

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

HİDROKSİAPATİT VE GÜMÜŞ KAPLANMIŞ
PROTEZ İMPLANTLARIN İN VİVO
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
HAYVANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Ali OTUZZBİR
Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Nusret KÖSE

ESKİŞEHİR
2009

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Ali OTUZHİR' e ait "Hidroksiapatit ve gümüş kaplanmış protez implantların in vivo antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi, hayvanlarda deneysel çalışma" adlı tez çalışması jürimiz tarafından Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı' nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Üye	Prof.Dr.Hakan ÖMEROĞLU Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof.Dr.Akın TURGUT Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye (Tez danışmanı)	Prof.Dr.Nusret KÖSE Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu' nun
.....tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskiőehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı' nda hazırlamıő olduėum tez çalıőmam sűresince; deėerli vaktini ve tecrűbesini benden esirgemeyen baőta tez danıőmanım Prof.Dr.Nusret KÖSE' ye, çalıőmanın planlama ve yűrűtűlmesindeki katkılarından dolayı Prof.Dr.Sinan SEBER' e, Prof.Dr.Aydın DOėAN' a, Araő.Gör.Ceren PEKŐEN' e , Prof.Dr.Cengiz BAYU' ya ve Yrd.Doė.Dr.Abdurrahman KİREMİTÇİ' ye sonsuz teőekkűrlerimi sunarım

ÖZET

Otuzbir A. Hidroksiapatit ve gümüş kaplanmış protez implantların in vivo antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi, hayvanlarda deneysel çalışma. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009. Bu çalışmada amacımız gümüşlü hidroksiapatit kaplanmış basit bir protez şekli verilen titanyum implantların antimikrobiyal etkinliğini göstermek idi. Bu nedenle hayvanlarda deneysel bir çalışma planlandı. Ağırlıkları 3000-3500 gr arasında olan 27 adet tavşan çalışmaya alındı, dokuzarlı üç gruba ayrıldı. 1. gruba kaplamasız titanyum, 2. gruba hidroksiapatit kaplı titanyum, 3. gruba ise gümüş iyon katkılı antibakteriyel toz (ABT) ve biyocam kaplı titanyum implant, tavşanların dizinden femurun intramedüller kanalına yerleştirildi. Öncesinde femoral kanala 5×10^2 CFU S. aureus inoküle edildi. Haftalık rektal ateş ölçümü yapıldı. Altı hafta sonra tavşanlar öldürüldü, diz yan grafileri çekildi, medüller kanal, implant sürüntü, kemik ve implantın mikrobiyolojik incelemesi yapıldı ayrıca implant çıkarıldıktan sonra implant çevresi kemiğin histopatolojik değerlendirilmesi de yapıldı. Yapılan mikrobiyolojik incelemede tüm kültürlerde gümüşlü hidroksiapatit kaplı grupta enfeksiyon diğer iki gruba oranla anlamlı derecede düşüktü.(p=0,005) 1. grupta 9 tavşanın 8'inde, 2. grupta 9 tavşanın 5'inde üreme olurken, 3. grupta 9 tavşanın sadece 1'inde üreme oldu. Histopatolojik incelemede 1. ve 2. grupta implant çevresi ve trabeküller arasında yoğun inflamatuvar hücreler görülürken, 3. grupta inflamatuvar hücreler izlenmedi, ayrıca bu grupta implant çevresi kemikte aşınma ve gümüş partikülleri izlenmedi. Gümüşün osteoblastlar üzerine toksik etkisi, yabancı cisme bağlı granülasyon dokusu da izlenmedi. Normal kemik hücreleri ve trabeküller izlendi. Çekilen düz grafilerde, üç grupta da implant çevresindeki kemikte enfeksiyonu düşündürecek bulgular (osteoliz) görülmedi.

Anahtar Kelimeler : Antimikrobiyal, gümüş kaplı implant, metal iyon salınımı,

ABSTRACT

Otuzbir A. Evaluation of in vivo antimicrobial efficiency of hidroxyapatite- and silver-coated prothesis implants, an experimental animal study. Eskisehir Osmangazi University Medicine Faculty, Medical Speciality Thesis in Orthopedics and Traumatology Department, , Eskisehir, 2009. The aim of this study was showing the antimicrobial efficiency of silver dopped hidroxyapatite-coated titanium implant that formed as a simple prothesis. An experimental animal study was planned. 3 equal groups formed from 27 rabbits that weighted between 3000-3500 gr each. In the first group uncoated titanium, in the second group hidroxyapatite-coated titanium and in the last group silver ion dopped antibacteriel powder (ABT) (hidroxyapatite) coated titanium implants were inserted from the rabbits' knees to femoral intramedullary canal. Prior to this application, 5×10^2 CFU *S. aureus* was inoculated to femoral canal. Rectal temperature was measured weekly. After 6 weeks rabbits are killed, knee lateral radiographs are obtained, microbiological analysis of meduller canal, implant smear, bone and implant are done. also After removal of implant, histopathologic evaluation of bone around implant was done. The statistical analysis of microbiological results showed that infection rate in silver dopped hidroxyapatite-coated group is significantly lower compared to other two groups ($p=0,005$). 8 rabbits in the first group, 5 rabbits in the second group and only one rabbit in the third group had positive culture results. While there were intensive inflammatory cells in the histopatologic examination of the bone around implant and between trabecules in the first and second groups, no inflammatory cells in the third group were seen. Also in this group there were no erosion in the bone around implant and any silver particules were seen. Toxic effects of silver to osteoblasts and granulation tissue related to foreign body was not seen. Bone cells and trabecules were normal. In plain radiographs, there were no signs of bone infection around implant (osteolisis) in all groups.

