized film was measured as 49.4 nm. The reduction of microorganism adhesion was significant on coated surfaces.

Keywords: Titanium, surface coating, surface topography, surface free energy, bacterial adhesion

İÇİNDEKİLER

Kabul-onay sayfası	iii
Teşekkür	iv
Özet	v
Abstract	vi
İçindekiler	vii
Kısaltmalar ve simgeler dizini	x
Şekiller dizini	xi
Tablolar dizini	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dental İmplantların Tarihçesi ve Gelişimi	3
2.2. İmplant Biyomateryalleri	3
2.2.1. Titanyum	3
2.2.2 Seramik ve karbon	5
2.2.3 Polimer ve kompozitler	5
2.3. İmplant uygulamalarında meydana gelen komplikasyonlar	5
2.4. Biyofilm	7
2.5. Bakterilerin yüzeylere yapışma mekanizması ve biyofilm Oluşumu	7
2.6. Ağız içi yüzeylerde biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler	8
2.6.1. Yüzey pürüzlülüğü, yüzey enerjisi ve yüzeyin kimyasal yapısı	8
2.6.2. Tükürük	9
2.6.3. Materyallerin antibakteriyel özellikleri	9
2.7. Biyofilm Analiz Yöntemleri	10
2.7.1. Işık mikroskobu ile inceleme	10
2.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	10
2.7.3. Floresan mikroskobu	10
2.7.4. Konfokal mikroskopi	11
2.8. Biyofilm oluşumunu engelleme yöntemleri	11
2.8.1. Başlangıçta oluşan yapışmanın engellenmesi	11

2.8.2. Biyofilm oluşumunu azaltmak	11
2.8.3. EPS'ye karşı geliştirilecek stratejiler	11
2.9 Streptococcus Mutans	12
2.10. Yüzey Modifikasyonu Oluşturma Yöntemleri	12
2.10.1 Mekanik Yüzey Modifikasyon İşlemleri	12
2.10.2 Kimyasal Yüzey Modifikasyon İşlemleri	13
2.10.3 Fiziksel-Kimyasal İşlemler	15
2.11.Yüzey Analiz Teknikleri	17
2.11.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)	17
2.11.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)	18
2.11.3. Profilometre	18
2.11.4. Atomik kuvvet mikroskopları (AKM)	18
2.11.5. Taramalı Elektron Mikroskopları (SEM)	19
2.11.6. Temas Açısı Ölçümü	19
2.11.7.Elipsometre	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. Yüzeylerin Hazırlanması	21
3.1.1. Zımparalama ve Parlatma İşlemleri	22
3.2 Yüzey Karakterizasyonu	23
3.3. AKM ile Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü	25
3.4. Elipsometre ile İnce Film Tabakasının Ölçümü	25
3.5. Temas Açısı Ölçümleri	26
3.6. Bakteri Tutulumunun İncelenmesi	26
3.6.1. Bakteri Süspansiyonunun Elde Edilmesi	26
3.6.2. Örneklerle Bakteri Tutulumunun Sağlanması	27
3.6.3. Floresan Boyaların Hazırlanması ve Bakterilerin Boyanması	28
3.6.4. Floresan Mikroskobu ile İnceleme	29
3.7. İstatistiksel Analiz	29

4. BULGULAR	30
4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü Sonuçları	30
4.2. İnce Tabakanın Kalınlık Ölçümü Sonuçları	32
4.3. Temas Açısı Ölçümü Sonuçları	32
4.4. Bakteri Tutulumu Test Sonuçları	34
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
7. KAYNAKLAR	46

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

nm: nanometer

µm: mikrometre

Å: Angström

°C: Santigrat derece

PVD: Fiziksel buhar biriktirme

ATCC: American Type Culture Center

XPS: X-ışını destekli fotoelektron spektroskopisi

erg/cm²: Yüzey serbest enerjisi birimi

Ra: Ortalama yüzey pürüzlülük parametresi

Mpa: Megapaskal

Gpa: Gigapaskal

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Temas açısı gösterimi	19
Şekil 3.1: Kesme cihazı	21
Şekil 3.2: Örneklerin akrilik silindir kalıp içerisine gömülmesi	22
Şekil 3.3: Parlatma cihazı	23
Şekil 3.4: Yüzey kaplaması yapılacak örnekler	23
Şekil 3.5: Plazma depozisyon cihazı	24
Şekil 3.6: AKM cihazı	25
Şekil 3.7: Elipsometre cihazı	25
Şekil 3.8: Temas açısı ölçüm cihazı	26
Şekil 3.9: S. Mutans ekimi	27
Şekil 3.10: MacFarland cihazı	27
Şekil 3.11: Örneklerle bakteri süspansiyonu eklenmesi	28
Şekil 3.12: Örneklerin rotater üzerinde etüvlenmesi	28
Şekil 3.13: Örneklerin akrinin turuncusu içerisinde bekletilmesi	29
Şekil 3.14: Deney grubu AKM görüntüsü	30
Şekil 3.15: Kontrol grubu AKM görüntüsü	31
Şekil 3.16: Deney grubu temas açısı görüntüsü	32
Şekil 3.17: Kontrol grubu temas açısı görüntüsü	33
Şekil 3.18: Deney grubu floresan mikroskop görüntüsü	35
Şekil 3.19: Kontrol grubu floresan mikroskop görüntüsü	35

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1: Titanyum ve titanyum alaşımlarının kimyasal kompozisyonu	4
Tablo 3.1: Ortalama yzey pürüzlülüğü bulgularının istatistiksel Değerlendirmesi	31
Tablo 3.2: Ortalama temas açısı bulgularının istatistiksel değerlendirmesi	33
Tablo 3.3: Floresan mikroskopta S. Mutans sayım sonuçları	34
Tablo 3.4: Bakteri tutulumu bulgularının istatistiksel değerlendirmesi	36

1. GİRİŞ

Erken dönem implant başarısızlıklarında cerrahi travma, bakteriyel kontaminasyon, mevcut kemiğin kalitesi, yaş, diabet, menapoz dönemi ve hormon eksiklikleri sorumlu gösterilirken, geç dönem başarısızlıklardan daha çok implant bölgesindeki mikrobiyolojik oluşumlar ve konak cevabı arasındaki denge bozukluğu sorumlu tutulmuştur. (1)

İmplantın oral kaviteye açılan kısımları (transgingival kısım), floradaki bakterilerle etkileşime giren ve plak formasyonuna öncülük eden yüzeyler haline gelebilmektedir. İmplant çevresinde mikrobiyal plak akümüasyonu konusuna değinen bilimsel çalışmalarda, biyofilm yapısının bu bölgelerde de oluştuğu ve kalıcılığı halinde implant başarısızlıklarına sebep olduğu belirtilmiştir. (2)

İmplant yüzeyleri ile öncelikle Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis, Streptococcus oralis gibi erken dönem mikroorganizmalar arasındaki bağlantı oluşmaktadır. Bu mikroorganizmalar da, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia gibi periimplantitise yol açabilecek periodontal patojenlerin bölgeye tutulumu için gerekli koşulları sağlamaktadır. (3)

Oral bakterilerin katı yüzeye tutunma mekanizması tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan çalışmalarda tutunma, elektrostatik etkileşimler, van der Waals kuvvetleri ve asit-baz etkileşimleri gibi spesifik olmayan etkileşimler ve reseptör-ligand bağlantısı gibi spesifik etkileşimler ile açıklanmıştır. Bakterilerin bağlandığı yüzeylerin serbest enerjisi, pürüzlülüğü ve kimyasal kompozisyonunun bakteri tutulumunu, dolayısıyla enfeksiyon gelişimini etkilediği bildirilmiştir. (4)

Dental implantlarda bakteri tutulumunu azaltmak amacıyla titanyum yüzeyine uygulanan çeşitli kaplama teknikleri bulunmaktadır. (1,5,23)

Plazma polimerizasyon tekniği, plazmadaki organik bileşiğin polimerize olduğu ve bir madde üzerine çöktüğü kaplama yöntemidir. Plazma, maddenin katı, sıvı ve gaz hallerinden oldukça farklı özelliklere sahip olması nedeniyle maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır. Plazma polimerizasyon yönteminin en önemli avantajı uniform ve ince kaplamalar elde edilebilmesidir. Uygun plazma yüzey işlemleriyle; optik yansımaya, adezyon, sürtünme katsayısı, yüzey enerjisi, geçirgenlik, yüzey iletkenliği gibi yeni özellikler elde edilebilir. (6)

Dental implantlarda plazma polimerizasyon tekniği ile yüzey koşullarını değiştiren ve bakteri tutulumunu inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda tiyol içerikli monomer ile plazma polimerizasyon yönteminin, implant materyali olarak sıklıkla kullanılan tip 4 saf titanyum üzerine uygulanabilirliği ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesiyle biyofilm ve bakteri tutulmasına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dental İmplantların Tarihçesi ve Gelişimi

İmplantlar; kaybedilen dişlerin rehabilitasyonunda, kraniyofasiyel iskeletin rekonstrüksiyonunda, ortodontik tedavide ankraj olarak ve distraksiyon osteogenezi ile yeni kemik oluşumuna yardımcı olarak kullanılmaktadır. (6)

Dental implantlara ait ilk bulgu milattan sonra 600 yılları civarında yaşamış olan Mayalara ait bir mezar kazısından elde edilmiştir. Mısır ve ortadoğuda da implantlarla ilgili çalışmalar yapılmıştır.(7)

Kemiğin implantla kaynaşması ilk kez 1940 yılında Bothe ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Osseointegrasyon ilk kez Branemark tarafından 'yaşayan kemik ile yük taşıyan implant yüzeyi arasındaki fonksiyonel ve yapısal birleşme' olarak tanımlanmıştır. (7)

2.2. İmplant Biyomateryalleri

İmplantların yapımında birçok biyolojik uyumlu materyal kullanılabilir. Daha çok metal ve metal alaşımları üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak seramik ve karbon, polimer ve kompozitlerle ilgili çalışmalar da yapılmaktadır. (14)

2.2.1. Titanyum

Dental implantların üretiminde genellikle ticari saf titanyum (Ti) ve Ti6Al4V alaşımı kullanılır. Oksijen içerikleri farklılık gösteren dört tip saf titanyum bulunur. (8)

En fazla oksijen içereni %0,4 ile saf Ti tip 4 tür. Titanyum tipleri arasında içeriklerinde bulunan nitrojen, karbon, hidrojen ve demir oranları açısından belirgin farklar gözlenmez. Minör elementlerin oranlarındaki ufak değişiklikler alaşımların fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirgin biçimde değiştirebilir. (9)

	N	C	H	Fe	O	Al	V	Ti
CpTi, Tip1	0,03	0,1	0,015	0,02	0,18	-	-	Denge
CpTi, Tip2	0,03	0,1	0,015	0,03	0,25	-	-	Denge
CpTi, Tip3	0,05	0,1	0,15	0,03	0,35	-	-	Denge
CpTi, Tip4	0,05	0,1	0,15	0,05	0,40	-	-	Denge
Ti6Al4V	0,05	0,08	0,012	0,25	0,13	5,5-6,5	3,5-4,5	Denge

Tablo 2.1: Titanyum ve titanyum alaşımlarının kimyasal kompozisyonu

Titanyum atom numarası 22 olan ve periyodik cetvelde 4.grupta yer alan bir metaldir. İlk olarak 1789'da W. Gregor tarafından tanımlanmıştır. Yer kabuğunun %0,6'sını oluşturan titanyum en yaygın bulunan onuncu elementtir. Brinell sertliği 100 kg/mm² ve yoğunluğu 4.507 g/cm³ tür. Yüksek dayanıklılığı ve düşük özgül ağırlığı ile uçak ve uzay endüstrisinde, optik alanda ve saat yapımında kullanılır. (10)

Oda sıcaklığında hegzagonal α evresi olarak isimlendirilen kristal bir yapıya sahiptir. 882.5°C'da bu evre başka bir kristal yapıya dönüşür ve merkezde toplanmış kübik yapı β evresi oluşur. Alfa ve beta evreleri artan ve azalan ısı değerleri ile yer değiştirebilir. Farklı metaller veya elementler eklenerek yüksek ısı evresi oda sıcaklığında sabitleştirilebilir. İçerdiği elementler titanyumun mekanik özellikleri üzerinde önemli rol oynar. Ayrıca oksijen, azot ve hidrojen de iyonik kristal yapıyı etkiler. (11)

Erime noktası yaklaşık 1700 °C' dir. Yüksek erime ısı ve kimyasal tepkimesi, titanyum ve titanyum alaşımların dökümünü ancak özel şartların yerine getirilmesi ile mümkün kılar. Titanyumun dökülebilirliğini kısıtlayan bir problem de, silika bağlı ve fosfat bağlı revetmanların içerisindeki elementler ile kimyasal reaksiyona girerek döküm yüzeyinde oldukça sert ve kırılabilir bir tabaka meydana getirmesidir. (12)

Titanyum; işlenebilirliği, kimyasal reaktivitesi, düşük termal iletkenliği, yüksek sıcaklıklardaki yüksek dayanıklılığı ve düşük elastik modülü gibi içsel özellikleri nedeni ile zayıf olarak kabul edilir. Titanyum reaktif bir metaldir. Havada, suda veya herhangi bir elektrolit ortamda yüzeyinde 1 msn içinde oluşan 1nm kalınlığındaki stabil oksit tabakası, titanyumun korozyona karşı dirençli olmasını sağlar. (13)

Uygun fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde diş hekimliğinde sabit kron ve köprü, hareketli ve tam protez iskelet alt yapısı, kemik içi implant ve implant üst yapı parçalarının dökümünde kullanılmaktadır. (85) Biyoyumlu ve biyo inert olması, kemiğe yakın elastisitesi ve hafifliği, antibakteriyel olması,

korozyona karşı yüksek direncinin olması nedeniyle en uygun implant materyali olarak bildirilmiştir. Ortopedide sabitleştirici ve kalp-damar cerrahisinde kalp kapakçıkları olarak sıkça kullanılır. Titanyumun oksit tabakasına proteoglikan ve glikozaminoglikan gibi doku ürünleri yapışır. Bunların üzerlerine de kollojen demetler tutunarak osseointegrasyon adımı başlatılmış olur. Ancak titanyumun dış hekimliğinde kullanımının tamamen başarılı olarak değerlendirilmesi için halen aşılması gereken bazı engeller mevcuttur. (11)

2.2.2 Seramik ve karbon

Bu grup alüminyum oksit seramikler, karbon ve karbon-silikon bileşimi ve zirkonyumu içerir. Hidroksiapatit katı bir materyaldir ve implant yüzeyini kaplamada çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzeyi kaplayan materyaller implantlara gelen yükleri karşılamak için kullanıldıklarından bu materyaller aşınmaya dirençli olmalıdırlar. (14)

2.2.3 Polimer ve kompozitler

Polimetilmetakrilat, silikon ve polietilen bu gruba girer. Günümüzde yaygın olarak kullanılmamaktadırlar ancak teknolojik gelişmeler bu materyalin gelecekte kullanımını artırabilir. (14)

2.3. İmplant uygulamalarında meydana gelen komplikasyonlar

Cerrahi komplikasyonlar

A-Intraoperatif komplikasyonlar

- 1- Hemoraji
- 2- Sinir zedelenmesi
- 3- Maksillar ya da nasal sinüs perforasyonları
- 4- Çene kemiği kırılması
- 5- Uygunsuz implant yerleştirme tekniğinin olası sonuçları

B- Postoperatif komplikasyonlar

1) Erken komplikasyonlar

- Kapatma vidalarının gevşek kalmaları, düşmeleri
- Hemoraji
- Hematom
- Ödem
- Erken enfeksiyon
- Yara kenarı dehisensi ve mukozal perforasyon
- Cerrahi amfizem
- İmplant mobilitesi

