TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞRU AKIM UYGULAMASININ BAKTERİ ADEZYONUNA OLAN ETKİSİNİN TİTANYUM ALAŞIMLI YÜZEYLERDE İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

OYLUN ÇAKIR ALTAN

DOKTORA TEZİ

AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gühan Dergin

2017 - İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum	: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi	: Doktora
Anabilim Dalı	: Ağiz,Diş ve Çene Cerrahisi
Tez Sahibi	: Oylun ÇAKIR ALTAN
Tez Başlığı	:Doğru Akım Uygulamasının Bakteri Adezyonuna Olan Etkisinin Titanyum Alaşımlı Yüzeylerde İn Vitro Araştırılması
Sınav Yeri	: Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi
Sınav Tarihi	: 29.06.2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Doç.Dr.Gühan DERGİN	Marmara Üniversitesi	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Doç.Dr.Gühan DERGİN	Marmara Üniversitesi	
Prof.Dr.Kamil GÖKER	Marmara Üniversitesi	
Prof.Dr.Bahar GÜRSOY	Marmara Üniversitesi	
Prof.Dr.Buket AYBAR	İstanbul Üniversitesi	
Doç.Dr.Yusuf EMES	İstanbul Üniversitesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 06/07/2017 tarih ve 15 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Prof. Dr. Azize Şener
Vekaleten
06. 07. 2017

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.
-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

I. BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

OYLUN ÇAKIR ALTAN

II. TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve tecbüresini benimle paylaşan ve doktora tezimin tüm safhalarında katkılarını esirgemeyen hocam ve danışmanım Doç. Dr. Gühan Dergin'e

Bu tezin oluşmasında ve doktora öğrenimime katkılarından dolayı Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Kamil Göker'e ve tüm hocalarıma,

Mikrobiyoloji deneylerimize rehber olan Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı üyesi Yard. Doç. Dr. Burak Aksu' ya,

Taramalı elektron mikroskobu ile ilgili çalışmalarımıza rehberlik eden Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı üyesi Prof. Dr. Feriha Ercan' a, Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı üyesi Arş. Gör. Dr. Esin Ak'a ve uygulama aşamasında emeği geçen Yücel Öztürk' e,

Doktora eğitimi sürecimde ve tez aşamamda yardımlarını esirgemeyen ve bana yol gösteren Dr. Sertaç Aktop ve Doç. Dr. Onur Gönül' e,

Doktora hayatımın her aşamasında desteklerini esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma,

Her koşulda yanımda olan ve tüm hayatım boyunca bana destek olan değerli ailem; annem Ferah Çakır, babam Saim Çakır, kardeşim Mert Çakır ve Dilan Altan'a

Daima yanımda olup hayatta yol alabilmem için destek olan eşim Aras Altan'a,

Yürekten teşekkür ederim.

Oylun Çakır Altan

III. İÇİNDEKİLER

I. BEYAN ii
II. TEŞEKKÜR iii
III. İÇİNDEKİLER iv
IV. KISALTMALAR LİSTESİ vi
V. RESİMLER LİSTESİ viii
VI. TABLOLAR LİSTESİ ix
1.ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ VE AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 5
4.1. Bakteri Adezyonu ve Biyofilm Kavramı 5
4.1.1. Bakteri Adezyonunda Moleküler Mekanizma 6
4.1.2. Bakteriyel Adezyonda Etkili Faktörler 7
4.2. Stafilokoklar 9
4.2.1.Tarihçesi ve Sınıflandırması 9
4.2.2. Genel özellikleri 10
4.2.3. *S. epidermidis* Kaynaklı Enfeksiyonların Özellikleri 11
4.2.4. *S. epidermidis*' in Adezyon Mekanizması 12
4.3. Bakteri Adezyonunun İn vitro Ortamda Model Tasarımı 14
4.3.1. Bakteri Seçimi 14
4.3.2. Besi yerleri 14
4.3.3. Besi yerine Ekim Yöntemleri 15

4.3.4. İn Vitro Ortamda Bakteri Adezyonunun Sağlanması 16
4.3.5. Bakterilerin Deney Örneğinden Uzaklaştırılması 16
4.3.6. Bakteri Sayım Yöntemleri 16
4.4. Biyomalzemeler ve Biyouyumluluk 19
4.4.1. Metalik Biyomalzemeler 21
4.5. Titanyumun Dişhekimliğinde Kullanım Alanları 28
4.5.1. Titanyum Dental İmplantlar 28
4.5.2. Lag Vidaları 31
4.5.3. Kompresyon Plakları 31
4.5.4. Rekonstrüksiyon Plakları 31
4.5.5. Titanyum Meşler 32
4.5.6. Miniplaklar 32
4.6. Elektrik 33
4.6.1. Elektriğin Tanımı ve Tarihçesi 33
4.6.2.Elektriğin Temel Prensipleri 35
5.GEREÇ VE YÖNTEM 36
6.BULGULAR 45
7. TARTIŞMA 59
8. SONUÇ 69
9. KAYNAKLAR 70
10. ÖZGEÇMİŞ 90

IV. KISALTMALAR LİSTESİ

AAP	:	Accumulation-Associated Protein
AC	:	Alternatif Akım
Al	:	Alüminyum
ATCC	:	American Type Culture Collection
B. anthracis	:	*Bacillus anthracis*
Cfu	:	Koloni Oluşturan Birim
Co	:	Kobalt
Cr	:	Krom
DC	:	Doğru Akım
EPS	:	Ekstrasellüler Polimerik Materyal
E. coli	:	*Escherichia coli*
Fe	:	Demir
HVPC	:	Yüksek Voltaj Darbeli Akım
I	:	Elektrik akımı
İMF	:	İntermaksiller Fiksasyon
KNS	:	Koagülaz-Negatif Stafilokoklar
KPS	:	Koagülaz-Pozitif Stafilokoklar
LVBmAPC	:	Düşük Voltaj Bifazik Miliamper Darbeli Akım
LVMmAPC	:	Düşük Voltaj Monofazik Miliamper Darbeli Akım
mA	:	miliAmper
Mo	:	Molibden
MR	:	Manyetik Rezonans
MRSE	:	Metisilin Dirençli *S. epidermidis* suşları
Nb	:	Niyobyum
Ni	:	Nikel
PIA	:	Polisakkarit İntersellüler Adezin
PMMA	:	Polimetilmetakrilat
PSA	:	Kapsüler Polisakkarit Adezin
P.aeruginosa	:	*Pseudomonas aeruginosa*

SEM : Taramalı elektron mikroskobu

S. albus : *Staphylococcus albus*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*

S. mutans : *Streptococcus mutans*

S. sanguis : *Streptococcus sanguis*

Ta : Tantalyum

Ti : Titanyum

µA : mikroAmper

µADC : sürekli mikroamper doğru akım

W : Tungsten

V : Vanadyum

V. RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Baskılı devre kartı üzerine yerleştirilmiş titanyum diskler…….38
Resim 2: Titanyum diskler ve devrenin yerleştirildiği ısıya dayanıklı cam kap……39
Resim 3: Elektrik akımını sabitleyen düzenek……...40
Resim 4: Çalkalayıcı inkübatör içinde elektrik akımı uygulanan deney grupları…..41
Resim 5: Çalkalayıcı inkübatördeki elektrik akımı uygulanmayan kontrol grubu……...41
Resim 6: Keski yardımıyla bakır iletken çubuklardan ayrılarak plastik steril kap içerisine yerleştirilen titanyum diskler……42
Resim 7: Steril plastik kaplar içine alınan titanyum diskler……...42
Resim 8: Titanyum disklerin alkol serilerilerinden geçirilmesi…….43
Resim 9: Pirinç taşıyıcılar üzerine yapıştırılan titanyum diskler……...44
Resim 10: Altın kaplama cihazındaki (BIO-RAD-SC502) titanyum diskler……44
Resim 11: Taramalı elektron mikroskop (JEOL JSM-5200)…….45
Resim 12A-D: Kontrol grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis*(ok) tek tek (A), küçük gruplar halinde ve birbirine ekstrasellüler matriks ile tutunmuş olarak (ok başı, B), büyük bakteri grupları halinde ve görüntü alanının yarısından çoğunda bulunan (C) ve yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış (*) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir……47-49
Resim 13A-D: -Deney grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis* (ok) tek tek (A), küçük grupları halinde (B), büyük gruplar halinde, görüntü alanının yaklaşık yarısını kaplamış olarak (C) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir…….50-52
Resim 14A-D: +Deney grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis* (ok) tek tek (A), küçük grupları halinde (B), zincir şeklinde birbirine tutunmuş olarak (C) ve yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış (*) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir……53-55

VI. TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Biyomalzeme cinsinin kullanılacak vücut kısımlarına göre gösterdiği farklılık (Ayhan, 2002; Gümüşderelioğlu, 2002)……...23
Tablo 2: İmplant malzemesi olarak kullanılan metallerin ve kemiğin mekanik özellikleri (Hansen, 2008)……..25
Tablo 3: Bazı metalik biyomalzemelerin özgül ağırlıkları……25
Tablo 4: Dental uygulamalarda kullanılan titanyum alaşımları ve bu alaşımların mekanik özellikleri (Niinomi, 2003)……...29
Tablo 5: Ti ve alaşımlarının mekanik özellikleri (Gür ve Taşkın, 2004)……..30
Tablo 6: İmplant malzemesi olarak ve cerrahi operasyonlarda kullanılan Ti ve alaşımlarının kimyasal bileşimleri (Gür ve Taşkın, 2004; Oldani ve ark., 2012)…...31
Tablo 7: Parametrik ve nonparametrik değerlendirme……..56
Tablo 8: Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlaması ortalamalarının karşılaştırılmaları……..56
Tablo 9: Bakteri adezyonu skorlaması ortalamalarının ikili gruplar halinde karşılaştırılmaları……57
Tablo 10: Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının karşılaştırılmaları…….58
Tablo 11: Kontrol ve -Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları…….59
Tablo 12: Kontrol ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları…….59
Tablo 13: -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları…….60

1.ÖZET

Amaç: Dişhekimliğinde cerrahi alanda en çok tercih edilen biyomateryal olan titanyum alaşımının yüzeyine düşük dozda doğru elektrik akımı uygulamasının bakteri adezyonu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Kontrol grubunda 36 adet titanyum diske düşük elektrik akımı uygulanmadan, 36 adet titanyum diske -Deney grubunda negatif ve 36 adet titanyum diske ise +Deney grubunda pozitif düşük dozda (3,75µA) sabit doğru elektrik akımı 1 saat boyunca uygulanmıştır. Toplamda titanyum disklerin üzerinden randomize olarak 108 adet alan taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: SEM ile alınan görüntülerde bakteri sayılarının skorlama sonuçlarının ortalamaları değerlendirildiğinde; Kontrol 2,19±1,75, +Deney 2,22±1,64 ve –Deney 1,56±1,44 olduğu görülmektedir. Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının skor ortalamalarının istatistiksel karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiş (p=0,171). Kontrol, -Deney ve +Deney grupları arasında bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış (p=0,075), kontrol grubu ve deney grupları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır; Kontrol ve –Deney için p=0,068, Kontrol ve +Deney için p=0,449. Ancak -Deney ve +Deney grupları arasında bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,046)

Sonuç: Negatif elektrik akımı bakteri adezyonunda azalmaya sebep olurken pozitif elektrik akımının artışa sebep olduğu görülmüştür. Elektriksel akımın düşük seviyede (3,75µA) tutulmasının ve uygulama süresini sadece 1 saat ile kısıtlamamızın istatistiksel sonuçları etkilediğini kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: doğru akım, titanyum disk, *Staphylococcus epidermidis*

2. SUMMARY

Purpose: The purpose of this study is to evaluate the effects of applying a low dose of the correct electrical current on the surface of the titanium alloy, which is the most preferred biomaterial, in the surgical area of the dentistry, on the bacterial adhesion.

Material and method: In the control group, 36 titanium discs without applying a low electric current; negative low dose direct electric current was applied 36 titanium discs in the negative test group and positive was applied 36 titanium discs in the positive test group for 1 hour. In total, 108 areas were randomly selected on titanium discs and were examined under scanning electron microscopy (SEM).

Results: When scoring results of bacterial numbers were evaluated in SEM images, the mean of the control group was 2,19 ± 1,75, the mean of positive test group was 2,22 ± 1,64, and the mean of negative test group was 1,56 ± 1,44. The negative electric-charged titanium discs in the experimental group decreased in the score of bacterial adhesion, but no significant difference was observed in the statistical comparison of the score averages of Control, Negative test and Positive test groups. ($p = 0.171$). No statistically significant difference was found when comparing the numerical distributions of the bacterial adhesion scoring between Control, Negative test and Positive test groups.($p = 0,075$) No statistically significant difference was found when the numerical distributions of bacterial adhesion scoring were compared between the Control group and the experimental groups; $p = 0.068$ for Control and Negative test, and $p = 0.449$ for Control and Positive test. However, when the numerical distributions of bacterial adhesion scoring were compared between Negative and Positive test groups, the result was found to be statistically significant. ($p = 0.046$)

Conclusion: Negative electrical current to a reduction in bacterial adhesion was observed while the positive electric current caused to increase. We believe that keeping the electrical current at a low level (3.75μA) and restricting the application time to only 1 hour affect the statistical results.

Key Words: direct current, titanium discs, *Staphylococcus epidermidis*

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyofilm tabakası, bakterilerin belirli bir yüzey üzerinde sabit kalarak sentezledikleri matriks yardımıyla canlılıklarını sürdürmek ve dış etkenlere karşı direnç oluşturdukları uygun ortamı geliştirmek amacıyla adezyon sonrası kolonizasyon ile oluşan bakteri topluluğudur (Bowden ve ark., 1976; Costerton ve ark., 1999; O'Toole ve ark., 2000; Öztürk, 2008).

Bakterilerin oluşturdukları biyofilm tabakasının antimikrobiyal ajanların penetrasyonunu azaltması biyofilm kaynaklı gelişen enfeksiyonlarda antimikrobiyal tedavi sonrası hastalık belirtileri ortadan kaldırılabilse de biyofilm tabakasının yok olmaması sebebiyle enfeksiyonlar tekrarlayıcı özelliktedir (Costerton ve ark., 1995; Marrie ve ark., 1982; Stewart, 1996).

Biyofilm tabakasının vücut içerisine yerleştirilmiş olan biyomateryallerin üzerinde oluşması sonucu gelişen kronik enfeksiyonların tamamen sona erdirilebilmesi için antimikrobiyal ajanların yeterli olmaması sebebiyle biyofilm tabakası ve içinde yer alan bakterilerin ortamdan tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu sebeple biyomateryaller ya kullanılamaz duruma gelir ya da vücut ortamından tamamen uzaklaştırılmaları gerekir. Bu durum tedavinin süresini ve sürecini etkilediği gibi ikinci bir cerrahi müdahale gerekliliği oluşturabilir, ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Costerton ve ark., 1995; von Eiff ve ark., 2002).

İnsan derisinin doğal florasında bulunan *Staphylococcus epidermidis* bakteri türü cerrahi operasyon ile vücut içerisine yerleştirilen biyomateryale adezyonu sonucu kolonize olarak biyofilm tabakası oluşturabilmektedir (Otto, 2009).

Biyofilm oluşumu için ilk olarak bakterilerin yüzey üzerine adezyonu gereklidir. Bu sebeple başlangıç adezyonunun önüne geçilmesi, biyofilm tabakasının oluşumunda önemli bir engelleyici faktör olmakla birlikte biyofilm ile ilgili yapılan araştırmalarda öncelikle adezyon mekanizması üzerine odaklanılmıştır.

Biyofilm tabakasının biyomateryaller üzerinde oluşumunun önüne geçilmesi ya da ortadan kaldırılması için lazer uygulamaları, gümüş iyonlarının antibakteriyel etkileri, biyomateryallerin yüzey özelliklerinin değiştirilmesi, lokal ya da sistemik antibiyotik kullanımı ve elektrik akımı uygulamaları gibi çeşitli yöntemlerin etkileri

üzerine araştırmalar yapılmıştır. Doğru ya da alternatif akım kullanılarak, düşük ya da yüksek voltajda, uzun ya da kısa süreli, in vitro ve in vivo koşullarda elektrik akımı ile yapılmış birçok çalışma mevcut olmasına rağmen elektriğin bakteri adezyonu üzerindeki etkileri tartışma konusudur.

Çalışmamızda antimikrobiyal ajanların tek başına biyomateryaller üzerinde oluşan biyofilm tabakası kaynaklı kronik enfeksiyonlarda yeterli olamaması nedeniyle düşük dozda sabit doğru akım uygulamasının bakteri adezyonu üzerindeki etkisini araştırmayı hedefledik.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Bakteri Adezyonu ve Biyofilm Kavramı

Bakterilerin yüzeye bağlanabilme özelliğine bakteriyel adezyon denir. Bir bakterinin konak hücrede hasar oluşturabilmesi için ilk basamak konak hücreye adezyonudur. Oral mukozada bulunan bakteriler dişeti gibi yumuşak ve diş ya da kuron gibi sert yüzeylere bağlanabilmektedir (Cengiz ve ark., 2004).

Bakteriler; dış etkenlere karşı direnç oluşturabilmek, bir yüzey üzerinde sabit kalabilmek, sentezledikleri matriks ile canlılıklarını sürdürebilecekleri uygun ortamı geliştirmek ve adapte olabilmek için adezyon ve sonrasında kolonizasyon ile biyofilm oluştururlar (Costerton ve ark., 1999; Öztürk, 2008).

Biyofilm, belirli bir yüzey alanına tutunmuş, ürettikleri matriks içinde gömülü ince bir tabaka halinde bir arada bulunan bakteri topluluğu olarak tanımlanmaktadır (Bowden ve ark., 1976; Öztürk, 2008). Farklı türlerde bakterilerin incelenmesiyle birlikte biyofilm oluşumunun dört aşamada gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. İlk olarak adezyon, çok katlı tabakalar halinde bakteri birikimi, biyofilmin olgunlaşması ve başka alanda biyofilm oluşturabilmek için hücrelerin ayrılması aşamalarıdır (Ziebuhr ve ark., 2006).

Adezyon sonrası koloni oluşabilmesi enzim, toksin ve antijen sentezi ile meydana gelir. İnvazyon sonrası patojenlerin dağılımıyla konak dokuda hasar oluşur. Bakterilerin polimer yüzeyler üzerinde kolonize olup çok katlı biyofilm oluşturabilmeleri, vücut içi implantlarıyla bağlantılı oluşan enfeksiyonların patogenezidir (von Eiff ve ark., 2002).

Konak seçiciliği özellikleri sayesinde bakteriler yalnızca ekolojilerine uygun olan florada bulunabilirler. Bu özellik yalnızca bakterinin virülansını değil hangi dokularda hastalık yapabildiğini de belirlemektedir (Cengiz ve ark., 2004).

Biyofilm oluşumu için ilk olarak bakterilerin yüzey alanına tutunabilmeleri gerekmektedir. Bu sebeple biyofilm ile ilgili yapılan çalışmalarda öncelikle adezyonun mekanizması üzerine odaklanılmıştır (Palmer ve ark., 2007).

4.1.1. Bakteri Adezyonunda Moleküler Mekanizma

Adezyonun gerçekleşebilmesi için, bakterilerin yüzey alanında sabit kalabilmeleri gerekmektedir. Canlı yüzeyler üzerinde sabit kalabilmesini sağlamak için bakterilerin geliştirdiği bazı stratejiler vardır. Bakteriler yüzey proteinleri yardımıyla tutunacağı canlı dokudaki fibrinojen, fibronektin ve elastin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerine yapışırlar (Patti ve ark., 1994).

Başlangıç adezyonunda öncelikle bakterilerin hareketlilik özelliği sayesinde yüzeye yaklaşmaları gereklidir. Bu nedenle kemotaksis adezyon mekanizmasında önemli bir rol oynar (Pratt ve Kolter, 1998). Biyofilm oluşturabilme yeteneği zayıf olan bakterilerde flagella sentezinden sorumlu genlerin bozuk olduğu ve bu durumun adezyonu etkileyerek biyofilmin oluşumunu azalttığı görülmüştür (Holder ve ark., 1982; O'Toole ve Kolter, 1998; Pratt ve Kolter, 1998).

Bakterinin içinde bulunduğu sıvının akım ve hareketliliği, yerçekimi kuvveti ve bakterinin hareket kabiliyeti başlangıç adezyonunda fiziksel yaklaşmada etkili olan faktörlerdir (An ve Friedman, 1997; Knorr ve ark., 2005).

Adezyonun gerçekleşebilmesi için bakterilerin öncelikle tutunacağı yüzeye yeterli yakınlığa (<50-1nm) ulaşmaları gerekmektedir. Fiziksel yaklaşmada yerçekimi, bakterilerin hareket kabiliyeti ve bulundukları sıvıdaki akım ve hareketlilik etkili olur. Bakteri yüzeye yaklaştığında her iki yüzey arasında hidrofobik etkileşimler, Van der Waals bağları ve elektrostatik kuvvetlerle zayıf ve geri dönüşümlü bir bağ oluşur (An ve Friedman, 1997; Carpentier ve Cerf, 1993; Gilbert ve ark., 1991; Knorr ve ark., 2005).

Geri dönüşümlü aşamada bakteriler, henüz biyofilm oluşturma sürecine girmemiş ve değişim geçirmemiş olduklarından tutundukları yüzeyden ayrılarak planktonik yaşamlarını tekrar sürdürebilme özelliklerine sahiptirler (Stoodley ve ark., 2002).

Fiziksel ve kimyasal değişkenlerin rol aldığı başlangıç adezyonu geri dönüşümlü gevşek bir tutunmadır. İleri aşama adezyonda ise moleküler ve hücresel etkileşimler mevcuttur. Bakterilerin pili, glikokaliks ve kapsül gibi yüzey özelliklerinin tutundukları yüzey ile köprü oluşturması ya da bakterilerin sentezlediği ekstrasellüler

polimerik materyalin (EPS) konak doku yüzeyinde birikmesi sonucu ileri aşama adezyon gerçekleşir (An ve Friedman, 1997; Knorr ve ark., 2005).

Kalsiyum köprüleri, başlangıç adezyonunda etkili başka bir mekanizmadır. Dişlerin yüzeyinde oluşan ve negatif elektrik yüklü pelikıl tabakasına tükürükte bulunan pozitif elektrik yüklü kalsiyum iyonları aracılığı ile negatif yüklü bakteriler köprü oluşturur (Hannig, 1997).

Biyofilm tabakasının vücut içerisine yerleştirilmiş olan biyomateryallerin üzerinde oluşması sonucunda tekrarlayan enfeksiyonlar meydana gelmektedir. Oluşan enfeksiyonların tedavisi için biyofilm tabakası ve içinde yer alan bakterilerin ortamdan tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu sebeple biyomateryaller ya kullanılamaz duruma gelir ya da vücut ortamından tamamen uzaklaştırılmaları gerekir. Bu durum tedavinin süresini ve sürecini etkilediği gibi ikinci bir cerrahi müdahale gerekliliği oluşturabilir, ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Costerton ve ark., 1995; von Eiff ve ark., 2002).

Yapılan araştırmalar sonucunda, başlangıç adezyonunun önüne geçilmesi, biyofilm tabakasının oluşumunda önemli bir engelleyici faktördür. Biyomateryallerle ilişkili enfeksiyon riskini ortadan kaldırmak için antibiyotik, gümüş iyon ve heparin gibi başlangıç adezyonunu engelleyici maddelerle çalışmalar yapılmıştır (Chilukuri ve Shah, 2005; Donlan ve Costerton, 2002; Morris ve Stickler, 1998; Tenke ve ark., 2006).

4.1.2. Bakteriyel Adezyonda Etkili Faktörler

Bakteri yüzeyinde bulunan adezin proteinlerinin bakteri türlerine göre farklılık göstermesi, bakterilerin adezyonda tercih ettikleri yüzeyleri etkiler. *Streptococcus mutans (S. mutans)*' ta pelikıldaki dekstran içeren reseptörler ile bağlanabilen (Kelstrup ve Funder-Nielsen, 1974), *Streptococcus sanguis (S. sanguis)*' te ise tükürükteki sialik asit içeren elemanlar ile bağlanabilen adezinler olduğu bildirilmiştir (McBride ve Gisslow, 1977).

Malzemenin türü değiştikçe bakterilerin adezyon miktarları ve oluşturdukları biyofilm tabakası da değişkenlik göstermektedir. Farklı malzemelerin farklı yüzey kimyaları, malzeme yüzeyinin elektrik yükü ve enerjisinde de değişkenlik göstereceği için bakteri adezyonunu etkileyen diğer bir faktördür (Akca ve ark., 2005; Verran ve Maryan, 1997; Zortuk ve ark., 2010).

Bakterilerin türlerine, yaş ve içinde bulunduğu ortamlara göre yüzey enerjileri farklılık göstermektedir. Yüzey enerjilerindeki farklılık adezyondaki seçiciliklerini etkiler. Hidrofilik özellikteki bakteriler hidrofilik yüzeylere tutunurken, hidrofobik özellikteki bakteriler ise hidrofobik yüzeyleri tercih eder (Quirynen ve Bollen, 1995). Bakteri yüzeyindeki adezinlerin hidrofobik özelliğe sahip olduğu yapılan çalışmalar sonucu bulunmuştur (Nassar ve ark., 1995).