Key words: Antimicrobial, silver-coated implant, metal ion release.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Bakteri-İmplant ve Enfeksiyon İlişkisi	3
2.2 Total Diz Protezi	5
2.3 Total Diz Protez Enfeksiyonu	6
2.4 Metal İyon Katkılı Antimikrobiyal Toz	13
2.5 Gümüşün Antimikrobiyal Etkisi ve Klinikte Kullanımı	14
2.6 Seramik Biyomateryallerin Ortopedi ve Travmatoloji’de Kullanımı	17
2.7 Tıpta Nanoteknoloji Kullanımı	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
4. BULGULAR	30
4.1 Ateş	30
4.2 Mikrobiyolojik Bulgular	30
4.3 Radyolojik Bulgular	34
4.4 Histopatolojik Bulgular	35
5.TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABT	Antibakteriyel seramik toz
Ag⁺	Gümüş iyonu
BT	Bilgisayarlı tomografi
CFU	Colony forming units
CRP	C-reaktif protein
HA	Hidroksiapatit
HEPM	Human embryonic palatal mesenchyme
MBC	Minimum bakterisidal etki konsantrasyon
MIC	Minimum inhibitör konsantrasyon
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
MRSA	Metisiline dirençli Staphylococcus aureus
RF	Radyo frekansı
SF	Serum fizyolojik
TCP	Trikalsiyumfosfat
TDA	Total diz artroplastisi
Ti6A14V	Titanyum

ŞEKİLLER

	Sayfa
3.1 Özel şekillendirilerek proteze benzetilen Ti6Al4V implant	23
3.2 Kaplanmamış Ti6Al4V implant, HA kaplanmış Ti6Al4V implant, ABT kaplanmış Ti6Al4V implant	24
3.3 2.5 mm dril ile femoral kanalın açılması	26
3.4 Femoral kanalın açılmış hali	26
3.5 50 µl Staf aureus'un (5×10^2 CFU) femoral kanala inoküle edilmesi	27
3.6 İmplantın femoral kanala çakılmış hali	27
4.1 Grup 1 ' den seçilmiş düz grafi	34
4.2 Grup 2' den seçilmiş düz grafi	34
4.3 Grup 3' ten seçilmiş düz grafi	35
4.4 Grup1' den histopatolojik inceleme	36
4.5 Grup1' den histopatolojik inceleme	36
4.6 Grup1' den histopatolojik inceleme	37
4.7 Grup1' den histopatolojik inceleme	37
4.8 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	38
4.9 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	38
4.10 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	39
4.11 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	39

TABLULAR

	Sayfa
4.1. Grup 1'in mikrobiyolojik sonuçları	30
4.2. Grup 2'nin mikrobiyolojik sonuçları	31
4.3. Grup 3'ün mikrobiyolojik sonuçları	31
4.4. Medulla sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi	32
4.5. İmplant sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi	32
4.6. Alınan implantın mikrobiyolojik incelenmesi	33
4.7. Alınan kemik örneğinin mikrobiyolojik incelenmesi	33

1. GİRİŞ

Günümüz ortopedi uygulamalarında farklı amaçlar için çok değişik biçim ve boyutlarda metal ya da metal dışı malzemelerden üretilen implantlar insan vücuduna uygulanmaktadır (1). Bu teknolojik gelişmeler ışığında implant kullanılarak yapılan ameliyatlara sayısı gittikçe artmaktadır. Amerika Birleşik Devletler’inde yılda 4.4 milyon kişi bir kez internal fiksasyon, 1.3 milyon kişi de eklem protezi ameliyatı olmaktadır. Tüm önlemlerin alınmasına karşın internal fiksasyon yapılanların %5-%20’sinde, protez yapılanların ise %0.5-%2’inde enfeksiyon saptanmaktadır. Amerikada eklem protezi sonrası enfeksiyon sayısı yılda 12000 iken kırık fiksasyonu sonrası enfeksiyon sayısı yaklaşık 100000’dir. Bu enfeksiyonların sağaltımı zor ve maliyeti fazladır. Yılda kişi başı 15000 ile 30000 dolar arasında olduğu saptanmıştır (2,3).

Total diz artroplastisi (TDA) konservatif sağaltımın başarısız olduğu ileri evre gonartrozun sağaltımında, 1970’li yıllarda ilk modern polisentrik diz artroplastisi tasarımından sonra teknolojik gelişmelere paralel olarak yeni tasarımlarla birlikte altın standart olarak yerini almış etkili bir sağaltım yöntemidir (4). Total diz protezi için %90’a varan hasta memnuniyet oranları bildirilmişse de tüm diz protezlerinin %5’i hatta bazı serilerde ise %10’nu revizyona ihtiyaç duymaktadır. Değişik serilerde değişik revizyon nedenleri karşımıza çıkmaktadır. Fehring ve Griffi’in serilerinde en sık nedenlerin başında derin enfeksiyon (%38) gelmektedir (5).

Son dönemlerde enfeksiyon oranlarının azaltılması için medikal implantların antimikrobiyal etkiye sahip ajanlarla kaplanması uygulama alanı bulmuştur. Bu uygulamadaki amaç bakterinin implantlar üzerinde tutunmasının ve üremesinin engellenmesidir (6). Metalik implantların kaplanması için antibiyotikler, antibakteriyel etkinliğe sahip metal iyonları ve bakteri tutunmasını azaltan protein içerikli yüzey kaplama yöntemleri kullanılmıştır (6).

Gümüşün ortopedik implantların yüzeyinin kaplanmasında kullanılması birçok araştırmanın konusu olmuştur. Bu araştırmalarda gümüşün yüzey kaplanmasında kullanılmasının enfeksiyon oranlarını azalttığı ayrıca kullanılan gümüş

miktarlarının düşük olması nedeni ile toksik etkilerinin görülmediği belirtilmiştir (7,8).

Ortopedi ameliyatlarında kullanılan metalik implantlara bağlı ameliyat sonrası enfeksiyonlar önemli bir sağlık sorunudur. Antibakteriyel etkinliği olan implantların kullanılması ile bu tür enfeksiyonların önlenmesi amaçlanmış ve bu çalışma ile özel olarak hazırlanmış gümüş iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz ile kaplanmış titanyum (Ti6Al4V) implantların antibakteriyel etkinliği in vivo olarak çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bakteri-İmplant ve Enfeksiyon İlişkisi