2) Geç komplikasyonlar

- Periimplantitis
- Yumuşak doku patolojileri
- Sert doku patolojileri

Protetik komplikasyonlar

- İmplantların uygunsuz yerleşimi ve eksen yönü
- Protetik postun kaybı ve kırığı
- Oklüzal vidaların kaybı ve kırığı
- Estetik komplikasyonlar
- Fonksiyonel komplikasyonlar
- İmplant kaybı
- İmplant alt yapının kırılması

Erken dönem implant başarısızlıklarında cerrahi travma, bakteriyel kontaminasyon, mevcut kemiğin kalitesi, yaş, diabet, menapoz dönemi ve hormon eksiklikleri sorumlu gösterilirken, geç dönem başarısızlıklardan daha çok implant bölgesindeki mikrobiyolojik oluşumlar ve konak cevabı arasındaki denge bozukluğu sorumlu tutulmuştur. (1)

Ağız hijyeni açısından kullanılan biyomateryallerin üzerindeki biyofilm tabakasının dağılım oranı önemli bir unsurdur. (15) Mikrobiyal enfeksiyonların yaklaşık %65'inin biyofilmler aracılığıyla bulaştığı bildirilmiştir. (16)

2.4. Biyofilm

Biyofilm, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan, herhangi bir yüzeye, ara yüzeye veya birbirlerine yapışmalarını sağlayan ve büyüme oranları ile gen transkripsiyonuna bağlı olarak farklı fenotip gösterebilen ve oluşturan mikroorganizmanın içinde gömülü olarak bulunduğu ekstraselüler polimerik maddeden oluşmuş matriks (EPS) şeklinde tanımlanmaktadır. (16)

2.5. Bakterilerin yüzeylere yapışma mekanizması ve biyofilm oluşumu

Bakterilerin biyofilm oluşturmaları için öncelikle bir yüzeye tutunmaları gerekmektedir. Bu tutunma temelde üç aşamada gerçekleşir; hazırlayıcı film oluşumu, yüzeye taşınım, yüzeye bağlanma ve polisakkarit üretimi. (20)

Bakteriler bir yüzey üzerine direkt olarak tutunmazlar. Öncelikli olarak malzeme yüzeyinde "hazırlayıcı film" olarak nitelendirilen organik tabaka oluşur. Tutunmayı sağlayan organik maddelerin başında fibronektin, kolajen, albumin gibi proteinler yer almaktadır. Bu maddeler yüzeye sıvı veya hava yoluyla ulaşırlar ve malzeme yüzeyine serbest bakterilerin tutunmasını kolaylaştırırlar. (20)

Mikroorganizmalar, yapışacakları doku veya malzemeye sıvı veya hava içerisinde pasif olarak taşınırlar. Bunun dışında bakteriyel flajel bakteri hareketini, pili ise bakteri hücreleri arasındaki genetik alışverişi yani aynı zamanda haberleşmeyi sağlar. Bu hücre uzantıları ile veya bazı amipsi hareketlerle mikroorganizmalar bölgeye aktif olarak ulaşabilir. Yüzeye gelen mikroorganizmalar negatif yüklüdür ve yapışma yüzeyindeki yüklü bölgeler ile olan elektrostatik etkileşimler ya da hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler ile yüzeye tutunma gerçekleşebilir. Bunun yanı sıra, yüzey ile aynı yüke sahip mikroorganizmalar van der Waals çekici kuvvetleri sayesinde yüzeye yakın bir

pozisyon alır (yüzeyden yaklaşık 10 nm uzaklıkta) . Yüzeye yaklaştıkça bu çekici kuvvetler artar ve böylece mikroorganizmalar yüzeyden yaklaşık 2-3 nm uzaklıkta konumlanırlar. Bu tutunmalar geri dönüşümlüdür. Bağlar ne spesifik, ne de kuvvetlidir. Bakteri ile yüzey arasında bu aşamada bir miktar boşluk bulunmaktadır ve çeşitli etkilerle bu bağlar tekrar bozulabilmektedir. (17)

Bakteriler yüzeye 1 nm veya daha yakın olduğunda yüzey tutunma proteinleri, hazırlayıcı film tabakasındaki fibronektin, protein gibi makromoleküller ile etkileşime girerler. Bu şekilde bağlantı, geri dönüşümsüz bir şekle girmektedir. Bağlantılar sıkı kimyasal bağlantılardır (iyonik, hidrojen ve kovalent bağlanma) ve spesifiktirler. (17)

Bakterilerin ürettiği polisakkaritler de yüzeye bağlanarak hücre kümeleşmesine ve mikrokolonilerin oluşmasına yardımcı olurlar. Sıcaklık, besi ortamı, katyon dengesi gibi çevresel koşullar uygunsa bakteri üremesi gerçekleşir. Ayrıca organik maddeler, ölü hücreler (nötrofil, fagositik, epitel hücreler vb.) ve minerallerin de katılımıyla biyofilm yapısı oluşur. Biyofilm oluşumunda birçok gen, hücreler arası sinyalleşme ve polisakkaritlerin üretiminde rol almaktadır. (17)

Kümeleşme ve koloni oluşumundan sonra, biyokütlenin dış yüzeyinden ayrılmalar görülür. Bu ayrılmalar koloninin yaşı ve çeşitli fiziksel kuvvetler nedeniyle gerçekleşir. Ayrılan biyofilm parçaları tekrardan başka yüzeylerde biyofilm oluşturabilme kabiliyetindedirler. (17)

2.6. Ağız içi yüzeylerde biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler

2.6.1. Yüzey pürüzlülüğü, yüzey enerjisi ve yüzeyin kimyasal yapısı

Bir katı veya sıvı içerisindeki her molekül, kendisini çevreleyen diğer moleküller tarafından tüm yönlerde eşit olarak çekilerek dinamik bir denge içerisinde kalır, Ancak maddenin dış yüzeyinde bu denge bozulur, yüzeydeki moleküllerin, alt tabakalardaki çok sayıda molekül tarafından aşağı çekilmesi ile en üstteki molekül tabakasında içsel bir kuvvet oluşur. Bunun yanı sıra yüzeyi oluşturan moleküller, iç yapıdan farklı olarak kendilerine özgü bir dizilim gösterirler. Yüzeyde buharlaşma veya benzeri sebeplerle meydana gelen molekül kayıpları yada elektron eksiklikleri, moleküller veya atomlar arasındaki mesafenin artmasına, dolayısıyla daha güçlü çekim kuvvetlerinin ortaya çıkmasına yol açar. Bütün bu etkileşimler, materyalin yüzeyinde bir enerji artışına neden olur ki buna yüzey enerjisi adı verilir. Sıvılarda ise bu enerji, yüzey gerilimi olarak isimlendirilir. (18)

Diş yüzeyinde biyofilm oluşumunun ilk aşamalarında, bakterinin minenin pit ve fissürlerine yapıştığı gözlenmiş, yüzey yapısının önemli olduğu düşünülmüştür. Biyofilm oluşumunda dişin yüzey enerjisinin de önemli olduğu bildirilmektedir. Buna bağlı olarak pürüzlü yüzeylerin yüzey enerjisinin fazla olması nedeniyle biyofilm oluşumuna daha yatkın olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda hidrofobik maddelerin biyofilm oluşumunu hızlandırdığı, ağız içindeki bakterilerin bir çoğunun hidrofobik yüzey özelliklerine sahip olmasının da biyofilm oluşumunu artırdığı bildirilmektedir. (19,20)

Quirynen ve arkadaşlarının 1993 yılındaki çalışmasında mikrobiyal kolonizasyonu etkileyen pürüzlülük eşik değeri $Ra = 0.2 \mu m$ olarak tespit edilmiştir. Bu değerin altındaki değerler arasında bakteriyel kolonizasyon açısından önemli farklılıklar bulunmamıştır. (21)

Uyen ve arkadaşları düşük serbest yüzey enerjisine sahip bakterilerin, düşük serbest yüzey enerjisine sahip katılara; yüksek serbest yüzey enerjisine sahip bakterilerin, yüksek serbest yüzey enerjisine sahip katılara daha fazla bağlandığını ortaya koymuşlardır. (22)

Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalarda yüzey pürüzlülüğü ve yüzey enerjisi dışındaki faktörlerin de bakteriyel tutulumda etkili olabileceği gösterilmiştir. (5,23)

Hannig ve arkadaşlarının çalışmasında, ağız içi yüzeylerde bakterilerin başlangıç bağlantısının yüzeyin fiziko-kimyasal özelliklerine bağlı olduğu belirtilmiştir. (24)

2.6.2. Tükürük

Dental biyofilm oluşumunun kontrolünde tükürüğün büyük önemi olduğu belirtilmektedir. Tükürükle kaplı yüzeyin ne oranda değiştiği ve bu değişimin yüzeye biriken mikroorganizmaları ne oranda etkilediği önem kazanmaktadır. Tükürük proteinlerinin bakterinin cinsine göre yapışmayı kolaylaştırabileceği ya da engelleyebileceği bildirilmiştir. (25)

2.6.3. Materyallerin antibakteriyel özellikleri

Amalgam, altın ve bileşikleri gibi materyallerin salgıladığı iyonların ve cam iyonomer simanların salgıladığı florid yapışan bakterinin üremesini ve canlılığını engelleme özelliği vardır. (23)

2.7. Biyofilm Analiz Yöntemleri

Bakteri sayısı veya biyofilm yapısı; ışık mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu, konfokal mikroskop veya floresan mikroskobu ile direkt olarak incelenebilir. (26)

2.7.1. Işık mikroskobu ile inceleme

Bu yöntem bakteriyel gözlem ve sayım için temel bir metoddur. Işık mikroskobu kullanmak için yüzeyin üst katmanı saydam olmalıdır. Bunun için örnek olabildiğince ince olmalıdır. Genelde bakteriler “kristal viyole” veya “karbol fuksin” gibi boyalar yardımı ile gözlemlenir. Biyofilmde bulunan hücreler, yoğunluklarına bağlı olarak çok etkin bir şekilde incelenemezler. (27)

2.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu yöntemi ile çok detaylı gözlem yapılabilmekte, fakat büyütme derecesinden dolayı sadece çok küçük alanlar incelenebilmektedir. Pahalı ve zahmetli olan bu teknik aynı zamanda çok zaman almaktadır. Biyofilm incelemelerinde, hücreler ve hücre dışı matris detaylı olarak incelenebilmektedir. (27)

2.7.3. Floresan mikroskobu

Dokular, hücre veya bakteriler floresan boya ile boyanıp ve UV ışınları altında mikroskopta incelendiğinde, ışık saçan parlak cisimcikler halinde görülürler. Bu amaçla kullanılan boyalar; auramin O, acridin orange R, berberin sulfat, primulin, thioflavin S, trypaflavin, thiazo-sarı G, corifosfin O, fluorescein, rheonine A, rhodamine B ve morindir. (27)

Akridin boyası nükleoit boyasıdır. Bakteri hücresi içerisindeki nükleoitlere yapışarak floresan mikroskobunda görünür hale getirir. Bu terim ile 3 çeşit boya anlatılır: 1) Akridin turuncusu, 2) Proflavine, 3) Acriflavine

2.7.4. Konfokal mikroskopi

Hücreler, floresan esasına dayanan bir analiz tekniği olan konfokal lazer taramalı mikroskopi ile buldukları yüzeylerden ayrılmadan incelenebilmektedir. Bu yöntem ile biyofilmin üç boyutlu yapısının incelenmesi mümkündür. Konfokal mikroskopide amaç üç boyutlu incelemedir. (26)

Direkt analiz yöntemlerine alternatif olarak bakteri sayısı veya biyofilm yapısı çeşitli indirekt yöntemler ile de incelenebilir. (26) Bu yöntemler de şu şekilde sıralanabilir; CFU (koloni oluşturabilen birim), radyoaktif işaretleme, CTC (5-siyano-2,3-ditolil tetrazolyum klorür) ile işaretleme, spektrofotometre, hücre sayacı ile tayin, biyokimyasal işaretleyiciler.

Tıpta yoğun olarak uygulanan yabancı cisimlerin uzun süre kullanılabilirliğini sağlamak için, bakterinin biyofilm oluşturmasını önleme veya oluşmuş biyofilmi yok etme şeklindeki potansiyel tedavi yöntemleri üzerinde yoğunlukla çalışılması gereken bir konudur. (16)

Bu konu ile uğraşan çalışma gruplarının geliştirdikleri stratejiler aşağıdaki şekilde sıralanabilir :

2.8. Biyofilm oluşumunu engelleme yöntemleri

2.8.1. Başlangıçta oluşan yapışmanın engellenmesi: Biyofilmin ilk tutulumdan hemen sonra oluşması bilinen bir gerçektir. Yapılan çalışmalarda, gümüş iyon kaplanması, antibiyotik emdirilmesi ve heparin gibi tutulumu engelleyen maddelerin kullanılmasının yabancı cisimler ile mikroorganizma arasındaki ilk yapışmayı geciktirdiği ve bu şekilde biyofilm oluşumunu engellendiği gösterilmiştir. (16)

2.8.2. Biyofilm oluşumunu azaltmak: Biyofilm yapısındaki karbonhidrat içeriğinde bulunan siyalik asidin, biyofilme karşı geliştirilecek tedavi stratejilerinde önemli bir hedef molekül olabileceğini düşünülmektedir. (16)

2.8.3. EPS'ye karşı geliştirilecek stratejiler: EPS, biyofilmin antibiyotik direnci oluşturmada rol oynayan bir molekül olması nedeniyle önemli bir hedeftir. (16)

2.9 Streptococcus Mutans

1924 yılında Clarke, pek çok insan çürük lezyonunda, baskın olan bir streptokok türünü izole etmiş ve bu türün, kokal morfolojiden kokobasiller morfolojiye doğru geçiş yapan yapısal özelliği nedeniyle Streptococcus mutans (*S. Mutans*) adını vermiştir. Aynı araştırmacı, yapay çürük lezyonlarında *S.mutans'* in dış yüzeyine oldukça sıkı yapıştığını gözlemlemiştir. Clarke'ın bu çalışmaları diğer araştırmacılar tarafından bir süre destek görmemiş ancak 1960'lı yıllarda bu mikroorganizmanın çürükten tekrar izole edilmesi ile plaktaki varlığı doğrulanmıştır. (28) Bu streptokok grubu karakteristik olarak, hareketsiz, katalaz negatif, kısa ve orta uzunlukta zincirler oluşturan gram pozitif koklar şeklinde tanımlanmıştır Mitis Salivarius Agar (MSA) üzerinde konveks koloniler oluşturur. Bu koloniler opaktır, yüzeyleri buzlu camı andırır. Ancak kültür ortamına bağlı olarak koloni morfolojileri çok değişkendir. *S. mutans* pH 5 de metabolik açıdan aktive olur. Bu pH pek çok bakterinin yaşayamayacağı kadar asidik bir pH'dır. (29)

2.10. Yüzey Modifikasyonu Oluşturma Yöntemleri

2.10.1 Mekanik Yüzey Modifikasyon İşlemleri

Başka bir katı materyal ile yüzeye fiziksel kuvvetler uygulanarak materyalin işlenmesi, şekillendirilmesi ve madde kaybının sağlanmasıdır. Mekanik yüzey modifikasyon işlemlerinde yüzey materyalinde kesici veya aşındırıcı bir uygulama ile madde kaybı sağlanabilir, yüzey materyali tanecikler ile kuşlanarak deforme edilebilir veya bu şekilde kısmi madde kaybı sağlanabilir. (30)

a) Tortalama İşlemi

Tortalama işlemi titanyumdan medikal aletlerin yapılmasında kullanılan bir uygulamadır. Tortalanan yüzeyler; çalışan kesici ucun hızına, uyguladığı baskıya ve kullanılan kayganlaştırıcı solüsyonun özelliklerine bağlıdır. (30)