Bakteriler ve bağlandıkları yüzeyler arasındaki elektrostatik etkileşimde bakteri yüzeyindeki elektrik yükü etkilidir (Yoshida ve ark., 1998). Zeta potansiyeli olarak adlandırılan bakteri yüzeyinin elektrik yükü değeri, bakterilerin yaşam ortamları, yaş ve türlerine göre farklılık gösterir. Negatif yük arttıkça bakterilerin pozitif yükü fazla yüzeylere tutulumu daha kuvvetli olur (Busscher ve ark., 1992; Satou ve ark., 1991).

Yüksek yüzey enerjisine sahip malzemelerin, ıslanma temas açıları düşüktür, negatif yüklü ve hidrofiliktirler. Düşük yüzey enerjili malzemeler ise kısmen hidrofobik ve yüksek elektriksel yüke sahiptirler (Hale ve ark., 2010; İA, 2002). Bakteri adezyonu açısından hidrofobik yüzeyler hidrofilik yüzeylere göre daha uygundur (Hale ve ark., 2010; Minagi ve ark., 1985).

Islanma temas açıları arttıkça yani malzeme hidrofobikleştikçe yüzeye tutunan bakteri sayısında artış gözlenmiştir (Yoshida ve ark., 1998). Ancak düşük yüzey enerjili malzemelerde daha az biyofilm oluşumunun belirtildiği çalışmalar da bulunmaktadır (Quirynen ve ark., 1989). Malzemenin yüzey enerjisinin bakteri adezyonuna olan etkisini inceleyen çalışmalar, daha ileri araştırmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Zeta potansiyeli olarak adlandırılan malzemenin yüzey elektrik yükü fazla ise pozitif elektrik yükü de fazladır ve negatif elektrik yüklü bakteriler ile elektrostatik etkileşimi sonucu daha çok bakterinin kendisine adezyonunu sağlamaktadır (Yoshida ve ark., 1998).

Bakterilerin bulundukları ortamdaki besin miktarı, nem ve sıcaklık gibi çevresel faktörler de adezyonu ve bakterilerin çoğalmasını etkileyen faktörlerdendir (Cengiz ve ark., 2004).

Bakterilerin tutunacağı yüzey alanının düzensizlikleri başlangıç adezyonu ve sonrasında oluşan kolonizasyon için etkili bir faktör olduğu yapılan çalışmalar sonucu ortaya konmuştur. Yüzey düzensizliklerinin taban alanı bakterileri uzaklaştırabilecek etkenlerden daha korunaklı olması sebebiyle bakterilerin ileri adezyon aşamasına geçerek güçlü tutunabilmeleri için yeterli zamanı sağlamaktadır (Cengiz ve ark., 2004; Frank ve Steuer, 1985; Moura ve ark., 2006; Taylor ve ark., 1998; Verran ve Maryan, 1997). Ancak 0,2 μm' den daha az yüzey pürüzlülüğü olan malzemelerde bakteri adezyonu ile yüzey pürüzlülüğü arasındaki doğru orantının bozulduğu ve malzemenin türünün ön planda olduğu görülmüştür (Bollen ve ark., 1996; Bürgers ve ark., 2010).

4.2. Stafilokoklar

4.2.1.Tarihçesi ve Sınıflandırması

Stafilokoklar ilk olarak 1878 yılında Robert Koch tarafından tanımlanmıştır. Pasteur ise 1880 yılında sıvı besi yerinde üretmiştir (Ustaçelebi, 1999). Stafilokok terimi ilk kez 1881 yılında mikroskop altında üzüm salkımına benzeyen karakteristik görünümleri sebebiyle eski Yunanca'dan gelen ''staphyle'' kelimesinden türetilerek İskoçyalı cerrah Alexander Ogston tarafınca kullanılmıştır (Lowy, 1998; Mandell, 2000)

Laboratuvar ortamında iltihaplı yara alanlarından izole edilen stafilokoklar 1884 yılında Rosenbach tarafından incelenmiş, beyaz renkli koloniler *Staphylococcus albus (S. albus)*, sarı-portakal rengi koloniler ise *Staphylococcus aureus (S. aureus)* olarak adlandırılmıştır (Buchanan ve Gibbons, 1984; Ustaçelebi, 1999).

Stafilokok bakteri türleri, koagülaz enzimi üretebilmelerine göre iki ana gruba ayrılmıştır. Koagülaz enzimi sentezleyenler koagülaz-pozitif stafilokoklar (KPS), sentezleyemeyenler ise koagülaz-negatif stafikoklar (KNS) olarak iki ana grupta incelenir (Buchanan ve Gibbons, 1984; Koneman ve ark., 1997; Koneman, 1997). Baird-Parker spesifik KNS türlerini ilk kez tanımlamıştır (Ustaçelebi, 1999).

KNS' lerin patojen özellikleri ilk olarak 1958 yılında septisemiyle ilgili yayınlanmış, devam eden yıllarda nazokomiyal enfeksiyonlar, post-operatif endoftalmit, prostetik eklem ve kalp kapakçığı, damar içi katater, damar greftleri, prostetik fasia greftleri, endokardit ve osteomyelit gibi farklı klinik tablolarda bildirimleri mevcuttur (Bilgehan, 1994; Kloos ve Bannerman, 1994; O'grady ve ark., 2011; Smith ve ark., 1958; Somani ve ark., 1997).

4.2.2. Genel özellikleri

Stafilokoklar, farklı düzlemlerde bölünerek, üzüm salkımına benzeyen kümeler oluşturan, 0,5 - 1,5 µm çapında, yuvarlak, gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, aerop ve fakültatif anaerop kok şeklinde bakterilerdir. Bazik boyalarla kolay boyanırlar. Geniş ısı aralığında (6,5 - 45ºC) üreyebilmelerine rağmen laboratuarda 37 ºC ve pH: 7-7,5' da 24 - 48 saat içinde 1 - 4 mm çapında, hafif konveks düzgün koloniler yaparlar. *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* tebeşir beyazı renginde koloniler oluştururlar (Akan, 2006; Kılıçturgay ve ark., 1994; Ustaçelebi, 1999).

Stafilokoklar, karotenoidlerden dolayı gliserolmonoasetat gibi yağ asitleri ile zenginleştirilmiş besi yerinde pigment oluştururlar. *S. aureus* altın sarısı, *S. epidermidis* ise beyaz renkte koloni oluşturur. Ancak anaerop koşullarda ve buyyonda pigment oluşturma yeteneği ortadan kalkar (Akan, 2006; Ustaçelebi, 1999).

Sporsuz olmalarına rağmen ısı ve çevre koşullarına dayanıklı bakterilerdir. Kapsüllerinin olması fagositozu olumsuz etkilemektedir. Kuruluğa dirençlidirler. Genellikle 60 ºC' lik ısıda bir saatte aktivitelerini kaybederler. %2' lik fenolde inaktivasyon süreleri 15 dakika iken, %9' luk sodyum klorür ve sakkarozda tolerans

gösterebilmektedirler (Akan, 2006). Kurumuş balgam ve cerahatte haftalarca, +4 ºC' lik kültürde ve oda ısısında aylarca canlı kalabilirler (Ustaçelebi, 1999).

S. epidermidis suşlarında metisilin direnci (penisilin bağlayan protein) saptanmış ve metisilin dirençli *S. epidermidis* suşları (MRSE) olarak adlandırılmıştır. MRSE kaynaklı enfeksiyonlarda tüm beta laktam grubu antibiyotikler etki kalmakta, tedavi için vankomisin gibi glikopeptid antibiyotikler kullanılmaktadır (Walsh, 1999).

4.2.3. *S. epidermidis* Kaynaklı Enfeksiyonların Özellikleri

Derinin normal florasında en çok rastlanılan bakteri olması sebebiyle *S. epidermidis*, biyomedikal malzemeler üzerinde gelişen enfeksiyonların en sık kaynağıdır (Uckay ve ark., 2009). Ürettikleri biyofilm tabakası sayesinde intravenöz kateter ve vücut içine yerleştirilen biyomateryallere kolaylıkla bağlanabilmektedirler. Biyofilm tabakası içinde yer alan bakterilere konak canlının savunma hücreleri ve antibiyotiklerin etkisiz kalması tedavi edilebilmesi güç, kronik enfeksiyonlara yol açar (Gunes, 2010).

KNS' ler kaynaklı enfeksiyonların klinik belirtileri karakteristik ve çok şiddetli olmayan, genel belirtiler tarzındadır ve nadir olarak hayatı tehdit ederler. Ancak, *S. epidermidis'* in vücuda yerleştirilen biyomalzeme üzerine kolonize olma ve çok katlı biyofilm tabakası oluşturabilmesi, antibiyotiklere ve konağın immünitesine karşı direnç gösterebilmesi, *S. epidermidis* kaynaklı enfeksiyonları tedavisi pahalı ve zor olan enfeksiyonlar olarak karşımıza çıkarmaktadır (Costerton ve ark., 1999; Otto, 2009). KNS' ler içinde enfeksiyona en çok sebep olan tür *S. epidermidis'* tir (Buchanan ve Gibbons, 1984; von Eiff ve ark., 2002). Özellikle prostetik kalp kapakçığı ve şant enfeksiyonlarında, intravenöz kateterlerle ilişkili enfeksiyonlarda, kalp cihazı, damar grefti ve protez eklem enfeksiyonlarında görülen en sık etken *S. epidermidis*' tir (Chu ve ark., 2009; Gunes, 2010; Webb ve ark., 2003).

S. epidermidis' in laboratuar tanısı için; katalaz enzimi pozitif, koagülaz enzimi negatif olmalı ve gram pozitif kokların görülmesi gereklidir. Kanlı agar besi yerinde tebeşir beyazı görüntüsü verir (Gunes, 2010).

Fırsatçı patojenlere karşı duyarlı konak sayısındaki artış ve tıptaki ilerlemelerle biyomalzemelerin daha geniş alanlarda kullanımı *S. epidermidis*' in kolonizasyonu için yeni ekolojik ortamlar sağlamaktadır. Ayrıca kullanılan antibiyotik ve dezenfektanlar dirençli varyantların oluşumu için çevresel baskıya sebep olurlar. *S. epidermidis* yapılan çalışmalar sonucu diğer kommensal bakteri türlerine göre yeni oluşan ekolojik ortamda patojen özellik kazanabilmesi açısından daha başarılı ve çok yönlüdür (Coello ve ark., 2003).

S. epidermidis kaynaklı enfeksiyonlardan korunmak amacıyla biyomateryaller üzerindeki kolonizasyonunun önüne geçilmesine yönelik önlem alınmalıdır (Gunes, 2010).

4.2.4. *S. epidermidis*' in Adezyon Mekanizması

S. epidermidis suşlarının oluşturduğu biyofilm tabakası ilk 1972 yılında gözlemlenmiştir (Penny, 1972). İlerleyen yıllarda yapılan diğer çalışmalarla biyofilm oluşumu doğrulanmış ve *S. epidermidis*' in sebep olduğu enfeksiyonların patogenezinde başlıca mekanizma olarak görülmüştür (Bayston ve Rodgers, 1990; Deighton ve Balkau, 1990; Ishak ve ark., 1985).

S. epidermidis kaynaklı enfeksiyonlu hastalardan çıkartılan kateterlerin, taramalı elektron mikroskobu ile incelenmesinde, amorf ekstrasellüler matriks (biyofilm tabakası) içerisinde gömülü, yapışkan ve kalın bakteri grupları tespit edilmiştir (Hall-Stoodley ve ark., 2004; Marrie ve ark., 1982; Peters ve ark., 1981).

Başlangıç adezyonu yüzey ve bakteri arasında oluşan hidrofobik etkileşimler, kapsüler polisakkarit adezin (PSA), teikoik asitler, otolizin/adezin proteinleri AtIE ve Aae gibi bakterinin yüzey yapısı ve proteinleri yardımıyla gerçekleşmektedir (Gross ve ark., 2001; Heilmann ve ark., 2003; O'Gara, 2007; Veenstra ve ark., 1996).

Vücut içine yerleştirilen implantlar hızla kollajen, fibrinojen, fibronektin, vitronektin ve trombospondin gibi konağın matriks proteinleri ile kaplanırlar (Dickinson ve Bisno, 1989; Marrie ve ark., 1982). Yüzey üzerinde birikim gösteren plazma ve ekstrasellüler matriks proteinleri ile *S. epidermidis*' in yüzeyinde bulunan

fibrinojen bağlayıcı Fbe, SdrG, SdrF ve SdrH gibi proteinler etkileşime girerek adezyona yardımcı olurlar (Arrecubieta ve ark., 2007; Hartford ve ark., 2001; Herrmann ve ark., 1997; McCrea ve ark., 2000).

Yapılan çalışmalar sonucunda, bakteri duvarı kaynaklı teikoik asitin biyofilm matriksinin bileşenlerinden olup, yüzeyde bulunan fibronektin ile köprü kurarak adezyon üzerinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (Farrell ve ark., 1993; Qin ve ark., 2007; Rice ve ark., 2007; Sadovskaya ve ark., 2005).

AtlE, serumda ve ekstrasellüler matrikte bulunan vitronektin proteinine bağlanabilen bir multidomaindir (Heilmann ve ark., 1997).

S. epidermidis suşları tarafından sentezlenen adezinler bakterilerin yüzeye tutunmalarını sağlayarak, biyofilm oluşturabilmelerini olumlu şekilde etkiler. Kapsüler polisakkarit Adezini (PSA) ve Polisakkarit İntersellüler Adezin (PIA) *S. Epidermidis*' in sentezlediği önemli iki adezindir. PSA başlangıç adezyonunda etkiliyken, PIA ise hücrelerin bir arada kalmasını sağlar (Mack ve ark., 1994; Mack ve ark., 1992; O'Gara ve Humphreys, 2001).

Ekstrasellüler protein olan AAP (accumulation- associated protein)' in *S. epidermidis* suşlarının yüzeylere akümülasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. AAP' nin, PIA' nın hücre yüzeyine bağlanmasında rolü olduğu ileri sürülmektedir (Dasgupta, 1994; McLean ve ark., 1993).

Başlangıç adezyonunun ardından biyofilm oluşumu için bakteriler çoğalarak ve birbirlerine bağlanarak çok katlı hücre toplulukları oluştururlar. Bu birikim fazında hücre proliferasyonu ve *ica* gen kümesince kodlanan PIA yapımı ile biyofilm oluşturulur (Heilmann ve ark., 1996; Mack ve ark., 1994; McKenney ve ark., 1998). *ica* gen kümesi ilk *S. epidermidis*' in suşlarının izolasyonunda tanımlanmış olup, yapılan çalışmalarda patojen olan *S. epidermidis* türleri ile kommensal *S. epidermidis* türleri arasında genetik olarak ayrım yapılabilecek tek marker olduğu sonucuna varılmıştır (Galdbart ve ark., 2000; Heilmann ve ark., 1996). PIA' nın hücreler arası adezyonu sağlamasının yanında bakterilerin hidrofilik yüzeylere adezyonunda da görev yaptığı düşünülmektedir. PIA negatif olan bakterilerin, pozitif olan bakterilere göre daha az virülans olduğunu gösteren çalışmalar PIA' nın önemli bir virülans faktörü olduğunu göstermektedir (Heilmann ve ark., 1996).

4.3. Bakteri Adezyonunun İn vitro Ortamda Model Tasarımı

Bakteri adezyonunun değerlendirilebilmesi için in vitro ortamda çeşitli model ve yöntemler geliştirilmiştir.

4.3.1. Bakteri Seçimi

Bakteri adezyonunun in vitro koşullarda yapılan deneyleri için ilk basamak bakterinin seçimidir. Bakteriler direk olarak ortamdan ya da konak canlıdan izole edilebileceği gibi, standart suşların izole edildiği ATCC (American Type Culture Collection) gibi uluslararası standartlara sahip büyük laboratuvarlardan da temin edilebilir. Yapılacak olan çalışmanın amacına göre en uygun sonucu elde etmek için bakterilerin seçimi önemlidir. Doğal yollarla izole edilen bakteriler bulundukları ortamın koşullarına göre kapsüllerini yitirebilir, yüzey özellikleri değişebilir ya da birbirlerinden farklılık gösterebilirler.

4.3.2. Besi yerleri

1876 yılında ilk olarak Robert Koch *Bacillus anthracis (B. anthracis)* ' i besi yerinde üretmeyi başarmıştır. Günümüzde in vitro ortamda mikroorganizmaların üretilmesi ve tanımlanabilmesi için birçok besi yeri kullanılır (Tünger ve ark., 2005; Ustaçelebi, 1999).

Besi yerleri sıvı, katı ya da yarı katı olarak hazırlanabilirler. Sıvı besi yerlerinde mikroorganizmalar kaynakların tümünden yararlanabilir, böylelikle daha çok üreme gösterirler (İA, 2002; Tünger ve ark., 2005). Sıvı besi yerlerinde mikroorganizmaların oksijene karşı ihtiyaçlarına göre yüzeyde zar (aerob), dipte

tortu (anaerob) veya homojen bulanıklık oluşturarak (fakültatif ananerob) ürerler (Bilgehan, 1994; İA, 2002).

Sıvı besi yerlerine %2 agar - agar katılarak katı besi yeri hazırlanır. 95°C de eriyen ve 42°C de donan bir deniz yosunudur (Bilgehan, 1994; İA, 2002). Besi yerine %5 - 10 oranında kan ilavesiyle kanlı agar elde edilir (İA, 2002).

Bakteriler yaklaşık 18-24 saatlik uygun üreme süreleri sonunda katı besiyerleri üzerinde gözle görülebilen koloniler oluşturur (Bilgehan, 1994). Bakteri türlerinin tanımlanmasında oluşturdukları kolonilerin morfolojileri önem taşımaktadır (Tünger ve ark., 2005).

4.3.3. Besi yerine Ekim Yöntemleri

İn vitro ortamda yapılan bakteri çalışmalarında, bakterilerin elde edildikten sonra çoğalmaları, sayılabilmeleri ve deneyde kullanılan materyallerle temas edebilmeleri için besi yerlerine ekimlerinin yapılması gereklidir. Besi yerine bakteri ekimi yapmak için eküvyon (ucuna pamuk sarılı çubuk), baget (ucu kıvrık çubuk) ya da öze (sıvı ortamlardan örnek almaya yarayan ve halka şeklinde ucu olan alet) kullanılır. Katı besi yerinde seyrelterek ekim yönteminde, petri kutusu hayali dört alana bölünür. Alınan örnek ilk alana sürüldükten sonra bu alanın köşesine dokunularak ikinci alana ve zig zag çizgilerle tüm alanlara yaydırılır. Katı besi yerinde yaygın ekim yöntemi, sıvı örneklerde bulunan mikroorganizmaların yoğunluğunu koloni oluşturup sayabilmek amacıyla kullanılır. Katı besi yerinde yoğun ekim yöntemi ise antibiyotik duyarlılığı için kullanılan disk difüzyon ve E test yöntemlerinde kullanılır. 0,5 McFarland bulanıklığına eş değer yoğunluktaki bakteri süspansiyonundan eküvyon yardımıyla alınan örnek, bakterilerin tüm petri kutusu alanına eşit yoğunlukta dağılacak şekilde ekilmesiyle yapılır (İA, 2002).

4.3.4. İn Vitro Ortamda Bakteri Adezyonunun Sağlanması

İn vitro ortamda bakteri adezyonunu sağlamak amacıyla statik ya da dinamik modeller geliştirilmiştir. Petri kutuları, mikro plateler, kültür tüpleri statik ortamlar; dönen disk aparatları, özel tasarlanmış sistemlerle devamlı akım şeklinde bakteri adezyonu ise dinamik modeller olarak değerlendirilir (An ve Friedman, 1997; Eick ve ark., 2004; İA, 2002).

4.3.5. Bakterilerin Deney Örneğinden Uzaklaştırılması

Bakteri sayımı için bakterilerin örnek yüzeyinden uzaklaştırılması gerekli ise ultrasonik enerji, kimyasal maddelerin kullanımı ve vortex birlikte ya da tek tek kullanılabilirler (An ve Friedman, 1997; Bjerkan ve ark., 2009; Yoshida ve ark., 1998).

4.3.6. Bakteri Sayım Yöntemleri

Sıvı içinde homojen bir süspansiyon halinde bulunan bakterilerin sayısı, 1 ml' deki bakteri sayısıdır. Bakterilerin in vitro ortamda sayılabilmesi için birçok sayım yöntemi vardır.

4.3.6.1. Koloni Sayım Yöntemi

Bakteri sayımında uygulanan temel metotlardan biridir (An ve Friedman, 1997; İA, 2002). Bakteri sayımı için katı besi yerinde tüzeye yayma ve dökme plak yöntemlerinden yararlanılır (İA, 2002). Dökme plak yönteminde erimiş agar besi yeri ile bakteri içeren ölçülü hacimdeki örnek steril petri kabında karıştırılır. 37ºC' de bir

gece inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılır (An ve Friedman, 1997; İA, 2002). Yüzeye yayma yönteminde ise örnek çok fazla bakteri içeriyorsa ‘’mikrodilüsyon tekniği’’ ile her seferinde 1/10 şeklinde seri seyreltme işlemi uygulanır. İlk seyreltmeden başlanılarak her seyreltiden genellikle 100 µl alınır ve agar plaklarının üzerine yayma metodu ile ekim yapılır. 37ºC’ de bir gece inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılır (İA, 2002).

Bu yöntemle mikroskopta bakıldığında ölü ya da canlı olduğu ayırt edilemeyen bakterilerin, inkübasyon süresi sonrasında katı besi yerinde oluşturdukları kolonilerin sayımı yapılır. Bu sayede oluşan kolonilerin sayımı ile başlangıçta kaç canlı bakterinin olduğu hesaplanır (İyiyapıcı Destan, 2005). Sayılan kolonilerin her biri “koloni oluşturan birim” (colonyformingunit: cfu) olarak isimlendirilir (İA, 2002).

Koloni sayım yöntemi zaman alan bir yöntem olsa da özel ekipmana ihtiyaç duyulmaz ve uygulaması kolaydır (İA, 2002).

4.3.6.2. Mikroskop Altında Sayım Yöntemleri

Katı örnekler direk mikroskop altında bakteri sayımı için incelenebileceği gibi sıvı örneklerde lam yardımıyla bakteri sayımı yapılır (Gürgün ve Halkman, 1990). Işık mikroskobu, faz kontrast mikroskobu, konfokal lazer floresan mikroskobu, karanlık alan mikroskobu ve elektron mikroskobu gibi çeşitli mikroskoplar bakterilerin incelenmesinde kullanılmaktadır (İA, 2002). Bakterilerin canlı ya da ölü oldukları sadece canlı bakterileri boyayan özel boyalar ve ona uygun özel mikroskoplar olmadıkça ayırt edilemez (Gürgün ve Halkman, 1990).

Mikroskop altında sayım yöntemlerinde yalnızca mikroskobun görüş alanındaki bakterilerin sayımı yapılır. Tüm örnek üzerindeki bakteri sayısı görüş alanındaki mevcut bakteri sayısına göre hesaplanır (Gürgün ve Halkman, 1990). Bakterilerin örnek üzerinde homojen dağılmamaları hatalı sonuçların elde edilmesine sebep olabilir (An ve Friedman, 1997).

4.3.6.3. Radyoaktif Madde İle İşaretleme Yöntemi

Bakterilerin ‘’radiotraces’’ denilen radyoaktif madde ile işaretlenmesini içeren bir yöntemdir (İA, 2002; İyiyapıcı Destan, 2005). Güvenilir ve hassas bir yöntem

olup kısa zamanda sonuçlandırılması avantajları arasındadır. Dezavantajları ise radyoaktif maddenin riskleri ve özel laboratuvar koşullarıdır (Bilgehan, 1994; İA, 2002).

4.3.6.4. Dolaylı Sayım Yöntemleri

Bakteri sayısı dolaylı sayım yöntemlerinde çeşitli kriterler üzerinden karşılaştırma yapılarak belirlenir.

McFarland tüpleri ile karşılaştırma: McFarland bulanıklık tüpleri ile aynı yapı ve boyuttaki tüplere konulan örneklerin bulanıklığının karşılaştırılması ile bakteri sayısı hakkında bilgi edinilir. Çeşitli bakteriler için tüplerin karşılığı, 1 ml' deki bakteri sayıları olarak bilinmektedir (Bilgehan, 1994; Gürgün ve Halkman, 1990; İA, 2002).

Total hacim tayini: Bakteri içeren sıvı örnek santrifüj edilir, tüpün dibinde çöken hacim bakteri miktarının belirlenmesinde kullanılır (Bilgehan, 1994; İA, 2002).

Biyokimyasal metot: Bakterilerin karbon, nitrojen, DNA, RNA gibi maddelerinin miktarları ölçülerek bakteri sayısı hakkında bilgi edinilir (Bilgehan, 1994; İA, 2002).

Kuru ağırlık tayini: Bakteri kütlesi 120°C' de sabit ağırlık elde edilinceye kadar kurutulur ve ağırlık ölçülür (Bilgehan, 1994; İA, 2002)

Spektrofotometri: Sıvı örnek içindeki bakterilerin ışık geçirgenliğine göre optik yoğunlukları ölçülür. Bakteri sayısı arttıkça sıvının bulanıklığı da artar. Bu yöntem ile bakterilerin ölü ya da canlı oldukları belirlenemediği gibi sıvı içinde bulunan yabancı maddeler de sıvının yoğunluğunu arttırarak sonuçlarda değişkenliğe sebep olabilir (Bilgehan, 1994).

Floresan yoğunluğunu ölçebilen özellikte olan spektrofotometre cihazları özel floresan boyalarla direkt boyanan canlı bakterilerin yoğunluğunu ölçebilir (Zortuk ve ark., 2010).

