

**PVD YÖNTEMİ İLE KAPLANAN AKRİLİK REZİNE CANDIDA ALBICANS
TUTULUMUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**
**An Investigation of Adherence of Candida Albicans to Acrylic
Resin Materials coated with PVD Method**

Yürsen Rana KUZU¹, Bülent KESİM²

Özet: *Candida albicans* ağız kavitesinde en sık rastlanan mantar türüdür. Polimetilmetakrilat (PMMA) hareketli protez yapımında kullanılan kaide materyalidir. Fiziksel buhar biriktirme (PVD), atomik düzeyde malzeme transferi ile ilgili bir buharlaştırma kaplama tekniğidir. Bu çalışmanın amacı; farklı ince film kaplamaların protez kaide materyali olarak kullanılan PMMA'ya *C. albicans* tutulumunu değiştirip değiştirmediğini incelemektir.

Kırk adet akrilik disk hazırlandı. İnce film kaplamalar manyetik alanda sıçratma yöntemi ile PMMA yüzeylerinde oluşturuldu. On adet akrilik disk kaplanmayıp kontrol grubu olarak bırakıldı ve 10 tanesi titanyum (Ti), 10 tanesi titanyum nitrid (TiN) ve 10 tanesi titanyum alüminyum (TiAl) ile kaplandı. Örneklerin yüzey pürüzlülüğü profilometre ile ölçüldü. Bütün örnekler *C. albicans* ile kontamine edildi. Yapışan hücreler tarayıcı elektron mikroskobu ($\times 1500$) ile görüntüledi. İstatistiksel analiz için SPSS programı kullanıldı.

Yüzey pürüzlülük değerleri ve *C. albicans* tutulumu kaplama uygulanan gruplarda kaplama uygulanmayan kontrol grubuna göre daha fazladır. En yüksek yüzey pürüzlülüğü değeri ve *C. albicans* tutunma miktarı TiN ile kaplanan örneklerde gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: PMMA, *C. albicans*, fiziksel buharlaştırma yöntemi

Abstract: *C. albicans* is the most prevalent fungus in the oral cavity. Polymethylmetacrylate is the base material which is used in removable partial dentures Physical vapour deposition (PVD) is a vaporisation coating technique, involving transfer of material on an atomic level. The purpose of the present study was to verify whether surface modifications with different thin film coatings would diminish the adherence of *C. albicans* to PMMA used for denture bases.

Forty-piece acrylic discs were prepared. Thin film coatings were built up by magnetron sputtering system on the surfaces of PMMA. As control group 10-piece acrylic discs were not coated and 10 pieces were coated with titanium (Ti), 10 with titanium nitride (TiN), 10 with titanium aluminum (TiAl). The surface roughness of specimens was measured with a profilometer. All specimens were contaminated with *C. albicans*. The adhered cells were examined with a scanning electron microscope ($\times 1500$ magnification). Data were analysed by using SPSS. Surface roughness value and adhesion of *C. albicans* in the coated group is increased compared to uncoated group. The highest surface roughness value and adhesion of *C. albicans* were observed in the TiN coated group.

Keywords: PMMA, *C. albicans*, physical vapour deposition

¹ Uzman Dt.Erc.Ün.Sağ. Bil.Ens.Protetik Diş Tedavisi AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erc.Ün.Diş Hek Fak.Protetik Diş Tedavisi AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 23.03.2011 Kabul Tarihi : 21.08.2012

***Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSD.09.777 nolu proje ile doktora tezi olarak desteklenmiştir .**

Polimetilmetakrilat (PMMA) en yaygın kullanılan protez kaide materyalidir. Güçlü fiziksel ve estetik özellikleri, kolay elde edilmesi pahalı olmaması ve manipülasyonun kolay olması popüler olmasının nedenlerindedir (1,2). Candida enfeksiyonları diş hekimliğinde bilinen en yaygın mantar enfeksiyonlarıdır. Candida türleri ağızda çok rastlanılan kommensallerdir. C. albicans ise fırsatçı bir patojen olarak rol oynayan mantarların en yaygın türüdür. C. albicans oral kavitede bulunan mikroorganizmaların; sağlıklı bireylerde %25'ni, çeşitli sağlık sorunları olan özellikle immünsüpresif hastalarda % 50-90'ını oluşturmaktadır (3). Protez stomatiti birçok etiyojolojiye sahiptir. Protezlerin uyumundaki bozukluk, protezlerin iyi temizlenmemesi, gece protezlerin çıkarılmaması protez stomatitini hazırlayıcı etkenlerdir. Protez stomatitinin en önemli etiyojolojik faktörü C. albicans'ın protez yüzeyine tutunmasıdır. Candidaların polimerik yüzeylere tutunması van der Waals kuvvetleri (hidrofobik kuvvetler) ve elektrostatik kuvvetlerle gerçekleşmektedir. Elektrostatik ve hidrofobik kuvvetlerin tutunmadaki rolü materyaller ve ortamlar arasında farklılık gösterebilir (4,5). Protez kaidesi olarak kullanılan materyaller kullanım süreleri içerisinde bir takım özelliklerini kaybederek mantar kolonilerini destekler hale gelebilir. Akrilik kaide materyallerinin yiyecekler ve kimyasal temizleyicilerin etkisiyle cilalı yüzeylerini kaybetmesi, Cr-Co alaşımlarda zamanla görülen korozyon ve yumuşak astar materyallerinin de zaman içerisinde plastizörlerini kaybetmeleri sonucu sertleşmeleri ve yüzeylerinin pürüzlü hale gelmesi nedeniyle C. albicans'ların gelişim ve tutunmasını destekledikleri bildirilmektedir (6). Günümüzde C. albicans yapışmasını; ışık veya elektron mikroskobu kullanılarak histolojik düzeyde gösterme, metabolik aktivitenin pH değişimi veya formazon oluşumuna dayanan tekniklerle kantite edilmesi gibi yöntemlerle ölçmek mümkündür (7).

Kaplama işlemi; bir malzemenin diğer bir malzeme üzerine uygulandığı yüzeyin, mekanik, fiziksel ve kimyasal özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla istenilen kalınlıkta bir tabaka biriktirilmesi olarak tanımlanabilir (8). PVD (fiziksel buhar biriktirme) tekniği vakum altında bulundurulmuş malzemelerin buharlaştırılarak veya sıçratılarak atomların yüzey-

den kopartılması ve kaplama yapılacak yüzeye atomsal veya iyonik olarak biriktirilmesi esnasına dayanır (9).

İnce yüzey kaplamaların aşınma, sürtünme ve biyolojik özellikleri dolayısıyla tıp alanında kullanımını ilgi uyandırmıştır. Endüstri alanında yaygın olan bu kaplamalar ile ilgili diş hekimliğinde kullanımına ilişkin çok sınırlı sayıda çalışma vardır (10,11). Ağızda kullanılacak yeni materyallerin geliştirilmesinde, materyalin mikroorganizma tutunma yoğunluğu gibi biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi önemlidir. Bu tür kaplamalarda mikroorganizma tutulumuna ilişkin yeterli sayıda çalışma olmadığından, bu çalışmada PVD ince film kaplamaların akrilik yüzeyinde mikroorganizma tutulumunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Akrilik örneklerin hazırlanması

On mm çapında iki mm kalınlığında kırmızı modelaj mumundan elde edilen diskler muflaya alındı. Muflanın içerisindeki mumlar kaynar su ile uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen negatif boşluklara ısı ile polimerize akrilik kaide materyali (Meliodent, Bayer Dental, Almanya) üretici firmanın önerilerine göre hazırlanıp, muflaya tepildi ve kaynatıldı. Elde edilen akrilik disk örneklerin işlem yapılacak yüzeyleri parlatma cihazında (Struers, TegraSistem, Almanya) 2500 ve 4000 gritlik silikon karbit zımpara ile su altında 300 rpm'de 30 saniye parlatıldı.

PVD tekniğiyle ince film kaplamaların oluşturulması

İnce film kaplama işlemi; PVD yöntemi ile Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Yüzey Teknolojileri Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı bünyesinde kurulu olan reaktif manyetik alanda sıçratma sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Örneklerden 10 tanesi kaplanmadı (kontrol), 10 tanesi titanyum (Ti), 10 tanesi titanyum alüminyum (TiAl), 10 tanesi titanyum nitrür (TiN) ile Tablo I'de verilen parametreler doğrultusunda kaplandı.