Tortalama işleminden kaynaklanan bazı yüzey özellikleri meydana gelir. Yüzey topografisi tortalama işlemi yönü boyunca yönelme gösteren oluklar içermektedir. Yüzey tabakası plastik olarak deforme edilerek aşındırılmıştır. Titanyum yüzeyinde yüzey temizleme çözümleri ya da tortalama işlemi sırasında kullanılan kayganlaştırıcı solüsyonlardan arta kalan organik ve inorganik (Si, Ca, S, Cl, Fe, vb.) kirleticiler bulunabilir. (30)

b) Zımparalama ve Parlatma İşlemleri

Zımparalama ve parlatma işlemleri materyal yüzeyinde aşındırıcı tanecikler ile madde kaldırılması esasına dayanan, prensipte birbirine benzer işlemlerdir. Zımparalama işleminde iri aşındırıcı tanecikler içeren plakalar kullanılarak daha hızlı madde kaybı ve daha pürüzlü topografiler elde edilmektedir. Eğer, zımparalama işlemi tek yönde uygulanırsa bu işlem belli bir yöne sahip topografilerin elde edilmesinde kullanılabilir. Parlatma işleminde, gittikçe incelen aşındırıcı tanecikler içeren yağlayıcı solüsyonlar kullanılarak oldukça düzgün yüzeyler elde edilebilir. Kullanılan aşındırıcılar genellikle SiC, Al₂O₃ ve elmas içeriklidir. En ince boyutta aşındırıcı tanecikler kullanıldığında ayna parlaklığında yüzeyler elde edilebilir. Zımparalama ve parlatma işlemlerinden kaynaklanan bazı yüzey özellikleri meydana gelir. Uygulanan mekanik hareket, materyal yüzeyinde plastik deformasyon ve stres oluşumuna neden olur. Ayrıca, titanyumun daha saf tipleri gibi yumuşak materyallerde parlatma tanecikleri yüzeye saplanabilir. Mekanik işlem sırasındaki ısı oluşumu ve kayganlaştırıcı solüsyonlar nedeniyle materyal yüzeyinin kimyasal kompozisyonu ve oksit tabakasının yapısı değişebilir. Eğer, parlatma işlemi yüzeyin temizlenmesinden önceki son basamak ise bu faktörlerin yüzey üzerindeki etkisi göz önünde bulundurulmalıdır. Fakat, bu işlemler genellikle kimyasal, elektro-kimyasal veya diğer metodlardan önceki ara basamağı oluşturduğundan, bu durumlarda yüzeyin kimyasal özelliklerini son yüzey işlemi belirler. (30)

c) Kumlama İşlemi

Kumlama işlemi, materyal yüzeyine kum olarak tabir edilen ve mikron boyutlarında olan malzemelerin püskürtülmesi olarak tanımlanmaktadır. Hava sayesinde yüksek bir hıza ve dolayısıyla momentuma sahip olan bu kum tanecikleri yüzeye çarptıklarında mikron boyutunda izler bırakırlar. (30)

2.10.2 Kimyasal Yüzey Modifikasyon İşlemleri

a) Çözücü ile Temizleme

Genellikle, üretim sonucu oluşan yağların ve yağlı yüzey kirleticilerinin temizlenmesi için kullanılan organik çözücüler (alifatik hidrokarbonlar, alkoller, ketonlar), yüzey aktif deterjanlar (trikloretilen) ve alkali temizleme solüsyonlarıdır. Yüzey oksit tabakasının altındaki malzeme hedeflenmemektedir. (30)

Yüksek ısı veya ultrasonik banyo kullanılarak da temizleme işleminin etkinliği artırılabilir. Birçok temizleme çözücüsü yüzey kirlenmelerini temizlemekle kalmaz, yüzeyde artıklarını bırakarak yüzeyin kimyasal kompozisyonunun değişmesinde sebep olurlar. Birçok organik reaksiyonda katalitik aktivite gösteren TiO_2 , bu organik çözücüler ile reaksiyona girebilmektedir. (30)

b) Islak Kimyasal Dağlama İşlemi

Bu işlemde, yüzey oksit tabakası ile birlikte altındaki malzemenin de çözündürülmesi hedeflenmektedir. (30)

c) Asitle Dağlama İşlemi

Yüzeylerin dağlama veya pikling ile işlenmesinde asit solüsyonunun konsantrasyonu, ısı, işlem süresi etkilidir. "Pikling" terimi temiz ve tek düzey yüzeylerin elde edilmesi amacıyla oksit tabakası seviyesinde dağlama yapılmasını tanımlamaktadır. (30)

Asitle dağlama işlemlerinden kaynaklanan bazı yüzey özellikleri oluşmaktadır. Dağlamanın etkinliği bir önceki yüzey işlemine ve kaybedilen madde miktarına bağlıdır. "Yumuşak" işlemler bir önceki topografinin ana özelliklerini korur. (30)

Asitle dağlama işlemi öncesinde kumlanmış yüzeyler, genellikle daha düzensiz ve pürüzlü bir görünüm göstermektedir. Asitle dağlama işlemi ile yapılan araştırmalar incelendiğinde çeşitli asit solüsyonu karışımlarının titanyum yüzeylerin dağlanmasında kullanıldığı gözlemlenmektedir.

Saf titanyum yüzeylerin asitle dağlanmasında %10'luk HF asit solüsyonu, HCl/H₂SO₄ asit solüsyonları kullanılmıştır. (31,32)

d) Alkali ile Dağlama İşlemi

Alkali ile dağlama işlemleri titanyum yüzeylerin modifikasyonunda uygulanmaktadır. Gil ve ark. ayna parlaklığındaki 2. tip saf titanyum plakaları NaOH ile 600°C'de 1 saat beklettikleri çalışmada oluşan alkali titanat hidrojinin biyoyumluluğu arttırdığını bildirmişlerdir. (33)

e) Oksitleyici Bir Aside Daldırma

Titanyumun pasivasyonu için önerilen standart prosedür oda sıcaklığındaki %20-40 'lık HNO₃ ile 30 dakika dağlama işlemidir. Bu işlem sonrasında yüzey yıkanarak nötralize edilmeli ve kurutulmalıdır. Pasivasyon işlemi yüzey işlemlerinde genellikle son basamağı oluşturmaktadır. (30)

f) Isıl İşlem

Yüzeyler, 400-600°C'de hava ortamında ısıtılarak veya kaynayan deiyonize suda birkaç saat bekletilerek pasive edilebilir . Bu işlem, yüzey oksit tabakasının kompozisyonunda değışimlere sebep olabilmektedir. (33)

g) Elektro-Kimyasal İşlemler

Bir elektrolit içine yerleştirilen ve elektrik akımı uygulanan yüzeyde (elektrot) farklı kimyasal reaksiyonların meydana getirildiğı işlemlerdir. En çok elektrolitik parlatma işlemi ve anodik oksitlenme işlemi kullanılmaktadır. Her iki durumda da, işlem görecekt numune elektro-kimyasal bir devrede anot görevi görmektedir. Bu işlemlerde rol alan faktörler elektrolitin kompozisyonu, elektrot potansiyeli, ısı ve akımdır. (30)

2.10.3 Fiziksel-Kimyasal İşlemler

Yüzey enerjisini değıştirmek, yüzey pasifasyonu, yüzey kompozisyonu üzerindeki değışiklikler fiziko-kimyasal metodlar arasında sayılabilir.

a) Yük Boşalımı ile Plazma Polimerizasyon Yöntemi

Bu teknikte temel olarak vakumlu bir basınç odasında radyofrekans jeneratörü aracılığı ile belirli bir gazın plazma haline getirilmesi sağlanır. Plazma, maddenin katı, sıvı ve gaz hallerinden oldukça farklı özelliklere sahip dördüncü hali olarak tanımlanır. Genel olarak plazma, yüksek sıcaklıkta kuvvetli elektrik veya manyetik alanların etkisiyle oluşur. Ancak güçlü bir elektriksel boşalım da plazma oluşturabilir. Plazma ortamında enerji kazanan serbest elektronlar, ortamdaki diğert atomlara ve moleküllere çarparak enerjilerini transfer ederler. Bunların da birbirleriyle reaksiyona girmeleri sonucu ortamda çok değışik tür ve sayıda yeni moleküller, atomlar, radikaller, iyonlar, vb. oluşur. Plazma ortamına konan bir materyal yüzeyinde kopmalar (etching) veya birikme

(deposition) oluşur. Plazma parametrelerinin değiştirilmesi ile bu iki işlemten birini etkin kılmak mümkündür. Plazma ile kaplama yapmanın iki temel avantajı, kaplamanın uniform ve ince olmasıdır. (34,35)

Plazma polimerizasyonu organik ve organometalik kimyasal malzemelerden çok ince polimer tabakalarının (10\AA - $1\mu\text{m}$) üretilebildiği tek tekniktir. (30) Plazma ortamında polimerleştirilmiş tabakalar boşluksuz ve çapraz bağlıdır. Bu sebeple çözünmez, termal dengeli, kararlı ve mekanik dayanımı yüksek yapılardır. (36) Uygun plazma yüzey işlemiyle, optik yansıma, adezyon, sürtünme katsayısı, yüzey enerjisi (ıslaklık ve su iticiliği), geçirgenlik, yüzey iletkenliği ve sıradan polimerlerin biyouyumluluğu gibi yeni özellikler elde edilebilir. Kullanılan monomer ve plazma polimerizasyon parametreleri boşalım gücü (W), süre (dk), çalışma basıncı (mbar) değiştirilerek istenen sonuçlar elde edilebilir. (35,37)

Bu önemli özellikleri sayesinde plazma polimerizasyonu son birkaç yıldır seçici geçirgen membran, koruyucu kaplamalar, biyomedikal malzemeler, elektronik, optik araçlar ve adezyon tetikleyiciler gibi uygulamalarda çokça kullanılmıştır. (36,37)

Plazma halindeki gazlar atomlarına ve iyonize moleküllere ayrışarak gelişmiş bir enerji kaynağı haline gelirler. Plazmanın önemli bir özelliği, düşük enerji seviyelerine inen elektrikleşmiş moleküllerin gözle görülebilen bir akım yaratmasıdır. (38)

Plazma iyon ve elektronlarının basınç odasında sıkışması sonucunda, oda içinde bulunan nesnelere üzerine bir püskürme sağlayarak, inorganik nesnelere üzerindeki organik yüzey kirliliğini temizleyerek, yüzeyi steril hale getirip, enerjisini arttırarak dokulara yapışma kabiliyetini güçlendirmektedir. (39)

Vargas ve ark. 1992 yılında, saf titanyum ve TiAl6V4 alaşımlarının yüzeyel tabakalarından salınan titanyum, alüminyum ve vanadyum korozyon ürünlerinin miktarını ölçmüşlerdir. Yük boşalımı işlemi uygulanan implantlarda, salınan korozyon ürünleri açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş ve daha pasif bir yüzey oksidi gözlenmiştir. (40)

b) İyon Aşılama İşlemi

Yüzeyin oldukça yüksek enerjiye sahip iyonlar ile bombardıman edilmesi işlemidir. İyonlar yüksek enerjileri nedeniyle materyal yüzeyine penetre olarak belli derinliklere ($0,1-1\mu\text{m}$) aşılantadırlar. (30)

c) Fiziksel Buhar Biriktirme (PVD)

Fiziksel buhar biriktirme, katı haldeki bir malzemenin buharlaştırılarak veya sıçratılarak başka bir kütle üzerinde ince bir film olarak biriktirilmesi işlemidir. PVD yönteminde rol oynayan elemanlar hedef materyalden elde edilen taneciklerin enerjisini, yoğunluğunu ve kompozisyonunu, maddenin ısını, reaktif gazın özelliklerini, asal ya da reaktif gazların kısmi basıncını, kısmi buhar basıncını içine almaktadır. (30)

PVD yöntemleri buhar oluşturma sekline göre; buharlaştırma ve sıçratma olmak üzere 2 ana gruba ayrılmaktadır. (41)

Buharlaştırma yönteminde malzeme termal bir ısı kaynağı ile buhar haline getirilmektedir. Yöntem buharlaştırmanın yapıldığı şekle göre gruplara ayrılmaktadır. Direnç buharlaştırma, endüktif buharlaştırma, elektron bombardımanı ile buharlaştırma, katodik ark ile buharlaştırma gibi uygulama yöntemleri bulunmaktadır. (41)

Saçılma yönteminde pozitif iyonlarla katı malzemeyi bombardımana tutarak malzeme yüzeyinden atomları sıçratma işlemidir. Damlacıkların oluşma olasılığı oldukça azdır. (41)

2.11.Yüzey Analiz Teknikleri

Tam bir yüzey karakterizasyonu için ihtiyaç duyulan tüm bilginin elde edilmesi, birçok tekniğin birlikte kullanılmasını gerektirmektedir.

2.11.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR)

Infrared Absorpsiyon Spektroskopisi, düşük enerjili kızılötesi (IR)bölgedeki ışınların kullanıldığı absorpsiyon spektroskopisidir. Farklı moleküller farklı molekül içi titreşim enerji düzeyi gösterir. Dolayısı ile IR ışınını absorblamaları değişir. Elde edilen veri bir bilgisayar aracılığı ile ters Fourier dönüşümü alınarak frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Bu şekilde gerçekleştirilen IR uygulaması Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) adını alır. (42)

2.11.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

Atom ya da moleküllerin x-ışını bombardımanı sırasında, atomdan ya da molekülden fırlatılan elektronun kinetik enerjisinin ölçülmesi, elektron spektroskopisinin temelidir. Fırlatılan bu elektronlar, atomların iç kabuklarından birinden çıktığı için, bu olay sırasında oluşan iyon, uyarılmış bir iyonudur. X-ışınları ile gerçekleştirilmiş bu tür elektron spektroskopisi türüne X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS) veya Kimyasal Analiz için Elektron Spektroskopisi (ESCA) denmektedir. (43)

XPS genellikle katı örneklerin yüzey analizlerinde kullanılır. Birçok maddenin iç kısımları ile yüzeyinin kimyasal yapısı farklı olabilir. Yüzey özellikleri ile maddenin iç kısımlarının yapısı aynı olan maddeler için, maddenin nitel analizi gerçekleştirilebilir. Yüzey ile iç kesimleri yapısı farklı olduğu durumda ise yüzey hızlandırılmış argon iyonları ile bombardıman edilerek aşındırılır ve daha sonra iç kesimleri açığa çıkartılarak analizi yapılır. (43)

2.11.3. Profilometre

Profilometre cihazı, yüzey pürüzlülüğünü değerlendirmek amacıyla kullanılır. Cihazda, elmas tarayıcı bir uç örnek yüzeyinde gezinirken, elde edilen yüzey pürüzlülüğü bulguları dijital olarak hesaplanır ve kaydedilir. (44)

2.11.4. Atomik kuvvet mikroskopları (AKM)

Alt tabakaya minimal kuvvet ileten bir temas profilometre metodudur. Distorsiyonu önlemek için keskin nanometre boyutlu bir uç kullanılarak yüzey taranır, ince özelliklerin daha iyi tespiti sağlanabilir. Bu yöntemde özel ölçümlerin yapılması ve pürüzlülük değerlerinin elde edilmesi ile sağlanan veriler kullanılarak topoğrafik bilgi 3 boyutlu olarak görüntülenebilir. (43)

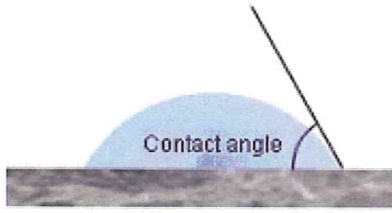
İmplant araştırmalarında genellikle yüksekliği tanımlayan parametreler kullanılmaktadır. Ra en çok kullanılan yüzey pürüzlülük parametresidir. Ra, ortalama yüzey pürüzlülüğü veya incelenen kısmın yüzeyine uyan bir düzleme olan tüm noktaların ortalama sapmasıdır. (45)

2.11.5. Taramalı Elektron Mikroskopları (SEM)

Yüzey topografisi; morfolojisi ve ayrıca bu yüzeylere ekilen hücrelerin morfolojilerini nicel olarak değerlendiren bir diğer yöntemdir. Elektronların nesneden geçmediği bir elektron mikroskobu çeşididir. Bu mikroskopta yüksek gerilimle hızlandırılan elektronlar ince demetler halinde toplanarak nesne yüzeyine çarpmaktadır. Nesne üzerindeki bir noktanın ayırdığı primer ve sekonder kırılmış elektronlar detektör yardımıyla toplanmaktadır. Değişik noktalardan gelen bu sapmalar katot tüpünün ekranı üzerinde görüntüyü oluşturmaktadır. (46)

2.11.6. Temas Açısı Ölçümü

Temas açısı, bir katı malzeme yatay eksenini ile bu malzemenin temas halinde olduğu sıvı veya buhar ara yüzünün üst kısmı arasında kalan açıdır. Temas açısı iç açı ve dış açı olarak ölçülebilmektedir.