4.4. Biyomalzemeler ve Biyouyumluluk

Biyomalzemeler canlı sistemlerle etkileşim halinde olacakları göz önünde bulundurularak, canlı vücudundaki organ, doku veya fonksiyonel kısımların tedavi edilmesi ya da tamamen değiştirilmesi için belirli bir süre rahatlıkla, bozulmadan kullanılabilecek şekilde tasarlanan, doğal kaynaklardan elde edilebileceği gibi yapay olarak da üretilebilen malzemelerdir (Burny ve ark., 1995; Gümüşderelioğlu, 2002; Pasinli, 2004).

Biyomalzemeler, sürekli olarak veya geçici bir süre için vücut içindeki akışkanlara temas ederler. Bu yüzden kullanılacak biyomalzemelerin biyouyumlu olması gerekmektedir (Ceyhan ve Köse, 2011). Biyouyumluluk; kullanım sürecinde malzemenin, vücut sistemine uygun cevap verebilme, vücutla uyuşabilir, kendini çevreleyen dokuların normal fonksiyonlarına engel olmama ve iltihaplanma oluşturmama yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Güven, 2014; Williams, 1990; Williams, 1987). Biyomalzemeler ve onlardan yapılan cihaz ve sistemleri, biyouyumluluklarını belirlemek amacıyla laboratuvar ortamında veya vücut sıvısı içinde klinik deneme protokollerine uygun olarak çok zorlayıcı koşullarda denenmektedir. Biyouyumluluk; hayvan çalışmalarını, genotoksisite ve karyojenik etkiyi, çoğalma üzerindeki toksisiteyi, kanla etkileşim testlerini, in vitrositotoksisite testlerini, implantasyon sonrası sterilizasyon artıklarının saptanmasını, materyallerin degradasyonunu, irritasyon ve duyarlılığı, örneklerin hazırlanmasını, degradasyon ürünlerinin saptanmasını ve miktarının tayinini içeren testlerle ölçülebilir (Güven, 2014; Yun ve ark., 2010).

Biyouyumluluk özelliğinin yanı sıra biyomalzemelerin, toksik ve kanserojen özellikte olmaması, mekanik dayanımlarının yeterli olması, vücutta meydana gelen reaksiyonların dışında reaksiyonlara sebep olmaması, korozyona uğramaması, uygun ağırlık ve yoğunlukta olması gerekmektedir. Büyük miktarlarda işlenebilme ve fabrikasyon kolaylığı göstermesi biyomalzemenin ekonomik olması açısından sahip olması istenen özelliklerdir (Boretos ve Eden, 1984; Geetha ve ark., 2009; Gür ve Taşkın, 2004; Hallab ve ark., 2005; Hill, 1998; Ikada ve ark., 1984; Park ve Lakes, 2007; Ratner ve ark., 2004).

Biyomalzemeler doku ile etkileşimlerine göre 3 temel sınıfa ayrılır;

***Biyotolerant*:** Biyomalzeme ile onu çevreleyen doku arasında istenmeyen ancak vücut tarafından tolere edilebilecek bir etkileşim meydana gelir. Malzeme ile doku teması, fibröz tabakası ile kesilir (Häfeli ve ark., 2007; Sykaras ve ark., 2000).

Biyoaktif: Doku ile biyomalzeme arasında arayüzey reaksiyonları ile bağlanma gerçekleşir (Häfeli ve ark., 2007; Sykaras ve ark., 2000).

Biyoinert: Kimyasal açıdan oldukça kararlıdırlar. Bu malzemeler ile onları çevreleyen doku arasında hiçbir bağlanma olmaz (Häfeli ve ark., 2007; Sykaras ve ark., 2000).

Doku ile etkileşimlerine göre sınıflandırmanın yanısıra biyomalzemeleri problem türüne göre (hastalıklı parçanın değişimi, tedavi), kullanıldığı doku ve organ türüne göre (kemik, diz, göz, kalp) ve malzeme cinsine (metal, seramik, polimer) göre sınıflandırmak mümkündür.

Tablo 1: Biyomalzeme cinsinin kullanılacak vücut kısımlarına göre gösterdiği farklılık (Ayhan, 2002; Gümüşderelioğlu, 2002)

İSKELET SİSTEMİ	
Eklemler	Titanyum ve alaşımları, Paslanmaz çelik, Kobalt-Krom alaşımları, polietilen
Kemik plakaları	Paslanmaz çelikler, Kobalt-Krom alaşımları
Kemik çimentosu	Polimetilmetakrilat (PMMA)
Yapay tendon ve bağlar	Politetrafloroetilen (Teflon)
Diş implantları	Titanyum, alumina, kalsiyum fosfat
KALP-DAMAR SİSTEMİ	
Kan damarı protezleri	Politetrafloroetilen (Teflon), Poliüretan
Kalp kapakçıkları	Paslanmaz çelik
Kataterler	Silikon kauçuk, Politetrafloroetilen (Teflon)
ORGANLAR	
Yapay kalp	Poliüretan
Yapay böbrek	Selüloz, Polisakkarit
DUYU ORGANLARI	
İç kulak kanalında	Platin elektrotlar
Göz içi lensler	Polimetilmetakrilat, Silikon kauçuk, Hidrojeller
Kornea bandajı	Kolajen, Hidrojeller

4.4.1. Metalik Biyomalzemeler

Metalik biyomalzemeler kas - iskelet sistemimizin mekanik koşullarına en iyi uyum gösteren malzemelerin başında gelirler. Metallerin sahip olduğu yüksek kırılma direnci ve dayanıklılık gibi özellikler bu malzeme sınıfının kullanıma uygun üretildiği takdirde yüksek yükleme mukavemeti gerektiren bölgelerde uzun süreli, güvenilir implant performansı sergilemesini sağlar (Güven, 2014; Pilliar, 2009).

Metallerin olumlu özelliklerinin çoğu -iyi kırılma direnci, elektrik iletkenliği, şekillendirilebilirlik- yapılarındaki atomik bağ karakterinden kaynaklanmaktadır. Elektriği iyi iletirler. (Askeland ve Phulé, 2003; Ayhan, 2002; Gür ve Taşkın, 2004).

Metal malzemelerin basit ya da karmaşık şekillerde ve büyük ölçeklerde kolay üretilebiliyor olması; bu malzemelerin yüksek yüklemeye maruz kalan aletlerin sıklıkla kullanıldığı, özellikle dişhekimliği ve ortopedi alanlarında kullanımını arttırmaktadır. Bunun yanında metalik biyomalzemeler kalp-damar cerrahisinde kateter ve kalp kapakçığı olarak, teşhis ve tedavide kullanılan cihazların üretiminde ayrıca elektrik iletkenliğinin yüksek olması nedeniyle kas - sinir uyarım cihazlarında da kullanılmaktadır. Bunun en iyi örneği kalp pilidir (Ayhan, 2002).

Düşük biyouyumluluk ve düşük korozyon direnci, yüksek yoğunluk, dokulara nispeten çok sert olma ve alerjik doku reaksiyonlarına sebep olabilecek metal iyonu salımı gibi dezavantajlarına rağmen metalik biyomalzemeler cerrahi alanda hala oldukça büyük önem arz etmektedirler (Ayhan, 2002; Güven, 2014).

Vanadyum çeliği kırık tedavisinde vida ve plaka olarak insanlarda kullanılan ilk metal alaşımdır. Ayrıca, demir (Fe), krom (Cr), kobalt (Co), nikel (Ni), titanyum (Ti), tantalyum (Ta), niyobyum (Nb), molibden (Mo) ve tungsten (W)' den imal edilmiş olan alaşımları vücut içerisinde belli bir süre kullanımı uygun görülmüştür (Gür ve Taşkın, 2004; Niinomi, 2002).

Biyomalzemeler tasarlanırken biyouyumluluktan sonra dikkat edilen ikinci özellik malzemenin kemiğe yakın mekanik ve elastik özellikler gösterebilmesidir. Kemik işlevini gören biyomalzemenin mekanik özelliklerinin kemik dokusuyla benzer olması gerekir. Biyomalzemenin elastisite modülü kemiğinkinden fazlaysa zamanla kemiğin maruz kaldığı yük miktarı azalacak ve kemik dokusu zayıflayacaktır. Tersi durumda ise biyomalzemenin zamanla kırılma olasılığı artacaktır. En çok yüke maruz kalan ortopedik implantlar ve diş implantları uygulamaları için bu özelliklere dikkat edilir (Dee ve ark., 2003; Leyens ve Peters, 2003).

Tablo 2: İmplant malzemesi olarak kullanılan metallerin ve kemiğin mekanik özellikleri (Hansen, 2008)

Malzeme	Çekme Mukavemeti (MPa)	Akma Mukavemeti (MPa)	Sertlik (HV)	Elastisite Modülü (GPa)
316L	650	280	300	210
Co-Cr Alaşımı (Dövme)	1540	1050	450	540
Co-Cr Alaşımı (Döküm)	690	490	300	240
Ti6Al4V	1000	970	380	110
İnsan Kemiği	137.3	_	26.3	30

Canlı vücudunda kullanılacak malzemelerin yoğunlukları dokularla uyumlu olmaları açısından önemli bir parametredir. Biyomedikal ürünlerde kullanılan bazı metalik biyomalzemelere ait yoğunluk değerleri çizelgede verilmiştir (Park ve Kim, 2003; Pasinli, 2004).

Tablo 3: Bazı metalik biyomalzemelerin özgül ağırlıkları

Malzeme	Yoğunluk (gr/cm3)
Ti ve alaşımları	4.5
316 paslanmaz çelik	7.9
CoCrMo	8.3
CoNiCrMo	9.2
NiTi	6.7

Metalik bir implant malzemesinin korozyon direnci biyouyumluluk açısından oldukça büyük önem arz etmektedir (Williams, 1982). Korozyon, metallerin çevreleriyle istenmeyen bir kimyasal reaksiyona girerek oksijen, hidroksit ve diğer

başka bileşikler oluşturarak bozunmasıdır. İnsan vücudundaki doku sıvısında, su, çözünmüş oksijen, protein ve hidroksit gibi çeşitli iyonların bulunması sebebiyle biyomalzemeler için korozif bir ortamdır (Pasinli, 2004; Tas, 2000). Biyomalzemeler, korozyona uğrayarak zamanla zayıflar, daha da önemlisi oluşan korozyon ürünleri doku içerisine nüfuz ederek hücrelere zarar verebilirler. Bu nedenle biyomalzemelerin in vivo kullanım öncesi serum, tükürük veya farklı sentetik tampon çözeltiler içinde test edilmeleri gereklidir (Browne ve Gregson, 1994; Pasinli, 2004; Van Noort, 1987).

Metalik biyomalzemeler saf metal veya alaşım elemanlarına göre sınıflandırılırlar; paslanmaz çelikler, CoCr alaşımları, Ti alaşımları, amalgamlar, altın, gümüş, platin.

4.4.1.1. Paslanmaz Çelikler:

Paslanmaz çelikler, Fe-Cr-Ni alaşımlarıdır. Bileşimlerinde bulunan en az %12' lik krom hem ısıl hem de korozyon direncini arttırır. Kromun oksijen eğiliminin demirden fazla olması nedeniyle çelik içinde bulunan demir atomlarının oksijen ile reaksiyona girmesini önler (Smith ve Kınıkoğlu, 2009).

316 ve 316L biyomalzeme yapımında en sık kullanılan paslanmaz çelik çeşitleridir. Bu grup paslanmaz çelikler manyetik değildirler ve diğer paslanmaz çeliklere göre in vivo ortamda daha yüksek korozyon dayanımına sahiptirler. 316 paslanmaz çelik maksimum %0,08 oranında karbon içerirken korozyon direncini arttırmak için karbon oranı %0,03' e düşürülerek 316L tipi paslanmaz çelik elde edilmiştir (Gümüşderelioğlu, 2002; Pasinli, 2004).

Paslanmaz çelikler, ortopedide kırık tedavilerinde yaygın olarak kullanılır. İyi esneyebilme özellikleri sayesinde soğuk işlem uygulanabilir, böylelikle cerrahi operasyon sırasında kullanılacağı anatomik bölgeye uygun şekillendirme yapılabilir (Helsen ve Jürgen Breme, 1998). Yorulma problemi sebebiyle kemik tespit işlemlerinde ve yapay eklemlerde tercih edilmez (Bronzino, 1999). Biyolojik uyumluluğu zayıf olan paslanmaz çelikler kemik ve yumuşak dokuyla bütünleşemezler (Helsen ve Jürgen Breme, 1998).

4.4.1.2. Krom - Kobalt Alaşımları:

Temel olarak kullanılan iki çeşit alaşımı vardır; kobalt–krom–molibden (Co-Cr-Mo) alaşımı ve kobalt–nikel–krom–molibden (Co-Cr-Ni-Mo) alaşımı. Yapıdaki krom elementi alaşımın yüzeyinde 1 - 4 nm kalınlığında pasif bir kromoksit tabakası oluşturur. Oluşan bu tabaka, metalin iç kısımlarının hava ve diğer akışkanlar ile temasını keserek alaşımın yüksek korozyon direncine sahip olmasını sağlar. Mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla alaşıma ağırlıkça %5 - 7 oranında Mo eklenir (Bellefontaine, 2010; Kauser, 2007; McMinn ve Daniel, 2006; Yan ve ark., 2007).

CoCrMo alaşımları mekanik açıdan çok üstün özelliklere sahip olmalarına rağmen dental uygulamalarda kullanıldıklarında yiyeceklerdeki asit ve alkalinlere maruz kalmalarına bağlı olarak yapılarındaki elementler elektrokimyasal çözünmeye uğrayarak ağız içi boşluğuna oradan da vücut sıvılarına karışma riski vardır. Vücut sıvılarına karışan bu iyonlar organizma tarafından tolere edilemezse bölgesel veya sistemik sorunlara yol açabilirler (Galo ve ark., 2012). Yorulmaya karşı dirençleri kalça protezleri ve yapay bağlantılar için yeterli düzeydedir (Agrawal, 1998).

4.4.1.3. Titanyum ve Alaşımları:

Doku uyumu ve mekanik özelliklerinin üstünlüğü sebebiyle Ti ve alaşımları hasar görmüş sert dokunun onarımında uzun yıllardır kullanılmaktadır. Titanyumun implant malzemesi olarak kullanımı ile ilgili çalışmaların başlangıcı 1930'lu yıllara dayanmaktadır (Oldani ve ark., 2012). Titanyum alaşımlarının tıptaki kullanım alanlarına; protez eklemler, dental implantlar, cerrahi splintler, kırık sabitleme vidası, kalp kapakçığı protezi, damar içi stentler, kalp pili ve yapay kalp örnek olarak gösterilebilir.

Titanyum alaşımlarının avantajları;

- ✓ Uzun süreli implantasyonlarda iyi biyouyumluluğa sahiptir.
- ✓ Enjekte edilen maddelerle birlikte kimyasal reaksiyona girme olasılığı en azdır,
- ✓ Manyetik olmadığından, MR (manyetik rezonans) için uygundur.
- ✓ Yoğunluğu düşük olduğundan hafiftir.
- ✓ Hipoalerjiktir.

- ✓ Elastisitemodülü kemiğinkine yakındır. (Pasinli, 2004)

Ti' un tercih edilmesini sağlayan önemli özellikleri vardır; yoğunluğunun düşük olmasına rağmen yüksek dayanımı, kırılma tokluğu, çatlak yayılımına karşı gösterdiği direnç, düşük sıcaklıkta yüksek tokluk. Bunun yanı sıra korozyona karşı çok iyi direnç göstermesi, biyouyumluluğunun ve osteointegrasyonunun iyi olması nedeniyle Ti ve alaşımları implant uygulamaları için en uygun malzemelerdir (Subaşı ve Karataş, 2012). Sert dokunun yerine uygulanan implantın yerleştirildiği bölgeye olan uyumu en az üç kriterle değerlendirilir; biyouyumluluk, mekanik uyumluluk, morfolojik uyumluluk (Oshida ve ark., 1994; Subaşı ve Karataş, 2012). Osseointegrasyon kavramı Branemark ve ark. tarafından "canlı kemik dokusu ile yükleme altındaki implant yüzeyi arasında fibröz doku olmaksızın direkt yapısal ve işlevsel bağlantı" olarak tanımlanmıştır (Bränemark ve ark., 1985). Doku tarafından kabul edilebilirliği yüksek olan Ti, implant olarak vücuda yerleştirildikten sonra vücudun bir parçası haline gelir (Pasinli, 2004). Ti, yüksek yüzey enerjisi sayesinde implantasyon sonrası implant - kemik ara yüzeyinde mineral birikmesini, bu da canlı kemik dokusu ile implant malzemesi arasında direkt yapısal ve işlevsel bir bağ kurulmasını sağlar (Acero ve ark., 1999).

Saf Ti ve Ti alaşımlarından Ti-6Al-4V sıklıkla kullanılan biyomalzemelerdendir. Ancak saf Ti' un mekanik özellikleri alaşımlarına göre daha düşüktür. Korozyona karşı gösterdiği yüksek direnç ve iyi biyouyumluluğuna rağmen Ti-6Al-4V alaşımında bulunan vanadyumun zehirli olduğu düşünülerek daha güvenli Ti-6Al-7Nb ve Ti-5Al-2,5Fe gibi alaşımlar geliştirilmiştir (Helsen ve Jürgen Breme, 1998; Niinomi, 1998; Niinomi ve ark., 2004; Niinomi ve ark., 2001). Ti-6Al-4V alaşımından uzun süre zarfında salınan Al ve V iyonlarının Alzheimer ve nöropati gibi sağlık problemlerine sebep olabilmektedir (Nag ve ark., 2005).

Ti ve alaşımları biyolojik olarak inert olan malzemeler sınıfında yer alır. Titanyum reaktif bir metaldir ve oluşturduğu oksit tabakası sayesinde korozyona karşı yüksek dirençlidir (Pasinli, 2004; Rautray ve ark., 2011; Smith ve Kınıkoğlu, 2009). Elli yıldan beri yapılmakta olan in vivo ve in vitro çalışmalar bu malzemelerin iyi biyouyumluluklarının oksit tabakası ile ilgili olduğunu ortaya koymuştur (Elias ve ark., 2008). Malzemenin yüzeyinde oluşan yaklaşık 10 nm kalınlığındaki oksit

tabakası (TiO_2), malzeme hava ile temas ettiğinde kendiliğinden oluşur ve malzemenin içine oksijen girişini önleyerek korozyon direnci sağlar (Pasinli, 2004). Yüzeyinde oluşan oksit tabakasının inert etkisi ile insan vücudunda kullanıldıklarında değişikliğe uğramadıkları gibi sert ve yumuşak dokuların metal yüzeyini kavramasını sağlar (Pasinli, 2004). Farklı implant malzemeleri ile deneysel olarak kıyaslandığında Ti implantların vücut sıvılarıyla etkileşimi sonrası korozyon hızının ölçülemeyecek kadar az olduğu bildirilmiştir (Liu ve ark., 2004).

Ti 4,5 g/cm^3 yoğunlukta hafif bir malzeme olup ergime sıcaklığı 1680^{o}C' dir. Oda sıcaklığında sıkı dizilmiş hekzagonal α fazında, 882^{o}C' nin üstündeki sıcaklıklarda ise kübik β fazındadır (Pasinli, 2004). İçeriğinin %98,9-99,6' sı Ti olan ticari saf Ti' un yapısında C, N, H, Fe, O gibi ara yer atomları da bulunmaktadır (Oldani ve ark., 2012). Yapıdaki bu ara yer atomları malzemenin sağlamlaşmasını sağlarlar. Akma, gerilme ve yorulma mukavemeti ve süneklik gibi mekanik özelliklerini etkileyen temel element oksijendir (Ratner ve ark., 2004).

Tablo 4: Dental uygulamalarda kullanılan titanyum alaşımları ve bu alaşımların mekanik özellikleri (Niinomi, 2003)

Alaşım	**Üretim metodu**	**Çekme dayanımı (MPa)**	**Akma dayanımı (MPa)**	**Uzama (%)**	**Vickers sertliği**
Ti–20Cr–0.2Si	Döküm	874	669	6	318
Ti–25Pd–5Cr	Döküm	880	659	5	261
Ti–13Cu–4.5Ni	Döküm	703	-	2.1	-
Ti–6Al–4V	Döküm	976	847	5.1	-
Ti–6Al–4V	Süper plastik şekilverme	954	729	10	346
Ti–6Al–7Nb	Döküm	933	817	7.1	-
Ti–Ni 470 – 8 190	Döküm	470	-	8	190

Tablo 5: Ti ve alaşımlarının mekanik özellikleri (Gür ve Taşkın, 2004)

Özellik	1.Derece	2.Derece	3.Derece	4.Derece	**Ti6Al4V**
Çekme dayanımı (MPa)	240	345	450	550	860
Akma Dayanımı(MPa)	170	275	380	485	795
Uzama (%)	24	20	18	15	10
Kesit daralması(%)	30	30	30	25	25

4.5. Titanyumun Dişhekimliğinde Kullanım Alanları

4.5.1. Titanyum Dental İmplantlar

Dental implantlar üç tiptir; osseointegre implantlar, ortodontik ankraj amaçlı mini-implantlar ve zigoma implantları. Her grubun farklı mekanik özellikleri vardır (Elias ve ark., 2008). Üretimlerinde genellikle ticari saf titanyum ve Ti6Al4V alaşımı tercih edilir. Amerikan Test ve Malzemeler Derneği titanyumu korozyon direnci, mukavemet ve süneklik özelliklerine göre beş farklı sınıfa ayırmıştır; ilk dördü (1, 2, 3 ve 4) ticari saf titanyum, beşinci ise Ti-Al6-V4 alaşımıdır. 1. Tip en yüksek korozyon direncine, şekil verilebilirlik ve en az mukavemete sahip olmakla birlikte, 4. Tip en yüksek güce ve ılımlı şekil verilebilirliğe sahiptir. İçeriklerinde bulunan nitrojen, hidrojen, oksijen, karbon ve demir oranlarındaki ufak farklılıklar mekanik ve korozyon özelliklerini belirgin şekilde değiştirir (Donley ve Gillette, 1991). 5. Tip V içerdiği için toksik ve saf Ti' a göre daha korozivdir (Elias ve ark., 2008). Genellikle diş hekimliğinde Tip 2, Tip 4 ve Tip 5 Ti implantlar kullanılmaktadır (Elias ve ark., 2008; Steinemann, 1998).

Ti implantların dişetinden yansıması estetik kaygının yüksek olduğu durumlarda olumsuz etki yarattığı gibi, dişeti çekilmelerinde implantların boyun kısımları ağız içine açılabilir (Andreiotelli ve Kohal, 2009; Oliva ve ark., 2007). Yapılan bazı çalışmalarda titanyumun tükürük ile temasında galvanik etki oluştuğu bildirilmiştir. Ayrıca lenf nodları ve etrafındaki dokularda titanyum konsantrasyonunun bulunduğu bazı çalışmalar sonucu belirtilse de klinik olarak bu bulgular henüz net değildir (Weingart ve ark., 1994). Uzun dönemde başarısı, biyouyumluluğu ve üstün mekanik özellikleri ile titanyum implantlar dişhekimliğinde altın standarttır.

Tablo 6: İmplant malzemesi olarak ve cerrahi operasyonlarda kullanılan Ti ve alaşımlarının kimyasal bileşimleri (Gür ve Taşkın, 2004; Oldani ve ark., 2012)

İMPLANT / **ELEMENT**	1. Tip	2. Tip	3. Tip	4. Tip	Ti6Al4V[a]
Nitrojen	0,03	0,03	0,05	0,05	0,05
Karbon	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08
Hidrojen	0,015	0,015	0,015	0,015	0,0125
Demir	0,20	0,30	0,30	0,50	0,25
Oksijen	0,18	0,25	0,35	0,40	0,13
Titanyum	SABİT				

*Alüminyum 6%, Vanadyum 4%

4.5.1.1. Osseointegre İmplantlar

Ti implantlar günümüzde kısmi veya tam dişsiz hastaların tedavilerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Albrektsson ve ark., 2008; Jokstad ve ark., 2003; Nakamura ve ark., 2010). En önemli avantajı havayla teması ile yüzeyinde hızla oluşan pasif oksit tabakasıdır (Spiekermann ve Donath, 1995). Bu oksidasyon süreci kemik içinde daha

hızlı gerçekleşir. Oluşan oksit tabakası korozyonu engellediği gibi konak hücre ile etkileşimi sağlar (Kasemo ve Lausmaa, 1988). Osseointegre kemik içi implantlar geçmişten bugüne kadar çeşitli şekillerde yapılmıştır; meş, bıçak, tripod, iğne, disk, kesik konik, silindir ve en yaygın kullanılan vida (Elias ve ark., 2008).

4.5.1.2. Ortodontik Ankraj Amaçlı Mini-implantlar

Dişhekimliğinde kullanılan diğer implant çeşidi de ankraj amaçlı kullanılan geçici ortodontik mini-implantlardır. Bu implantlar küçük çaplardadır (1,2 - 2,0mm) ve ortodontik yükler implantların deformasyonuna sebep olabilir (Elias ve ark., 2008).

4.5.1.3. Zigoma İmplantları

Zigoma implantları, atrofik maksillası olan hastalarda implant destekli protezlerin yapılabilmesi için posterior ankraj amaçlı Branemark tarafından geliştirilmiş ve 1990 yılından beri kullanılmaktadır (Parel ve ark., 2001). Başlangıçta tümör rezeksiyonu veya travma nedeniyle maksillada önemli yapı kaybına uğramış hastalar için tasarlanmıştı (Elias ve ark., 2008).