Tablo I. Kaplama parametreleri

Kaplama	Süre (t)	Basınç(P)	Güç (W)	Sıcaklık (°C)	Argon	Azot
Titanyum	30 dakika	3 mtorr	4000 W	35-70°C	20-19.8 ~20	–
Titanyum alüminyum	30 dakika	3 mtorr	3500 W	35-70°C	20.6–19.9 ~20	–
Titanyum Nitür	7dakika Ti 2 saat TiN	2 mtorr	2000 W	35-70°C	18.8-19.8	4.6-7.3

Yüzey pürüzlülüğünün ölçülmesi

Her gruptan rastgele seçilen üç adet örneğin ortalama yüzey pürüzlülük değeri (Ra) mikrometre (μm) cinsinden profilometre (Mitutoyo SurfTest-201, Amerika) yardımı ile ölçüldü. Yüzey pürüzlülük ölçümü her örneğin üç farklı bölgesinde, toplam her gruptan dokuz yüzey olacak şekilde yapıldı. Verilerin aritmetik ortalaması alınarak her grup için ortalama değer tespit edildi. Yüzey pürüzlülük ölçümleri tamamlanan örnekler etilen oksit gazı ile sterilize edildi.

C. albicans adezyon deneyi

Çalışmada standart *C. albicans* suşu (ATCC 90028) kullanıldı. Mikroorganizma ilk önce Sabouraud Dextrose Agar (Merck, Almanya) besiyerine ekildi. 37°C'de 48 saat etüvde inkübe edilerek üremesi sağlandı. Daha sonra Sabouraud Dextrose Broth (Merck, Almanya) sıvı besiyerine ekildi ve 37°C'de 48 saat inkübe edildi. *C. albicans* süspansiyonu 3000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek sıvı besiyeri uzaklaştırıldı. Çökelmiş olan maya hücreleri fosfat tamponlu tuz (PBS, pH: 7.3) solüsyonunda iki kez santrifüj edilerek yıkandı. Daha sonra çökelmiş maya hücreleri fosfat tamponda tekrar süspanse edildi. 0.5 McFarland biriminde densitometre cihazında fosfat tamponda ml'de 10^6 maya olacak şekilde solüsyon elde edildi. Her deney grubundan 10'ar adet örnek steril kaplara yerleştirildi. Örneklerin tamamını kaplayacak şekilde 30 ml. *C. albicans* süspansiyonu eklendi. Kontaminasyon işlemi sağlamak amacıyla örnekler etüvde 37°C'de bir saat bekletildi. Kontaminasyon işleminden sonra, *C. albicans* sü-

pansiyonları döküldü ve örnekler PBS ile iki kez yıkılarak yapışmayan maya hücreleri uzaklaştırıldı.

Örneklerin yüzeyine yapışan maya hücrelerini saymak için tarayıcı elektron mikroskobu (SEM, LEO440, Oxford, İngiltere) kullanıldı. Tüm örnekler metal tablalara yapıştırıldı ve mini sputter coater cihazı ile 20 sn altın-palladyum ile kaplandı. Sayım işlemi için her örneğin rastgele seçilen 10 sahasından 1500 büyütmede görüntü alındı. Görüntülerde tutunmuş maya hücreleri sayıldı. Bu 10 sahanın ortalaması alındı ve *C. albicans* sayısı hücre/mm² olacak şekilde hesaplandı.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi, %95'lik güven düzeyinde SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, A.B.D.) yazılımı kullanılarak yapıldı. Yüzey pürüzlülüğü ve *C. albicans* adezyonunun değerlendirilmesinde bağımsız gruplarda tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Anlamlı farklılık gözlenen durumlarda çoklu karşılaştırma için Holm-Sidak post-hoc testi kullanıldı.

BULGULAR

Yüzey pürüzlülük değerleri Tablo II'de gösterilmektedir. Gruplar arasında en yüksek yüzey pürüzlülük (Ra) değeri TiN kaplanan akrilik örneklerinde görülürken en düşük Ra değeri kaplama uygulanmamış akrilik kontrol grubunda gözlemlendi. Yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda; farklı materyallerin yüzey pürüzlülükleri arasında istatistiksel açıdan ileri derecede anlamlı farklılık mevcuttur ($p < 0.001$). Kaplama yüzey pürüzlülüğünün artmasına neden olmuştur.