Şekil 2.1: Temas açısı gösterimi

Malzeme yüzeyi ile üzerine damlatılan saf su damlası arasındaki temas açısı yüzeyin hidrofilik/hidrofobik özelliği hakkında bilgi verir. Bir sıvının katı yüzey üzerinde yayılmasına ve yüzeyi belli oranda kaplamasına ıslatma, katı yüzeyin herhangi bir sıvı tarafından belli oranda kaplanmasına ıslanma, bu olayın gerçekleşme derecesine ise ıslatabilirlik veya ıslanabilirlik denir. Su temasına yatkınlığı olan ve su ile yaptığı temas açısı 90° 'den küçük olan materyallere hidrofilik, su temasına yatkınlığı olmayan ve su ile yaptığı temas açısı 90° 'den büyük olan materyallere ise hidrofobik materyal denir. (18)

Temas açısı, yüzey üzerine su damlatma işlemi gerçekleştirildikten sonra meydana gelen açının profil fotoğrafı çekilip, bu fotoğrafın bilgisayar analizi yapılarak ölçülür. Temas açısı ölçümü için gerekli profil fotoğrafında temas eksenini ve açılarının hesaplanacağı kesimlerin net olması önemlidir. (18)

2.11.7.Elipsometre

Bu yöntemle film parametreleri, film kalınlığı, bileşimi, optik özellikleri ve yüzey yapısı incelenebilmektedir. Bir elektromagnetik dalgaın ara yüzeyden yansıması durumunda kutuplanma halindeki değişiminin ölçümünü yapar. (47)

Dental implantların yüzey özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla yapılmış farklı kaplama tekniklerini içeren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. (32,39,40,56,58) Bu çalışmalar genellikle osseointegrasyonun ve mekanik özelliklerin incelenmesine yönelik olup, literatürde yüzey kaplamalarının bakteriyel tutulumuna etkisini inceleyen yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Proje kapsamında yüzeye hidrofilik karakter kazandıracak –OH ve -SH grup içeren bir monomerin plazma ile polimerleştirilmesine karar verilmiştir. Tiyol içerkli 11-merkaptoundekanoik asit (Sigma-Aldrich, *Almanya*) monomer olarak seçilmiştir. Tiyoller, alkollerin -SH fonksiyonel grubunu içeren türevleridir ve aynı zamanda merkaptan olarak da bilinmektedir. (54)

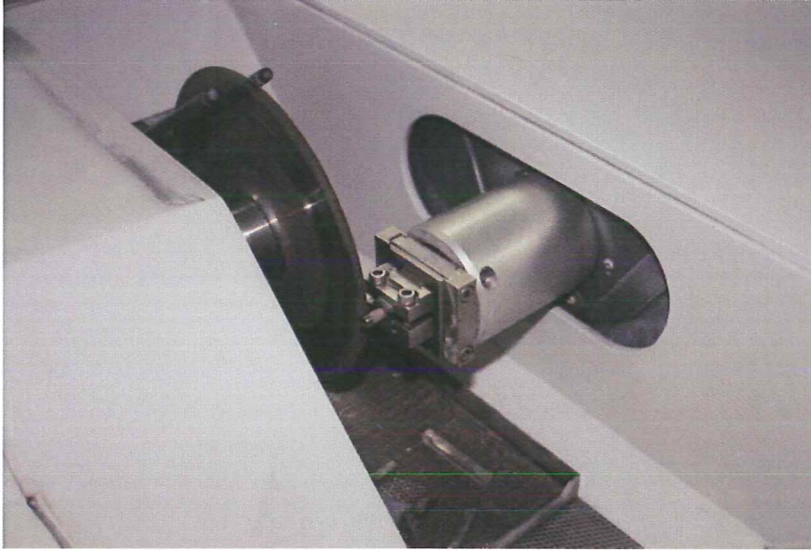
Bu çalışmada tiyol içerkli monomer ile plazma polimerizasyon yönteminin, implant materyali olarak sıklıkla kullanılan tip 4 saf titanyum üzerine uygulanabilirliği ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesiyle bakteri tutulumuna etkisinin incelemesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, aynı ebatlarda ve bakteri tutulumu için eşik değer olan $R_a = 0.2 \mu\text{m}$ yüzey pürüzlülük değerinin altında 20 adet titanyum disk hazırlandı. Örneklerden 10 tanesine aynı şartlarda olmak üzere plazma polimerizasyon yöntemi ile yüzey kaplaması uygulanıp, kalan 10 örnek kontrol grubu olarak kullanıldı. Örneklerin tümü eşit yoğunlukta bakteri süspansiyonunda bekletildikten sonra yüzeylere tutunmuş bakterilerin sayımı floresan mikroskopta yapıldı ve 2 grup arasındaki farklar istatistiksel olarak belirlendi.

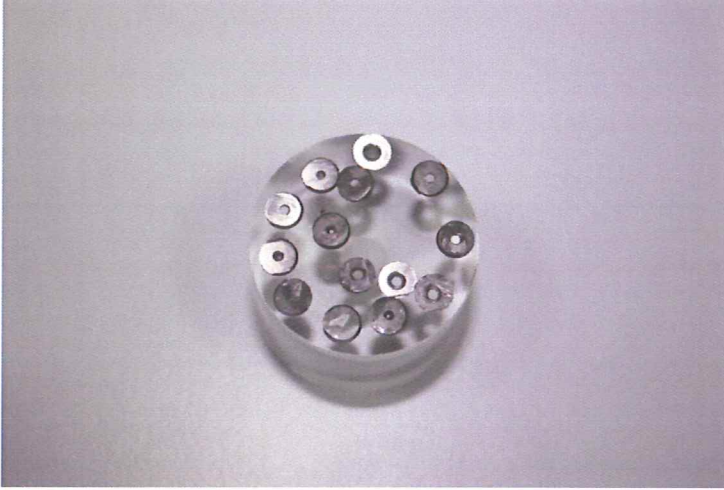
3.1. Yüzeylerin Hazırlanması

Çalışma kapsamında, Bilkent Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi (UNAM) laboratuvarında, 4mm çapında ve 1 mm kalınlığında toplam 20 adet Tip 4 saf titanyumdan (Thommen Medical, Switzerland) disk şeklinde örnekler kesilerek hazırlandı.



Şekil 3.1: Kesme cihazı (Accutom-50, Struers Ltd, Lanarkshire, İngiltere)

Örnekler zımparalama ve parlatma işlemleri sırasında kolay tutabilmek ve her örneğe standart uygulama yapabilmek amacıyla akrilik rezinden elde edilen silindirik kalıpların içerisine gömüldü.



Şekil 3.2: Örneklerin akrilik silindir kalıp içerisine gömülmesi (Cito Press-10 Struers Ltd, Lanarkshire, İngiltere)

3.1.1. Zımparalama ve Parlatma İşlemleri

Toplam 20 adet örneğin zımparalama ve parlatma işlemleri, parlatma cihazı (LaboPol-5, Struers Ltd, Lanarkshire, İngiltere) üreticisinin titanyum metali için önerileri doğrultusunda Bilkent Unam laboratuvarında gerçekleştirildi.

Kaba zımparalama işlemi, silisyum karbit aşındırıcı kağıt (320 grid) ile yapılmış, ince zımparalama işlemi örneklerle eşit kuvvet uygulayan numune tutucu ucu bulunan cihazda $9\mu\text{m}$ ' lik aşındırıcı elmas solüsyonu kullanılarak 150 N kuvvet altında 5 dakikada gerçekleştirildi.

Zımparalanan örnekler SiO_2 solüsyonu (OP-S, $0.04\mu\text{m}$) ile 5 dakika süreyle parlatıldı.

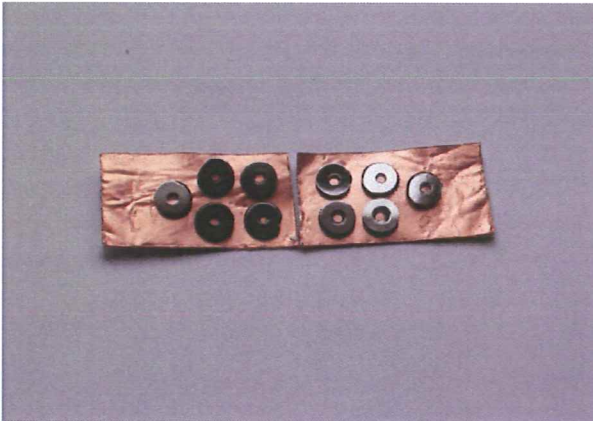


Şekil 3.3: Parlatma cihazı

3.2 Yüzey Karakterizasyonu

Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği laboratuvarında, örnekler kaplama işleminden önce akrilik rezin içerisinde çıkarıldı ve ultrasonik banyoda aseton içerisinde 20 dk süreyle yıkanarak aşındırıcı partikül artıklarından arındırıldı.

Aynı koşullarda plazma polimerizasyon tekniği (yük boşalımı) ile kaplanan 10 örnek yüzeyi üzerinde, tiyol-hidroksil grup içeren 11-merkaptoundekanoik asit monomeri, yüksek akım kesikli ışımaya tekniğiyle polimerleştirildi.



Şekil 3.4: Yüzey kaplaması yapılacak örnekler

Daha önceki deneylerden ve hava ile temastan kaynaklanan kirliliği ortadan kaldırmak amacıyla plazma polimerizasyonuna başlamadan önce gaz girişinden sisteme argon gazı verilerek vakumlandı. Kaplama sürecine geçmek için argon gazı sisteme tekrar verilip, vakum etkisi yaratıldı. Radyofrekans dalgaları ile reaktöre çıkışı bulunan monomer hareketlendirilerek reaktör içerisinde plazma halinde dolaşıma geçmesi sağlandı. Plazma halini almış monomer partikülleri, kararsız yapılarını kararlı hale getirebilmek için reaktör içerisindeki kararlı malzeme üzerine yük boşalımı gerçekleştirdi ve denge durumuna ulaşmıştı. Bu sayede malzeme yüzeyinde kaplama oluşturuldu. İşlemin sonunda yeni oluşan grupların stabilizasyonu için, örnekler 10 dk vakumda bekletildi.

Depozisyon Koşulları

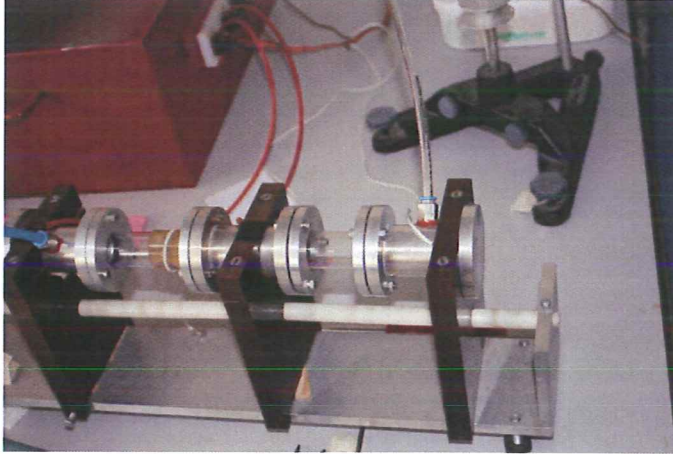
Süre: 10 dakika

DC: 2 kW

Darbeli: 19 kW

Basınç: 0.35 -+ 0.05 mbar

Frekans: 5 Hz



Şekil 3.5: Plazma depozisyon cihazı

3.3. AKM ile Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü

Titanyum ince filmlerin yüzey topografik incelemesi atomik kuvvet mikroskobu altında Bilkent Unam laboratuvarında gerçekleştirildi. Ortalama yüzey pürüzlülük değerlerini belirlemek için, her örneğin rasgele seçilen 10 μm 'luk üç noktasından R_a değerleri kaydedildi.



Şekil 3.6: AKM cihazı (XE-100 AFM, PSIA Corp., Korea)

3.4. Elipsometre ile İnce Film Tabakasının Ölçümü

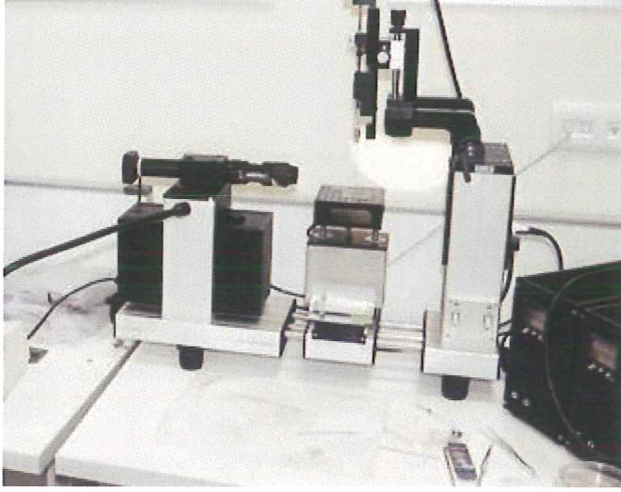
Plazma polimerizasyon yöntemi uygulanan deney grubu örneklerinin yüzeyinde yeni oluşan ince film tabakasının kalınlık ölçümü için Bilkent Unam laboratuvarında bulunan elipsometre cihazı kullanıldı.



Şekil 3.7: Elipsometre cihazı (V-VASE Ellipsometer, J. A. Woollam Co., U.S.A.)

3.5. Temas Açısı Ölçümleri

Temas açısı ölçümleri için, yüzey üzerinde yayılan 0,05 ml su damlacığının profil fotoğrafları çekilerek bilgisayarda çözümlendi. (SCA 20 Software for OCA, Dataphysics, Germany)



Şekil 3.8: Temas açısı ölçüm cihazı (OCA 20 contact angle system, Dataphysics, Germany)

3.6. Bakteri Tutulumunun İncelenmesi

3.6.1. Bakteri Süspansiyonunun Elde Edilmesi

Çalışmada bakteri örneği olarak Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi koleksiyonundan temin edilen 'Streptococcus mutans' ATCC 25175 kullanıldı. Başkent Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarında 0.5-1 ml. triptik soy broth (TSB) içinde süspansiyon edilen suşun % 5 koyun kanlı TSB' a yoğun ekimleri yapıldı ve 37 °C' de mikroaerofilik ortamda 24-48 saat inkübe edildi.