Maksillektomi sonrası, çoğu hastada ankraj bölgesi olarak sadece zigomanın gövdesi ya da zigomatik kemiğin frontal uzantısı kalır. Bu durum konvansiyonel dental implantlara göre daha uzun implantlara ihtiyaç duyulmasına sebep oldu. Zigomatik implantların çapı 4-5mm, uzunluğu 30-53mm' dir. Maksillada ikinci premolar bölgesinde mümkün olduğunca alveolar krete yakın konumlanırlar (Duarte ve ark., 2007; Elias ve ark., 2008).

4.5.2. Lag Vidaları

Lag vidaları ilk defa 1970' li yıllarda Niederdellmann ve ark. tarafından çok parçalı olmayan çene kırıklarında fiksasyon metodu olarak tarif edilmiştir (Niederdellmann ve ark., 1981; Niederdellmann ve ark., 1976). 2,7 mm çapında ve 18-26 mm uzunluğundaki lag vidası kullanılarak fraktürlerin kompresyon ile stabilitesi sağlanır. Lag vidası sıkılırken, giriş deliğinde pasif kayma hareketi, vidanın uzağında olan kırık segmentteki yuvada ise vidalama hareketi oluşur ve segmentler birbirine doğru yaklaştırılır.

4.5.3. Kompresyon Plakları

Kompresyon plakları, kırık segmentlerin sabit durumdayken bile birbirlerine baskı uygulamalarını sağlar (Hoffman ve ark., 1990; Leach ve Truelson, 1995). Oluşan baskı ile segmentler arası sürtünme kuvveti artar, mobilite ihtimali azalır, iyileşme süresi kısalır (Ardary, 1989). Ağız içi için değerlendirdiğimizde kompresyon plakları ile fiksasyonun önem taşıyan özelliği çiğneme kuvvetleriyle oluşan stresleri kemiğin çok daha kısa zamanda taşıyabilecek duruma gelmesini sağlar.

4.5.4. Rekonstrüksiyon Plakları

Rekonstrüksiyon plakları, standart kompresyon plaklarına göre daha kalın ve güçlendirilmiş, değişik uzunlukları ve şekilleri bulunan, üç yönde bükülebilen ve uygulanacağı dokunun yüzey konturlarına uyum sağlayan plaklardır (Ellis Iii, 1999). Kompresyon uygulamadan fonksiyonel kuvvetlerin nötralizasyonunu sağlayabilmek için kırık hattının her iki tarafına üç ya da dört vida ile sabitlenmeleri yeterlidir

(Schmoker ve ark., 1976). Çok parçalı kırıklarda, travmatik veya patolojik kemik kayıplarında kullanımı endikedir (Alpert ve ark., 2009; Ellis Iii, 1999).

4.5.5. Titanyum Meşler

Titanyum meşler, yüksek mekanik özellikleri ile kemik grefti fiksasyonu ve osteotomilerde stabilizasyon için tercih sebebidir (Her ve ark., 2012; Reitzik, 1988; von Arx ve ark., 1996). Şekillendirilebilir olması dokuya adaptasyonu sağladığı gibi elastik olması mukozanın oluşturduğu kompresyonu, rijit olması kontur kollapsını ve stabilitesi uygulanan greftin yer değiştirmesini önler (Her ve ark., 2012). Ancak postoperatif dönemde meşin ekspozisyonu ve enfeksiyonu, meşlere dokularla uyumlu konturun verilememesi ya da uyumlama sırasında oluşan keskin kenarların yumuşak dokulara zarar vermesi dezavantajları arasındadır (Becker ve ark., 1996; Dumbach ve ark., 1994; Yamashita ve ark., 2008). Günümüzde bilgisayar teknolojisindeki gelişmelerle kişiye özel hazırlanan meşler, uyumlama gerektirmediği için operasyon süresinin kısalması, kaybedilen oral fonksiyonun geri kazanılması ve fasiyal estetiğin sağlanması gibi önemli avantajlara sahip olmuştur**.**

4.5.6. Miniplaklar

Champy ve Lodde, 1976 yılında ‘dinamik osteosentez’ olarak adlandırılan miniplak osteosentezinin temel prensiplerini oluşturmuştur (Champy ve Lodde, 1976). ‘L’, ‘ters L’, ‘Y’, ‘çift Y’, ‘T’, ‘çift T’ gibi şekillerde, barlı ya da barsız çeşitli büyüklüklerde miniplak tipleri çene kırıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Kalınlıklarına göre; mikro plak (1,0mm), orta boy plak (1,5mm) ve standart (2,0mm) olarak farklılık gösterirler (Fonseca ve ark., 2013). Ayrıca vida yuvalarının farklılıklarına göre kilitli, dinamik kompresyon ve eksentrik kompresyon olarak

sınıflama yapılabilir (Fonseca ve ark., 2013). Çene kırıklarının tedavisinde miniplakların avantajları;

- Rijit ve stabil fiksasyon sağladığı için intermaksiller fiksasyona (İMF) ihtiyaç duyulmaz, ankiloz riski azalır, hastaların sosyal yaşama dönme süreleri kısalır, kilo kayıpları azalır,
- İMF' in kullanımına ihtiyaç duyulmaması postoperatif dönemde solunumla ilgili oluşabilecek komplikasyonları azaltır,
- İMF tellerinin kullanılmaması ile ağız hijyeni daha kolay sağlanır, diş ve dişeti zarar görmez,
- Dişsiz hastalarda splint kullanımı ya da perimandibuler tellemeye gerek olmadan fiksasyon sağlanır,
- İntraoral cerrahi yaklaşımla minimal komplikasyon riski ve eksternal skar oluşmadan kompleks kırıkların tedavisine olanak sağlar (Edwards ve David, 1996; Fox ve Kellman, 2003; Levy ve ark., 1991).

Alerjik reaksiyon riski, açık redüksiyonla fikse edilebilmesi, kullanılan vidaların diş köküne zarar verebilmesi, plağın cilt yüzeyinden hissedilebilmesi miniplak uygulamalarının dezavantajları olarak değerlendirilir.

4.6. Elektrik

4.6.1. Elektriğin Tanımı ve Tarihçesi

Yunanca kehribar anlamına gelen elektron "Elektrik" sözcüğünün kaynağıdır. M.Ö. VI. yüzyıl Antik Yunan döneminde Thales' in eboniti kumaş parçasına sürtmesi sonrası saman parçacıklarını çektiğini gözlemlemesi, elektriğin keşfi olarak kabul edilmektedir. Thales' in bu keşfi günümüzdeki statik elektriktir (Dreyer, 1906; Erdik).

16. yüzyılda William Gilbert, yerkürenin manyetik kutuplarının olduğunu ve pusulaların neden kuzeyi gösterdiklerini açıklamıştır (Suter, 1952). Sürtünme sonrasında kehribarla birlikte cam, kırmızı balmumu, kükürt gibi başka pek çok maddenin de elektriksel özellik kazandığını göstermiştir (Zilsel, 1941). Mıknatıs taşından kürelerin demirle kaplanmasının, onların manyetik gücünü arttırdığını bulması ve aynı demir parçasını etkileyen mıknatıs taşlarının büyüklükleri ile çekim güçleri arasında doğru orantılı bir ilişki olduğunu kanıtlamıştır. Manyetik ve statik elektrik arasındaki farklılıklar Gilbert' in çalışmalarıyla saptanmıştır (Mason, 1962).

18. yüzyılda Musschenbroek, elektrik yüklerini yoğunlaştıran Leiden Şişesi' ni bulmuş ve elektrik çarpmasını tanımlamıştır. 1749 yılında Benjamin Franklin, yıldırımın elektriksel nitelik taşıdığını göstermiştir. 1780' lerde Galvani, iki farklı metal ile kurbağa bacağının kas-sinir preparatlarını temas ettirdiğinde bacağın kımıldadığını farketmiş, bacağın elektrik ürettiğini düşünmüştür. 1799 yılında Volta, aside daldırılmış iki farklı metal, dışarıda bir tel ile birbirine bağlandığında yüksek bir elektrik akımı geçtiğini bulmuş böylelikle asitte çözülen bir metalin kimyasal etkisi ile içinde elektrik üretilen Volta pilini bulmuştur (Erdik).

1820' lerde Oersted' ın deneylerine göre, elektrik akımı geçiren bir tel, bir manyetik kutup etrafında dönmekte; tersine, bir mıknatıs da, sabit bir akım taşıyan bir tel etrafında dönme eğilimi göstermekteydi. Ampere, akım geçiren bir dairesel sargı telinin, adi bir mıknatıs çubuğu gibi davrandığını; çekme ve itme uyguladığını göstererek 1825' de manyetizmanın, manyetik cisimler içindeki taneciklerde bulunan küçük, dirençsiz, dairesel elektrik akımlarından kaynaklandığını belirtmiştir. Elektrik ve manyetizma bilim dalları elektromanyetizma adı altında birleştirilmiştir. 1888 yılında Hertz, elektromanyetik dalgaların laboratuvarının duvarlarından yansıdığını ve sert çamsakızı prizmalarda kırılabileceğini göstermiştir (Mason, 1962).

1826-27 yılları arasında George Ohm, elektrik devresindeki potansiyel, akım ve direnç arasındaki bağlantıyı araştırmış, akımın gerilim ile doğru, direnç ile ters orantılı olduğunu bulmuştur. 1831 yılında Faraday, elektromanyetik indüksiyon olayını keşfetmiş, bir elektrik akımının bir başka akımı üretebileceğini göstermiş ve genel olarak mekanik hareket ve manyetizmayı elektrik akımının üretimiyle birbirine bağlamıştır. Charles Wheatstone 1834' te akım hızını ölçmüş, Joule ise 1840 yılında bir tel dirençten akan elektrik akımının oluşturduğu ısıyı ölçmüştür. Böylece birim

zamanda oluşan ısının, telin direnci ile telden geçen akımın karesinin çarpımıyla orantılı olduğunu bulmuş ve elektrik enerjisinin direnç aracılığıyla ısıya dönüştürülebileceğini göstermiştir. Fizeau, 1850 yılında yaptığı deneylerde elektrik akım hızının, demir tellerde ışık hızının 1/3' ü, bakır tellerde ise ışık hızının 2/3' ü arasında değiştiğini bulmuştur (Mason, 1962).

4.6.2.Elektriğin Temel Prensipleri

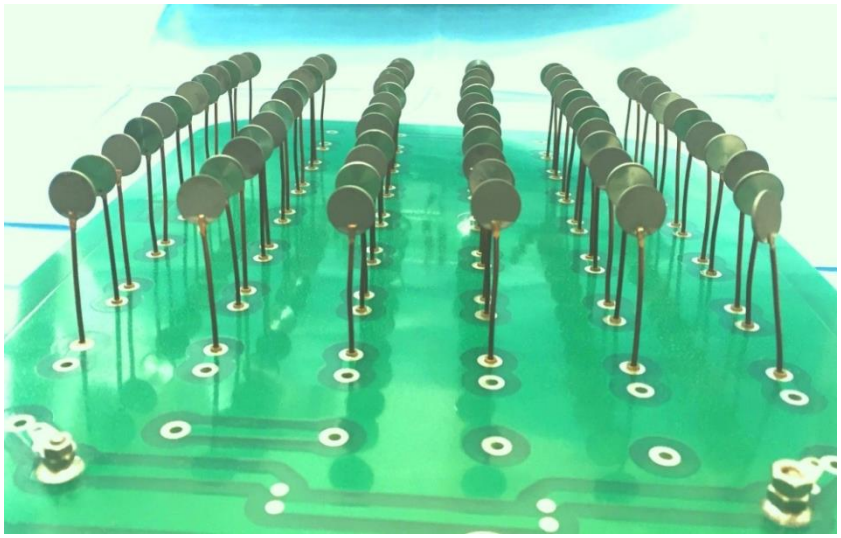
Elektrik, bir kondüktör aracılığı ile elektron akımıdır (Kurtuluş ve ark., 2005). Elektronların hareketi potansiyel farkın yüksek olduğu noktadan düşük olduğu noktaya doğru gerçekleşir. Potansiyel farkın birimi volttur. Herhangi bir elektriksel elemandan birim zaman akan elektronların sayısı akımı oluşturur. Elektrik akımı (I) birimi amperdir. 1 amper 1 saniyede geçen $6{,}25\times10^{18}$ elektron yükünü ifade eder. 0,001 amper=1 mA (miliAmper), 0,000001amper=1µA (mikroAmper)' dir. İletkenlerin içinden akım geçerken, akıma karşı bir direnç oluşur ve birimi ohm' dur (Barkana ve ark., 1991).

Elektrik akımı doğru akım(DC) ve alternatif akım(AC) olarak ikiye ayrılır. Doğru akımın zamana bağlı olarak yönü ve şiddeti değişmezken alternatif akımda değişir. Alternatif akımda bir uç önce negatif yönde yükselirken daha sonra sıfıra düşerek pozitif yönde yükselir ve tekrar sıfıra düşer. Bu değişimin bir saniyedeki sayısına frekans denir. Doğru akımda frekans sıfırdır.

5.GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda; randomize, kontrollü paralel ve deneysel olarak planlanan bu araştırma, in vitro ortamda bakteri çalışması olması sebebiyle etik kurul onayı Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından gerek görülmemiştir.

Çalışmamızda deneysel araştırma amacı ile özel olarak hazırlanmış olan 100 adet 12 mm çapında ve 1mm kalınlığında titanyum diskler (Frontier, İspanya) kullanılmıştır. Titanyum disklerin hazırlanan elektrik devresinde sabit aralıklarla kalabilmeleri ve elektrik akımını iletebilmeleri için yüzeylerine bakır çubuklar lehimlenmiştir. Lehimleme işleminin ardından titanyum diskler Marmara Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı' nda tek tek paketlenerek otoklavda steril edilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.



Resim 1: Baskılı devre kartı üzerine yerleştirilmiş titanyum diskler

Elektrik akımı düzeneği, bakteri süspansiyonu içerisine titanyum disklerin aynı zamanda yerleştirilebileceği ve bu sayede elektrik devresinin akım iletkenliğinin başlatılabileceği şekilde özel olarak bu araştırma için dizayn edilmiştir. Baskılı devre kartı üzerine 72 adet titanyum diskin yerleştirilmesi için yuvalar hazırlanmıştır (Resim 1,2).



Resim 2: Titanyum diskler ve devrenin yerleştirildiği ısıya dayanıklı cam kap

Bu 72 adet titanyum diskin 36 adeti pozitif (pozitif elektrik yüklü deney grubu - +Deney), 36 adeti negatif (negatif elektrik yüklü deney grubu - -Deney) elektrik yükü ile yüklenecek şekilde bakteri süspansiyonu içerisine yerleştirilerek elektrik devresini tamamlamaları planlanmıştır. Kontrol grubunun da aynı koşullarda değerlendirilebilmesi için elektrik akımı uygulamayacak şekilde aynı düzenek hazırlanmış ve 36 adet titanyum disk kullanılmıştır. Elektrik devresini tamamlayan bakteri süspansiyonun konulabileceği ve otoklavda steril edilebileceğimiz 2 adet standart ısıya dayanaklı cam kap kullanılmıştır.

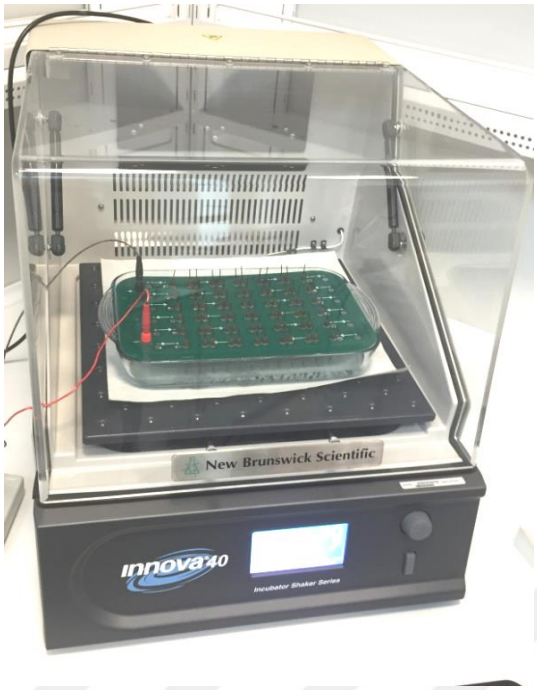
Bakterilerin hazırlığı Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı' nda yapılmıştır. Gram pozitif kok morfolojisine sahip ve yüksek oranda biyofilm üretebilen *S. epidermidis* (ATCC12228) suşu Triptik Soy sıvı besi yeri (Difco, ABD) içerisinde 37 ºC' de 18-20 saatlik inkübasyon ile üretilmiştir.

Üreyen bakteri kültüründen spektrofotometrede (Densicheck, BioMerieux, Fransa) 600 nm' de ölçüm yapılarak, 0,5 McFarland standardına ($1x10^8$ KOB/ml) eşdeğer olacak şekilde steril sıvı besi yeri içerisinde sulandırım yapılmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan 10 ml alınarak, deneyde kullanılacak bakteri konsantrasyonunu elde etmek üzere iki ayrı balonda hazırlanan 990 ml steril sıvı besi yerleri içerisine aktarılmıştır, böylece son konsantrasyonu $1x10^6$ KOB/ml olan bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır.

Bakterilerin adezyon deneyi Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı' nda yapılmıştır. Steril edilmiş deney düzenekleri içerisine hazırlanan 1000 ml bakteri süspansiyonları steril koşullarda aktarılmış ve 37 ºC' de 100 rpm olacak şekilde çalkalayıcı inkübatörde 1 saat inkübasyona bırakılmıştır (Resim 4,5). Deney kolundaki düzenekte deney boyunca pozitif ve negatif elektrodlar arasındaki akım yaklaşık 3,75 µA olacak şekilde ayarlanmıştır (Resim 3). Kontrol olarak hazırlanan diğer düzeneğe akım uygulanmamıştır.

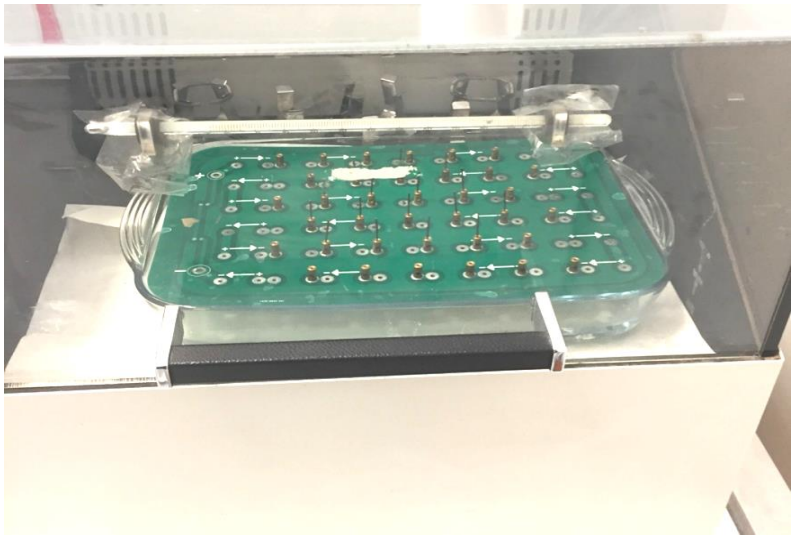


Resim 3: Elektrik akımını sabitleyen düzenek



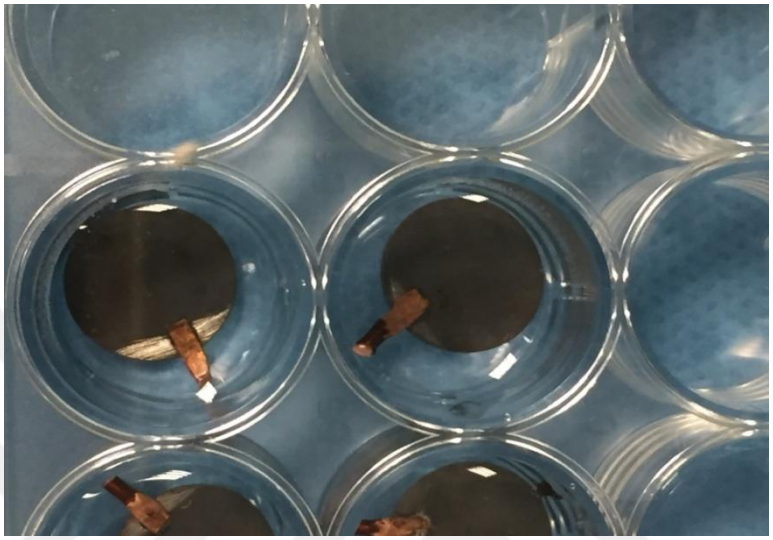
Resim 4: Çalkalayıcı inkübatör içinde elektrik akımı uygulanan deney grupları

Bir saat inkübasyon sonrasında deney düzeneği ve kontrol düzeneğinden her grup için rastgele ve ayrı ayrı seçilen 9 adet disk steril serum fizyolojik (%0,9 NaCl) içerisinde yıkanarak yapışmamış bakteri hücreleri yüzeyden uzaklaştırılmıştır.

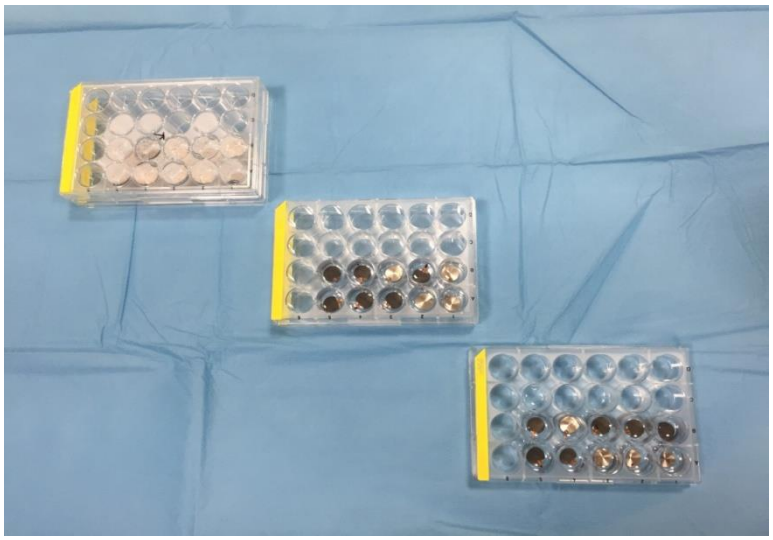


Resim 5: Çalkalayıcı inkübatördeki elektrik akımı uygulanmayan kontrol grubu

Yıkama sonrasında titanyum disklerin steril keski kullanılarak bakır çubuklar ile olan bağlantıları kesilmiş ve plastik steril kap içerisine alınmıştır (Resim 6,7).



Resim 6: Keski yardımıyla bakır iletken çubuklardan ayrılarak plastik steril kap içerisine yerleştirilen titanyum diskler

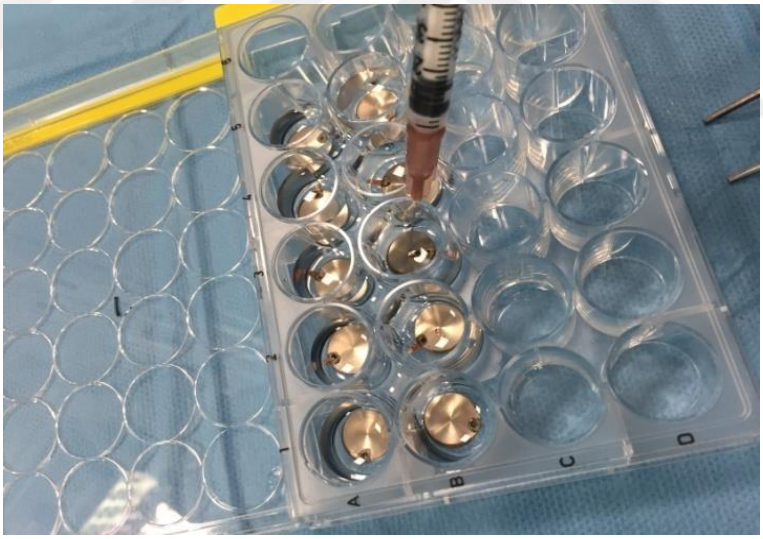


Resim 7: Steril plastik kaplar içine alınan titanyum diskler

Elektron mikroskopi incelemesi:

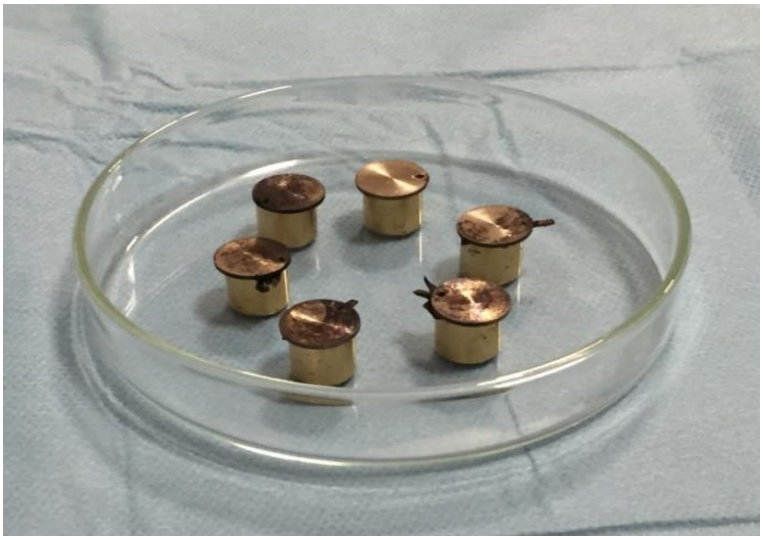
Taramalı Elektron Mikroskopik Preparasyon

Titanyum disklerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile incelenmesi için hazırlıkları ve mikroskopik incelemeleri Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı' nda gerçekleştirildi. Deney sonunda bakteri içeren titanyum diskleri fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS, pH7.2) ile hazırlanmış % 2,5 gluteraldehit içerisinde +40C' de, 4 saat süresince tespit edilmiştir. Örnekler PBS ile yıkama aşamasından sonra, PBS (pH7.2) ile hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit ile (OsO_4) 1 saat postfiksasyon yapılmıştır. PBS ile yıkamadan sonra örnekler yükselen alkol serilerinden (%50, %70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmişlerdir (Resim 8).