Günümüzde sıklığı giderek artan metal implantların kullanıldığı cerrahi girişimlerde iki önemli sorun vardır. İlki biyomateryal merkezli enfeksiyonlar, diğeri ise implant ile konak arasındaki doku uyumsuzluğudur (9). Bugüne kadar yapılan çalışmalar, biyomateryal varlığında komşu konak dokusunun erken ve geç enfeksiyona karşı duyarlılığında artış olduğunu göstermektedir (10,11,12). Ölü kemik ya da travmatize olmuş yumuşak dokular benzer etkiyi yaparlar. Biyomateryallerin başarılı doku bütünleşmeleri ise temas halinde oldukları dokuların hücrelerine çok iyi yapışmaları, biyomateryal yüzeyi ve membran molekülleri arasında kimyasal bağların kurulabilmesine bağlıdır (13,14). Biyomateryal yüzeyine yapışmak için doku hücreleri ile bakteriler arasında bir yarış başlar. İmplant yüzeyinin kaderi bu yarışın sonucuna bağlıdır. Eğer bu yarış doku tarafından kazanılırsa yüzey işgal edilmiş ve savunulmuş olur. Böylece implantın yüzeyi bakterilerin kolonizasyonuna daha az elverişli hale gelir . Aksi halde implant yüzeyi bakteriler tarafından işgal edilecek ve enfeksiyon süreci başlayacaktır (15). Doğal ekosistemde yapılan çalışmalar, hareketsiz yüzeylerde, bakterilerin %99.9'dan fazlasının iç yüzeylere yapışarak mikrokoloniler oluşturduklarını ve bu bağlamda oluşturdukları biyofilm tabakalarda yaşadıklarını göstermiştir (16). Biyomateryaller üzerinde kolonize olan bu bakteriler, aynı zamanda kalın ve biyomateryallere yapışık biyofilm tabakalar içerisinde de büyürler (12,17). İlk olarak Gristina bir hastasının femur kemiğinden enfeksiyon sonrasında çıkardıkları implantı incelemiş ve implant yüzeyinde glikokaliks kaplı biyofilm tabakalar içerisinde yaşayan bakteriyal mikrokolonileri göstermiştir (18). Bakteriler, biyomateryale implante edilirken ya da geçici bir bakteriyemi sırasında biyomateryallerin yüzeyine taşınır ve yapışırlar (19-22). Bir bakterinin biyomateryal yüzeylerine yapışması virulans faktörüdür ve onların hem konak savunmasına hem de antibiyotiklere karşı dirençlerini artırır (23,24). Aynı zamanda, virulan bakterilerin implant yüzeylerine yapışmaları, onları kimyasal bakterisid ve antiseptiklerden de korur (25). Yüzeylere yapışabilme özelliği hemen hemen bütün bakterilerin ortak özelliğidir ve karmaşık, çözülmesi güç bazen de çok özel olaylar dizisine bağlıdır. Bu olaylar bakterinin kolonize olacağı

materyalin yüzeyine, onu çevreleyen sıvı alana ve bakterinin özelliklerine bağlıdır (15). Yapılan çalışmalarda, enfekte biyomateryallerin yüzeyinde en sık Staf. epidermidis ve Staf. aureus izole edilmiştir (13,16). Bu organizmalara ek olarak E.coli, Peptokoklar, Pseudomonas aeroginosa, Proteus mirabilis ve Beta hemolitik Streptokoklar izole edilen diğer mikroorganizmalardır (13,16). Elde edilen mikroorganizmaların çeşitliliği metotlar geliştikçe ve çoğaldıkça artmaktadır. Staf. epidermidis, insan cildinde bulunan nonpatojenik saprofitik bir bakteri olmasına karşın biyomateryal kaynaklı enfeksiyonlarda ciddi bir patojen olduğu görülmüştür. Vasküler protezler, kontakt lensler, total eklem protezi gibi polimer yüzeyli ya da biyomateryalin kompleks yapısı içerisinde polimerlerin bulunduğu implantlarda daha sık enfeksiyon etkenidir (16). Staf. aureus ise daha çok biyometallerde, kemik, eklem ve yumuşak doku enfeksiyonlarında major etken patojendir. Füzyonun yapıldığı ölü ya da hasar görmüş kemik dokularının bulunduğu ortamlarda Staf. aureus en sık izole edilen enfeksiyon ajanıdır. Salgı oluşturan bakterilerin ekstrasellüler polisakkarit maddeleri, büyük kısmı iyonik bağlarla bağlı düşük ya da yüksek moleküler ağırlıklara sahip polimerlerden oluşan gevşek ve şekilsiz yapılarıdır. Ekzopolisakkaritler, D-glukoz, D-galaktoz, D-mannoz, L-fruktoz ve L-rhamnoz gibi nötral monosakkaritlerden, aminoşekerlerden, üronik asitten ve polyollerden (ribitol ve gliserol) oluşur. Ekstrasellüler salgıların, biyomateryal kaynaklı enfeksiyonun oluşmasında ve devamında önemli bir faktör olduğu düşünülür (26). Biyomateryal konak dokuya implante edildikten sonra fibronektin, fibrinojen, kollagen ve diğer proteinleri içeren glikoprotein yapısındaki biyofilmler oluşur. Oluşan biyofilmler biyomateryallerin ve konak dokusunun biyomateryallerle temas eden yüzeyini kaplar. Böylece bakterilerin ve konak doku hücrelerinin adezyonu için gerekli olan reseptör bölge oluşmuş olur (27,28). Bu biyofilm tabakanın her bir makromoleküler yapısının, her organizma veya doku hücresi için özel rolü vardır. Cam, seramik ve titanyum gibi materyallerde, biyofilm tabakaların oluşturulması ile yapılan deneylerde, osteointegrasyonun bu biyofilm tabakalar tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (29).

Günümüzde ortopedi cerrahisinde kullanılmakta olan pek çok implant, bir ya da daha fazla metal ve polimerden oluşmaktadır. Biyolojik ortamdaki biyomateryaller, yabancı cisimler, ölü dokular ve kemikler, implante edildikleri

biyolojik ortamda pasif, fizyo-kimyasal olarak ise aktiftirler. Enfeksiyona direnç gösteremezler ve enfeksiyona karşı hassastırlar (9).

Sonuç olarak, implant yüzeyine yapışık biyofilm tabakalar içerisindeki glikokalikslerle kaplı mikrokoloniler, biyomateryal ilişkili enfeksiyonların hem antimikrobiyal tedaviye hem de konak savunmasına karşı dirençli olmasını açıklamaktadır (22,30,31,32,33).

2.2. Total diz protezi

Total diz protezi (TDP), konservatif tedavinin başarılı olamadığı son dönem dejeneratif ve enflamatuar eklem hastalıklarında endikedir (34). Otuz yılı geride bırakan modern TDP uygulaması, hastalara ağrısız ve işlevsel bir diz kazandırması bakımından günümüzde güvenilir bir ameliyat haline gelmiştir (35).

Birincil osteoartrit ve ikincil osteoartrit olarak endikasyonlarını iki ana başlıkta sayabiliriz. Genellikle ileri yaşta ve nedeni belli olmadan gelişen osteoartrit birincildir.