Üreyen bakterilerden TSB içinde yoğun süspansiyonlar hazırlanıp, 2000 g' de sentrifuj edildi. Daha sonra pelet tris buffer ile 2 kez yıkandı. Üstteki sıvı döküldükten sonra 2 ml. TSB eklendi. MacFarland ölçüm cihazında 0.5 bulanıklık ölçütüne göre bir bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu bakteri süspansiyonu 10 kat sulandırıldı.



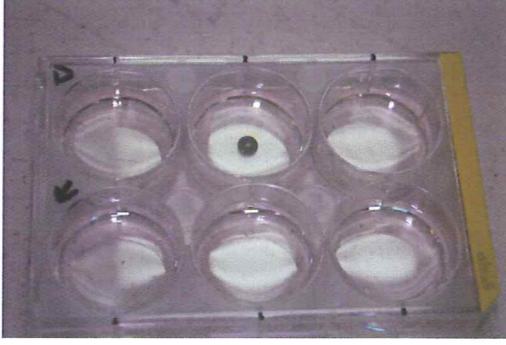
Şekil 3.9: S. Mutans ekimi



Şekil 3.10: MacFarland cihazı (PhoenixSpec BD, USA)

3.6.2. Örneklerle Bakteri Tutulumunun Sağlanması

Etilen oksit yöntemi ile steril edilen Ti diskler, çalışma için hazırlanmış olan yüzeyleri yukarı gelecek şekilde plakların kuyucuklarına koyuldu, üzerlerine 5'er ml. TSB içindeki bakteri süspansiyonu karışımı eklendi. 37 °C' de nemli ortamda, 1 saat rotator üzerinde etüvlendi.



Şekil 3.11: Örnekler bakteri süspansiyonu eklenmesi



Şekil 3.12: Örneklerin rotator üzerinde etüvlenmesi (Thermolyne, Rotomix, Type 50800, Iowa, U.S.A.)

Diskler plakların kuyucuklarından çıkarılıp, 6 kez steril distile su ile yıkandı. Diskler, 2.5%' luk gluteraldehit içerisinde +4 °C' de 30 dk. bekletilerek bakterilerin fiske olması sağlandı. .

3.6.3. Floresan Boyaların Hazırlanması ve Bakterilerin Boyanması

Örnekler kuruduktan sonra 1 %' lik akridin turuncusu içerisinde 1 saat oda ısısında boyandı. Çıkarıldıktan sonra steril distile su ile 3 kez yıkanarak, kurumaya bırakıldı.



Şekil 3.13: Örneklerin akridin turuncusu içerisinde bekletilmesi

3.6.4. Floresan Mikroskobu ile İnceleme

Her örneğin rastgele seçilen 5 bölgesinde, Başkent Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarında bulunan floresan mikroskopta (Nikon Eclips E600, Tokyo, Japan) 40x büyütmede mikrokoloniler sayıldı ve mm^2 ' ye düşen bakteri sayısı, sayım sonuçları yüzey alanına oranlanarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

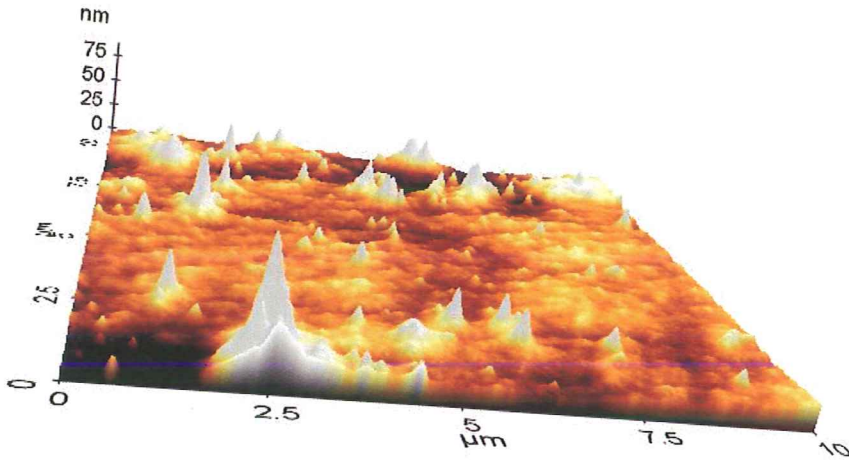
Temas açısı ve yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinin aritmetik ortalaması ve standart sapması saptanıp, istatistiksel olarak non-parametrik Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Deney grubu ince tabaka kalınlıklarının aritmetik ortalaması alındı.

Bakteri tutulumu ölçümlerinde elde edilen değerler, kontrol grubunun bağımsız deney grubu ile karşılaştırılması amacıyla, istatistiksel analiz programında (SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version) Mann-Whitney U-Testi kullanılarak analiz edildi.

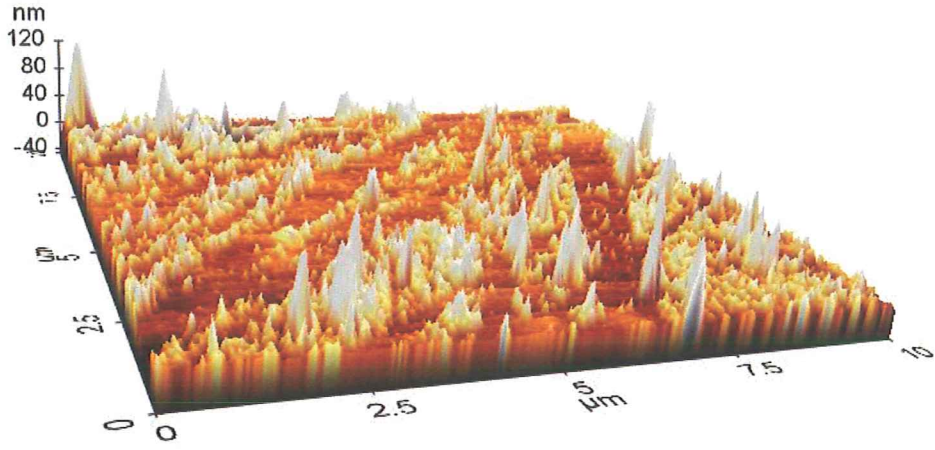
4. BULGULAR

4.1. Yüzey Pürüzlülüğü Ölçümü Sonuçları

Titanyum örnekler zımparalama ve cilalama işlemleri sonrasında iki gruba ayrılarak, deney grubuna plazma polimerizasyon yöntemi ile yüzey kaplama işlemi uygulandı. Örneklerin yüzey topografik incelemeleri AKM ile rastgele seçilen 10 μm ' luk üç noktadan gerçekleştirildi. AKM görüntüleri incelendiğinde, kontrol grubunda deney grubuna oranla daha pürüzlü bir görünüm ve daha fazla boşluklar izlendi. Kontrol grubunda zımparalama ve parlatma işlemleri sonucu aşındırıcı partiküller içeren solüsyonların yüzeyde girinti çıkıntılar oluşturduğu gözlemlendi. Bu düzensiz yüzeylerin, uygulanan kaplama işlemi sonrasında yüzeye çökelen monomer ile örtüldüğü ve daha uniform yüzey meydana geldiği görüldü.



Şekil 3.14: Deney grubu AKM görüntüsü



Şekil 3.15: Kontrol grubu AKM görüntüsü

Yüzeyler	Ortalama Yüzey Pürüzlülüğü (nm) $Ra \pm$ standart sapma	Örnek sayısı
Cıvalı titanyum	5.761 ± 2.19	10
Plazma polimerizasyon ile modifiye titanyum	2.853 ± 1.34	10
p değeri		0,0001

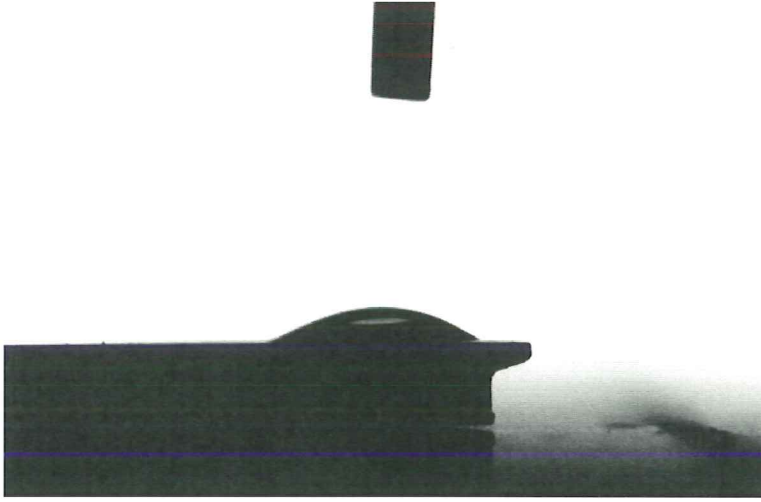
Tablo 3.1: Ortalama yüzey pürüzlülüğü bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi
Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. ($p < 0.05$)

4.2. İnce Tabakanın Kalınlık Ölçümü Sonuçları

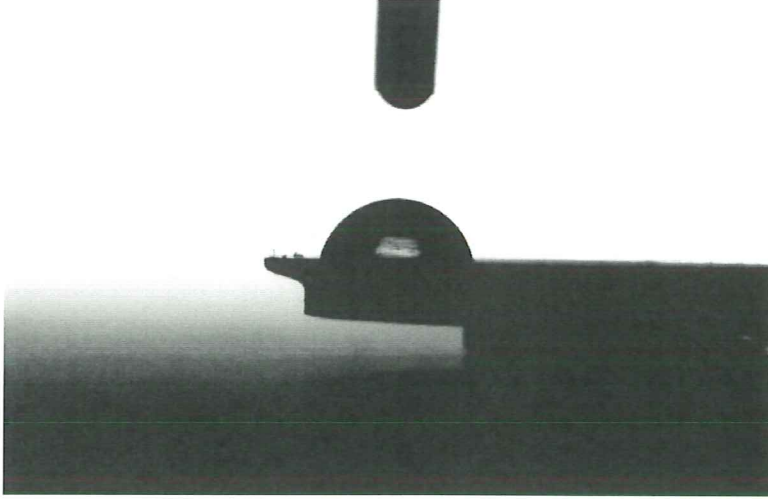
Plazma polimerizasyon yöntemi uygulanan deney grubu örneklerinin film kalınlıkları elipsometre ile incelendi. Bu inceleme sonucu ortalama film kalınlığı 49.4 nm olarak ölçüldü.

4.3. Temas Açısı Ölçümü Sonuçları

Yüzey pürüzlülüğü ölçümü tamamlanan örneklerde temas açısı ölçümleri gerçekleştirildi. Damlatılan su damlasının fotoğrafı çekilerek, ölçümler bilgisayar programı aracılığı ile elde edildi.



Şekil 3.16: Deney grubu temas açısı görüntüsü



Şekil 3.17: Kontrol grubu temas açısı görüntüsü

Yapılan ölçümler sonucunda deney grubundaki örneklerin ortalama temas açısı $42.5^{\circ} \pm 1.9$ iken kontrol grubunda temas açısı değeri $61.9^{\circ} \pm 2.2$ bulundu.

Yüzeyler	Temas açısı	Örnek sayısı
Cilalı titanyum	$61,9^{\circ} \pm 2.2$	10
Plazma polimerizasyon ile modifiye titanyum	$42,5^{\circ} \pm 1.9$	10
P değeri		0.0001

Tablo 3.2: Ortalama temas açısı bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi

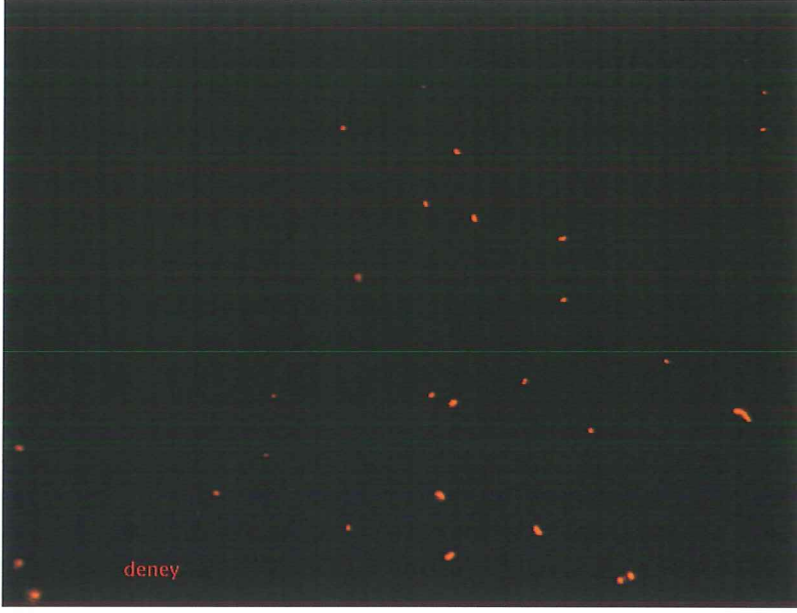
Tüm örneklerdeki temas açısı ölçümlerinin aritmetik ortalaması ve standart sapması saptanıp, non-parametrik Kruskal Wallis testi ile değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

4.4. Bakteri Tutulumu Test Sonuçları

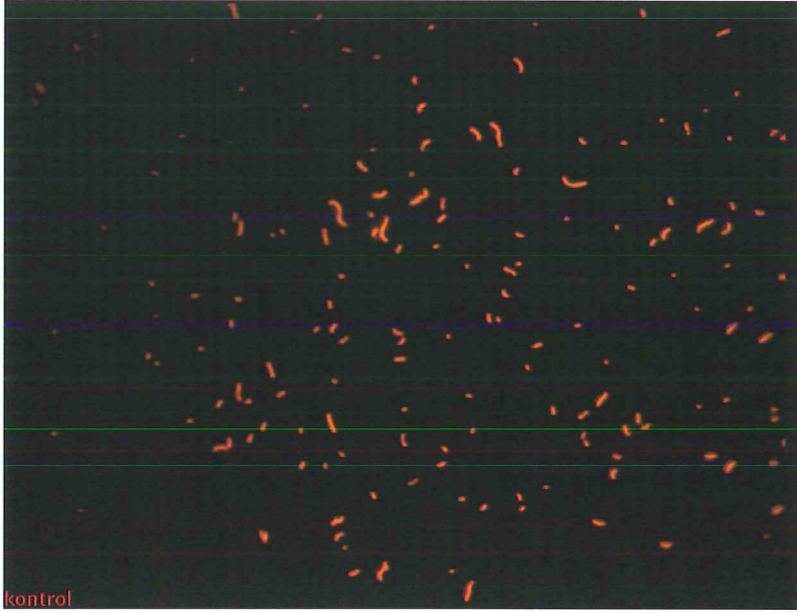
Floresan mikroskopu ile yapılan incelemede deney grubu örneklerinde, kontrol grubuna göre daha az miktarda bakteri tutulduğu görüldü. Tüm örneklerden elde edilen ölçüm değerleri tablo 3.3' de yer almaktadır.