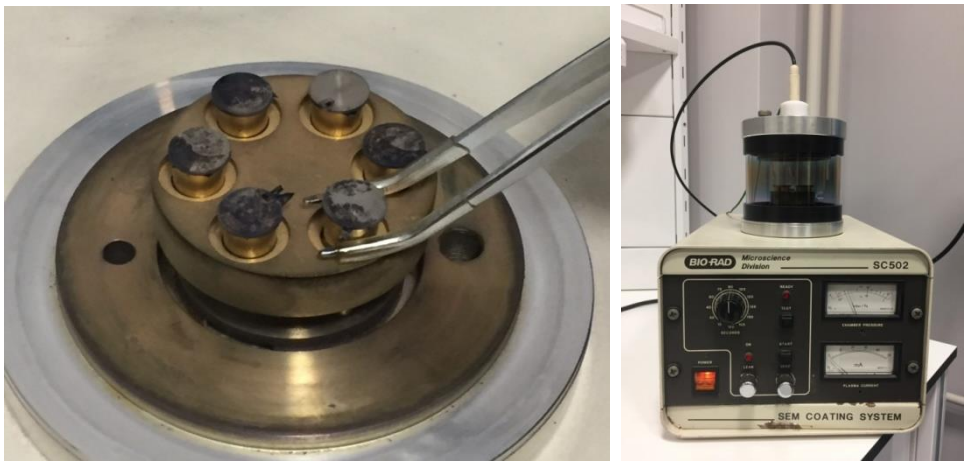
Resim 8: Titanyum disklerin alkol serilerilerinden geçirilmesi

Örnekler amilasetat serilerinden (2:1 AbsolüAlkol:Amilasetat, 1:1 AbsolüAlkol:Amilasetat, 1:2 AbsolüAlkol:Amilasetat, Saf Amilasetat) geçirildikten sonra steril pelür kağıda sarılıp havada kurutulmuştur.



Resim 9: Pirinç taşıyıcılar üzerine yapıştırılan titanyum diskler

Kurutulan örnekler pirinç taşıyıcılar üzerine yapıştırılıp altın kaplama cihazında (BIO-RAD-SC502) altın partikülleri ile kaplanmıştır (Resim 9,10).



Resim 10: Altın kaplama cihazındaki (BIO-RAD-SC502) titanyum diskler

Kaplanan örnekler taramalı elektron mikroskop (JEOL JSM-5200) ile incelenip fotoğrafları çekilmiştir (Resim 11). Semikantitatif değerlendirme x10000 büyütmede yapılmış ve birbirinin benzeri en az 4 alan skorlanmıştır. Skorlama kriteleri; 0: Bakteri yok; 1: Çok az (1-2 bakteri); 2: Hafif yoğun (Büyütme alanının 1/4'ünü doldurmuş); 3: Orta yoğun (Büyütme alanının 2/4'ünü doldurmuş); 4: Yoğun (Büyütme alanının 3/4'ünü doldurmuş) ve 5: Çok yoğun (Büyütme alanının tamamını doldurmuş) olarak belirlenmiştir.



Resim 11: Taramalı elektron mikroskop (JEOL JSM-5200)

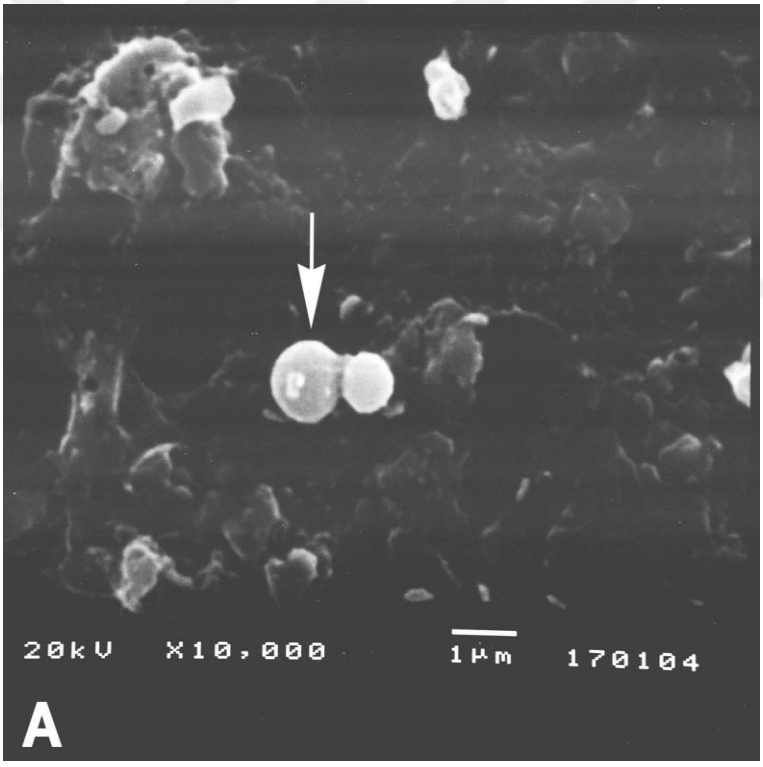
Araştırma Verilerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler SPSS 23 (Statistical Package for the Social Sciences) yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı bilgiler ortalama, standart sapma, sayı ve yüzdeler normal dağılmayan değişkenler için ortanca ve çeyreklikler kullanılarak verilmiştir. Grup karşılaştırmaları için Ki-Kare testi kullanılmış, normal dağılıma uymayan sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında parametrik olmayan testlerden ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U, üç ve daha fazla grup

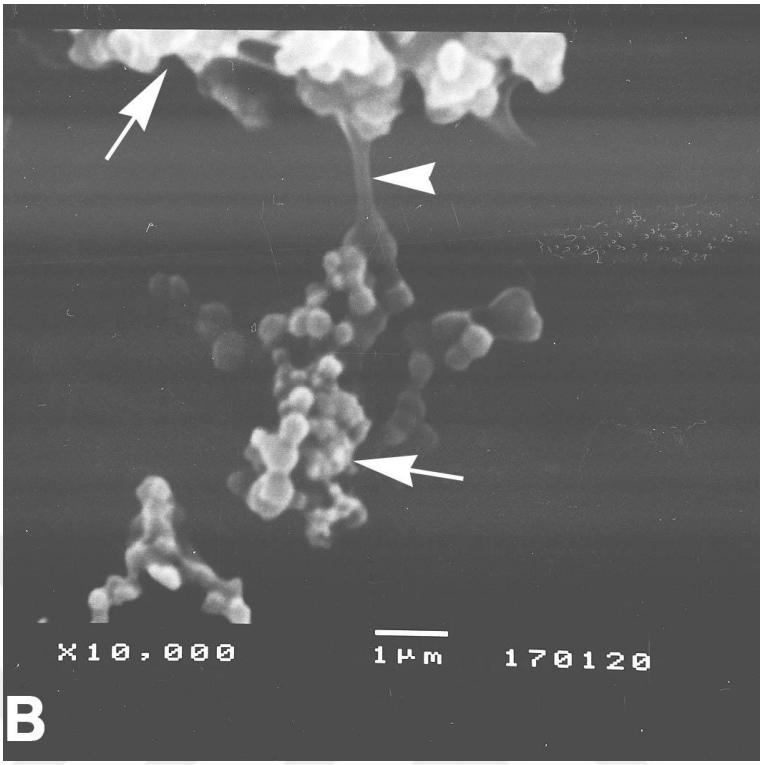
karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis önemlilik testleri kullanılmıştır. p değerinin 0,05' in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar olarak değerlendirilmiştir.

6.BULGULAR

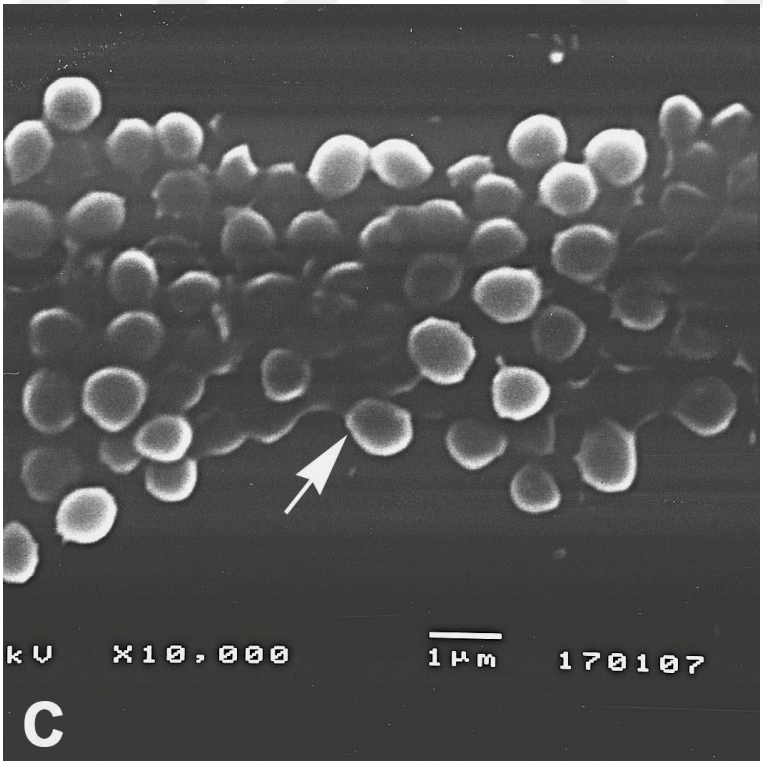
Kontrol grubunda (Resim 12A-D), yuvarlak şekilde *S. epidermis* tek tek, küçük gruplar halinde ve birbirine ekstrasellüler matriks ile tutunmuş olarak, büyük bakteri grupları halinde ve görüntü alanının yarısından çoğunda bulunan, yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış ve görüntü alanının tamamını kaplamış olarak izlendi. Bölünme halinde olan bakteriler gözlendi. Yer yer üzüm salkımı şeklinde bakteri grupları izlendi. Bazı alanlarda bakterilere rastlanmadı.



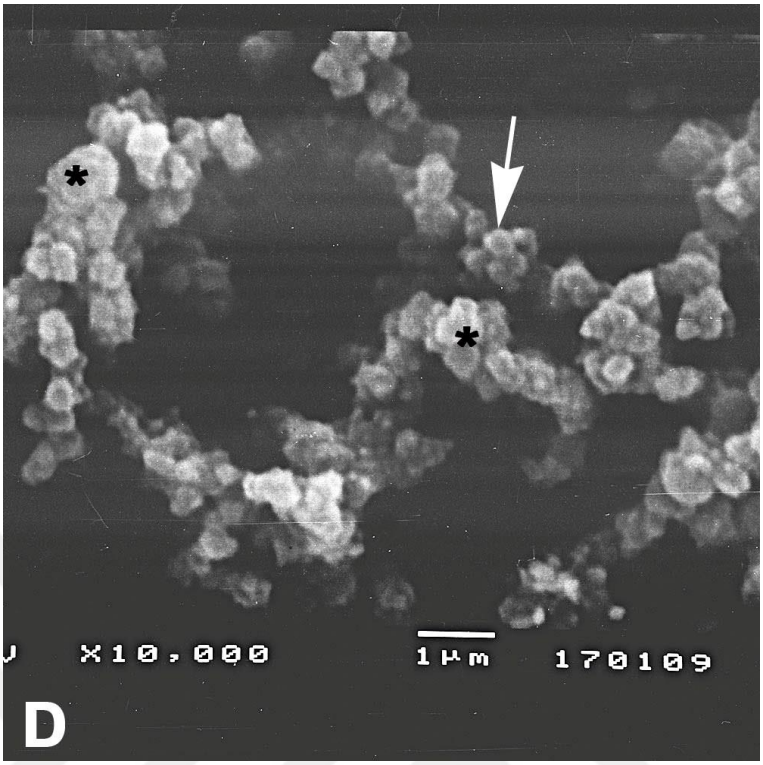
Resim 12A



Resim 12B



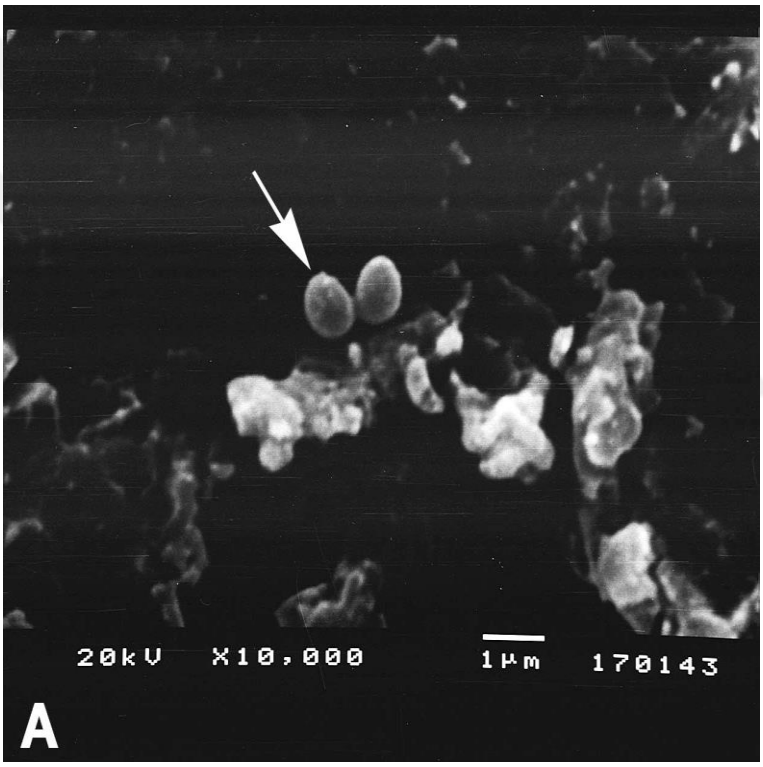
Resim 12C



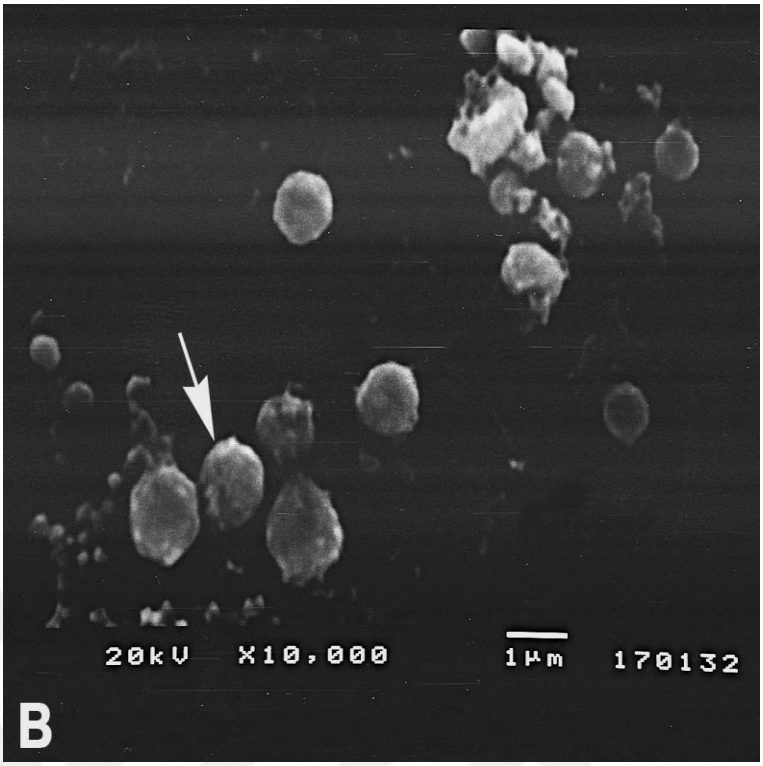
Resim 12D

Resim 12A, B, C, D: Kontrol grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis*(ok) tek tek (A), küçük gruplar halinde ve birbirine ekstrasellüler matriks ile tutunmuş olarak (ok başı, B), büyük bakteri grupları halinde ve görüntü alanının yarısından çoğunda bulunan (C) ve yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış (*) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir.

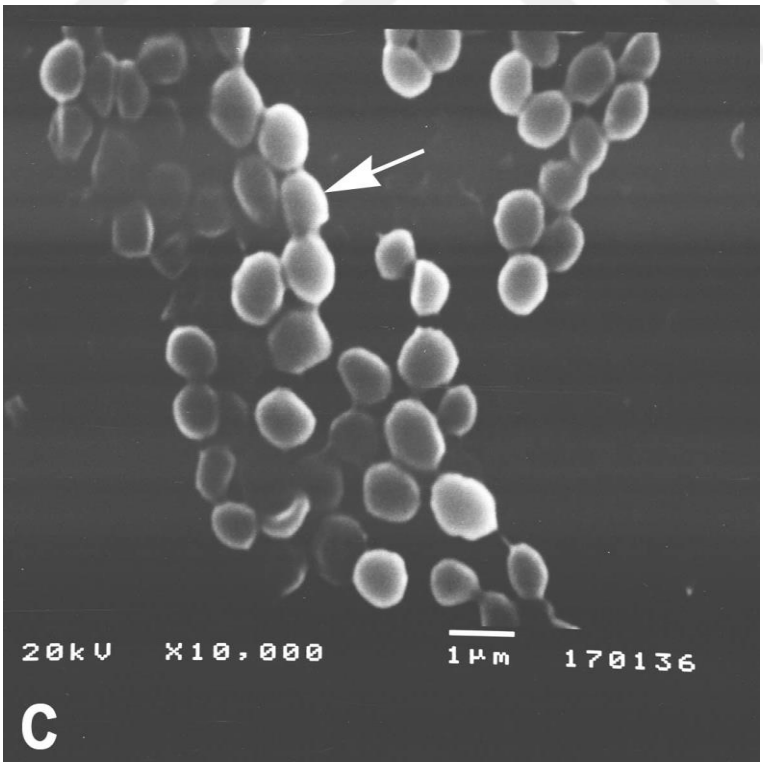
-Deney grubunda (Resim 13A-D) yuvarlak şekilde görülen *S. epidermis* tek tek, küçük gruplar halinde, büyük gruplar halinde, görüntü alanının yaklaşık yarısını ya da yer yer görüntü alanının tamamını kaplamış olarak izlenmektedir. Birçok alanda ise bakterilere rastlanmadı.



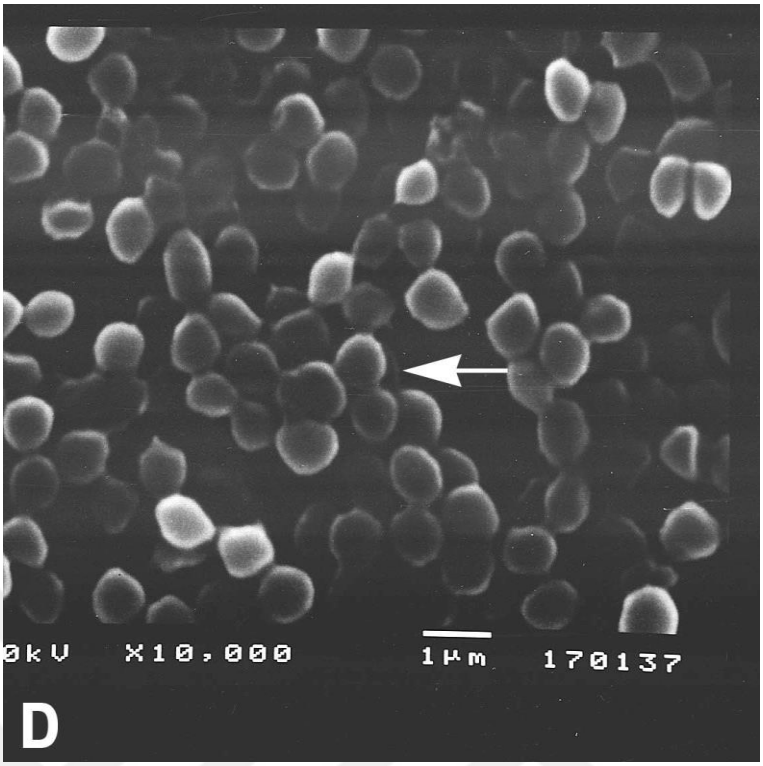
Resim 13A



Resim 13B



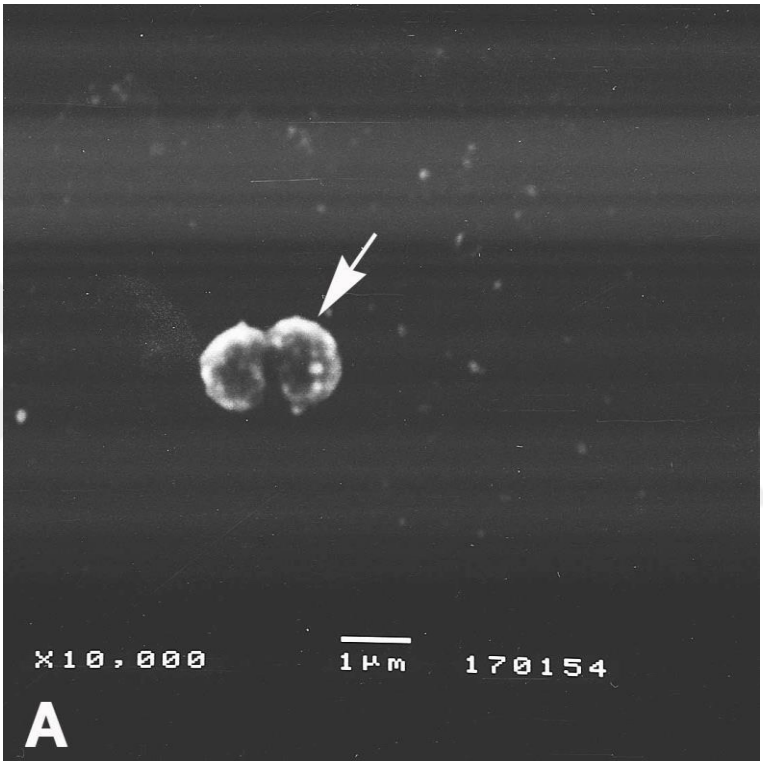
Resim 13C



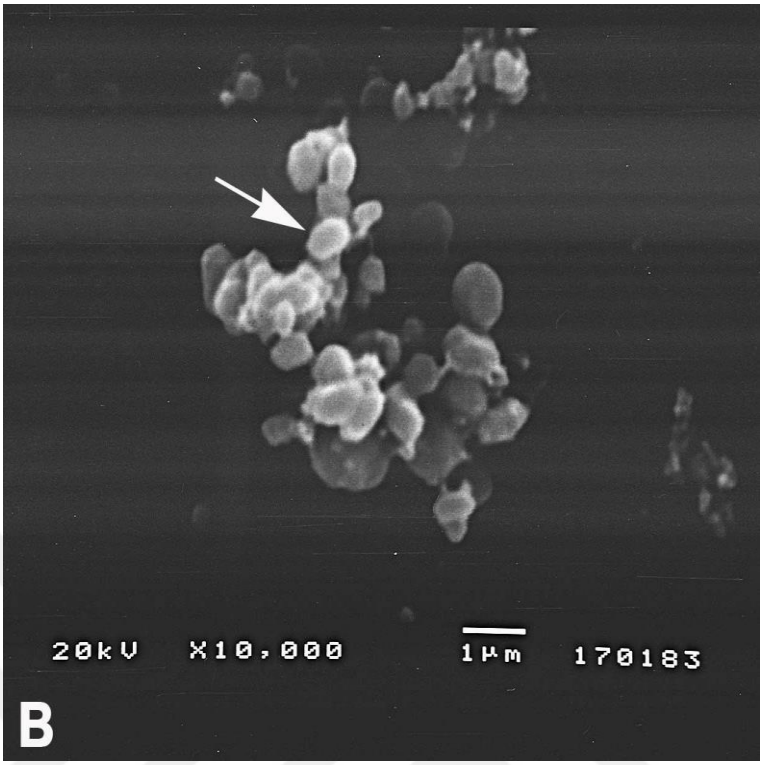
Resim 13D

Resim 13A, B, C, D: -Deney grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis* (ok) tek tek (A), küçük grupları halinde (B), büyük gruplar halinde, görüntü alanının yaklaşık yarısını kaplamış olarak (C) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir.