İkincil osteoartrit sebepleri altı ana başlıkta toplanabilir. Birincisi; travma sonrası meydana gelen eklem kırıkları, çıkıklar, bağ ve menisküs yaralanmaları, ikincisi; idiopatik ya da ikincil nedenlerle (kortizon kullanımı, renal transplantasyon, sicile cell anemi gibi) gelişen avasküler nekroz sonucundaki eklem dejenerasyonu, üçüncüsü; romatoid artrit ve ankilozan spondilit gibi inflammatuar hastalıklar sonrası gelişen artrozlar, dördüncüsü; hemakromatozis, gut ve kristal artropatiler gibi metabolik hastalıklar, beşincisi; spesifik yada nonspesifik nedenlere bağlı gelişen septik artritler, altıncı olarakta hemofili gibi hematolojik hastalıkları sayabiliriz (35).

Vücutta aktif enfeksiyon varlığı, yetersiz kemik stoğu , nöropatik artropati, genel durumun kötü olması, major cerrahi ya da anestezi riski olanlar ve ekstansör mekanizma disfonksiyonu, kondrendikasyonlarını oluşturur.

Komplikasyonlarını mekanik ve mekanik olmayan şekilde iki ana başlıkta toplayabiliriz. Mekanik komplikasyonlar; aseptik gevşeme, suprakondiler femur kırığı, tibia kırığı, ekstansör mekanizma (patellar tendon rüptürü, patella kırığı) komplikasyonlarıdır. Mekanik olmayan komplikasyonlar; enfeksiyon, tromboemboli, yara problemleri, anemi, damar ve sinir yaralanmalarıdır.

2.3.Total Diz Protez Enfeksiyonu

Total diz protezi sonrası oluşan derin enfeksiyon, en sık revizyon nedenlerinden birisi olup primer uygulama sonrası % 0.5-5 oranlarında görülmektedir (5,36,37). Enfeksiyon bir diz protezinin başına gelebilecek en kötü komplikasyondur. Revizyon sebepleri incelendiğinde değişik serilerde değişik sıklıkta revizyon sebepleri karşımıza çıkmaktadır. En sık nedenlerin başında derin enfeksiyon (% 38) gelmektedir (5) . Romatoid artrit, steroid kullanımı, obezite, diyabet, renal yetmezlik, kronik alkolizm, malnutrisyon, psoriyazis enfeksiyon gelişimini kolaylaştıran faktörlerin başında gelir. Romatoid artritte görülen hipogamaglobulinemi nedeniyle enfeksiyon oranı belirgin şekilde artar (38). Enfeksiyon etkeni olarak en sık rastlanılan mikroorganizmalar, Stafilokokus aureus (%50-65), Stafilokokus epidermidis (%25-30), diğer streptokok suşları, gram (-) basillerdir (39). Son yıllarda metisiline, ya da vankomisine dirençli suşların yol açtığı tedaviye dirençli enfeksiyonlar çoğalmaktadır (40).

Stafilokoklar hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif, kapsülsüz ya da az miktarda kapsül içeren, 0.5-1.5 mm çapında gram pozitif koklardır. Bakterilerin çoğalırken üç boyutta da bölünebilmeleri ve bölünmeden sonra tam ayrılmanın olmaması nedeniyle mikroskopik görünümleri üzüm salkımı şeklindedir. Çoğu fakültatif anaeroptur. Dış çevre şartlarına, kuruluğa, yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklıdırlar. İnsanda nazofarinks, deri, vajina, rektum, perine ve burunda (özellikle S.aureus) yaygın kolonizasyon gösterirler. İnsanda en virulan türler S.aureus ve S.lugdunensis'tir (86-89).

Bugün insanlardan izole edilen S.aureus suşlarının %95'inden fazlasında penisilin direnci görülmektedir. Bu direnç β -laktamaz (penisilinaz) isimli bakteri enziminin β -laktam halkasını parçalayarak penisilini inaktive etmesine bağlıdır. β -laktamaz enzimi sıklıkla başka antibiyotiklere direnç genlerini taşıyan bir plazmitte bulunan bla geni tarafından kodlanır ve hücre dışına salınır (90,91).

1960'lı yıllarda β -laktamaza dirençli yarı sentetik penisilinler (metisilin, oksasilin, nafsilin) kullanıma girmiştir.Kısa bir süre sonra bu antibiyotiklere dirençli suşların olduğu saptanmıştır. Antibiyotiğin hiç kullanılmadığı ülkelerde bile dirençli suşların saptanması, bu direnç şeklinin stafilokoklarda daha önceden var olduğunu göstermektedir (92). Bu direnç şekline intrensek direnç veya metisilin direnci adı

verilmektedir. Bu direnci gösteren bakteriler sefalosporinler de dahil tüm β -laktam antibiyotiklere dirençlidirler ve bu suşlara metisiline dirençli S.aureus (MRSA) suşları denmektedir. Metisiline direnci sağlayan PBP-2 α adı verilen enzimdir. Bu enzim sefalosporinler ve karbopenemler de dahil olmak üzere tüm β -laktam antibiyotiklere düşük afinitesi nedeniyle, bu antibiyotiklerin varlığında aktivitesini devam ettirir ve bakteri hücre duvarının peptidoglikan çapraz bağlarını bağlayarak bakterinin parçalanmasını engeller.

MRSA ve enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan glikopeptitlere (vankomisin ve teikoplanin) orta duyarlı ve dirençli S.aureus suşlarının saptanması, son zamanların en ürkütücü gelişmesidir.

Genelde toplumun %33'ünün burnunda S.aureus saptanır. Taşıyıcılar travma, cerrahi ve diğer riskli durumlarda taşıyıcı olmayanlara göre çok daha yüksek oranda enfeksiyon riski taşırlar. Hastane enfeksiyonlarının ikinci en sık etkeni olan S.aureus suşlarının büyük çoğunluğu metisiline dirençlidir. MRSA suşları özellikle hastanelerde ve bakımevlerinde kolonize hastalardan hastane çalışanlarının elleri ile diğer hastalara yayılır. Hastaların başka nedenlerle antibiyotik almaları bu kolonizasyon riskini çok fazla arttırır. Bu durumda riskli hastalarda gelişecek olan enfeksiyonlar sağaltımı çok daha zor olan MRSA suşları ile olur (87,88).