Test edilen bütün gruplarda *C. albicans* tutulumu gözlemlendi (Şekil1-4). *C. albicans* tutulum değerleri Tablo II’de gösterilmektedir. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde; gruplar arasında *C. albicans* tutulumu açısından ileri derecede anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.001$). En az *C.*

albicans tutulumu kontrol grubundaki akrilik örneklerde gözlenirken (Şekil 1), en fazla *C. albicans* tutulumu TiN ile kaplanan akrilik örneklerde gözlemlendi (Şekil 4). Ti ve TiAl ile kaplanan akrilik gruplarında kendi aralarında *C. albicans* tutulumu açısından anlamlı farklılık yoktur (Şekil 2,3).

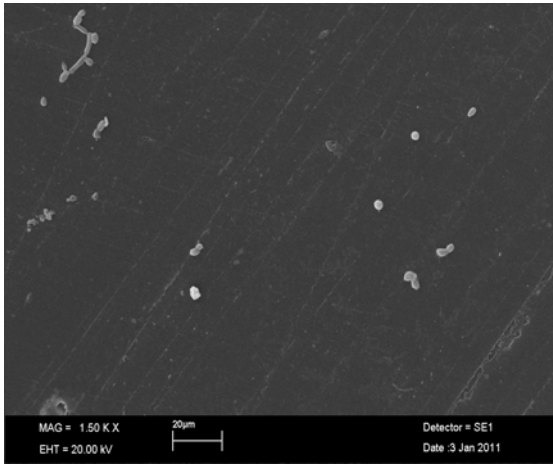
Tablo II. Grupların yüzey pürüzlülük ve *C. albicans* tutulum ortalama ve standart sapma değerleri

Gruplar	Yüzey Pürüzlülüğü (n:9) Ortalama & Std. Sapma	<i>C. albicans</i> Tutulum(n:10) Ortalama & Std. Sapma
Akrilik (Kontrol)	0,259 ± 0,0408 ^a	661,905 ± 42,744 ^a
Titanyum (Ti)	0,569 ± 0,0496 ^b	1410,417 ± 67,860 ^b
Titanyum Alüminyum(TiAl)	0,564 ± 0,0581 ^b	1426,786 ± 47,520 ^b
Titanyum Nitrid (TiN)	0,610 ± 0,0682 ^b	1979,762 ± 69,668 ^c

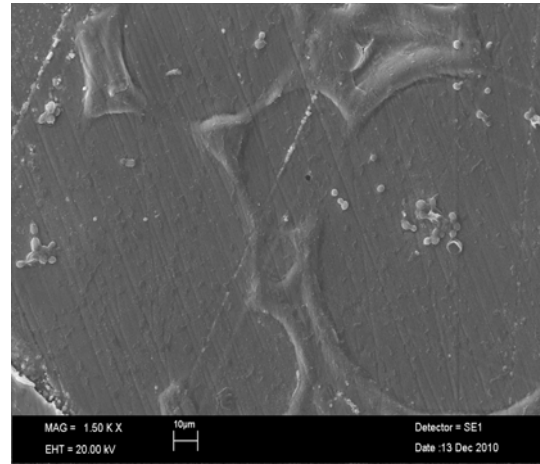
a,b,c: Her değişken için farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir. ($p<0.05$)

Yüzey pürüzlülüğünün varyans analiz F değeri=78.155; $p<0,001$

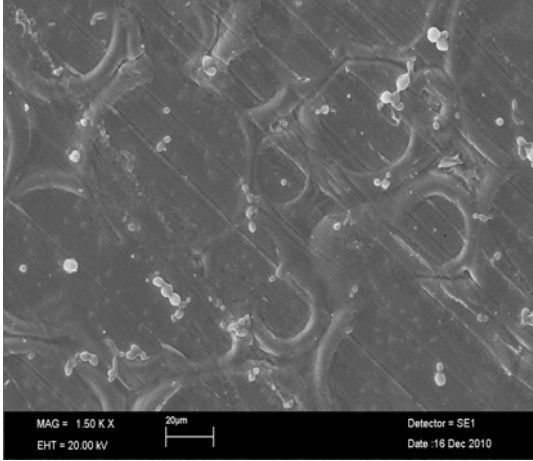
C. Albicans tutulumunun varyans analiz F değeri= 864,426; $p<0,001$