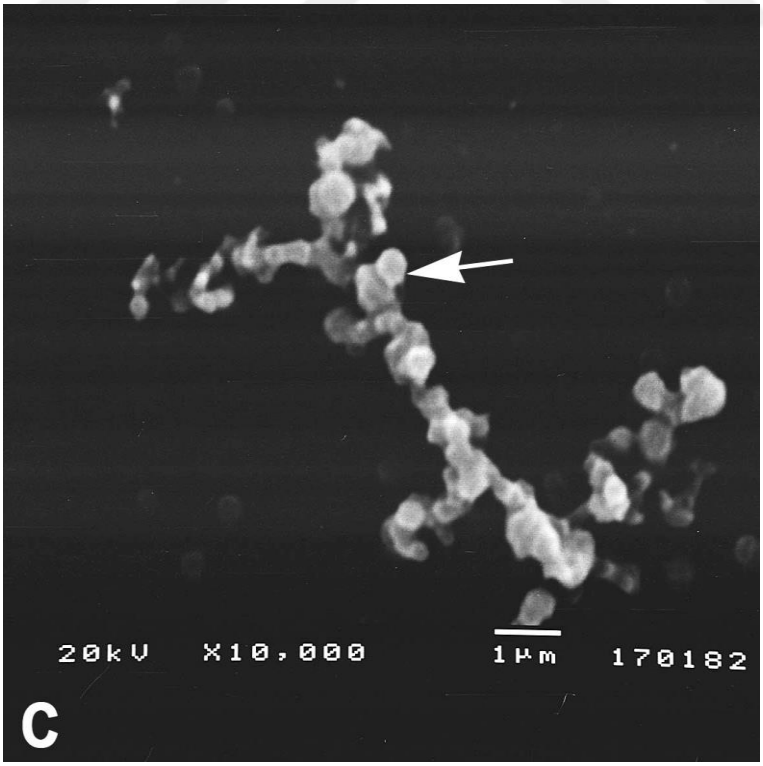
+Deney grubunda (Resim 14A-D) da kontrol grubundaki gibi yuvarlak şekilde *S. epidermis* tek tek, küçük gruplar halinde, zincir şeklinde birbirine tutunmuş olarak, yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış ve görüntü alanının tamamını kaplamış olarak izlendi. Kontrol grubundaki gibi bazı alanlarda hiç bakteri gözlenmedi.



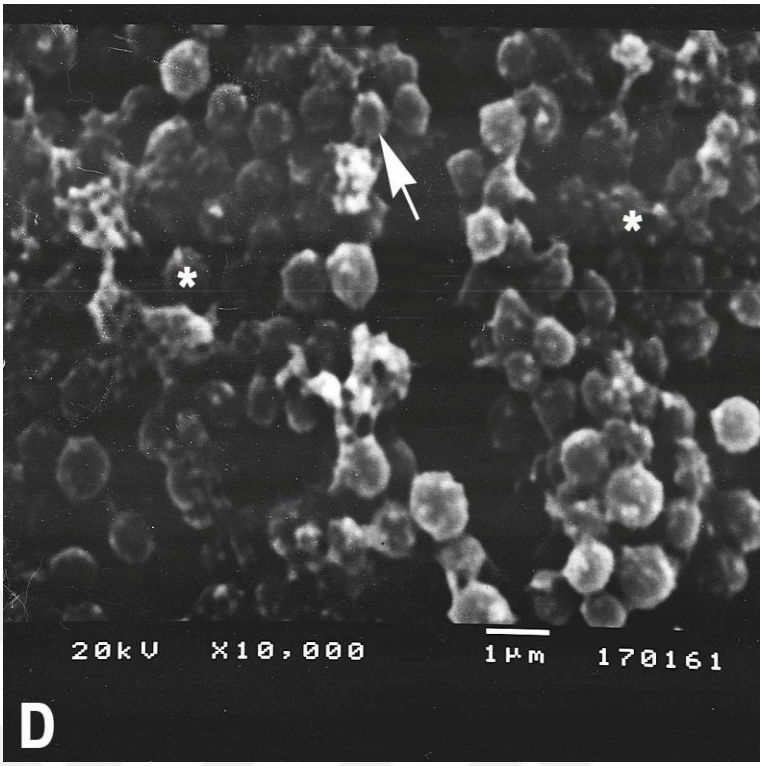
Resim 14A



Resim 14B



Resim 14C



Resim 14D

Resim 14A, B, C, D: +Deney grubunda yuvarlak olarak görülen *S. epidermis* (ok) tek tek (A), küçük grupları halinde (B), zincir şeklinde birbirine tutunmuş olarak (C) ve yoğun bir şekilde birbirine bağlanmış (*) ve görüntü alanının tamamını kaplamış (D) olarak izlenmektedir.

Tablo 7: Parametrik ve nonparametrik değerlendirme

Normallik Testleri

	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	İstatistik	n	p	İstatistik	n	p
Kontrol	,182	36	,004	,880	36	,001
-Deney	,261	36	,000	,865	36	,000
+Deney	,138	36	,078	,909	36	,006

Her grup için örnek sayısının 30’ dan büyük olması sebebiyle Kolmogorov-Smirnov testi sonucu değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ olması nedeniyle normal dağılım gözlenmemektedir. Nonparametrik testler ile sonuçlar değerlendirilmiştir.

Tablo 8: Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlaması ortalamalarının karşılaştırılmaları

	n	**Ort.**	**Ss**	**Med.**	**Min.**	**Mak.**	**P**
Kontrol	36	2,19	±1,75	2,00	,00	5,00	0,171
-Deney	36	1,56	±1,44	1,00	,00	5,00	
+Deney	36	2,22	±1,64	2,00	,00	5,00	

* Kruskal-Wallis Test kullanılmıştır.

* n: sayı, Ort.: Ortalama, Ss: Standart sapma, Med.: Median, Min.: Minimum, Mak.: Maksimum, $p< 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* - Deney; Negatif deney grubu, +Deney; Pozitif deney grubu

SEM ile alınan görüntülerde bakteri sayılarının skorlama sonuçları değerlendirildiğinde; Kontrol grubunun ortalaması 2,19±1,75, +Deney grubunun ortalaması 2,22±1,64 ve -Deney grubunun ortalaması 1,56±1,44 olduğu

görülmektedir. -Deney grubundaki negatif elektrik yüklü titanyum disklerde bakteri adezyonu skorlamasında ortalama değeri düştüğü gözlense de, Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının skor ortalamalarının istatistiksel karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. (p=0,171)

Tablo 9: Bakteri adezyonu skorlaması ortalamalarının ikili gruplar halinde karşılaştırılmaları

	n	**Ort.**	**Ss**
Kontrol	36	2,19	±1,75
-Deney	36	1,56	±1,44
p		0,141	
Kontrol	36	2,19	±1,75
+Deney	36	2,22	±1,64
p		0,941	
+Deney	36	2,22	±1,64
-Deney	36	1,56	±1,44
p		0,077	

*Mann-Whitney U Test kullanılmıştır.

* n: sayı, Ort.: Ortalama, Ss: Standart sapma, p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* - Deney; Negatif deney grubu, +Deney; Pozitif deney grubu

Kontrol ve –Deney grupları arasında bakteri adezyonu skorlamasının ortalamalarının karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,141)

Kontrol ve +Deney grupları arasında bakteri adezyonu skorlamasının ortalamalarının karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,941)

+Deney ve –Deney grupları arasında bakteri adezyonu skorlamasının ortalamalarının karşılaştırılması sonucu istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,077)

Tablo 10: Kontrol, -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının karşılaştırılmaları

	Sıfır/bir		**İki/üç**		**Dört/beş**	
	n	**%**	**n**	**%**	**n**	**%**
Kontrol	15	30,6%	9	27,3%	12	46,2%
-Deney	22	44,9%	10	30,3%	4	15,4%
+Deney	12	24,5%	14	42,4%	10	38,5%

*Ki-kare testi kullanılmıştır.

* n: sayı, p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* - Deney; Negatif deney grubu, +Deney; Pozitif deney grubu

Kontrol, -Deney ve +Deney grupları arasında yapılan bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,075)

Tablo 11: Kontrol ve -Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları

		Sıfır/bir	İki/üç	Dört/beş	Toplam	p
Kontrol	**n**	15	9	12	36	0,068
	%	41,7%	25,0%	33,3%	100,0%	
-Deney	**n**	22	10	4	36	
	%	61,1%	27,8%	11,1%	100,0%	

*Ki-kare testi kullanılmıştır.

* n: sayı, p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* - Deney; Negatif deney grubu

Kontrol ve -Deney grupları arasında yapılan bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,068)

Tablo 12: Kontrol ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları

		Sıfır/bir	İki/üç	Dört/beş	Toplam	p
Kontrol	**n**	15	9	12	36	0,449
	%	41,7%	25,0%	33,3%	100,0%	
+Deney	**n**	12	14	10	36	
	%	33,3%	38,9%	27,8%	100,0%	

*Ki-kare testi kullanılmıştır.

* n: sayı, p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* +Deney; Pozitif deney grubu

Kontrol ve +Deney grupları arasında yapılan bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. (p=0,449)

Tablo 13: -Deney ve +Deney gruplarının bakteri adezyonu skorlamasında sayısal dağılımlarının ikili karşılaştırılmaları

		Sıfır/bir	**İki/üç**	**Dört/beş**	**Toplam**	**p**
-Deney	**n**	22	10	4	36	0,046
	%	61,1%	27,8%	11,1%	100,0%	
+Deney	**n**	12	14	10	36	
	%	33,3%	38,9%	27,8%	100,0%	

*Ki-kare testi kullanılmıştır.

* n: sayı, p< 0,05 istatistiksel olarak anlamlı sonuç

* - Deney; Negatif deney grubu, +Deney; Pozitif deney grubu

-Deney ve +Deney grupları arasında yapılan bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,046)

7. TARTIŞMA

Günümüzde insan vücuduna yerleştirilen biyomateryaller patojen bakterilerin adezyonu için pasif yüzeyler gibi davranırlar. Bakteriyel adezyon ve sonrasında oluşan biyofilm tabakasının neden olduğu kronik enfeksiyonlar antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gösterebilmekte ve cerrahi operasyon ile biyomateryallerin kayıplarına sebep olmaktadır. Geçmişten bugüne bakteri türlerinin adezyon kabiliyetlerinin anlaşılmasına ve azaltılmasına yönelik in vivo ve in vitro ortamlarda çeşitli yöntemler denenerek farklı pek çok çalışma yapılmıştır. Çalışmamızda antibiyotiklere karşı direncinin yanı sıra adezyon kabiliyeti yüksek patojen bir bakteri türü olan *S. epidermidis'* e in vitro koşullarda kısa süreli düşük doz sabit doğru akım uygulayarak, titanyum yüzeylere adezyonunu bozmayı ve biyomateryal çevresinde gelişen enfeksiyonun oluşum riskini azaltmayı hedefledik.

Elektrik akımının bakteri adezyonu üzerine etkisini inceleyen çalışmalar değerlendirildiğinde; Liu ve arkadaşlarının, intravasküler kateterler üzerinde tutunan *S. aureus, S. epidermidis, E. coli, Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus mirabilis* bakterilerine in vitro ortamda 10 µA' lik doğru akımın 4 ile 24 saat arası uygulanmasıyla bakteri sayılarında azalma olduğunu bildirdiği görülmektedir (Liu ve ark., 1993).

Kateter kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının önlenmesi amacıyla yapılan başka bir çalışmada, koyunlara 400 µA' lik elektrik akımı kateter aracılığıyla 20 ile 21 gün boyunca uygulanmış, kontrol grubundaki bakteri sayısı 10^7 kob/ml, deney grubundaki bakteri sayısı ise 10^3 ve 10^4 kob/ml' ye düştüğü gözlenmiştir (Davis ve ark., 1995).

Elektrik akımının uzun süreli uygulandığı bir başka çalışmada; 2.000 µA' lik düşük doz doğru akımın *Staphylococcus* ve *Pseudomonas* biyofilmlerine en az 2 gün süreyle uygulanması sonucu en fazla *S.epidermidis* sayısında azalma (6 -$\log_{10}$-CFU/cm^2) elde edilmiştir. Bu durum *S.aureus* için 4 – 5 -$\log_{10}$-CFU/cm^2, *P.aeruginosa* için 3,5 – 5 -$\log_{10}$-CFU/cm^2 olarak tespit edilmiştir (Del Pozo ve ark., 2009).

Bacillus suhtilis, E. coli, S. aureus ve *P. aeruginosa* bakterilerine 0,06 A' lik doğru akımın uygulandığı bir çalışma ise bakteri çoğalmasını tamamen durdurmuştur (Tokuda ve Nakanishi, 1995).

Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; polipropilen paketleme sistemi üzerinde fikse edilen nitrifikasyon bakterileri 2,5 - 5 A/m^{-2} doğru akım uygulanarak inaktif edilmişlerdir (Li ve ark., 2001). Başka bir çalışmada 7, 17,5 ve 35 A/m^3 elektrik akımları uygulanarak tuzlu sulardaki *Listeria monocytogenes* inaktif edilmiştir (Ye ve ark., 2001). Doğal ve *Vibrio parahaemolyticus* ilave edilmiş deniz sularına 100 ms' de uygulanan 0,5 A 'lik doğru akım ile bakterilerin hücresel seviyede önemli yapısal hasara uğradıkları gözlemlenmiştir (Park ve ark., 2003).

S. aureus ve *E. coli'* nin sıvı ve jel in vitro ortamlarda düşük doz doğru akım uygulanmasıyla çoğalmalarındaki farklılıkların incelendiği bir araştırmada, uygulanan 2–10 $V \cdot m^{-1}$ aralığında elektrik akımı sonucu *S. aureus'* un anotta oluşturduğu inhibisyon zonunun *E. coli'* e göre daha fazla olduğu görülmüştür. *S. aureus'* un hücre zarında yırtılma ve sitoplazmasında parçalanma mevcut olup, elektrik akımına karşı *E. coli'* ye daha hassas olduğu gözlemlenmiştir (Zituni ve ark., 2014).

İn vitro ve in vivo koşullarda farklı bakteri türleri üzerinde elektrik akımı uygulamaları bakterilerin çoğalmasını engellediği gibi sayılarında da azalmaya neden olmaktadır. Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak negatif ve pozitif elektrik yüklü titanyum yüzeylere tutunan bakteri sayılarını göreceli olarak karşılaştırmayı hedefledik. Kontrol grubunun ortalaması 2,19±1,75, +Deney grubunun ortalaması 2,22±1,64 ve -Deney grubunun ortalaması 1,56±1,44 olduğu görülmektedir. Sonuç istatistiksel olarak anlamlı olmasa da –Deney grubunda bakteri sayısında bir miktar azalma gözlenmiştir.

E. coli üzerinde elektrik akımının ölümcül etkilerinin incelendiği bir çalışmada 10-200 µA' lik düşük frekans alternatif akım uygulanmıştır. Elektriğin direk etkisiyle ölümcül bir değişim oluşmamışken, indirek etkisiyle solüsyondaki klorürün ve yükselen sıcaklığın *E. coli* üzerinde lethal etkisi gözlemlenmiştir (Pareilleux ve Sicard, 1970).

Titanyum pedikül vidalarının gümüş kaplı olan ve olmayanlarına elektrik akımı uygulanmasıyla oluşan sonuçların in vivo ve in vitro ortamda değerlendirildiği bir

çalışmada; 8 µA' lik doğru akım 3 gün boyunca günde 2 saat uygulanmıştır. Anodik polarize edilen gümüş kaplı titanyum vidaların çevrelerinde inhibisyon zonu oluşurken, gümüş kaplı olmayan vidalarda oluşmamıştır (Secinti ve ark., 2008).

Ortopedide kullanılan perkütan paslanmaz çelik implantların çevresinde gelişen enfeksiyonu önlemek amacıyla uygulanan 60 ile 100 µA' lik elektrik akımlarının *S. epidermidis'* i cerrahi paslanmaz çelikten ayrılmasının uyarılmasında etkili olduğu gösterilmiştir (van der Borden ve ark., 2004). Bununla birlikte, başlangıçta yapışan bakterilerin, biyofilm oluşumunun sonraki evrelerinde büyüyen bakterilerden daha geçici olarak yapıştığı bilinmektedir. Bu sebeple çalışmamızda; biyofilm oluşumu aşamasından önce başlangıç adezyonunun kısa zamanlı düşük doğru akım uygulayarak önüne geçmeyi hedefledik.

Gümüş, platin, altın, paslanmaz çelik ve bakır elektrotlarla elektrik akımı (0,4 - 400 µA) uygulamasının bakterilerin çoğalması üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; 0,4 – 4 µA aralığında platin ve paslanmaz çeliğin etkili olmadığı gözlenirken, gümüş ve bakır elektrot etrafında inhibisyon alanı oluşmuştur. Ortalama 20 µA seviyesinde elektrik akımı uygulandığında ise tüm elektrotların pozitif ve negatif kutuplarında inhibisyon alanı oluşmuştur (Spadaro ve ark., 1974).

Paslanmaz çelik, platin, altın ve gümüş elektrotlarla yapılan başka bir çalışmada in vitro ortamda *S. aureus* bakterisi kullanılmıştır. Paslanmaz çelikte 0,4-4,0 µA aralığında pozitif ve negatif kutuplarda bakteri inhibisyonu oluşmamış, 40 mikroamperde pozitif kutupta görülürken 400 µA' de her iki kutupta da bakteri inhibisyonu oluşmuştur. Ancak 400 µA' de gaz oluşumu, renk ve pH değişimi görülmüştür. Platinde de paslanmaz çeliğe benzer sonuçlar elde edilse de pH değişimi daha fazla olup gaz oluşumu ve renk değişimi daha az miktardadır. Altında bakteri inhibisyonu daha az, gümüşte ise 0,4 – 4,0 µA aralığında bile bakteri inhibisyonu görülmüştür (Barranco ve ark., 1974).

Çeşitli biyomateryaller üzerinde yapılmış elektrik akımının bakteri adezyonu üzerine etkileri ile ilgili çalışmalarda alınan sonuçlar gösteriyor ki her maddenin elektrik akımı seviyelerine verdikleri bakteriyel adezyona karşı yanıtları farklı olmaktadır. Yaptığımız literatür taramalarında günümüzde dişhekimliğinde en sık tercih edilen biyomateryal olduğu düşünülen *titanyum* materyali üzerine yapılmış

benzer bir çalışma ile karşılaşılmaması sebebiyle, çalışmamızda elektrik akımının titanyum üzerinde bakteri adezyonuna olan etkilerini incelemeyi yararlı gördük.

Elliot ve arkadaşları, 10-100 µA aralığında uygulanan doğru elektrik akımının *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde oluşturduğu etkiyi araştırmaları sonucu; elektrik akımının bakteri inaktivasyonunda etkili olduğu ve katot yüzeyinde oluşan hidrojen peroksit ile anot yüzeyinde oluşan klor gazının ise bakteri inaktivasyonunda yardımcı etkenler olduğu yönündedir (Elliott ve ark., 1990).

Yapılan çalışmalar düşük miktarda doğru akım uygulamalarının *S. epidermidis* adezyon mekanizmasının bozulması üzerinde etkili sonuçların elde edilebildiğini göstermektedir. Çalışmamızda yaklaşık 3,75 µA' lik doğru akımı 1 saat boyunca uygulayarak *S.epidermidis*' in titanyum plaklara adezyonunu engellemeyi hedefledik.

Elektrolizin *S. epidermidis* tarafından oluşturulan biyofilmler üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada; tıbbi açıdan uygunluğu nedeniyle ve in vitro reaktör sistemlerinde kalın biyofilmler oluşturduğu için *S. epidermidis* tercih edilmiş ve katotda serbest klor üretimini sağlamak için klorür iyonu varlığında deneyler yapılmıştır. Biyofilm kaplı çelik parça 6 V potansiyelli bir elektrik devresine anot olarak 30 saniye bağlandığında, biyofilm hızla yüzeyden ayrılmıştır. Biyofilmin parçalanmasına, metal yüzeyden gelen gaz kabarcıklarının yayılmasının sebep olduğu düşünülmektedir. Süre 5 dakikaya uzatıldığında canlı kalan hücrelerin sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Katotda aynı işlem uygulandığında daha az biyofilm tabakasının ayrılmış olması daha az gaz yayılımı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Rabinovitch ve Stewart, 2006).

Kalın biyofilm tabakası oluşturabilmesi ve biyomateryallere kuvvetli adezyon yeteneği sebebiyle çalışmamızda *S. epidermidis'* i tercih ettik. Düşük doz doğru akım uygulaması ile kuvvetli adezyon yeteneği olan *S. epidermidis* gibi bir bakteri türünde dahi etkili sonuçların elde edilebilmesi, adezyon yeteneği zayıf diğer bakteri türlerine aynı miktarda elektrik akımı uygulandığında daha başarılı sonuçlar elde edilebileceğinin işareti olarak görmekteyiz.

Uzun süreli uygulanan elektrik akımları, elektroliz sonucu gaz ve iyon yayılımına sebep olmaktadır. Bakterilerin adezyon mekanizmasının bozulmasına ve biyofilm tabakasının biyomateryal yüzeyinden ayrılmasına neden olarak elektrik akımının kendisinin ya da elektroliz sonucu ortaya çıkan gaz ve çeşitli iyonların

sebep olduğu tartışma konusudur. Çalışmamızda sabit akım değerini sağlayabilmek ve elektrolizin etkilerini minimumda tutabilmek amacıyla bir saat boyunca elektrik akımı uygulamasını tercih ettik.

S. aureus' un uygulanan 4 farklı elektrik akımı türü etkisinde çoğalmasının değerlendirildiği in vitro bir çalışmada; sürekli mikroamper doğru akım (µADC), yüksek voltaj darbeli akım (HVPC), düşük voltaj monofazik miliamper darbeli akım (LVMmAPC), düşük voltaj bifazik miliamper darbeli akım (LVBmAPC) çeşitleri ayrı kültürlere 37 ºC' de hergün 1 saat olacak şekilde toplam 3 gün uygulanıyor. İnhibisyon alanlarının ölçümlerine göre µADC ve HVPC anlamlı sonuç ($p < 0.05$) elde edilirken, LVMmAPC ve LVBmAPC' de anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Anot ve katot arasında bakteri inhibisyonu açısından belirgin bir farklılık görülememiştir (Merriman ve ark., 2004). Farklı tip elektrik akımlarının bakteri çoğalmasına etkileri incelendiği bu çalışmada doğru akımın daha başarılı olduğu ispatlanmıştır.

Bakteriyel adezyonu engellemek üzerine doğru akımının etkisini araştıran in vitro çalışmalar, sadece 25-125 mA' lik sürekli akımların, cerrahi paslanmaz çelik üzerinden stafilokok suşlarının ayrıldığını göstermiştir. Bununla birlikte, doğru akım alternatif akım ile karşılaştırıldığında deri tarafından dağıtılması gereken daha fazla güç oluşturur. Ayrıca, çeliğin üzerinde elektroliz sonucu oluşan iyonlar osteogenezis ve fiksasyonda negatif sonuçlara neden olabilmektedir (Van der Borden ve ark., 2005).

Van der Borden ve ark.larının blok elektrik akımının *S. epidermidis'* in cerrahi paslanmaz çelik üzerine adezyonundaki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, paslanmaz çelik ortopedik fiksasyon pin ve vidalarına tutunmuş bakterilerin ayrılmasında blok elektrik akımı uygulamasının doğru akım uygulamasıyla eşit derecede umut verici bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır (Van der Borden ve ark., 2005).

1960 yılında Becker, hasarlı dokuların iyileşmesi esnasında yara yüzeyinde yaklaşık 20 $\mu A/cm^2$' lik elektrik akımı oluştuğunu göstermiş ve cilt bataryası olarak tanımlamıştır. İyileşme tamamlandığında oluşan bu akımın kaybolması sonucu cilt bataryasının yara iyileşmesinde itici bir güç olduğu düşünülmüştür. Kronikleşen yara yüzeylerine dış kaynaklı elektrik akımı uygulaması ile gecikmiş iyileşmenin

hızlandığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Becker, 1960; Falcone ve Spadaro, 1986; Gentzkow ve Miller, 1991).

10-12 aylık dişi kediler üzerinde kanin dişlerinin sürme hızları üzerine yapılan bir çalışmada; 1 saat ve 14 gün arası uygulanan 80 g kuvveti ve 1, 5, 15, 30 ve 60 dakika uygulanan 20 µA elektrik akımı karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Mekanik kuvvetin uygulandığı grupta; gerilim ve sıkışmanın oluştuğu alanlarında osteoblast ve periodontal ligament hücrelerinde artış 1.saatte az miktarda gözlemlenirken, 14. günde belirgin şekilde artmıştır. Elektrik akımının uygulandığı grupta; katot bölgesinde 15. ve 60. dakikalarda osteoblast hücrelerinde belirgin şekilde artış gözlemlenmiştir (Davidovitch ve ark., 1984).

1957 yılında Fukada ve Yashuda kemik yüzeyinde basınç sonucu zayıf bir elektrik akımı (piezoelektrik) oluştuğunu ve kemiğin yeniden şekillenmesinden sorumlu olduğunu bulmuşlardır. Kemiğin elektrik üretim mekanizması Hooke kanunu ile açıklanmış ve bu özelliği kırık kemik tedavilerinde dış kaynaklı elektrik akımı uygulamasının negatif alanda kemik üretiminin hızlandırılmasını sağlamıştır (Fukada ve Yasuda, 1957).

E. coli ve *Serratia mercessens'* in bulundukları ortamdaki sayılarını azaltmak ve dağılımlarını modifiye etmek için kısa süreli doğru akım uygulaması bakterilerin canlılığının, elektrik alanı yoğunluğu ve süresinin artmasıyla orantılı olarak azaldığını göstermiştir. Sonuçlara göre bu uygulama pratik ve ısı oluşturmayan bir işlemdir (Zvitov ve ark., 2004).

Düşük dozda doğru akımın kısa süreli uygulamasının elektroliz sonucu dokuya zararlı gazlar oluşmadan hasarlı dokuların iyileşmesine ve kemik dokusunun yeniden şekillenmesinin uyarılmasına yardımcı olduğu yönünde yapılmış çalışmaları değerlendirerek çalışmamızı geliştirdik.