2.3.1 Protez Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması

Birincil diz protezini takiben gelişen enfeksiyonlar ile ilgili sınıflamalar bulunmakla birlikte, Fitzgerald ve arkadaşlarının yaptığı sınıflama en sık kullanılanıdır (41). Bu sınıflamada periprostetik enfeksiyonlar 3 gruba ayrılır. Evre I, akut fulminant enfeksiyonlardır. Cerrahiyi izleyen ilk 3 ayda gelişen ve ateş, ağrı, kızarıklık, şişlik ve drenaj ile kendilerini gösterirler. Evre II enfeksiyonlar, cerrahiden sonraki ilk 2 yıl içerisinde karşımıza çıkar ve inokulasyonun cerrahi sırasında olduğu kabul edilmektedir. Tanısı en zor olan grubu bu tip enfeksiyonlardır. Evre III enfeksiyonlar ise, geç hematogen enfeksiyonlar olup tamamen asemptomatik bir protezin aniden akut enfeksiyon tablosu ile gelmesiyle karakterizedir.

2.3.2 Protez Enfeksiyonlarının Tanısı

Enfeksiyonun klinik tablosu, hem tanıda hem de sağaltımın belirlenmesinde önemli faktördür. Erken dönemde enfeksiyon tanısı koyabilmek için şüphelenmek önemlidir. Bunun yanında hastanın öyküsü, fizik bakı, düz grafi, artrosentez ve bazı basit hematolojik çalışmalar kombine olarak değerlendirilmelidir. Radyonukleid çalışmalar ve cerrahi doku örneklerinin incelenmesi tanı koyabilmek için kullanılması gerekebilmektedir (42).

Ağrı, diz protezi sonrası enfeksiyonda en yaygın semptomdur. Tipik olarak istirahat sırasında ya da gece ağrısı şeklindedir. Bu ağrı mekanik gevşemeye bağlı ağrıdan yük vermayla artmamasıyla ayrılır. Bununla birlikte komponent gevşemesi enfeksiyon sekeli de olabilir. Protez ameliyatından beri oluşan inatçı ağrı ve ilerleyici hareket kısıtlılığında derin enfeksiyondan şüphelenilmelidir. İnatçı yara akıntısı olduğunda enfeksiyondan şüphelenilmeli ve en uygun sağaltım yönünden değerlendirilmelidir (42). Bu sağaltım seçenekleri cerrahi sonrası ilk haftalarda artrotomi, irigasyon ve debritleme içermektedir (43). İnatçı yerel ağrının yanında eritem, ödem, yara iyileşme bozukluğu, geniş hematoma ve ateş varlığında enfeksiyondan şüphelenilmelidir (44).

Akut hematojen enfeksiyonda, önceden iyi işlevli protez varken ani başlangıçlı belirtiler bulunur. Bakteriyemiye sebep olabilecek deri enfeksiyonu (*S. aureus*), pnömoni (*Streptokokus pneumoniae*), paradontit (*Fusobakterium türleri*), enterokolit (*Salmonella*), dental ya da gastrointestinal girişim sonrası oluşan ciddi ağrı, effüzyon ve diz hareket kısıtlılığı hızlı tanı konulmasını sağlar (44,45,46).

Direk grafi bulguları çimentolu ve çimentosuz oluşuna göre değişiklik göstermektedir. Enfeksiyona bağlı periost reaksiyonu direk grafide görülebilir. Belirgin gevşemeye bağlı migrasyon varlığında boşluk bulgusu "clear sign" görülür. Gevşemeye bağlı çift kontur ise yalnız çimentolu protezlerde görülür. Çimentosuz implantlarda ise direk grafi bulgusu olmaksızın gevşeme olabilir (47).

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüyü bozacak yabancı cisimlerin varlığı nedeniyle tanıda yardımcı olmaz. Bu nedenle enfeksiyon şüphesi olan hastalarda rutin kullanılması önerilmemektedir (44).

Nükleer tıp, enfeksiyonun ve inflamasyonun tanısında önemli rol oynamaktadır. Eğer protezde enfeksiyondan şüpheleniliyorsa Tc 99m-

metilendifosfonat sintigrafisi ilk adımdır (47,48). Ancak yapılan çalışmalarda bu anormal izotop tutulumunun septik ve aseptik gevşemeyi ayırt etmede özgün olmadığı gösterilmiştir (49). Bu nedenle her anormal kemik sintigrafisi ya lökosit taramasıyla ya da Tc99m antigranülosit antibody taramasıyla kombine edilmelidir. Bu amaçla Tc99m'e bağlı monoklonal anti-NCA-90 granülosit antibody Fab fragmanları kullanılmaktadır (50). Eğer kemik ve lökosit taraması pozitifse enfeksiyondan şüphelenilmelidir (51,52). Positron emisyon tomografisi de enfeksiyon tanısında kullanılmaktadır. Love ve ark. bildirdiklerine göre duyarlılığı %100 fakat özgünlüğü % 55tir (53,58).

Genel laboratuvar testlerinde ise lökositoz, C-reaktif protein (CRP) artışı ve artmış eritrosit sedimentasyon hızı vardır. Bu testlerin hepsi özgün değildir. Ek olarak geç enfeksiyonda hafif anormal değerler olabilir (59,60). CRP'nin tekrarlayan ölçümleri tek bir ölçümden daha kullanışlıdır. Sedimentasyon ve CRP' de cerrahi travma nedeniyle ameliyat sonrası dönemde yükselme olabilmektedir. Sedimentasyon altı haftada, CRP ise iki haftada normale dönmektedir (61). Prokalsitonin daha özgündür fakat implantla ilişkili enfeksiyonu belirlemede çok yeterli değildir (44).

Kullanılan diğer önemli bir inceleme yöntemi ise eklem sıvısı aspirasyonudur. Aspiratta gram boyama, lökosit miktarı ve cinsi, aerobik ve anaerobik kültür yönünden incelenmelidir (42). Snovyal sıvıda lökosit miktarının $1,7 \times 10^9$ /L'den fazla olması ve polimorfomononükleer lökosit miktarı > %65 olması enfeksiyon tanısında hem duyarlı (%94-%97) hem de özgündür (%88-%98)(62). Geç enfeksiyonda yalancı negatif sonuçlar olabilmektedir. Bunun nedeni mikroorganizmaların çoğu koagülaz negatif stafilokok olduğundan, sadece implanta yapışık ya da kemik çimento arasında olabilmesidir. Rutin ameliyat sırasında kültür alınması önerilmemektedir. Pozitif kültür oranı sadece %30 bulunmuştur (44). Bunun yerine histolojik kesitlerde granülosit sayısına bakılmalıdır. Buna göre intraoperatif alınan örneklerde en az 5 nötrofil varlığı prostetik eklem enfeksiyonu tanısında altın standarttır(44). Banit ve ark. ise yaptıkları çalışmada intra operatif frozen incelemede 10'dan fazla granülosit olmasının tanı koydurucu olduğunu ve duyarlılığının %100, özgünlüğünün %96 olduğunu bildirmiştir (63).