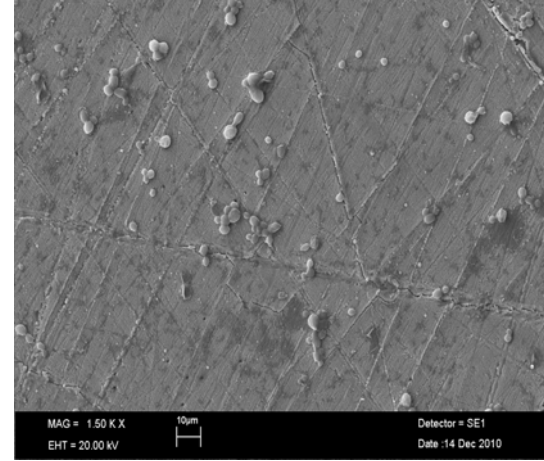
Şekil 1: Akril kontrol grubunda *C. albicans* tutulumu



Şekil 2: Ti kaplanan grupta *C. albicans* tutulumu



Şekil 3: TiAl kaplanan grupta C.albicans tutulumu



Şekil 4: TiN kaplanan grupta C. albicans tutulumu

TARTIŞMA

Ağız içi dokularda özellikle hareketli protezlerin altındaki bölgelerde meydana gelen patolojik değişiklikler protez stomatiti olarak adlandırılır. Bu bölgelerde epitel tabakasında oluşan inflamasyonlar protez stomatitlerinin başlıca etkenidir. Epidemiyolojik çalışmalarda protez kaynaklı stomatitlerin genel stomatitler arasındaki yaygınlığının %11-%67 olduğu görülmüştür (12,13). Protez stomatitinin etiolojisinde temel faktörün C. albicans olduğu belirtilmektedir. C. albicansın diğer kandidalar içerisinde ağız mukozası ve plastik yüzeylere en iyi tutunan mikroorganizma olduğu kabul edilmektedir (14). Monroy ve arkadaşları (15) protez kullanan 105 hastada C. albicans, Staphylococcus aureus ve Streptococcus mutans kolonizasyonunu inceledikleri araştırmalarında; mukozada C. albicans kolonizasyonunu %51.4, S. aureus kolonizasyonunu %52.4, S. mutans kolonizasyonunu ise %67.6 bulmuşlardır. Ayrıca protez stomatiti görülen 50 hastada mukoza yüzeyinde C. albicans kolonizasyonu %86 gibi yüksek bir oranda bulunmuştur. Protez yüzeylerinde ise C. albicans kolonizasyonu %66.7 ile ilk sıradadır (15). Bu sonuçlar doğrultusunda çalışmamızda mikroorganizma olarak tercihimiz protez yüzeyinde en çok görülen C. albicans olmuştur.

Mikroorganizmaların yüzeye tutunması iki aşamalı bir süreçtir. İki yüzey arasındaki ilk etkileşim nonspesifik ve geri dönüşümlüdür. İkinci etkileşim ise spesifik moleküller arası ilişki sonucu oluşur. Mikroorganizmaların yüzeye ilk tutunması ile ilgili bazı görüşler termodinamik bir yaklaşım olduğudur. Termodinamik yaklaşım mikroorganizma ve yüzeyin serbest yüzey enerjileri arasındaki ilişkidir. Ayrıca mikroorganizmaların hidrofobisitesi tutunmada ve yüzeyler arası elektrostatik ilişki için önemli bir faktördür. Tutunmanın ikinci fazı reseptör ve spesifik adhezin arasında meydana gelir. Bu fazda mikroorganizmalar koloni oluşturur. Tutunma ile ilgili diğer faktörler yüzey pürüzlülüğü, yüzey enerjisi, tükürük proteinlerinin bulunması, başka mikroorganizmaların varlığı, farklı cins candidalar ve konsantrasyonları, kültür konsantrasyonunun içeriğidir (16,17). Materyallerin yüzey özelliklerinde meydana gelen değişimler mikrobiyal tutunmayı etkiler. Bu çalışmada PMMA yüzeylere; farklı film kaplamaları uygulayarak PMMA'nın yüzey özelliğini değiştirilmiş ve C. albicans tutunması değerlendirilmiştir.

Yüzey kaplama tekniklerinden biri olan PVD; vakum altında bulundurulmuş malzemelerin buharlaştırılarak veya sıçratılarak atomların yüzeyden koparılması ve kaplama yapılacak yüzeyde atomsal veya iyonik olarak biriktirilmesi esasına dayan-

maktadır. Fiziksel buhar biriktirme tekniği ile yapılan magnetron sıçratma yöntemi medikal uygulamalarda malzemenin korozyon direnci, biyouyumluluğu, mekanik ve estetik özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılmaktadır (18).