İletken elektrotlar kullanılarak üretilen zayıf elektrik akımları, antibiyotiklerin bakteriyel biyofilmlere karşı etkinliğini arttırdığı yapılan çalışmalar sonucu gösterilmiş ve bu olay "biyoelektrik etki" olarak adlandırılmıştır. Bakteri gelişimini inhibe etmek için zayıf elektrik akımları kullanan Rosenberg ve ark.'ları elektrolizin *Escherichia coli* hücre bölünmesinin durdurulmasına neden olduğunu gözlemlemiştir. Biyoelektrik etkinin daha fazla incelenmesi, elektroliz sırasında platin elektrotlardan üretilen platin komplekslerinin, bakteri üremesinin

inhibisyonundan sorumlu olduğu ortaya konulmuş ve bu türevlerin bakterilere özgü olmadığı, insan hücreleri için de toksik oldukları belirlenmiştir. Takip eden yıllarda, çoğunlukla doğru akım olan düşük yoğunluklu elektrik akımlarının yanı sıra 10 MHz' e kadar değişen elektrik alanları, antibakteriyel ajanların bakteriyel biyofilmlere karşı etkinliğini artırabileceği gösterilmiş, bu çalışmaların tamamında elektrik akımı elektrot yüzeyinde metal iyonlarının ve serbest radikallerin oluşmasına izin veren iletken elektrotlar kullanılarak üretilmiştir (Blenkinsopp ve ark., 1992; Costerton ve ark., 1994; Giladi ve ark., 2008; Pareilleux ve Sicard, 1970; Rabinovitch ve Stewart, 2006; Rosenberg ve ark., 1965; Van Der Borden ve ark., 2004).

Enfekte yapay eklemlerin tedavisi için doğru akımının fizyolojik salin solüsyonu koşullarında siprofloksasinle birlikte *S. epidermidis* biyofilmlerinin canlılığı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; aynı akım seviyesindekilere kıyasla siprofloksasinli kuyulardaki bakteri sayısı azalmalarında önemli bir farklılık bulunamamış, elektrik akımı uygulaması ortamda biyofilm veya organikler olmadan tekrarlandığında önemli miktarda serbest klor elde edilmiştir. Her akım seviyesi için 24 saatlik son nokta konsantrasyonuna eşdeğer olan serbest klor dozları, mevcut uygulama ile elde edilen öldürmeyi taklit ettiği görülmüştür. Alternatif elektrolitler olarak sülfat, nitrat veya fosfatla değiştirilmiş ortamdaki elektrik akımı uygulamaları bakteri sayısında daha az azalmaya neden olmuştur. Doğru akım, NaCl mevcut olduğunda *P. aeruginosa* biyofilmlerini de öldürmekle birlikte, klorürden hipokloröz asit üreten elektroliz reaksiyonlarının, doğru akım uygulamasının etkinliğine katkıda bulunan ana faktör olduğu sonucuna varılmıştır. Dolayısıyla fizyolojik olarak ilgili bir NaCl konsantrasyonu, eğer in vivo tıbbi uygulamalar için doğru akım araştırılacaksa, deneysel tasarımda kritik bir parametre olduğu düşünülmektedir (Sandvik ve ark., 2013).

Biyofilm tabakasının içinde bulunan bakterileri öldürmek için biyosit ve antimikrobiyallerin etkinliğini artırabilmek amacıyla elektrik alanlarının kullanıldığı bir çalışmada; 48 saat boyunca ortalama 1,7 mA/cm^2 doğru akım paslanmaz çelik malzemelere uygulanmıştır. Biyofilm kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde ve önüne geçilmesinde biyoelektriksel etkinin başarılı olacağı bildirilmiştir (Costerton ve ark., 1994).

Benzer başka bir çalışmada; *P. aeruginosa'* nın planktonik hücrelerini öldürmek için gerekli olandan daha düşük biyosit konsantrasyonları, 24 saat boyunca elektrik akımıyla uygulandığında bakterisidal etkisi gözlenmiştir (Blenkinsopp ve ark., 1992).

P. aeruginosa, *S. aureus* ve *S. epidermidis* biyofilmleri üzerinde antimikrobiyal ajanların elektrik akımıyla birlikte etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; *S.epidermidis* ve trimetoprim-sulfametoksazol için 4,57 -log-unit azalması dışında tek başına antimikrobiyal ajanlara maruz bırakıldıktan sonra bakterilerin $\log_{10}$ CFU / cm^2 sayısında belirgin bir azalma görülmemiştir. Vankomisin ve 2000 µA elektrik akımı, metisiline dirençli *S. aureus* biyofilmlerine karşı kullanıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir biyolojik elektriksel etki tespit edilmiştir. Daptomisin ve eritromisinin kombine olarak 200 veya 2.000 µA elektrik akımı ile *S. epidermidis* biyofilmlerine karşı kullanıldığında da anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu deneylerin sonuçları, elektrik akımı tarafından biyofilm organizmalarına karşı antimikrobiyal ajanların aktivitesinin arttırılmasının, mikroorganizmalar ve antimikrobiyal ajanlar arasında genelleştirilebilir bir fenomen olmadığını ortaya koymaktadır (Del Pozo ve ark., 2009).

S. epidermidis kaynaklı kronik yabancı madde osteomiyelitin tavşanlar üzerinde 200 µA' lik elektrik akımı ve doksisiklin ile tedavilerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla bakteri sayılarında her iki grupta da azalma olmakla birlikte, elektrik akımı ile tedavinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha etkili olduğu görülmüştür (Del Pozo ve ark., 2009).

Yukarıda bahsedilen araştırmaların ortak noktası elektrik akımı uygulamalarının antimikrobiyal ajanların etkisini arttırdığına yönelik sonuçların elde edilmesidir. Plak, vida, implant gibi oral cerrahide kullanılan biyomateryal enfeksiyonlarında antibiyotik kullanımı yanında düşük dozda elektrik akımı uygulamasının faydalı olabileceğinin desteklemektedir. Çalışmamızı bu duruma katkıda bulunması doğrultusunda geliştirdik.

Biyofilmin bileşenleri ve biyofilm oluşumunun hızı, yüzey enerjisi ve pürüzlülüğü, implantın kimyasal özellikleri, abutment materyalleri ve protez parçaları biyofilm oluşumunu etkilemektedir. 1966 ve 2007 tarihleri arasında yayınlanan biyofilm ve diş implantları üzerine in vitro ve in vivo yapılmış çalışmaların derlendiği bir araştırmada; implantın yüzey (pürüzlülük, yüzey serbest

enerjisi ve kimya) ve tasarım özellikleri erken bakteri kolonizasyonu ve biyofilm oluşumunda hayati rol oynadığı sonucuna ulaşılmıştır. Yüzey pürüzlülüğü ve yüzey serbest enerjisindeki artışların diş implantları ve abutment yüzeylerinde biyofilm oluşumunu kolaylaştırdığı görülmüştür (Subramani ve ark., 2009).

Çalışmamızda kullanılan titanyum diskler standardize edilmemiş pürüzlü yüzey özelliklerine sahiptir. Bu çalışmanın bir sonraki adımı olarak yüzey özelliklerinin pürüzlü ve pürüzsüz olarak standardize edildiği bir araştırmanın literatüre daha da faydalı olacağı düşüncesindeyiz.

Günümüzde bakteri sayımı yöntemleri olarak koloni sayım, mikroskop altında sayım, radyoaktif madde ile işaretleme ve dolaylı sayım yöntemleri kullanılmaktadır. Literatürde yapılmış araştırmalar incelendiğinde bakteri sayımında SEM' in sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmadığı görülmektedir. Koloni sayım yöntemi en temel bakteri sayım metodlarından biri olmakla birlikte yalnızca canlı bakteriler için sonuç elde edilebilmektedir. Mikroskop altında sayım yöntemlerinde ise tüm örnek üzerindeki bakteri sayısı mikroskobun görüş alanındaki mevcut bakteri sayısına göre hesaplanır (Gürgün ve Halkman, 1990). Bakterilerin örnek üzerinde homojen dağılmamaları hatalı sonuçların elde edilmesine sebep olabilir (An ve Friedman, 1997). Bakterilerin canlı ya da ölü oldukları mikroskop altında sayımlarda yalnızca canlı bakterileri boyayan özel boyalar aracılığı ile ayırt edilebilmektedir. SEM kullanılarak yapılmış bakteri çalışmaları değerlendirildiğinde;

S. epidermidis' in oküler izolatlarının intraoküler lenslere adezyonunun araştırıldığı bir çalışmada; yüzeye yapışan bakterilerin sayımı için taramalı elektron mikroskobu tercih edilmiştir. Her bir intraoküler optik lensin yüzeyinden rastgele seçilen, 60 × 60 μm arası ölçülen on alan maskeli bir birey tarafından değerlendirilmiştir. Sonra sayımların ortalaması alınarak intraoküler lensin alan başına yapışmış bakteri sayısı hesaplanmıştır (Pinna ve ark., 2000).

İntraoküler lenslere *S. epidermidis* adezyonunun incelendiği başka bir çalışmada; biyolüminesans ve SEM olmak üzere iki farklı teknik ile bakteri sayımı yapılmış ve her birinin doğruluğunu analiz edilmiştir. SEM, biyolüminesans ile karşılaştırıldığında üç avantaj sunmaktadır. Metabolik aktivite seviyesine bakılmaksızın tüm bakterilerin sayımına izin vermekte ve veriler standart sapmaları düşürmektedir. SEM gözlemleri, yapışan bakterilerin ve biyofilm tabakasının

morfolojik özelliklerinin doğrudan gözlenmesi ile örnek bir yüzey üzerinde üç boyutlu ayrıntıların görselleştirilmesini sağlamaktadır (Kodjikian ve ark., 2003).

Bir başka çalışmada polivinilklorür intravasküler kateter numunelerine yapışan koagülaz negatif stafilokokların morfolojik özelliklerini değerlendirmek için taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır (Franson ve ark., 1984).

S. aureus bakteriyemisine maruz kalmış bir hastadan çıkarılan kalp pili üzerinde yapılan bir çalışmada; taramalı elektron mikroskobu, kalp pilindeki farklı kolonizasyonları göstermiştir. Metal uç, iç yüzey ve iç teller, bakterilerin ağır biyofilmleri ile kaplı olmakla birlikte dış silastik yüzeyde yapışkanlı hiçbir biyofilm tabakasına rastlanmamıştır. Bunun yerine, iyi aralıklı bakteri hücreleri görülmüştür (Marrie ve ark., 1982).

Çalışmamızda *S. epidermidis'* in titanyum plaklara dağılım karakterlerinin negatif ve pozitif kutuplarda göstermiş oldukları farklılıkları incelemek amacıyla SEM ile değerlendirme yapıldı.

8. SONUÇ

Ağız, diş ve çene cerrahisi alanında sıklıkla kullanılan dental implant ve miniplak plak gibi çeşitli biyomateryallerin bakteri adezyonu sonucu gelişen kronik enfeksiyonlar sebebiyle dokuda hasar oluşturmaları ve ikinci bir cerrahi işlemle vücuttan uzaklaştırılmaları tedavi sürecini olumsuz etkileyen bir faktördür.

Elektrik akımı uygulamasının bakteri adezyonu üzerine etkileri çeşitli alanlarda yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınarak adezyonu azaltabildiği rapor edilmiştir. –Deney (negatif elektrik akımı uygulanan deney grubu) ve +Deney (pozitif elektrik akımı uygulanan deney grubu) grupları arasında yapılan bakteri adezyonu skorlamasının sayısal dağılımları karşılaştırıldığında sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,046) Negatif elektrik akımı bakteri adezyonunda azalmaya sebep olurken pozitif elektrik akımının artışa sebep olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda adezyon özelliği gösteren bakterilerin sayısının ortalamasında +Deney grubunda(2,22±1,64) Kontrol grubuna(2,19±1,75) göre artış, -Deney grubunda(1,56±1,44) ise Kontrol grubuna (2,19±1,75) göre azalma görülmekle birlikte, istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. Elektriksel akımın düşük seviyede (3,75µA) tutulmasının ve uygulama süresini sadece 1 saat ile kısıtlamamızın istatistiksel sonuçları etkilediğini kanaatindeyiz.

9. KAYNAKLAR

1. Acero J, Calderon J, Salmeron JI, Verdaguer JJ, Concejo C, Somacarrera ML. The behaviour of titanium as a biomaterial: microscopy study of plates and surrounding tissues in facial osteosynthesis. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 1999; 27: 117-123
2. Agrawal CM. Reconstructing the human body using biomaterials. *JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society.* 1998; 50: 31-35
3. Akan M. Staphylococcus infeksiyonları. *Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), Ed.: N. Aydın, J. Paracıkoğlu, Ankara: İlke-Emek Yayınları,.* 2006; 2: 15-29
4. Akca AE, Akca G, Gökce S, Sultan N, Özdemir A. Farklı sabit protetik restorasyon maddelerinde bakteri tutunmasının incelenmesi. *Gülhane Tıp Dergisi.* 2005; 47: 251-255
5. Albrektsson T, Sennerby L, Wennerberg A. State of the art of oral implants. *Periodontology 2000.* 2008; 47: 15-26
6. Alpert B, Tiwana PS, Kushner GM. Management of comminuted fractures of the mandible. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America.* 2009; 21: 185-192
7. An YH, Friedman RJ. Laboratory methods for studies of bacterial adhesion. *Journal of Microbiological Methods.* 1997; 30: 141-152
8. Andreiotelli M, Kohal RJ. Fracture strength of zirconia implants after artificial aging. *Clinical implant dentistry and related research.* 2009; 11: 158-166
9. Ardary WC. Prospective clinical evaluation of the use of compression plates and screws in the management of mandible fractures. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 1989; 47: 1150-1153
10. Arrecubieta C, Lee M-H, Macey A, Foster TJ, Lowy FD. SdrF, a Staphylococcus epidermidis surface protein, binds type I collagen. *Journal of Biological Chemistry.* 2007; 282: 18767-18776
11. Askeland DR, Phulé PP. The science and engineering of materials. 2003, p:255.
12. Ayhan H. Biyomalzemeler. *Bilim ve Teknik.* 2002; 513: 2-11

13. Barkana A, Oktay A, Orhun Ö, Gülmezoğlu M. Elektrik ve Magnetizma. *ETEM AŞ Web-Ofset Tesisleri, Eskişehir.* 1991; 2-9
14. Barranco S, Spadaro J, Berger T, Becker R. In vitro effect of weak direct current on Staphylococcus aureus. *Clinical orthopaedics and related research.* 1974; 100: 250-255
15. Bayston R, Rodgers J. Production of extra-cellular slime by Staphylococcus epidermidis during stationary phase of growth: its association with adherence to implantable devices. *Journal of clinical pathology.* 1990; 43: 866-870
16. Becker RO. The bioelectric field pattern in the salamander and its simulation by an electronic analog. *IRE transactions on medical electronics.* 1960; 202-207
17. Becker W, Becker BE, Mellonig J, Caffesse RG, Warrer K, Caton JG, Reid T. A prospective multi-center study evaluating periodontal regeneration for Class II furcation invasions and intrabony defects after treatment with a bioabsorbable barrier membrane: 1-year results. *Journal of periodontology.* 1996; 67: 641-649
18. Bellefontaine G. The corrosion of CoCrMo alloys for biomedical applications. University of Birmingham. Department of Metallurgy and Materials, 2010, (Danışman: A Davenport)
19. Bilgehan H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. 7. baskı. Şafak Matbaacılık, Ankara: 1994, p:465-475.
20. Bjerkan G, Witsø E, Bergh K. Sonication is superior to scraping for retrieval of bacteria in biofilm on titanium and steel surfaces in vitro. *Acta orthopaedica.* 2009; 80: 245-250
21. Blenkinsopp SA, Khoury A, Costerton J. Electrical enhancement of biocide efficacy against Pseudomonas aeruginosa biofilms. *Applied and environmental microbiology.* 1992; 58: 3770-3773
22. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *Clinical oral implants research.* 1996; 7: 201-211

23. Boretos JW, Eden M. Contemporary biomaterials: Material and host response, clinical applications, new technology and legal aspects. *Journal of Membrane Science.* 1984; 21: 209
24. Bowden G, Hardie J, McKee A, Marsh P, Fillery E, Slack G. The microflora associated with developing carious lesions of the distal surfaces of the upper first premolars in 13–14 year old children. *Proceedings Microbial Aspects of Dental Caries Volume.* 1976; 1: 247-254
25. Bränemark P, Zarb G, Albrektsson T. Introduction to osseointegration. *Tissue Integrated Prostheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Chicago: Quintessence.* 1985; 496-497
26. Bronzino JD. Biomedical engineering handbook. CRC press; 1999, p:139-140.
27. Browne M, Gregson P. Surface modification of titanium alloy implants. *Biomaterials.* 1994; 15: 894-898
28. Buchanan R, Gibbons N. Bergey's manual of systematic bacteriology. *William and Wilkens.* 1984;
29. Burny F, Donkerwolcke M, Muster D. Biomaterials education: a challenge for medicine and industry in the late 1990s. *Materials Science and Engineering: A.* 1995; 199: 53-59
30. Busscher H, Doornbusch G, Van der Mei H. Adhesion of mutans streptococci to glass with and without a salivary coating as studied in a parallel-plate flow chamber. *Journal of dental research.* 1992; 71: 491-500
31. Bürgers R, Gerlach T, Hahnel S, Schwarz F, Handel G, Gosau M. In vivo and in vitro biofilm formation on two different titanium implant surfaces. *Clinical oral implants research.* 2010; 21: 156-164
32. Carpentier B, Cerf O. Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology.* 1993; 75: 499-511
33. Cengiz A, Mısırlıgil A, Aydın M. Tıp ve Dişhekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji. *Güneş Kitapevi, Ankara.* 2004; 17-57
34. Ceyhan T, Köse N. Ortopedide biyomalzeme kullanımı: Genel bilgiler ve tanımlar. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi.* 2011;

35. Champy M, Lodde J. Mandibular synthesis. Placement of the synthesis as a function of mandibular stress. *Revue de stomatologie et de chirurgie maxillo-faciale.* 1976; 77: 971-976

36. Chilukuri DM, Shah JC. Local delivery of vancomycin for the prophylaxis of prosthetic device-related infections. *Pharmaceutical research.* 2005; 22: 563-572

37. Chu V, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Pappas PA, Jones P, Stryjewski ME, Anguera I, Braun S, Munoz P. Coagulase-negative staphylococcal prosthetic valve endocarditis—a contemporary update based on the International Collaboration on Endocarditis: prospective cohort study. *Heart.* 2009; 95: 570-576

38. Coello R, Charlett A, Ward V, Wilson J, Pearson A, Sedgwick J, Borriello P. Device-related sources of bacteraemia in English hospitals—opportunities for the prevention of hospital-acquired bacteraemia. *Journal of Hospital Infection.* 2003; 53: 46-57

39. Costerton JW, Ellis B, Lam K, Johnson F, Khoury AE. Mechanism of electrical enhancement of efficacy of antibiotics in killing biofilm bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1994; 38: 2803-2809

40. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology.* 1995; 49: 711-745

41. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999; 284: 1318-1322

42. Dasgupta MK. Silver peritoneal catheters reduce bacterial colonization. *Advances in peritoneal dialysis.* 1994; 10: 195-195

43. Davidovitch Z, Shanfeld J, Montgomery P, Lally E, Laster L, Furst L, Korostoff E. Biochemical mediators of the effects of mechanical forces and electric currents on mineralized tissues. *Calcified tissue international.* 1984; 36: S86-S97

44. Davis C, Shirtliff M, Scimeca J, Hoskins S, Warren M. In vivo reduction of bacterial populations in the urinary tract of catheterized sheep by iontophoresis. *The Journal of urology.* 1995; 154: 1948-1953

45. Dee KC, Puleo DA, Bizios R. An introduction to tissue-biomaterial interactions. John Wiley & Sons; 2003,
46. Deighton MA, Balkau B. Adherence measured by microtiter assay as a virulence marker for Staphylococcus epidermidis infections. *Journal of clinical microbiology.* 1990; 28: 2442-2447
47. Del Pozo JL, Rouse MS, Euba G, Kang C-I, Mandrekar JN, Steckelberg JM, Patel R. The electricidal effect is active in an experimental model of Staphylococcus epidermidis chronic foreign body osteomyelitis. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2009; 53: 4064-4068
48. Del Pozo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, Sampedro MF, Steckelberg JM, Patel R. Effect of electrical current on the activities of antimicrobial agents against Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, and Staphylococcus epidermidis biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2009; 53: 35-40
49. Del Pozo JL, Rouse MS, Mandrekar JN, Steckelberg JM, Patel R. The electricidal effect: reduction of Staphylococcus and Pseudomonas biofilms by prolonged exposure to low-intensity electrical current. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2009; 53: 41-45
50. Dickinson GM, Bisno AL. Infections associated with indwelling devices: concepts of pathogenesis; infections associated with intravascular devices. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1989; 33: 597
51. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews.* 2002; 15: 167-193
52. Donley TG, Gillette WB. Titanium endosseous implant-soft tissue interface: a literature review. *Journal of periodontology.* 1991; 62: 153-160
53. Dreyer JLE. History of the planetary systems from Thales to Kepler. Cambridge [Eng.]: Cambridge University Press; 1906,
54. Duarte LR, Francischone CE, Peredo LG, Brånemark PI. The Establishment of a Protocol for the Total Rehabilitation of Atrophic Maxillae Employing Four Zygomatic Fixtures in an Immediate Loading System–A 30-Month Clinical and Radiographic Follow-Up. *Clinical implant dentistry and related research.* 2007; 9: 186-196

55. Dumbach J, Rodemer H, Spitzer W, Steinhäuser E. Mandibular reconstruction with cancellous bone, hydroxylapatite and titanium mesh. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 1994; 22: 151-155
56. Edwards TJ, David DJ. A comparative study of miniplates used in the treatment of mandibular fractures. *Plastic and reconstructive surgery.* 1996; 97: 1150-1157
57. Eick S, Glockmann E, Brandl B, Pfister W. Adherence of Streptococcus mutans to various restorative materials in a continuous flow system. *Journal of oral rehabilitation.* 2004; 31: 278-285
58. Elias C, Lima JH, Valiev R, Meyers M. Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM Journal of the Minerals, Metals and Materials Society.* 2008; 60: 46-49
59. Elliott T, Holford J, Sisson P, Byrne P. A novel method to prevent catheter-associated infections. *J Med Microbiol.* 1990; 33:
60. Ellis Iii E. Treatment methods for fractures of the mandibular angle. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery.* 1999; 28: 243-252
61. Erdik E. Elektrik ve magnetizma. Ankara : Ankara Üniversitesi, 1975;
62. Falcone AE, Spadaro JA. Inhibitory effects of electrically activated silver material on cutaneous wound bacteria. *Plastic and reconstructive surgery.* 1986; 77: 455-458
63. Farrell AM, Foster TJ, Holland KT. Molecular analysis and expression of the lipase of Staphylococcus epidermidis. *Microbiology.* 1993; 139: 267-277
64. Fonseca RJ, Barber HD, Powers MP, Frost DE. Oral and maxillofacial trauma. Elsevier Health Sciences; 2013,
65. Fox AJ, Kellman RM. Mandibular angle fractures: two-miniplate fixation and complications. *Archives of facial plastic surgery.* 2003; 5: 464-469
66. Frank R, Steuer P. Transmission electron microscopy of plaque accumulations in denture stomatitis. *The Journal of prosthetic dentistry.* 1985; 53: 115-124
67. Franson TR, Sheth NK, Rose HD, Sohnle PG. Scanning electron microscopy of bacteria adherent to intravascular catheters. *Journal of clinical microbiology.* 1984; 20: 500-505

68. Fukada E, Yasuda I. On the piezoelectric effect of bone. *Journal of the physical society of Japan.* 1957; 12: 1158-1162

69. Galdbart J-O, Allignet J, Tung H-S, Rydèn C, El Solh N. Screening for Staphylococcus epidevmidis Markers Discriminating between Skin-Flora Strains and Those Responsible for Infections of Joint Prostheses. *Journal of infectious Diseases.* 2000; 182: 351-355

70. Galo R, Ribeiro RF, Rodrigues RCS, Rocha LA, Mattos MdGCd. Effects of chemical composition on the corrosion of dental alloys. *Brazilian dental journal.* 2012; 23: 141-148

71. Geetha M, Singh A, Asokamani R, Gogia A. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants–a review. *Progress in materials science.* 2009; 54: 397-425

72. Gentzkow GD, Miller KH. Electrical stimulation for dermal wound healing. *Clinics in podiatric medicine and surgery.* 1991; 8: 827-841

73. Giladi M, Porat Y, Blatt A, Wasserman Y, Kirson ED, Dekel E, Palti Y. Microbial growth inhibition by alternating electric fields. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2008; 52: 3517-3522

74. Gilbert P, Evans D, Evans E, Duguid I, Brown M. Surface characteristics and adhesion of Escherichia coli and Staphylococcus epidermidis. *Journal of Applied Bacteriology.* 1991; 71: 72-77

75. Gross M, Cramton SE, Götz F, Peschel A. Key role of teichoic acid net charge instaphylococcus aureus colonization of artificial surfaces. *Infection and immunity.* 2001; 69: 3423-3426

76. Gunes G. Hemsireler Icin Mikrobiyoloji. *Journal of Education and Research in Nursing.* 2010; 7: 69-70

77. Gümüşderelioğlu M. Biyomalzemeler. *Bilim ve Teknik Dergisi, TÜBİTAK, Temmuz özel sayısı.* 2002;

78. Gür AK, Taşkın M. Metalik biyomalzemeler ve biyouyum. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi.* 2004; 2: 107-114

79. Gürgün V, Halkman AK. Mikrobiyolojide sayım yöntemleri. Gıda Teknolojisi Derneği; 1990,

80. Güven ŞY. Biyouyumluluk ve Biyomalzemelerin Seçimi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi.* 2014; 2: 303-311

81. Häfeli UO, Aue J, Damani J. The biocompatibility and toxicity of magnetic particles. *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology.* 2007; 32: 163-223

82. Hale İ, TAMAM E, BAĞIŞ B. Tam Protezlerde Kullanılan Farklı Kaide Materyallerinin Islanabilirlik Yönünden İn Vitro İncelenmesi. *Turkiye Klinikleri Journal of Dental Sciences.* 2010; 16: 35-43

83. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology.* 2004; 2: 95-108

84. Hallab NJ, Anderson S, Stafford T, Glant T, Jacobs JJ. Lymphocyte responses in patients with total hip arthroplasty. *Journal of Orthopaedic Research.* 2005; 23: 384-391

85. Hannig M. Transmission electron microscopic study of in vivo pellicle formation on dental restorative materials. *European journal of oral sciences.* 1997; 105: 422-433

86. Hansen DC. Metal corrosion in the human body: the ultimate bio-corrosion scenario. *The Electrochemical Society Interface.* 2008; 17: 31

87. Hartford O, O'Brien L, Schofield K, Wells J, Foster TJ. The Fbe (SdrG) protein of Staphylococcus epidermidis HB promotes bacterial adherence to fibrinogen. *Microbiology.* 2001; 147: 2545-2552

88. Heilmann C, Hussain M, Peters G, Gotz F. Evidence for autolysin-mediated primary attachment of. *Staphylococcus epidermidis.* 1997; 1013-1024

89. Heilmann C, Schweitzer O, Gerke C, Vanittanakom N, Mack D, Götz F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming Staphylococcus epidermidis. *Mol Microbiol.* 1996; 20:

90. Heilmann C, Thumm G, Chhatwal GS, Hartleib J, Uekötter A, Peters G. Identification and characterization of a novel autolysin (Aae) with adhesive properties from Staphylococcus epidermidis. *Microbiology.* 2003; 149: 2769-2778

91. Helsen JA, Jürgen Breme H. Metals as biomaterials. *Metals as Biomaterials, by Jef A. Helsen (Editor), H. Jürgen Breme (Editor), pp. 522. ISBN 0-471-96935-4. Wiley-VCH, October 1998.* 1998; 522

92. Her S, Kang T, Fien MJ. Titanium mesh as an alternative to a membrane for ridge augmentation. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2012; 70: 803-810

93. Herrmann M, Hartleib J, Kehrel B, Montgomery RR, Sixma JJ, Peters G. Interaction of von Willebrand factor with Staphylococcus aureus. *Journal of Infectious Diseases.* 1997; 176: 984-991

94. Hill D. Design engineering of biomaterials for medical devices. *Design Engineering of Biomaterials for Medical Devices, by David Hill, pp. 480. ISBN 0-471-96708-4. Wiley-VCH, October 1998.* 1998; 1:

95. Hoffman WY, Barton RM, Price M, Mathes SJ. Rigid internal fixation vs. traditional techniques for the treatment of mandible fractures. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery.* 1990; 30: 1032-1036

96. Holder I, Wheeler R, Montie T. Flagellar preparations from Pseudomonas aeruginosa: animal protection studies. *Infection and immunity.* 1982; 35: 276-280

97. İA K. Farklı yüzey işlemleri uygulanmış alaşım gruplarına bakteri tutunmasının in vitro olarak değerlendirilmesi. *Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi.* 2002;

98. Ikada Y, Suzuki M, Tamada Y. Polymer surfaces possessing minimal interaction with blood components. In: eds. Polymers as biomaterials. Springer; 1984, p:135-147.