2.3.3 Protez Enfeksiyonlarının Sağaltımı

Diz protezi enfeksiyonunda hastaya uygun sağaltım seçimi önemlidir. Bu nedenle sağaltımı belirlemeden önce bazı değişkenlerin incelenmesi gerekmektedir. Bunlar; enfeksiyonun yüzeysel ya da derin oluşu, artroplasti ile enfeksiyon tanısı arasındaki süre, enfeksiyon sağaltımını etkileyebilecek hasta etkenleri, diz çevresindeki yumuşak dokunun durumu (özellikle ekstansör mekanizmanın sağlamlığı), implantın iyi fiske ya da gevşemiş oluşu, enfeksiyondan sorumlu patojen, hastanın beklentisi ve işlevsel gereksinimleridir (42).

Altı temel sağaltım seçeneği bulunmaktadır. Bunlar ; antibiyotik baskılaması, açık debridman, rezeksiyon artroplastisi, artrodez, amputasyon ve protezin değiştirilmesidir.

Klinik duruma en uygun olan sağaltım uygulanmalıdır. Bu değerlendirme adımı, sonucu büyük oranda etkiler. Enfeksiyon sağaltımında ikincil girişimler yumuşak doku örtüsünde nekroz, ilerleyici skar oluşumu, antibiyotik dirençli organizmaların oluşumu kemik kaybı gibi durumlara neden olabileceği için istenmemektedir (64).

Antibiyotik baskılaması, yalnızca ileri durumlarda uygulanan bir yaklaşımdır. Derin periprotetik enfeksiyonun sağaltımında kötü prognozludur (65). Çok merkezli yapılan bir çalışmada antibiyotik baskılaması 225 dizden sadece 40'ında (%18) başarılı olmuştur (66). Bu sağaltım; Protezin çıkarılması olası değilse, mikroorganizma düşük virülanslıysa, mikroorganizma oral antibiyotiklere duyarlıysa, toksidite olmaksızın antibiyotik tolere edilebiliyorsa, protezde gevşeme yoksa önerilmektedir (42).

Antibiyotik baskılamasının riskleri, bakteriye karşı direnç gelişmesi, protezde gevşeme, enfeksiyonun yayılması ve septisemidir. Başka eklemlerinde de protez olan hastalarda bu sağaltım kontrendikedir. (67)

Debridman ve protezin korunması; Hem artroskopik, hem de açık debridman teknikleri bu amaçla kullanılmaktadır. Modüler total diz protezinde polietilene bağlanmış olan glikokaliksi temizlemek için çıkarılması gerekmektedir (42). Dizin arka kısmının debridmanı zordur. Bu nedenle bazı cerrahlar artroskopik debridmanı yeğlemektedirler. Bu sağaltım için; Enfeksiyon belirtileri kısa süreli olmalı (2

haftadan az), muhtemel organizma gram(+) olmalı, uzamış postoperatif drenaj ya da sinüs ağzı olmamalı, radyografik enfeksiyon bulguları veya gevşeme olmamalıdır.

Literatürde %19-31,5 arasında değişen başarılı sonuçlar bildirilmiştir. Bu sonuçların nedeni olarak kronik periprostetik enfeksiyonu olan hastalara da uygulanması olarak bildirmişlerdir (66,68). Özellikle enfeksiyon etkeninin Stafilokokus aureus olduğu durumlarda belirtilerin başlangıcıyla tedavi arasında geçen süre 48 saati aştığında başarı oranı düşmektedir(69,70).

Debridmandan sonra ameliyat öncesi ya da ameliyat sırasında belirlenen enfeksiyon etkenine yönelik anibiyotik intravenöz olarak 14 gün verilmeli ve daha sonra oral olarak devam edilmelidir. Enfeksiyonun klinik bulguları kaybolana ve sedimantasyon ve CRP normale gelene kadar devam edilmelidir (71).

Rezeksiyon artroplastisinde enfekte protez, çimento çıkarılır ve snovyanın debridmanı yapılır. Kemik uçları geçici olarak sıkı dikiş ya da çivilerle tespit edilebilir. Stabilitayı arttırmak amacıyla bacak 6 ay boyunca alçıda bekletilir. Medikal olarak durumu instabil olan hastalarda, artrodezi sağlayamayacak kadar fazla kemik defekti olanlarda, poliartiküler eklem tutulumu olan romatoid artriti olan hastalarda ve fazla mobilize olamayan hastalarda tercih edilmektedir (42,67).

Rezeksiyon artroplastisinin primer dezavantajı diz instabilitesi gelişmesi ve yürüme ve transfer sırasında ağrı olmasıdır. Bununla birlikte bu sağaltım seçeneğinin enfeksiyon sağaltımında başarılı olduğu görülmektedir (42). 26 hastada yapılmış olan çalışmada 5 yıllık izlemde hastaların %89'unda enfeksiyon görülmediği bildirilmiştir (72).

Diğer bir sağaltım yöntemi artrodezdir. Diz artrodezi, total diz artroplastisi sonrası enfeksiyon görülen hastalarda, bir miktar kısıklıkla birlikte, çoğunlukla ağrısız ve stabil bir ekstremitte sağlayan bir sağaltım yöntemidir (67). Total diz protezi sonrası artrodez endikasyonları; işlevsel gereksinim, tek eklem hastalığı, genç hasta, ekstansör mekanizma yırtığı, yumuşak doku rekonstrüksiyonu gerektiren kötü yumuşak doku örtüsü, sistemik immün yetmezlik, toksisitesi yüksek antibiyotik sağaltımı gerektiren mikroorganizma olarak sıralanabilir (73,74).