K1/mm²	D1/mm²	K6/mm²	D6/mm²
10526.32	1263.158	6315.789	2631.579
10526.32	2210.526	10526.32	1684.211
10526.32	315.7895	10526.32	2000
3894.737	1157.895	10526.32	2526.316
5368.421	421.0526	10526.32	2842.105
K2	D2	K7	D7
21052.63	10526.32	10526.32	4210.526
15789.47	10526.32	8421.053	5263.158
21052.63	3157.895	10526.32	6315.789
10526.32	10526.32	10526.32	5263.158
21052.63	10526.32	8421.053	8421.053
K3	D3	K8	D8
10526.32	10526.32	9473.684	5263.158
5263.158	10526.32	2105.263	1789.474
10526.32	10526.32	5263.158	2105.263
5263.158	3157.895	3157.895	2000
10526.32	2105.263	5263.158	3157.895
K4	D4	K9	D9
21052.63	5263.158	10526.32	1157.895
21052.63	3157.895	10526.32	2105.263
21052.63	4210.526	8421.053	1578.947
21052.63	10526.32	10526.32	2631.579
21052.63	3157.895	10526.32	2315.789
K5	D5	K10	D10
21052.63	10526.32	10526.32	1263.158
21052.63	2105.263	10526.32	947.3684
21052.63	3157.895	10526.32	2421.053
21052.63	2105.263	10526.32	1578.947
21052.63	5263.158	10526.32	210.5263

Tablo 3.3: Floresan mikroskopta S. Mutans sayım sonuçları (K: kontrol grubu, D: deney grubu)



Şekil 3.18: Deney grubu floresan mikroskop görüntüsü



Şekil 3.19: Kontrol grubu floresan mikroskop görüntüsü

Ortalama mikrokoloni sayısı kontrol grubunda mm^2 de 9894 iken, deney grubunda 3747 olarak hesaplandı.

mm ² ' deki mikrokoloni sayıları			
Yüzeyler	Median	Minimum	Maksimum
Cilalı titanyum	9894,7	5052,6	21052,6
Plazma polimerizasyon ile modifiye titanyum	3747,3	1073,6	9052,6
P değeri	,001		

Tablo 3.4: Bakteri tutulumu bulgularının istatistiksel değerlendirilmesi
İstatistiksel olarak gruplar arasındaki fark anlamlıdır. ($p=0,01 < 0,05$)

5. TARTIŞMA

Günümüz dişhekimliğinde, kısmi ve tam dişsiz hastaların tedavilerinde kullanılan dental implantlar geleneksel protezlere iyi bir alternatif tedavi yöntemi haline gelmiştir. Yapılan klinik çalışmalarda; dental implant tedavisinin hastaların yaşam kalitesi üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür. (48,49)

Titanyum, biyouyumluluğu, kemiğe yakın elastisitesi ve hafifliği, antibakteriyel özelliği ve korozyona karşı yüksek direncinin olması nedeniyle en uygun implant materyali olarak bildirilmiştir. Ancak titanyum, metal iyonlarının salınımına, biyokimyasal reaksiyonlara ve estetik sorunlara yol açabilmektedir. (11)

Kramer, zirkonyum oksit, alüminyum oksit, oksitleyici sıvı ile anodize edilmiş titanyum ve cilalı titanyum yüzeylerinin ağız içinde plak oluşumunu değerlendirdiği çalışmasında en fazla plak tutulumunun cilalı titanyum yüzeyinde olduğunu belirtmiştir. (50)

Literatürde dental implantlarda osseointegrasyonu arttırmaya yönelik birçok yüzey modifikasyon çalışması yer almaktadır. Bu yüzey modifikasyon teknikleri kemik ile temas etmeyen ve oral kaviteye açılan implant parçalarının yüzeyinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini geliştirmek için de kullanılabilir. (51) Hücre ve bakteri etkileşimlerinin düzenlenmesi amacıyla organik materyallerin yüzey kimyalarının modifiye edilmesi, inorganik materyallere göre çok daha kolaydır. (52) Buna dayanarak, inorganik malzemenin polimer ile kaplanarak organik yüzeye dönüştürülmesi gelecekteki uygulamalar için avantaj sağlayacaktır.

Çalışmamızda yüzey modifikasyon yöntemi olarak yük boşalımı ile düşük sıcaklıkta plazma polimerizasyon yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntemle, inorganik titanyum yüzeyi üzerinde organik ince bir film oluşturulmaktadır. Literatürde, kullandığımız plazma polimerizasyon yüzey kaplama yönteminin dental malzemeler üzerinde uygulanabilirliğinin ve sonuçlarının incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada plazma polimerizasyon yöntemiyle elde edilen yüzeyin, dental implantlarda transmukozal bölgede erken dönem mikroorganizmaların bağlanması üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Yöntemin en önemli avantajlarından biri ince kaplama oluşturulabilmesidir. Bu nedenle bu yöntem, hassas olarak üretilmiş implant-dayanak bağlantısı bozulmadan dayanağın dişeti ile komşu olan yüzeyine uygulanabilir.

Çalışmamızda test materyali olarak tip 4 titanyum tercih edilmiştir. İmplant üreticileri tarafından kullanılan titanyum genel olarak saf titanyum ve titanyum alaşımları olmak üzere 2 kategoride bulunmaktadır. Saf titanyumun

mekanik ve fiziksel özellikleri birbirinden farklılık gösteren 4 çeşidi (grade 1-4) bulunmaktadır. Tip 1 titanyumun elastisite modülü 102 Gpa iken, 4. tip titanyumda bu oran %2 artarak 104 Gpa ya yükselmiştir, eğilme dayanımı ise 170 Mpa dan 483 Mpa ya yükselmiştir. Fiziksel özelliklerdeki bu değişim, yapısında diğerlerine göre daha fazla bulunan oksijenin, kristal yapıya titanyum iyonlarını sıkıştırarak katılması ve gerilim oluşturması ile açıklanmıştır. Tip 4 özellikle dayanıklılığı daha fazla olduğu için tercih edilmektedir. (53)

Örneklerimizin yüzey topografik değerlendirmesi ve pürüzlülük ölçümleri AKM kullanılarak yapılmıştır. Titanyum yüzey pürüzlülüğünün ölçümünde SEM, profilometre ve AKM yöntemleri kullanılmaktadır. Titanyum yüzeylerinin AKM ile aydınlatılarak incelenmesi, daha büyük bir çözünme ve üç boyutlu bir görüntü elde edilmesini sağlar. AKM, profilometre ve SEM değerlendirmelerine kıyasla daha fazla detay verir. AKM cihazıyla yapılan çalışmalarda SEM'in aksine yüzey önceden kaplanmadan direk olarak inceleme yapılabilir. AKM, 3 boyutlu, topografik bir yüzey görüntüsü elde etmekle birlikte yüzey pürüzlülüğü parametrelerini rakamsal olarak da verebilir. Ancak tarama yapılan saha diğer yöntemlere göre daha küçük bir alan olduğundan, tekrarlanan ölçümlerde aynı sahayı yeniden bulmak zor olabilir. (35)

Çalışmamızda kaplama sonrası örneklerin yüzeyinde oluşan yeni film kalınlığının ölçümünde elipsometre kullanılmıştır. Aynı amaçla AKM de kullanılabilir. Ancak AKM kullanıldığında, titanyum referans yüzey üzerinde kimyasal maske (seluloz asetat) kullanılarak kaplanmamış ve kaplı olarak iki yüzey hazırlanması gerekir. (54) Elipsometre ölçüm yapılacak yüzey üzerinde herhangi bir ön hazırlık gerektirmeden elektromanyetik dalganın yansıması ile kolay uygulanabilen bir tekniktir. (47)

Mikrobiyolojik çalışmalarda ışık, taramalı elektron, floresan ve konfokal mikroskopi teknikleri tanımlanmıştır. Işık mikroskobu etkin bir şekilde incelemeye izin vermemektedir. Taramalı elektron ve konfokal mikroskop yöntemleri, pahalı ve uygulaması zahmetlidir, ayrıca çok zaman almaktadır. (26, 27) Bu sebeplerle örneklerimize tutunan bakterilerin nicel incelemesi ve değerlendirilmesi için bu alanda en kolay ve en etkili yöntem olan floresan mikroskop kullanılmıştır. Literatürde floresan mikroskobu ile titanyum üzerinde *S. mutans*, *S. sanguis*, *P. gingivalis*, *S. epidermis* mikroorganizmalarını inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. (5,54,55) Çalışmamızda floresan görüntünün elde edilmesi amacıyla, cansız mikroorganizmaların nükleik asitlerini kırmızı boyayan akridin turuncusu kullanılmıştır. Örneklerin tümü 40 büyütme altında incelenip, her örneğin rastgele seçilen 5' er bölgesinde mikrokoloniler sayılmıştır. Elde edilen veriler, mikroskobun 40 büyütmede incelediği alan hesap edilerek mm^2 ' deki bakteri sayısını gösterecek şekilde yeniden hesaplanmıştır.

İmplant üstü protetik materyallerde yüzey kaplamalarının, biyoyumluluğu arttırmak, korozyona direnç kazandırmak, vida gevşemesini geciktirmek, estetik yararlar sağlamak gibi avantajlarını inceleyen çeşitli çalışmalarda;

Kim ve ark. elmas benzeri karbon (DLC) kaplamaları dental implant üstyapı parçalarında kullanarak, vida gevşemesini engelleme yönünde olumlu sonuçlar ortaya koymuşlardır. (56)

Özkömür, elmas benzeri kaplamanın implant üstyapı parçaları arası galvanik korozyona etkisini incelediği çalışmasının sonucunda, DLC film tabakasının yalıtkan özelliği nedeni ile galvanik hücre devresinin tamamlandığını ve galvanik korozyonun engellendiğini belirtmiştir. (57)

TiN ve ZrN yüzey kaplamalarının dayanak vidası üzerine uygulandığı ve aşınmaya karşı direnç incelendiğinde, deney grubunun, kontrol grubundaki saf titanyum örneklerine göre aşınma direnci daha yüksek bulunmuştur. (58)

Çelik küret ve ultrasonik temizleyici aletlerin dayanak yüzeyine etkisini inceleyen bir diğer çalışmada, TiN yüzey kaplaması olan örneklerde, saf titanyuma göre yüzeyde daha az değişim meydana geldiği bildirilmiştir. (59)

Çeşitli implant markaları, dayanak üzerinde TiN yüzey kaplamasını diğer avantajlarının yanı sıra, altın renginde olduğu ve dişeti bölgesinde estetik avantaj sağladığı için kullanmaktadır.

TiN, ZrN ve Al₂O₃ yüzey kaplamalarının, titanyum üzerinde mikrobiyal plak oluşumuna karşı olumlu sonuçları bildirilmiştir. Ancak seramik gibi inorganik sert kaplamalar kullanıldığında, soğuma sırasında titanyum ve kaplanan malzeme arasında termal ekspansiyon katsayısı farklılığından dolayı çatlak oluşumu beklenir. Bu şekilde elde edilen yüzeyin abrazyona direnci azalır. (60)

Çalışmamızda kullanılan yöntemin en önemli avantajı uniform ve ince kaplamalar elde edilebilmesidir. Plazma ortamında polimerleştirilmiş tabakalar boşluksuz ve çapraz bağlıdır. Bu sebeple çözünmez, termal dengeli, kararlı ve mekanik dayanımı yüksek yapılar meydana gelir. (36)

Bu çalışmada ince bir tabaka oluşturmak için Çökeltiler' in çalışmasındaki süreler göz önüne alınmıştır. Çalışmalarında 15 dk depozisyon uygulamasının sonucunda ortalama 66 nm film kalınlığı oluşturulmuştur. (54) Buna dayanarak, bizim çalışmamızda süre 10 dk olarak belirlenip ortalama 49.4 nm kalınlığında bir tabaka elde edilmiştir.

Buharlaştırma, saçılma teknikleri ile fiziksel buhar biriktirme uygulanan diğer kaplama yöntemlerinde işlem birçok basamakta ve uzun sürede (24 saat gibi) gerçekleştirilmektedir. Oysa plazma polimerizasyon yönteminde prepolimer

sentezi, kaplama solüsyonunun hazırlanması, kaplama, kurutma gibi işlemler tek basamakta gerçekleştirilebildiğinden, 1 saatten daha kısa sürede sonuç alınmaktadır. (61)

Düşük sıcaklık plazma polimerizasyonu yönteminin en önemli avantajlarından biri de malzemenin sadece en dışta bulunan tabakalarının modifikasyondan etkilenmesidir. Böylece, modifiye edilen maddelerin yığın özellikleri değişmeden yüzey özellikleri kontrollü bir şekilde değiştirilebilmektedir. (30)

Morra' nın çalışmasında, titanyum yüzeyinde etilen plazma yoluyla hidrokarbon tabakası oluşturularak, yüzeyin homojenliği, retansiyonu ve plak oluşumu üzerinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. (51)

Baier ve Meyer dental implantlar üzerinde monomer kullanmadan yük boşalım tekniği uygulamışlardır. Bu çalışmada argon gazının plazma haline gelip yüzeydeki organik kirlilikleri temizlediği, yüzey enerjisini arttırarak ıslanabilirliği ve dolayısıyla doku adezyon kabiliyetini güçlendirdiği gözlenmiştir. (39)

İnorganik yüzeyler üzerinde, plazma kullanarak polimerik film oluşturulan Marchant ve arkadaşlarının çalışmasında, hücre adezyonu bakımından olumlu sonuçlar bildirilmiştir. (62)

Çökeller ' in in vitro çalışmasında, titanyum üzerinde ilk defa denenen, -OH ve -SH grupları içeren tiyol içerikli monomerin tip 2 saf titanyum üzerinde başarıyla polimerleştirilebildiği ve kararlı bir yüzey oluşturduğu görülmüştür. Yüzeyi modifiye edilen örneklerde, ortopedik implantlarda enfeksiyon riski oluşturan Staphylococcus epidermis' in yüzeye bağlanmasının azaldığı bildirilmiştir. (54)

Erken dönem implant başarısızlıklarından cerrahi travma, bakteriyel kontaminasyon, mevcut kemiğin kalitesi, yaş, diyabet, menapoz dönemi ve hormon eksiklikleri sorumlu gösterilirken, geç dönem başarısızlıklardan daha çok implant bölgesindeki mikrobiyolojik oluşumlar ve konak cevabı arasındaki denge bozukluğu sorumlu tutulmuştur. (1,63)

İmplant çevresinde mikrobiyal plak akümüasyonu konusuna değinen bilimsel çalışmalarda, biyofilm yapısının bu bölgelerde de oluştuğu ve kalıcılığı halinde implant başarısızlıklarına sebep olduğu belirtilmiştir. Kolonizasyon öncül mikroorganizmaların çoğalması ve az da olsa yeni mikroorganizmaların adezyonu ile devam etmektedir. (1) Pelikül, implant komponent yüzeyleri ile öncelikle S. mutans, S. mitis, S. sanguis, S. oralis gibi erken dönem mikroorganizmalar arasındaki bağlantıyı kurar. Bu mikroorganizmalar, A. actinomyces comitans, P. gingivalis, P. intermedia, Treponema denticola gibi periimplantitise yol açabilecek periodontal patojenlerin bölgeye adezyonu için gerekli koşulları sağlarlar. (66)

Çalışmamızda titanyum üzerinde yeni oluşturulan yüzeyin, erken dönem mikroorganizmaların başlangıç bağlantısına etkisi incelenmiştir. Bu amaçla dişlerde ve protetik restorasyonlarda plak oluşumunda en fazla bulunan bakteri olan *S. mutans* kullanılmıştır. (64) *Streptococcus mutans* ağızdaki tüm katı yüzeylere, diş dokusuna, restoratif materyaller üzerine yüksek yapışma kapasitesine sahiptir. Ayrıca *S. mutans*lar asidojenik ve asidurik özelliklerinden dolayı virulan bakteriler arasında yer alırlar. (65) Özellikle streptokokların pelikül içinde bulunmaları, enfeksiyona sebep olabilecek diğer kolonilerin de bu bölgeye göç ederek yerleşmesini sağlar. (66)

Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre yüzey kaplaması uygulanan örneklerde daha az sayıda bakteri tutulumu olduğu gözlenmiştir. Buna dayanarak in vivo ortamda implantların oral kaviteye açılan kısımlarına daha az bakteri tutularak, peri-implant enfeksiyon riskinin azalacağı öne sürülebilir. Ayrıca kullanılan yüzey kaplama yönteminin, diş hekimliğinde titanyumun diğer kullanım alanlarında da plak tutulumunu azaltmak amacıyla uygulanabileceği düşünülebilir.