99. Ishak MA, Gröschel D, Mandell GL, Wenzel R. Association of slime with pathogenicity of coagulase-negative staphylococci causing nosocomial septicemia. *Journal of clinical microbiology.* 1985; 22: 1025-1029

100. İyiyapıcı Destan U. Plazma nitrürleme yapılan soy olmayan metal alaşımlarına mikrobiyolojik tutunumun radyoizotop işaretleme yöntemi kullanılarak in vitro incelenmesi. Ege Üniversitesi. 2005, (Danışman:

101. Jokstad A, Braegger U, Brunski JB, Carr AB, Naert I, Wennerberg A. Quality of dental implants. *International dental journal.* 2003; 53: 409-443

102. Kasemo B, Lausmaa J. Biomaterial and implant surfaces: a surface science approach. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 1988; 3:

103. Kauser F. Corrosion of CoCrMo alloys for biomedical applications. 2007,

104. Kelstrup J, Funder-Nielsen T. Adhesion of Dextran to Streptococcus muttans. *Microbiology.* 1974; 81: 485-489

105. Kılıçturgay K, Gökırmak F, Töre O, Gedikoğlu S, Göral G, Helvacı S. Klinik mikrobiyoloji. *Bursa, Güneş Nobel Tıp Kitabevleri.* 1994; 65-75

106. Kloos WE, Bannerman TL. Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews.* 1994; 7: 117-140

107. Knorr SD, Combe EC, Wolff LF, Hodges JS. The surface free energy of dental gold-based materials. *Dental Materials.* 2005; 21: 272-277

108. Kodjikian L, Burillon C, Roques C, Pellon G, Freney J, Renaud FN. Bacterial adherence of Staphylococcus epidermidis to intraocular lenses: a bioluminescence and scanning electron microscopy study. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2003; 44: 4388-4394

109. Koneman E, Allen S, Janda W, Schreckenberger P, Winn Jr W. The Gram positive cocci. I. Staphylococci and related organisms. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 5th ed. Lippincott/The Williams & Wilkins Co., Philadelphia, Pa.* 1997; 539-576

110. Koneman EW. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Lippincott-Raven Publishers; 1997,

111. Kurtuluş A, Acar K, Adıgüzel E. Sıçanlarda Elektrik Akımına Bağlı Hipokampal Hasarın Stereolojik Yöntemlerle Değerlendirilmesi 2005, (Danışman:

112. Leach J, Truelson J. Traditional methods vs rigid internal fixation of mandible fractures. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery.* 1995; 121: 750-753

113. Levy FE, Smith RW, Odland RM, Marentette LJ. Monocortical miniplate fixation of mandibular angle fractures. *Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery.* 1991; 117: 149-154

114. Leyens C, Peters M. Titanium and titanium alloys: fundamentals and applications. John Wiley & Sons; 2003,

115. Li X-G, Cao H-B, Wu J-C, Yu K-T. Inhibition of the metabolism of nitrifying bacteria by direct electric current. *Biotechnology letters.* 2001; 23: 705-709

116. Liu W-K, Tebbs SE, Byrne PO, Elliott TS. The effects of electric current on bacteria colonising intravenous catheters. *Journal of infection.* 1993; 27: 261-269

117. Liu X, Chu PK, Ding C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: R: Reports.* 2004; 47: 49-121

118. Lowy FD. Staphylococcus aureus infections. *New England journal of medicine.* 1998; 339: 520-532

119. Mack D, Nedelmann M, Krokotsch A, Schwarzkopf A, Heesemann J, Laufs R. Characterization of transposon mutants of biofilm-producing Staphylococcus epidermidis impaired in the accumulative phase of biofilm production: genetic identification of a hexosamine-containing polysaccharide intercellular adhesin. *Infection and immunity.* 1994; 62: 3244-3253

120. Mack D, Siemssen N, Laufs R. Parallel induction by glucose of adherence and a polysaccharide antigen specific for plastic-adherent Staphylococcus epidermidis: evidence for functional relation to intercellular adhesion. *Infection and immunity.* 1992; 60: 2048-2057

121. Mandell D. Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases (2 Volume Set). *Gerald L. Mandell, John E. Bennett, Raphael Dolin.* 2000;

122. Marrie TJ, Nelligan J, Costerton JW. A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation.* 1982; 66: 1339-1341

123. Mason SF. A history of the sciences. New York: Collier Books; 1962,

124. McBride B, Gisslow M. Role of sialic acid in saliva-induced aggregation of Streptococcus sanguis. *Infection and immunity.* 1977; 18: 35-40

125. McCrea KW, Hartford O, Davis S, Eidhin DN, Lina G, Speziale P, Foster TJ, Höök M. The serine-aspartate repeat (Sdr) protein family in Staphylococcus epidermidis. *Microbiology.* 2000; 146: 1535-1546

126. McKenney D, Hübner J, Muller E, Wang Y, Goldmann DA, Pier GB. The ica locus of Staphylococcus epidermidis encodes production of the capsular polysaccharide/adhesin. *Infection and immunity.* 1998; 66: 4711-4720

127. McLean RJ, Hussain A, Sayer M, Vincent PJ, Hughes DJ, Smith TJ. Antibacterial activity of multilayer silver–copper surface films on catheter material. *Canadian journal of microbiology.* 1993; 39: 895-899

128. McMinn D, Daniel J. History and modern concepts in surface replacement. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine.* 2006; 220: 239-251

129. Merriman HL, Hegyi CA, Albright-Overton CR, Carlos Jr J. A comparison of four electrical stimulation types on Staphylococcus aureus growth in vitro. *Journal of rehabilitation research and development.* 2004; 41: 139

130. Minagi S, Miyake Y, Inagaki K, Tsuru H, Suginaka H. Hydrophobic interaction in Candida albicans and Candida tropicalis adherence to various denture base resin materials. *Infection and immunity.* 1985; 47: 11-14

131. Morris N, Stickler D. Encrustation of indwelling urethral catheters by Proteus mirabilis biofilms growing in human urine. *Journal of Hospital Infection.* 1998; 39: 227-234

132. Moura JS, da Silva WJ, Pereira T, Cury AADB, Garcia RCMR. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four Candida species. *The Journal of prosthetic dentistry.* 2006; 96: 205-211

133. Nag S, Banerjee R, Fraser H. Microstructural evolution and strengthening mechanisms in Ti–Nb–Zr–Ta, Ti–Mo–Zr–Fe and Ti–15Mo biocompatible alloys. *Materials Science and Engineering: C.* 2005; 25: 357-362

134. Nakamura K, Kanno T, Milleding P, Örtengren U. Zirconia as a dental implant abutment material: a systematic review. *International Journal of Prosthodontics.* 2010; 23:

135. Nassar U, Meyer AE, Ogle RE, Baier RE. The effect of restorative and prosthetic materials on dental plaque. *Periodontology 2000.* 1995; 8: 114-124

136. Niederdellmann H, Akuamoa-Boateng E, Uhlig G. Lag-screw osteosynthesis: a new procedure for treating fractures of the mandibular angle. *Journal of oral surgery (American Dental Association: 1965).* 1981; 39: 938-940

137. Niederdellmann H, Schilli W, Düker J, Akuamoa-Boateng E. Osteosynthesis of mandibular fractures using lag screws. *International journal of oral surgery.* 1976; 5: 117-121

138. Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering: A.* 1998; 243: 231-236

139. Niinomi M. Recent metallic materials for biomedical applications. *Metallurgical and materials transactions A.* 2002; 33: 477-486

140. Niinomi M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. *Science and technology of advanced Materials.* 2003; 4: 445

141. Niinomi M, Hattori T, Niwa S. Material characteristics and biocompatibility of low rigidity titanium alloys for biomedical applications. *Biomaterials in orthopedics.* 2004; 41-62

142. Niinomi M, Kuroda D, Fukui H, Kasuga T, Suzuki A, Kyo K, Katsura S. Research and development of low modulus titanium alloys composed of non-toxic elements for biomedical applications. *Recent research developments in metallurgical & materials sciences.* 2001; 1-9

143. O'Gara JP, Humphreys H. Staphylococcus epidermidis biofilms: importance and implications. *Journal of medical microbiology.* 2001; 50: 582-587

144. O'grady NP, Alexander M, Burns LA, Dellinger EP, Garland J, Heard SO, Lipsett PA, Masur H, Mermel LA, Pearson ML. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical infectious diseases.* 2011; 52: e162-e193

145. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology.* 2000; 54: 49-79

146. O'Toole GA, Kolter R. Flagellar and twitching motility are necessary for Pseudomonas aeruginosa biofilm development. *MMI Molecular Microbiology.* 1998; 30: 295-304

147. O'Gara JP. ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus. *FEMS Microbiol Lett.* 2007; 270:

148. Oldani C, Dominguez A, Eli T. Titanium as a Biomaterial for Implants. Citeseer; 2012,

149. Oliva J, Oliva X, Oliva JD. One-year follow-up of first consecutive 100 zirconia dental implants in humans: a comparison of 2 different rough surfaces. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2007; 22:

150. Oshida Y, Hashem A, Nishihara T, Yapchulay M. Fractal dimension analysis of mandibular bones: toward a morphological compatibility of implants. *Bio-medical materials and engineering.* 1994; 4: 397-407

151. Otto M. Staphylococcus epidermidis—the'accidental'pathogen. *Nature Reviews Microbiology.* 2009; 7: 555-567

152. Öztürk R. Akılcı antibiyotik kullanımı ve ülkemizde antimikrobik maddelere direnç sorunu. *Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımlar. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi.* 2008; 1-16

153. Palmer J, Flint S, Brooks J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of industrial microbiology & biotechnology.* 2007; 34: 577-588

154. Pareilleux A, Sicard N. Lethal effects of electric current on Escherichia coli. *Applied microbiology.* 1970; 19: 421-424

155. Parel SM, Brånemark P-I, Ohrnell L-O, Svensson B. Remote implant anchorage for the rehabilitation of maxillary defects. *The Journal of prosthetic dentistry.* 2001; 86: 377-381

156. Park B, Kim YK. Metallic biomaterials. *Balance.* 2003; 1: 50

157. Park J-C, Lee MS, Lee DH, Park BJ, Han D-W, Uzawa M, Takatori K. Inactivation of bacteria in seawater by low-amperage electric current. *Applied and environmental microbiology.* 2003; 69: 2405-2408

158. Park J, Lakes RS. Biomaterials: an introduction. Springer Science & Business Media; 2007,

159. Pasinli A. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi.* 2004; 4: 25-34

160. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annual Reviews in Microbiology.* 1994; 48: 585-617

161. Penny R. Excessive production of mucoid substance in staphylococcus SIIA: a possible factor in colonisation of Holter shunts. *Developmental Medicine & Child Neurology.* 1972; 14: 25-28

162. Peters G, Locci R, Pulverer G. Microbial colonization of prosthetic devices. II. Scanning electron microscopy of naturally infected intravenous catheters. *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. 1. Abt. Originale B, Hygiene.* 1981; 173: 293-299

163. Pilliar RM. Metallic biomaterials. In: eds. Biomedical materials. Springer; 2009, p:41-81.

164. Pinna A, Sechi LA, Zanetti S, Delogu D, Carta F. Adherence of ocular isolates of Staphylococcus epidermidis to ACRYSOF intraocular lenses: a scanning electron microscopy and molecular biology study. *Ophthalmology.* 2000; 107: 2162-2166

165. Pratt LA, Kolter R. Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular microbiology.* 1998; 30: 285-293

166. Qin Z, Ou Y, Yang L, Zhu Y, Tolker-Nielsen T, Molin S, Qu D. Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of Staphylococcus epidermidis. *Microbiology.* 2007; 153: 2083-2092

167. Quirynen M, Bollen C. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra-and subgingival plaque formation in man. *Journal of clinical periodontology.* 1995; 22: 1-14

168. Quirynen M, Marechal M, Busscher H, Weerkamp A, Arends J, Darius P, van Steenberghe D. The influence of surface free-energy on planimetric plaque growth in man. *Journal of Dental Research.* 1989; 68: 796-799

169. Rabinovitch C, Stewart PS. Removal and inactivation of Staphylococcus epidermidis biofilms by electrolysis. *Applied and environmental microbiology.* 2006; 72: 6364-6366

170. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Academic press; 2004,

171. Rautray TR, Narayanan R, Kim K-H. Ion implantation of titanium based biomaterials. *Progress in Materials Science.* 2011; 56: 1137-1177

172. Reitzik M. The surgical correction of mandibular prognathism using rigid internal fixation--a report of a new technique together with its long-term stability. *Annals of the Royal College of Surgeons of England.* 1988; 70: 380

173. Rice KC, Mann EE, Endres JL, Weiss EC, Cassat JE, Smeltzer MS, Bayles KW. The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in Staphylococcus aureus. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2007; 104: 8113-8118

174. Rosenberg B, Van Camp L, Krigas T. Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature.* 1965; 205: 698-699

175. Sadovskaya I, Vinogradov E, Flahaut S, Kogan G, Jabbouri S. Extracellular carbohydrate-containing polymers of a model biofilm-producing strain, Staphylococcus epidermidis RP62A. *Infection and immunity.* 2005; 73: 3007-3017

176. Sandvik EL, McLeod BR, Parker AE, Stewart PS. Direct electric current treatment under physiologic saline conditions kills Staphylococcus epidermidis biofilms via electrolytic generation of hypochlorous acid. *PloS one.* 2013; 8: e55118

177. Satou J, Fukunaga A, Morikawa A, Matsumae I, Satou N, Shintani H. Streptococcal adherence to uncoated and saliva-coated restoratives. *Journal of oral rehabilitation.* 1991; 18: 421-429

178. Schmoker R, Spiessl B, Tschopp H, Prein J, Jaques W. Functionally stable osteosynthesis of the mandible by means of an excentric-dynamic compression plate. Results of a follow-up of 25 cases. *Schweizerische Monatsschrift fur Zahnheilkunde= Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie/SSO.* 1976; 86: 167-185

179. Secinti KD, Ayten M, Kahilogullari G, Kaygusuz G, Ugur HC, Attar A. Antibacterial effects of electrically activated vertebral implants. *Journal of Clinical Neuroscience.* 2008; 15: 434-439

180. Smith IM, Beals PD, Kingsbury KR, Hasenclever H. Observations on Staphylococcus albus septicemia in mice and men. *AMA archives of internal medicine.* 1958; 102: 375-388

181. Smith WF, Kınıkoğlu NG. Malzeme bilimi ve mühendisliği. Literatür Yayıncılık; 2009,

182. Somani S, Grinbaum A, Slomovic A. Postoperative endophthalmitis: incidence, predisposing surgery, clinical course and outcome. *Canadian journal of ophthalmology. Journal canadien d'ophtalmologie.* 1997; 32: 303-310

183. Spadaro J, Berger T, Barranco S, Chapin S, Becker R. Antibacterial effects of silver electrodes with weak direct current. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1974; 6: 637-642

184. Spiekermann H, Donath K. Color atlas of dental medicine. *VM Melica: Thieme.* 1995; 400:

185. Steinemann SG. Titanium—the material of choice? *Periodontology 2000.* 1998; 17: 7-21

186. Stewart PS. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 1996; 40: 2517-2522

187. Stoodley P, Sauer K, Davies D, Costerton JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology.* 2002; 56: 187-209

188. Subaşı M, Karataş Ç. Titanyum ve titanyum alaşımlarından yapılan implantlar üzerine inceleme. *Politeknik Dergisi.* 2012; 15:

189. Subramani K, Jung RE, Molenberg A, Hämmerle CH. Biofilm on dental implants: a review of the literature. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2009; 24:

190. Suter R. A biographical sketch of Dr. William Gilbert of Colchester. [Bruges, Belgium]: [St. Catherine Press]; 1952,

191. Sykaras N, Iacopino AM, Marker VA, Triplett RG, Woody RD. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration.

A literature review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2000; 15:

192. Tas AC. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 C in synthetic body fluids. *Biomaterials.* 2000; 21: 1429-1438

193. Taylor R, Maryan C, Verran J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. *The Journal of prosthetic dentistry.* 1998; 80: 592-597

194. Tenke P, Kovacs B, Jackel M, Nagy E. The role of biofilm infection in urology. *World J Urol.* 2006; 24: 13-20

195. Tokuda H, Nakanishi K. Application of direct current to protect bioreactor against contamination. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry.* 1995; 59: 753-755

196. Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M. Asya Mikrobiyoloji. *İzmir, Asya Tıp Kitabevi.* 2005; 1-59

197. Uckay I, Pittet D, Vaudaux P, Sax H, Lew D, Waldvogel F. Foreign body infections due to Staphylococcus epidermidis. *Annals of medicine.* 2009; 41: 109-119

198. Ustaçelebi Ş. Temel ve klinik mikrobiyoloji. Güneş kitabevi; 1999,

199. Van der Borden A, Van der Mei H, Busscher H. Electric block current induced detachment from surgical stainless steel and decreased viability of Staphylococcus epidermidis. *Biomaterials.* 2005; 26: 6731-6735

200. van der Borden AJ, van der Werf H, van der Mei HC, Busscher HJ. Electric current-induced detachment of Staphylococcus epidermidis biofilms from surgical stainless steel. *Applied and environmental microbiology.* 2004; 70: 6871-6874

201. Van Der Borden AJ, Van Der Werf H, Van Der Mei HC, Busscher HJ. Electric current-induced detachment of Staphylococcus epidermidis biofilms from surgical stainless steel. *Applied and Environmental Microbiology.* 2004; 70: 6871-6874

202. Van Noort R. Titanium: the implant material of today. *Journal of Materials Science.* 1987; 22: 3801-3811

203. Veenstra G, Cremers F, Van Dijk H, Fleer A. Ultrastructural organization and regulation of a biomaterial adhesin of Staphylococcus epidermidis. *Journal of bacteriology.* 1996; 178: 537-541
204. Verran J, Maryan CJ. Retention of Candida albicans on acrylic resin and silicone of different surface topography. *The Journal of prosthetic dentistry.* 1997; 77: 535-539
205. von Arx T, Hardt N, Wallkamm B. The TIME technique: a new method for localized alveolar ridge augmentation prior to placement of dental implants. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 1996; 11:
206. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulasenegative staphylococci. *The Lancet infectious diseases.* 2002; 2: 677-685
207. Walsh C. Deconstructing vancomycin. *Science.* 1999; 284: 442-443
208. Webb JS, Givskov M, Kjelleberg S. Bacterial biofilms: prokaryotic adventures in multicellularity. *Current opinion in microbiology.* 2003; 6: 578-585
209. Weingart D, Steinemann S, Schilli W, Strub J, Hellerich U, Assenmacher J, Simpson J. Titanium deposition in regional lymph nodes after insertion of titanium screw implants in maxillofacial region. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* 1994; 23: 450-452
210. Williams D. The biocompatibility and clinical uses of calcium phosphate ceramics in biocompatibility of tissue analogs. *Medicine.* 1990; 2: 112
211. Williams DF. Biocompatibility in clinical practice. CRC; 1982,
212. Williams DF. Definitions in Biomaterials: Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, Engl., March 3-5, 1986. Elsevier; 1987,
213. Yamashita Y, Yamaguchi Y, Tsuji M, Shigematsu M, Goto M. Mandibular reconstruction using autologous iliac bone and titanium mesh reinforced by laser welding for implant placement. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2008; 23:
214. Yan Y, Neville A, Dowson D. Tribo-corrosion properties of cobalt-based medical implant alloys in simulated biological environments. *Wear.* 2007; 263: 1105-1111
215. Ye J, Yang H, Kim HK, Li Y. Inactivation of Listeria monocytogenes in recirculated brine for chilling thermally processed bacon using an electrochemical treatment system. *Journal of food science.* 2001; 66: 729-733
216. Yoshida Y, Wakasa K, Kajie Y, Takahashi H, Urabe H, Satou N, Shintani H, Yamaki M. Adherent bacteria cells in five dental materials: sonication effect. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 1998; 9: 117-120
217. Yun K-D, Yang Y, Lim H-P, Oh G-J, Koh J-T, Bae I-H, Kim J, Lee K-M, Park S-W. Effect of nanotubular-micro-roughened titanium surface on cell response in vitro and osseointegration in vivo. *Materials Science and Engineering: C.* 2010; 30: 27-33
218. Ziebuhr W, Hennig S, Eckart M, Kränzler H, Batzilla C, Kozitskaya S. Nosocomial infections by Staphylococcus epidermidis: how a commensal bacterium turns into a pathogen. *International journal of antimicrobial agents.* 2006; 28: 14-20

219. Zilsel E. The origins of William Gilbert's scientific method. [Lancaster, Pa.?: 1941,
220. Zituni D, Schütt-Gerowitt H, Kopp M, Krönke M, Addicks K, Hoffmann C, Hellmich M, Faber F, Niedermeier W. The growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli in low-direct current electric fields. *International journal of oral science.* 2014; 6: 7-14
221. Zortuk M, Kesim S, Kaya E, Özbilge H, Kiliç K, Çölgeçen Ö. Bacterial adhesion of porphyromonas gingivalis on provisional fixed prosthetic materials. *Dental research journal.* 2010; 7:
222. Zvitov R, Zohar-Perez C, Nussinovitch A. Short-duration low-direct-current electrical field treatment is a practical tool for considerably reducing counts of gram-negative bacteria entrapped in gel beads. *Applied and environmental microbiology.* 2004; 70: 3781-3784

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Oylun	**Soyadı**	Çakır Altan
Doğum Yeri	Sakarya	**Doğum Tarihi**	22.04.1987
Uyruğu	T.C.	**Tel**	05462518542
E-mail	oyluncakir@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans	MARMARA ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ	2011
Lisans		
Lise	BANDIRMA ANADOLU LİSESİ	2005

İş Deneyimi

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
1	Doktora Öğrencisi	Marmara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2011-
2			
3			

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İNGİLİZCE	İYİ	İYİ	İYİ