Göreceli kontrendikasyonlar ise; iki taraflı diz hastalığı, aynı taraf kalça ya da ayak bileği hastalığı, ciddi segmenter kemik kaybı ve karşı ekstremitenin ampute olmuş olmasıdır (42)

Amputasyon, genellikle diz protezi enfeksiyonu sonrasında nadiren başvuru ve hayatı tehdit eden sistemik sepsis ya da yoğun kemik kaybıyla ilişkili inatçı yerel enfeksiyon durumlarında endike olan bir yöntemdir (46). Total diz protezi enfeksiyonu nedeniyle sağaltım yapılan hastaların %5'inden azında amputasyon yapılmıştır (75). Amputasyona neden olan en yaygın etken kronik enfeksiyon sağaltımı için yapılan çoklu revizyon girişimleri, bunun yol açtığı ciddi kemik kaybı ve durdurulamayan ağrıdır (76). Özellikle yaşlı hastalarda amputasyon sonrası hastaların işlevsel durumları iyi değildir. Yapılan bir çalışmada total diz protezi sonrası amputasyon uygulanan 23 hastanın yarısından fazlasının tekerlekli sandalye kullandıkları gösterilmiştir (77).

Reimplantasyon, total diz protezi sonrası enfeksiyon sağaltımında tek veya çift aşamalı revizyon artroplastisi dize işlevsel iyileşme şansı verir. Bununla birlikte tekrar enfeksiyon riski ve kemik kaybı potansiyeli vardır. Genel olarak kabul edilen kontrendikasyonlar; İnmatçı enfeksiyonlar, medikal durumunun bu çoklu rekonstruktif işlemlere uygun olmaması, ekstensör mekanizma rüptürü, kötü yumuşak doku örtünmesidir (42).

Enfeksiyonun ardından reimplantasyon, tek aşamalı ya da iki aşamalı yapılabilir. Direkt değiştirmede başarı, enfeksiyon etkeninin gram pozitif olmasına, yeni protezin fiksasyonu için antibiyotikli çimento kullanılmasına ve revizyon cerrahisi sonrası uzun süre antibiyotik kullanılmasına bağlıdır. Direkt değiştirmede antibiyotikli çimento özellikle önemlidir. Yapılan bir çalışmada 176 dize antibiyotikli çimento kullanılarak yapılan tek aşamalı değiştirmelerin 131 (%74)'inde başarılı olmuştur (68). Bu nedenle tek aşamalı değiştirme özellikle seçilmiş hastalara yeterli deneyime sahip cerrahlarca yapılması önerilmektedir (78,79).

İki aşamalı reimplantasyonun ana dezavantajı birincil rezeksiyonla geç reimplantasyon arasında geçen sürede oluşan ağrı, hareket güçlüğü ve diz instabilitesidir (42,78,79,80,81). Geçici eklem boşluk doldurucuları bu sorunları azaltmıştır. Çeşitli tipte eklem boşluk doldurucuları kullanılmaktadır. Bunlar basit tibiofemoral blok (82), şekillendirilmiş artrodez bloğu (83) ve mobil eklem boşluk doldurucularıdır (84,85). Blok boşluk doldurucuların birincil işlevi yerel antimikrobiyal ajan salınımı ve kollateral bağ uzunluklarının korunmasıdır.

2.4. Metal İyon Katkılı Antimikrobiyal Toz

Bilindiği üzere Ag, Cu, Zn gibi bazı metal iyonları bakterilerin metabolizmalarına girmekte ve enzimlerini etkisiz hale getirmektedirler. Diğer bazı sistemler ise hidrojen peroksit oluşturarak bakterilerin ölmesine sebep olmaktadır. Ancak bu mekanizmalarda açıklanması gereken bazı hususlar bulunmaktadır (93).

Antibakteriyel seramiklerde bir taşıyıcı bünyenin bulunması ve metal iyonlarının yapıya kolay katılması gereklidir. Antibakteriyel seramikler, taşıyıcı bünye baz alınarak; amorf silika, zeolit ve kalsiyum fosfat bünyeli olarak sınıflandırılabilirler. Bu malzemelerin ortak özelliği geniş kristal yapısına sahip olmalarıdır. Böylece metal iyonları sisteme girebilmekte ve bakteriler üzerinde etkin olabilmektedirler (94).

Bu tür seramikler doğrudan insanla temas halinde olabileceklerinden biyolojik uyumluluk göstermelidirler. Daha önce yapılan çalışmalar hidroksiapatitin biyoyumluluğunun yüksek olduğunu belirlemiştir. Ameliyatla yapılan birçok implantasyonlarda insan vücudunun çeşitli yerlerinde hidroksiapatit kullanılmaktadır. Ayrıca, hidroksiapatitin Ag, Cu, Zn vb. metal iyonları ile katyon değişim hızı çok yüksektir (93).

Kimyasal arınma yöntemlerinden çoğunun insan sağlığını tehdit edecek yönde zararları olduğu düşünülerek hazırlanan metal iyon katkılı antimikrobiyal toz üretiminde kullanılan metal iyonu gümüş, taşıyıcı bünye ise bu tür malzemelerin insanla temas halinde olabileceklerinden dolayı kalsiyum fosfattır (151).

Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı antimikrobiyal seramik tozun hazırlanmasında yaş kimyasal yöntem ve nanoteknoloji kullanılmaktadır. Toz yaş kimyasal yöntem kullanılarak sentezlenmekte, filtrasyon ve kurutma işlemlerini takiben toz uygulama alanına göre 200 µm'den 70 µm aralığında istenilen tane boyutuna öğütülmektedir. Üretilen toz uygulama alanlarına bağlı olarak farklı boyut ve miktarda kullanılmaktadır (151).

Metal iyon katkılı antimikrobiyal toz oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptir. Özellikle hastane enfeksiyonlarını önlemek için antimikrobiyal tozun; seramik karo ve sağlık gereci, su ve plastik bazlı boyaların içerisinde belirli

yüzdelerde katılması, çok az miktarlarda dahi antimikrobiyal etki gösterecek niteliktedir (151).

Metal iyon katkılı antimikrobiyal tozun diğer uygulama alanları arasında; hastaya yönelik olarak antimikrobiyal sargı bezi ve antimikrobiyal ayakkabı keçesi bulunmaktadır. Yanık ve yara bakım tedavilerinde, sargı ve pansuman amaçlı kullanılan sargı bezlerinin yüksek oranda enfeksiyon riskine sahip olduğu bilinmektedir. Özellikle açık yaraların pansumanında kullanılacak sargı bezlerinin, %1-3 oranında antimikrobiyal toz emdirilerek hazırlanması, bunlara enfeksiyon riskini ortadan kaldıracak özellik kazandıracaktır (151).