Oral kavite, oldukça karmaşık bir bakteri topluluğunu barındırmaktadır. Doğal flora elemanları, mukoza ve diş yüzeylerine tutunmakta, karmaşık yapılu biyofilmler oluşturmaktadır. Bu biyofilm yapılarının pek çok diş ve dişeti hastalığına sebep olduğunun bilinmesi dışında, koroner kalp hastalıkları, diyabet, erken doğum insidansı gibi sistemik hastalıkların seyrini etkilediği de savunulmaktadır. Bu hastalıkların patogenezinin aydınlatılmasında, biyofilm yapısında yer alan mikroorganizmaların konak ve birbirleri ile ilişkilerinin anlaşılması önem taşımaktadır. (67)

Bakterilerin bağlandığı yüzeylerin serbest enerjisi, pürüzlülüğü ve kimyasal kompozisyonu bakteri tutulumunu dolayısıyla enfeksiyon gelişimini etkiler. (1) Bu nedenle transgingival parçaların yüzey özellikleri önem taşımaktadır.

Quirynen implant dayanaklarında mikrobiyal kolonizasyon açısından pürüzlülük eşik değerini $Ra= 0.2 \mu\text{m}$ olarak belirlemiş ve bu pürüzlülük değerinin altındaki değerlerde bakteri kolonizasyonu açısından fark oluşmayacağını belirtmiştir. (21)

Bizim çalışmamızda her iki grupta da pürüzlülük değeri $Ra= 0.2 \mu\text{m}$ altında olmasına rağmen, gruplar arasında bakteri tutulumu açısından istatistiksel fark oluşmuştur. Ancak bu veriyle Quirynen' i tümüyle reddederek farkı yalnızca pürüzlülüğe bağlamak doğru olmayabilir. Çünkü yüzeyin kaplanması ile birlikte yüzey enerjisi ve yüzey kompozisyonunda da değişiklikler olmaktadır.

Literatürde bakteri tutulumunda diğer faktörlerin etkisini azaltarak sadece yüzey enerjisinin etkisini değerlendirmeye yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Quirynen 3 aylık klinik uygulama sonunda Teflon kaplı titanyumda (düşük yüzey enerjisi) kaplanmamış titanyuma (yüksek yüzey enerjisi) oranla supra ve subgingival olarak daha az plak oluşumu gözlemlenmiştir. (68)

Scarano ve arkadaşları aynı yüzey pürüzlülüğüne sahip düşük yüzey enerjili zirkonyum örneklerin, yüksek enerjili titanyuma göre daha az bakteri ile kaplandığını belirlemişlerdir. (69)

Çalışmamızda yüzey enerjisinin ve ıslanabilirliğin değerlendirilmesi amacıyla damlacık testi ile yapılan incelemenin sonucunda plazma polimerizasyon uygulanan deney grubunda ortalama temas açısı 41.5° , kontrol grubu ortalama temas açısı 61.9° olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar yeni oluşturulan yüzeyin daha hidrofilik ve yüzey enerjisinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bakterilerin türlerine göre değişen kendi yüzey enerjilerinin, katı yüzeye tutunmalarına etkisinin incelendiği Uyen ve arkadaşlarının çalışmasında, düşük yüzey serbest enerjisine sahip bakterilerin (örn: *S. mitis*) düşük enerjili katılara, yüksek yüzey serbest enerjisine sahip bakterilerin (örn: *s. mutans*) yüksek serbest enerjili yüzeylere daha fazla bağlanma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple deney grubunda gözlemlediğimiz *S. mutans*' in yüzeye bağlanmasındaki belirgin azalma, yüzey enerjisinin etkisi ile açıklanamamaktadır. (70)

Tüm örneklerin benzer yüzey topografilerine sahip ve pürüzlülük değeri $Ra= 0.2 \mu m$ altında hazırlandığı Jeyachandran' ın çalışmasında, gruplar arasında bakteri tutulumundaki fark yüzey enerjisinin yanı sıra yüzey kompozisyonu ile ilişkilendirilmiştir. (23)

Dental implantların transmukozal kısımları üzerinde bakteriyel tutulumu azaltmak amacıyla yüzeyde ince tabaka oluşturulmasını inceleyen literatürdeki tek çalışmada modifikasyon yöntemi olarak fiziksel buhar biriktirme yöntemi uygulanarak titanyum, TiN ve ZrN sert ve ince tabakaları ile kaplanmıştır. Örneklerin yüzeyinde *S. sanguis* ve *S. mutans* bakterilerinin kolonizasyonu incelenmiş ve karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında oluşan belirgin farkta, yüzey enerjisi ve yüzey pürüzlülüğünün değil, yüzeydeki titanyum dioksit tabakasının etkisi olduğu, bu tabakanın biyopolimer moleküller ile iyonik ve hidrojen bağları kuran reaktif bir yüzey olarak davrandığı belirtilerek bakteri kolonizasyonundaki azalma kaplamaların bu reaktif yüzeyi örtmesiyle ilişkilendirilmiştir. (5)

Çalışmamızda yüzey kaplamasının bakteri kolonizasyonunu azaltan kuvvetli etkisi, Gröner' in çalışmasında belirtildiği gibi TiO_2 reaktif yüzeyin maskelenmesi sonucunda kararlı bir yüzey meydana gelmesi ile açıklanabilir. TiO_2 yüzeyinde hidroksil grupları bulunmaktadır. Biyolojik ortamda ve fizyolojik pH

değerlerinde bu yüzeyin negatif yüklendiği, bu durumun iyon ve biyomoleküllerin daha kolay bağlanmasına ve plak oluşumuna neden olacağı bildirilmiştir. (71)

Yüzey terimi, gövde materyalinden farklı fiziksel özelliklere sahip en dışta birkaç atomik tabakayı (1-2 nm veya 10-20 Å) içine alan kuşağı tanımlamaktadır. Yüzeyde cerayan eden reaksiyonlarda titanyum metalinin gövde özelliklerinden çok oksit tabakasının özellikleri etkilidir. (72)

Kramer, titanyum yüzeyine kontrollü kimyasal oksidasyon uyguladığı çalışmasında daha kalın oksit tabakasına sahip olan örneklerde bakteri tutulumunda azalma gözlemlemiştir. Oksit tabaka ne kadar kalın olursa, yüzeydeki oksijen boşluklarının azalması daha apolar yapı oluşacağını belirtmiştir. (50)

Kullanılmamış implantlarda da XPS bulgularına göre yüzeyde karbon saptanmıştır. Bu durum implantların hava ile temasına bağlanmaktadır. (73) Sonuçta, kullanılan tüm titanyum implantlar hava ile temasa geçtikleri anda oksitlenerek TiO_2 ile kaplanmakta ve karbon kirliliğine maruz kalmaktadırlar. (74)

Yüzey kaplaması uyguladığımız örneklerde elipsometre ile yapılan incelemede cilalı yüzey üzerinde oluşan yeni tabakanın ortalama kalınlığı 49.4 nm olarak ölçülmüştür. Bu kalınlığın hidrojen ve iyon bağları kuran reaktif yüzeyin maskelenmesinde yeterli olup, bakteri tutulumunu azalttığı düşünülmüştür.

Titanyumun antibakteriyel etkisinin artırılması amacıyla yüzeye çeşitli iyon implantasyonlarının yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır. F^+ , Ag^+ iyonlarının bu amaçla titanyum yüzeyine implante edildiği ve etkisinin test edildiği çalışmalar bulunmaktadır. Florun (F^+) enzim inhibitörü olarak bakteri metabolizmasını etkileyebileceği, gümüşün (Ag^+) bakteri DNA' sına bağlanarak sentezini engelleyebileceği düşünülmüştür. (75)

Antibiyotiklerin titanyum yüzeyine katılmasını ve etkisini inceleyen çalışmada, sefalotin geniş spektrumlu olması ve yavaş salınım yapması sebebiyle tercih edilmiş ve *S. Aureus* karşısında olumlu sonuçları rapor edilmiştir. (76) Ancak antibiyotik uygulamasının dezavantajları olarak uzun süre salınımın devam etmeyeceği ve yan etki olarak da bazı bakterilerin de direnç kazanabileceği düşünülmüştür. (1)

İn vitro olarak yaptığımız bu çalışmada biyofilm oluşumunda etken faktörlenden biri olan tükrüğün kullanılmaması sonuçları etkileyebilecek bir faktördür. Steinberg ve Eyal, çalışmalarında restoratif materyale bakteriyel tutunumda yüzeyin tükrük ile kaplı olmasının önemli olduğunu belirtmişlerdir. Deneilerinde sukroz eksikliğinde bakteri ve substrat arasında hidrofobik ve elektrostatik etkileşimin adezyonda önemli rol oynadığını göstermişlerdir. (77)

Tanner ve ark. mikroorganizmaların adezyonu ve kolonizasyonunda tükürük bileşenlerinin ve pelikül tabakasının formasyonuna ihtiyaç olduğunu, bu tabaka bileşenlerinin oral mikroorganizmaların adezyonu için reseptör görevi gördüğünü belirtmişlerdir. (78)

Ancak diş hekimliğinde in vitro çalışmalarda doğal tükürüğün tüm özelliklerini yapay olarak sağlayabilmek mümkün değildir. Çünkü doğal tükürük parotid, submaksiller ve submandibular bezlerin salgılarından oluşan oldukça farklı hacim ve içeriğe sahiptir. (79)

Özden ve ark. ile Yıldırım ve ark.'nın çalışmalarında yük boşalımı yöntemi ile akrilik yüzeyi hidrofilik hale gelirken, yüzey elektrostatik yapısında da değişiklik olduğu gözlenmiş ve tükürük proteinlerinin yapışması artmıştır. (80,81) Cilalı titanyum yüzeyinin daha hidrofilik hale gelmesi aynı zamanda fibroblastların yapışmasını, yumuşak doku adezyonunu artırır ve bakteriyel geçişi engellemeye yardımcı olur. (82) Öte yandan tükürük proteinlerinin yapışması bazı bakterilerin de yapışmasını kolaylaştırabilir. S. mutans bu bakterilerden biridir. Çalışmamızda kaplama sonrası yüzey daha hidrofilik hale gelirken S. mutans yapışmasının azalması, bu yöntemle doku adezyonu artarken, bakteri adezyonunun önlenebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu sonuca varabilmek için daha ileri in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın diğer bir kısıtlılığı da, ağız ortamında bulunan birçok bakteri ve bunların birbirleri ile etkileşimleri gözardı edilerek tek bir bakteri çeşidi kullanılmasıdır. Dental plak mikroflorası kişiye, ağızda bulunduğu bölgeye ve kişinin beslenme alışkanlıklarına göre değişim gösterir.

Gantes, plastik uçlu sonik apareylerin plak formasyonunun uzaklaştırılmasında etkili olduğunu ve titanyum yüzeyinde değişim yapmadığını bildirmiştir. (83) Air flow uygulamasının etkisini inceleyen bazı çalışmalarda belirgin bir yüzey değişikliğine rastlanmamış, bazı çalışmalarda basınca ve uygulanan yüzeye bağlı değişiklikler bildirilmiştir. (84) Titanyum yüzeyinde zamanla ağız içinde meydana gelebilecek değişiklikler incelenmiş olsa da plazma polimerizasyon yöntemi ile elde edilen yüzey hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır. Ancak plazma ortamında polimerleştirilmiş ince filmler ile çözünmez, termal dengeli, kararlı ve mekanik dayanımı yüksek yapılar oluşturulabildiği bilinmektedir. (36) Buna rağmen in vivo koşullarda uzun dönem çeşitli oral hijyen uygulamalarının ardından yüzeyde değişiklikler meydana gelebilir. Kaplanan yüzeyde, uzun dönemde ağız hijyen prosedürlerinin etkisini inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu in vitro çalışmada, tiyol içerikli monomer ile plazma polimerizasyon yönteminin, implant materyali olarak sıklıkla kullanılan tip 4 saf titanyum üzerine uygulanabilirliği ve yüzey özelliklerinin değiştirilmesiyle bakteri tutulmasına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Kaplanan yüzeyin fiziksel özellikleri AKM, elipsometre, kontak açısı testi ile, biyofilm oluşumu üzerine etkisi ise S. Mutans kolonizasyonu floresan mikroskopta değerlendirilerek incelenmiştir. Çalışmanın deneysel koşulları çerçevesinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Plazma polimerizasyon yöntemi ve tiyol içerikli monomer ile tip 4 titanyum üzerinde örneklerin tümünde başarılı bir şekilde ve ortalama kalınlığı 49.4 nm ince film meydana geldiği görülmüştür.

Yüzey pürüzlülüğünün değerlendirildiği AKM incelemeleri sonucunda deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı ve daha pürüzsüz yüzeyler görülmüştür. Zımparalama ve parlatma işlemleri sonrasında titanyum yüzeyinin AKM ile incelenmesi sonucu ortalama yüzey pürüzlülük değeri Ra: 5.761 nm olarak bulunmuştur. Plazma polimerizasyon yöntemi ile kaplama uygulanan örneklerde ortalama pürüzlülük değeri Ra: 2.853 nm olarak ölçülmüştür.

Yüzeyi kaplanan deney grubunda belirgin olarak daha hidrofilik yüzeyler elde edilmiştir. Cilalı titanyum örneklerde ortalama temas açısı 42.5° , plazma polimerizasyon yöntemi ile kaplama uygulanan örneklerde ortalama temas açısı 61.9° olarak hesaplanmıştır.

S. mutans' ın yüzeye bağlanması değerlendirildiğinde, yüzey kaplaması yapılan tüm örneklerde plak oluşumunda belirgin azalma görülmüştür. Bakteri tutulumundaki azalma yüzey pürüzlülüğü ve daha çok reaktif titanyum oksit yüzeyinin maskelenmesi ile açıklanmış, yüzey enerjisi ile ilişkilendirilememiştir.