İnce film kaplamalardan biri olan TiN kaplama ortopedik protezlerde, kalp kapakçıklarında, dental protezlerde uygulanma alanına sahiptir. Bu nedenle çalışmamızda tercih ettiğimiz kaplamalardan biri de TiN'dür (18,19). Laetzsch ve arkadaşları (20) yaptıkları çalışmada; Ag-Pd ve Co-Cr-Mo alaşımları üzerinde TiN kaplamaların temel materyallere benzer biyolojik özellikler gösterdiğini bildirmişlerdir.

Roy ve Lee (21) biyomedikal uygulamalarda elmas karbon (DLC) kaplamaların biyouyumluluğu, korozyon ve mekanik özelliklerini inceledikleri bir çalışmada hücrelerin herhangi bir sitotoksisite ve inflamasyon olmaksızın DLC kaplama üzerinde büyüdüklerini ve mekanik özelliklerinin umut verici olduğunu bildirmişlerdir. Ortopedik uygulamalardaki DLC kaplamalar; aşınma, korozyon ve debris oluşumunu azalttığı ve trombosit adhezyonunu ve aktivasyonunu en aza indirdiğini belirtmişlerdir.

Yıldırım ve arkadaşları (22) akrilik rezin yüzeyini modifiye etmek için akrilik rezin yüzeyine glow-discharge metodunu uygulamışlardır. Bu metotta akrilik yüzeyine farklı güçlerde O₂ gazı verilmiştir. Glow-discharge plazma uygulanan akrilik rezin yüzeylerinin ıslanabilirliğinin uygulama yapılmayan akrilik rezin yüzeylerine göre arttığını bildirmişlerdir. *C. albicans* tutunmasının uygulama yapılmayan akrilik yüzeylerde uygulama yapılan akrilik yüzeylere göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da modifiye edilmeyen (kaplanmayan) akrilik kontrol grubunda *C. albicans* tutulumu modifiye edilmiş (kaplanmış) akrilik gruplara göre daha düşüktür.

Karahanlı'nın yapmış olduğu tez çalışmasında (23) fiziksel buharlaştırma yöntemi kullanarak magnetron sıçratma sistemi ile Ni-Cr alaşımından döküm örneklerin yüzeyini, TiN ve ATEK ile kaplayıp örneklerin yarısına tükürük uygulayıp yarısına tükürük uygulamayıp *S. mutans* ve *S. sanguis* tutulumunu değerlendirmiştir. Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak kaplama yapılan yüzeylerde yüzey pürüzlülük değerlerinde ve *C. albicans* tutulumunda gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu sonuç farklılığı kaplanan alt yapı materyalinin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Pürüzlü yüzeylerde plak formasyonunun arttığı ve yüksek enerjili yüzeylerde daha çok plak oluştuğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (24,25). Radford ve arkadaşları (26) protez kaide materyallerinde farklı yüzey bitimlerinde *C. albicans* tutunmasını değerlendirmişler ve pürüzlü yüzeylerde daha fazla *C. albicans* tutunması gözlendiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde pürüzlü yüzeylerde *C. albicans* tutulma miktarı pürüzsüz yüzeylere göre daha fazla çıkmıştır.

Araştırmamızda elde edilen veriler doğrultusunda akrilik rezin üzerine uygulanan ince film kaplamalar, yüzey pürüzlülük değerlerinde artışa neden olmuştur. En yüksek yüzey pürüzlülük değeri ve *C. albicans* tutulumu TiN ile kaplanan akrilik grubunda, en düşük yüzey pürüzlülük ve *C. albicans* tutulumu ise kaplama uygulanmayan akrilik kontrol grubunda gözlenmiştir. PVD yöntemi ile uygulanan kaplamalarda; akrilik yüzeyinde yüksek derecede ön ısı işlemi uygulanmadığından kaplamanın akrilik yüzeyine tutulumu ile ilgili sorunlar yaşanabilmekte, kaplamada mikroçatlaklar oluşabilmektedir. Kaplamanın akrilik yüzeyine daha iyi tutunması sağlamak amacıyla PVD kaplama prosedüründe yapılacak değişiklikleri kapsayan daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