Yumuşak doku ile ilişkili implant parçalarında tiyol içerikli plazma polimerizasyon kaplama yöntemi ile bakteri tutulumunun azalmasının, başta periodontal hastalıklara yatkın bireyler olmak üzere implant tedavisi uygulanan tüm hastalar için yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmanın limitleri çerçevesinde kullandığımız yöntemle kararlı, ağız içi ortamında çözünmeyen ve enfeksiyona dirençli yüzeyler oluşturulabileceği düşünülmüştür. Ancak kaplama yüzeyinin in vivo koşullardaki davranışının incelenmesi için başka çalışmalara da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1) QUIRYNEN M., DE SOETE M., VAN STEENBERGHE D.(2002). Infectious risks for oral implants: A review of the literature. Clin Oral Implants Res. **13**: 1-19
- 2) HEUER, W., ELTER, C.,DEMLING, A., NEUMANN, A., SUERBAUM, S., HANNIG, M., HEIDENBLUT, T., BACH, FR.-W., STIESCH-STOLZ, M.(2007). Analysis of early biofilm formation on oral implants in man. J Oral Rehab. **34(5)**: 377-82
- 3) RIMONDINI L., CERRONI L., CARRASSI A., TORRICELLI P.(2002) Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: An in vitro and in vivo study. Int J Oral Maxillofac Implants. **17**: 793-8
- 4) TEUGHEL W., VAN ASSCHE N., SLIEPEN I., QUIRYNEN M.(2006) Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. Clin. Oral Impl. Res. **17 (2)**: 68–81
- 5) GRÖNER-SCHREIBER B., GRIEPENTROG M., HAUSTEIN I., MÜLLER WD., LANGE KP., BRIEDIGKEIT H., GÖBEL UB.(2001) Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study Clin. Oral Impl. Res. **12**: 543–551
- 6) BRUNSKI JB., PULEO DA., NANJI A.(2000) Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. Int J Oral Maxillofac Implants. **15**
- 7) BEUMER J., LEWIS S.(1989) The Branemark Implant System: Clinical and Laboratory Procedures. St Louis . Mo.Ishiyaku EuroAmerica
- 8) WANG RR., FENTON A. (1996) Titanium for prosthodontic applications: A review of the literature. Quintessence Int. **27**: 401-408
- 9) DONLEY TG., GILLETTE WB.(1991) Titanium endosteous implant soft tissue interface: A literature review. J Periodontol. **62(2)**: 153-160

- 10) HRUSKA AR.(1987) Intraoral welding of pure titanium. Quintessence Int, **18(10)**: 683-688.
- 11) LAUTENSCHLAGER EP., MONOGHAN P. (1993)Titanium and titanium alloys as dental materials. Int Dent J. **43**: 245-253
- 12) OHKUBO C., WATANABE I., FORD JP., NAKAJIMA H., HOSOI T., OKABE T. (2000)The machinability of cast titanium and Ti6Al4V Biomaterials **21(4)**: 421-8
- 13) STEINEMANN SG. TITANIUM - THE MATERIAL OF CHOICE? Periodontol, 2000 1998;**17**:7-21
- 14) CARRANZA F.A., TAKEI H.H., NEWMAN M.G. Chapter 73 in Carranza's Clinical Periodontology, Elsevier
- 15) KENG SB., LIM M.(1996) Denture plaque distribution and the effectiveness of a perborate-containing denture cleanser. Quintessence Int. **27(5)**: 341-5
- 16) DONLAN RM., COSTERTON JW.(2002) Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. **15(2)**: 167-93
- 17) BOS R., VAN DER MEI H. C., BUSSCHER H. J. (1999) Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions-its mechanisms and methods for study, FEMS Microbiology Reviews. **23(2)**: 179-229
- 18) ANIL,N.: Dental Materyallerin Islanabilirligi. Hacettepe Diş. Hek. Fak. Derg., 21:84-91, 1997
- 19) AUSCHILL TM., ARTWEILLER NB., BRECX M., REICH E., SCULEAN A., NETUSCHIL L.(2002) The effect of dental restorative materials on dental biofilm. Eur J Oral Sci. **110**: 48-53
- 20) SHAHAL Y, STEINBERG D, HIRSCHFELD Z, BRONSHTEYN M, KOPOLOVIC K. (1998)In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. Journal of Oral Rehabilitation. **25**: 52-8

- 21) QUIRYNEN M., VAN DER MEI H C., BOLLEN C M.,SCHOTTE A.,MARECHAL M., DOORNBUSCH G I.,NAERT I.,BUSSCHER H J.,VAN STEENBERGHE D.(1993) An in vivo study of the influence of the surface roughness of implants on the microbiology of supra- and subgingival plaque. Journal of dental research. **72(9)**: 1304-9
- 22) UYEN, H.M.; BUSSCHER, H.J.,WEERKAMP, A.H. AND ARENDS, J. (1985) Surface Free Energies of Oral Streptococci and their Adhesion to Solids, FEMS Microbiol Leit. **30**: 103-106
- 23) Y L JEYACHANDRAN., NARAYANDASS., D MANGALARAJ., C Y BAO AND P J MARTİN (2006) The effect of surface composition of titanium films on bacterial adhesion Biomed. Mater. 1 L1-L5
- 24) HANNIG M., DOBERT A., STIGLER R., MULLER U., PROKHOROSOVA SA.(2004) Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM. J Nanosci Nanotechnol. **4**: 532-538
- 25) STEINBERG D., MOR C., DOGAN H., ZACKS B., ROTSTEIN I.(1999) Effect of salivary biofilm on the adherence of oral bacteria to bleached and non-bleached restorative material. Dental Materials. **15**: 14-20
- 26) AN Y. H., FRIEDMAN R. J. (1997) Laboratory methods for studies of bacterial adhesion, Journal of Microbiological Medhods. **30**: 141-152
- 27) CENGİZ T, MISIRLİGİL A, AYDIN M (2004), Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi Ltd. Şti, Ankara
- 28) MARSH P., MARTIN M.V.(2000). Oral Microbiology. Fourth Edition, MPG Books Ltd., Great Britain
- 29) HAMADA S., SLADE H.D. (1980) Biology, Immunology and Cariogenicity of Streptococcus Mutans. Microbiological Reviews. **44(2)**: 331-384
- 30) BRUNETTE DM., TENGVALL P., TEXTOR M., THOMSEN P.(2001) Titanium in medicine. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Part III

- 31) ANSELME K, BIGERELLE M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion. *Acta Biomater* 2005; **1 (2)**: 211-222.
- 32) CORDIOLI G, MAJZOUB Z, PIATTELLI A, SCARANO A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; **15 (5)**: 668-674.
- 33) GIL FJ., PADROS A., MANERO JM., APARICIO C., NILSSON M., PLANELL JA. (2002) Growth of bioactive surfaces on titanium and its alloys for orthopedic and dental implants. *Mater Sci Eng.* **22**: 53-60
- 34) YASUDA, H. (1984) Plasma polymerization for protective coatings and composite membranes, *Journal of Membrane Science.* **18**: 273-284
- 35) FLOSCH, D., CLAROTTI, G., GECKELER, K. E., SCHUE, F., GOPEL, W. (1992) Characterization of plasma-treated poly (hydroxybutyrate) membrane surfaces by ESCA and contact angle measurements, *Journal of Membrane Science.* **73**: 163-172
- 36) HATTORI S., TAMANO J., MORITA S., YONEDA K., (1981) Vacuum Lithography-A Completely Dry Lithography Using Plasma Processing, *Plasma Chemistry and Plasma Processing.* **1**: 261-269
- 37) HOLLAHAN R, BELL AT. (1984) Techniques and applications of plasma chemistry, John R. Hollahan and Alexis T. Bell, Eds., 1974, Wiley, New York
- 38) FASSEL V.(1978) Quantitative elemental analyses by plasma emission spectroscopy. *Science.* **202**: 183-191
- 39) BAIER RE, MEYER AE.(1988) Implant surface preparation. *Int J Oral Maxillofac Implants.* **3**: 9-20
- 40) VARGAS E, BAIER RE., MEYER AE.(1992) Reduced corrosion of CP Ti and Ti-6Al-4V alloy endosseous dental implants after glow-discharge treatment: a preliminary report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* **7 (3)**: 338-344

- 41) ERYILMAZ OL. Çok katlı kaplamaların korozyon davranışı. İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 1996
- 42) RATNER, B. D., HOFMANN, A. S., SCHOEN, F. J., LEMONS, J. E. (1996) Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine, Academic Press, Inc., New York
- 43) YILDIZ, A. VE GENÇ, Ö., 1993, Enstrümental Analiz Teknikleri, H. Ü. yayınları A-46, Ankara, 480s
- 44) BOURAUUEL, C., FRIES, T., DRESCHER, D., PLIETSCH, R. (1998). Surface roughness of orthodontic wires via atomic force microscopy, laser specular reflectance and profilometry. Eur. J. Orthod. **20**: 79–92
- 45) WENNERBERG, A., ALBREKTSSON T.(2000) Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. Int J Oral Maxillofac Implants. **15 (3)**: 331-344
- 46) SOYDAN N.(1992) Genel Histoloji. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basımevi ve Film Merkezi
- 47) ÇELİK, G. 2000 İnce filmlerin optik özelliklerinin elipsometrik yöntemle tayini, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya
- 48) HULTIN, M., KOMIYAMA A., KLINGE B.(2007) Supportive therapy and the longevity of dental implants: a systematic review of the literature. Clin Oral Impl. Res. **18 (3)**: 50-62
- 49) ABU HANTASH RO, AL-OMIRI MK, AL-WAHADNI AM.(2006) Psychological impact on implant patients' oral health-related quality of life. Clin Oral Impl.Res. **17**: 116-123
- 50) KRÄMER, A., WEBER, H. AND GEIS-GERSTORFER, J. (1989) Plaqueansammlung an Implantat- und prothetischen Werkstoffen – eine klinische Studie. Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie **V**:283–286

- 51) M MORRA., C CASSINELLI (1997) Organic surface chemistry on titanium surfaces via thin film deposition. Journal of biomedical materials research. **37(22)**: 198-206
- 52) F. GARBASSI, M. MORRA, AND E. OCCHIELLO, Polymer Surfaces, from Physics to Technology, Wiley, Chichester, 1994
- 53) MICHAEL MCCRACKEN (1999) Dental Implant Materials: Commercially Pure Titanium and Titanium Alloys. Journal of prosthodontics. **8(1)**: 40-43
- 54) ÇÖKELİLER D., GÖKTAŞ H., TOSUN D., MUTLU S. (2009) Infection Free Titanium Alloys by Stable Thiol Based Nanocoating J. Nanosci. Nanotechnol. 9, 1–7,
- 55) PIER-FRANCESCO A, ADAMS RJ, WATERS MGJ, WILLIAMS. DW. (2006) Titanium surface modification and its effect on the adherence of Porphyromonas gingivalis: an in vitro study. Clin. Oral Impl. Res. **17**: 633-637
- 56) KIM SK., LEE JB., KOAK JY., HEO SJ., LEE KR., CHO LR., LEE SS. (2005) An abutment screw loosening study of a Diamond Like Carbon-coated CP titanium implant. J Oral Rehabil. **32(5)**: 346-50
- 57) ÖZKÖMÜR A. 2008 Elmas benzeri karbon kaplamanın implant üstyapı parçaları arası galvanik korozyona etkinliğinin incelenmesi Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Adana
- 58) HAN CHEOL CHOE., CHAE HEON CHUNG AND WILLIAM BRANTLEY.(2007) Mechanical Surface Behavior of ZrN and TiN Coated Dental Screw by Ion-Plating Method Key Engineering Materials. **345-346** : 1201-1204
- 59) MENGEL R., MEER C., FLORES-DE-JACOBY L.(2004) The treatment of uncoated and titanium nitride-coated abutments with different instruments. Int J Oral Maxillofac Implants. **19(2)**: 232-8

- 60) FRANK RUPP., JIIRGEN GEIS-GERSTORFER AND KURT E. GECKELER.(1996) Dental Implant Materials. Surface Modification and Interface Phenomena Adv. Mat. **8(3)**
- 61) MUTLU M., S. MUTLU, B. ALP, İ. H. BOYACI AND E. PİŞKİN, Preparation of a Single Layer Enzyme Electrode by Plasma Polymerization Technique, in "Plasma Processing of Polymers", Ricardo D'Agustino (ed.), NATO ASI Series, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 477-485, 1997
- 62) S.D. JOHNSON, J.M. ANDERSON AND R.E. MARCHANT (1992) Biocompatibility studies on plasm polymerized interface materials encompassing both hydrophobic and hydrophilic surfaces J. Biomed. Mater. Res., **26**: 915–935
- 63) MOY P.K., MEDINA D., SHETTY V.,AGHALOO T.L. Dental Implant Failure Rates and Associated Factors. Int J. Oral Maxillofac. Implants. **20**: 569-577
- 64) SHAHAL Y., STEINBERG D., HIRSCHFELD Z., BRONSHTEYN M., KOPOLOVIC K.(1998) In vitro bacterial adherence onto pellicle-coated aesthetic restorative materials. J Oral Rehabil. **25**: 52-58
- 65) KAWAI K., URANO M (2001) Adherance of plaque components to different restorative materials. Operative Dent. **26**: 396-400
- 66) WHITTAKER CJ., KLIER CM., KOLENBRANDER PE. (1996) Mechanisms of adhesion by oral bacteria. Annu Rev Microbiol. **50**: 513-552
- 67) LEONHARDT A., ADOLFSSON B., LEKHOLM U., WIKSTROM M., DAHLEN G A.(1993) Longitudinal microbiological study on osseointegrated titanium implants in partially edentolous patients. Clinical Oral Implants Res. **4**: 113-120
- 68) QUIRYNEN M., VAN DER MEI H.C., BOLLEN C.M.L., VAN DEN BOSSEHE L.H., DOORNBUSCH G.I., VAN STEENBERGHE D., BUSSCHER H.J. (1994). The influence of surface-free energy on supra-and subgingival plaque microbiology. An in vivo study on implants. J Periodontol. **65**: 162–167

- 69) SCARANO A., PIATELLI M., CAPUTI S., FAVERO GA., PIATELLI A. (2004)
Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks:
An in vivo human study *J. Periodontol.* **75**: 292-296
- 70) UYEN H.M., BUSSCHER H.J., WEERKAMP A.H., ARENDS J. (1985).
Surface free energies of oral streptococci and their adhesion to solids. *FEMS
Microbiol Lett.* **30**: 103–106
- 71) K.E. HEALY AND P. DUCHEYNE. (1992) Hydration and preferential
molecular adsorption on titanium in vitro. *Biomaterials* **13**: 553–561
- 72) BRUNETTE DM., TENGVALL P., TEXTOR M., THOMSEN P. Titanium in
medicine. (2001) New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg Part II
- 73) MOUHYIJ., SENNERBY L., PIREAUX JJ., DOUROV N., NAMMOUR S., VAN
RECK J. (1998) An XPS and SEM evaluation of six chemical and physical
techniques for cleaning of contaminated titanium implants. *Clin Oral Impl Res.*
9: 185-194
- 74) KASEMO B., LAUSMAA J. Metal selection and surface characteristics. (1985)
In P-I Branemark, GA Zarb, T Albrektsson (eds) *Tissue-Integrated
Prostheses.* Chicago; Quintessence Pub. Co. Inc.
- 75) M. YOSHINARI, Y. ODA, T. KATO, K. OKUDA. (2001) Influence of surface
modifications to titanium on antibacterial activity in vitro *Biomaterials* **22**: 2043-
2048
- 76) M. STIGTER. (2004) Effect of material characteristics and/or surface
topography. *Journal of Controlled Release.* **99** : 127–137
- 77) STEINBERG D., EYAL S. (2002) Early formation of *Streptococcus sobrinus*
biofilm on various dental restorative materials. *Journal of Dentistry.* **30**: 47-51
- 78) TANNER J., CARLEN A., SÖDERLING E., VALLITTU PK (2003), Adsorption
of parotid saliva proteins and adhesion of *Streptococcus mutans* ATCC 21752
to dental fiberreinforced composites. *J Biomed Mater Res Part B: Appl
Biomater.* **66B**: 391-398

- 79) GAL JY., FOVET Y., YADZI MA (2000), Review about a synthetic saliva for in vitro studies. **53**: 1103-1115
- 80) OZDEN N, AKALTAN F, SUZER S, AKOVALI G (1999) Time-related wettability characteristic of acrylic resin surfaces treated by glow discharge. *J Prosthet Dent.* **82(6)**: 680-4
- 81) M. S. YILDIRIM, M. KESIMER, N. HASIRCI, N. KILIC, U. HASANREİSOĞLU (2006) Adsorption of human salivary mucin MG1 onto glow discharge plasma treated acrylic resin surfaces. *Journal of Oral Rehabilitation* **33**; 775–783
- 82) GRÖNER B., HERZOG M., HEDDERICH J., DUCK A., HANNIG M., GRIEPENTROG M. (2006) Focal adhesion contact formation by fibroblasts cultured on surface-modified dental implants: an in vitro study. *Clin. Oral Impl. Res.* **17**: 736–745
- 83) GANTES BG., NILVEUS R.(1991) The effects of different hygiene instruments on titanium surfaces: SEM observations. *Int J Periodontics Restorative Dent.* **11**: 225-239
- 84) RAPLEY JW., SWAN RH., HALLMON WW., MILLS MP.(1990) The surface characteristics produced by various oral hygiene instruments and materials on titanium implant abutment. *Int J Oral Maxillofac Implants* . **5**: 47-52
- 85) Ada Council on Scientific Affairs (2003) Titanium applications in dentistry. *J Am Dent Assoc.* **134**: 347-349