1. Nayır E. *Diş Hekimliği Maddeler Bilgisi, Yedinci Baskı, İ. Ü. Basımevi, İstanbul, 1999: 80-89.*
2. Phoneix OR. *Denture base materials. Dent Clin North Am 1996; 40: 113-119.*
3. Atay A, Saraçlı MA, Akyıl MŞ, et al. *Candida albicans'ın yumuşak astar maddelerine olan adezyonunun modifiye bir teknikle in-vitro değerlendirilmesi. Hacettepe Diş Fak Derg 2007; 31: 74-78.*
4. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP et al. . *Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part 1. Factors influencing distribution of Candida species in the oral cavity. Aus Dent J 1998; 43: 45-50*
5. Webb BC, Thomas CJ, Willcox MDP et al. *Candida-associated denture stomatitis. Aetiology and management: A review. Part 2. Oral diseases caused by Candida species. Aus Dent J 1998; 43: 160-166.*
6. Lamfon H, Porter SR, McCollough M, et al. *Formation of Candida albicans biofilms on non-shedding oral surfaces. Eur J Oral Sci 2003; 111: 465-471.*
7. Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM, et al. *An improved colorometric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. J Immunol Methods 1991; 142: 257-265.*
8. İnçal E. *PVD Yöntemi ile kaplanan HSS takım çeliklerin karakterizasyonu ve aşınma dayanımının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 2007.*
9. Sert H. *Pvd ile TiN kaplanmış alüminyum ekstürüzyon kalıplarının yüzey özellikleri ve aşınma performanslarının deneysel incelenmesi, Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 1997.*
10. Knotek O, Löffler F, Weitkamp K. *Physical vapour deposition coatings for dental prosthesis. Surf Coat Technol 1992; 54/55: 536-540.*
11. Wirz J. *Vergoldung von prothesenbasen mit titannitrid. Quintessenz 1989; 40: 2285-2294.*
12. Arendorf TM, Walker DM. *Denture stomatitis: a review. J Oral Rehabil 1987; 14: 217-227.*
13. Narer JP, Groenman NH, Wackers-Garritsen BG, Timmer LH. *Etiologic factors in denture sore mouth syndrome. J Prosthet Dent 1978; 40: 367-373.*
14. Ergüven S, Canay Ş, Yuluğ N. *Protez stomatitlerinde Candida albicansın rolü. Mikrobiyoloji Bül 1991; 25: 71-79*
15. Monroy TB, Makdonado VM, Martinez FF, et al. *Candida albicans, Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans colonization in patients wearing dental prosthesis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005; 10: E27-E39.*
16. Atay A. *Ağız dokularına Candida albicans yapışması. Atatürk Üniv Diş Hek Fak Derg 2007; 17: 46-50.*
17. Waters MGJ, Williams DW, Jagger RG, et al. *Adherence of Candida albicans to experimental denture soft lining materials. J Prosthet Dent 1997; 77: 306-312.*
18. Kola PV, Daniels S, Cameron DC, et al. *Magnetron sputtering of TiN protective coatings for medical applications. J Mat Pro Tech 1996; 56: 422-430.*
19. Mitamuo Y, Mikami T, Yuton T. *Development of a fine ceramic heart valve for use as a cardiac prosthesis. Trans Am Soc Artif Intern Organs 1986; 32: 444-448.*

20. Laetzsch E, Blank K, Lunk A, et al. Goldfarbige metallische beschichtung prothetischer therapiemittel-praktinische untersuchungen. *Stomatol DDR* 1986; 36: 269-272.
21. Roy RK, Lee KR. Biomedical applications of diamond-like carbon coatings: a review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 83: 72-84.
22. Yıldırım MS, Hasanreisöglü U, Hasırcı N, et al. Adherence of *Candida albicans* to glow-discharge modified acrylic denture base polymers. *J Oral Rehabil* 2005; 32: 518-525.
23. Karahanlı IA. Farklı yüzey işlemleri uygulanmış alaşım gruplarına bakteri tutunmasının in vitro değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2002.
24. Waltimo T, Tanner J, Vallittu P, et al. Adherence of *Candida albicans* to the surface of polymethylmethacrylate-E glass fiber composite used in dentures. *Int J Prosthodont* 1999; 12: 83-86.
25. Taylor R, Maryan C, Verran J. Retention of oral microorganisms on cobalt-chromium alloy and dental acrylic resin with different surface finishes. *J Prosthet Dent* 1998; 80: 592-597.
26. Radford DR, Sweet SP, Challacombe SJ, et al. Adherence of *Candida albicans* to denture-base materials with different surface finishes. *J Dent* 1998; 26: 577-583.