2.5. Gümüşün Antimikrobiyal Etkisi ve Klinikte Kullanımı

Gümüşün mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisi çok eski çağlardan beri bilinmektedir. Eski Romalı ve Yunanlıların, sularının taze kalmasını sağlamak için gümüş kaplar kullanmaları, Avrupada'ki veba salgınında zengin ailelerin kendilerini salgından koruyacağını düşündükleri için gümüş tabaklardan yemek yemeleri, Amerika'daki ilk göçmenlerin, bakterilerin oluşumunu önlemek için su ve süt taşıdıkları kaplara gümüş paralar koymaları bilinen örneklerdir. Yıllar boyu kullanılan antibiyotiklere direnç gösteren bakteri türlerinin ortaya çıkmasıyla günümüzde gümüşün antimikrobiyal olarak kullanımı yeniden ilgi odağı olmuştur. Araştırmalara göre gümüş iyonunun (Ag^+) antibakteriyel özelliği metal halinden (Ag) çok daha etkilidir. Dolayısıyla antibakteriyel etkisi bulunan bir malzeme hazırlayabilmek için, gümüşün iyon halinde bulunabileceği bir sistem hazırlamak gerekir (160).

Gümüş 8. yy.'dan itibaren tıpta birçok alanda kullanım alanı bulmuştur (103). Gümüşnitrat Oftalmia Neonatorum sağaltımında, Gümüş Sulfodiazin yanık ve venöz yetmezlik ülseri bulunan hastalarda enfeksiyonun önlenmesinde, gümüş içeren yara örtüleri yanıklı hastalarda uzun süreden beri kullanılmaktadır (95). Gümüşün ortopedik implantların yüzeyinin kaplanmasında kullanılması birçok araştırmanın konusu olmuştur (96,97). Diğer metal iyonlarında antimikrobiyal etkinliği vardır. Gümüşü tercih etme nedenleri, bakterilere karşı en dirençli olması (direnç sıralaması $Ag>Hg>Cu>Cd>Cr>Pb>Co>Au>Zn>Fe>Mn>Mo>Sn$ şeklindedir), vücuda zararlı etkilerinin daha az olması, daha ucuz ve kolay üretilebilmesidir. Klinik

uygulamalarda en çok kullanılan gümüş birleşeni gümüş nitrattır. Çünkü gümüş nitrat gümüş iyonlarını en çabuk serbest bırakabilen maddedir (98,99,100).

Gümüşün farmasötik etkisine bakacak olursak, gümüş iyonları sülfür, oksijen ve nitrojen içeren elektron verici gruplara güçlü bir şekilde bağlanan yüksek derecede aktiviteye sahip iyonlardır. Ortamdaki esansiyel metal iyonları olan Ca, Zn gibi iyonları uzaklaştırır. Bakteriye DNA'ya bağlanması fosfat ve süksinat tutulumu gibi birçok önemli transport yolunu engeller ve hücre oksidasyon yolağını etkiler (95,101,102). Ayrıca gümüş mikroorganizmadan potasyum salınımına neden olur, sitoplazma ve sitoplazma membranındaki pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. *P. aeruginosa*'nın bölünmesini inhibe eder, hücre zarı ve içeriğini bozar. Virüs etkisi -SH gruplarına bağlanma sonucudur. Mantar gruplarına bağlanarak bunlar üzerinde de etkili olur. Gümüşün bu etkileri konsantrasyon ile ilişkilidir ve konsantrasyon arttıkça etkinliği artar (95). Gümüş kaplı aletlerin antimikrobik etkisi, gümüş iyonu salınım hızı ile koreledir.

Gümüşün stafilokoklar için minimum inhibitör konsantrasyon (MIC)'u 0.5-10 mg/L ve minimal bakterisidal etki konsantrasyon (MBC)'u 2-20 mg/L' dir. *Psödomonas* ve *Gonokoklar*, Stafilokoklara göre daha kolay etkilenirler. Bunun sebebi, gram (+)'lerin müreini (peptidoglikan) duvarının(10 nm), gram (-)'lerin duvarından(2-3 nm) daha kalın olmasıdır. Ag^+ yüksek konsantrasyonda iken bakterisidal etkiyi içeren emilim sürecinde müreini tabakasına geçer, bakterisidal etki gümüş-DNA-şelat kompleksi oluşmasıyla ortaya çıkar. Giderek artan hidrojen iyon konsantrasyonu bakteriyel müreinde yarışmalı olarak Ag^+ ile yer değiştirir (127).

Gümüş iyonlarının biyolojik çevre ile etkileşimi antimikrobik etkide önemli rol oynar. Bu etki üç örnekle ispat edilir. Birincisi; implant yüzeylerde salınımı takiben kan proteinleri emilimi kolayca olur. Üç mol gümüş iyonun 1 mol albumin ile bağlanması gösterilmiştir. Bağlanan Ag^+ lerin artık antimikrobiyal etkiye sahip olmadıkları tahmin edilir. İkincisi; gümüş halojenlerin, çözünürlükleri çok düşüktür. Serbest Ag^+ , klor iyonları ile kanda çözünmez $AgCl$ şeklini alarak çökelti oluşturabilir. 0.15 mg/L den daha yüksek konsantrasyon serbest gümüş iyonunun fiziko-kimyasal başarısı yoktur. Üçüncü olarak ta biyolojik olarak aktif türler, salınım süreçleri ve engelleme güçleri ile gümüş kaplı üriner sondaları başarısızlığa

uğratabilir. Sonuç olarak gümüş kaplı aletler albumin ve klorid ile temas ettiğinde antimikrobiyal etkinliğinin azalmasına rağmen düşük toksik etki ile etki eder (127).

Günümüzde gümüşün klinikte kullanımı; gümüş nitrat Oftalmia Neonatorum sağaltımında, gümüş sülfodiazin yanık ve venöz ülser sağaltımında kullanılmaktadır. Gümüş kaplı aletlerde günümüzde kullanılmaktadır. Gümüş kaplı santral venöz kateterlerin yapılan çalışmalarda enfeksiyonu %50 oranında azalttığı bildirilmiştir. Yine gümüş kaplı üriner kateterlerinde yapılan çalışmalarda enfeksiyonu azalttığı bildirilmiştir (103)

Gümüş kaplı aletlerle ilgili çalışmalarda devam etmektedir. Yara yeri pansumanları ve osteomyelitte kullanılmak üzere geliştirilen gümüş kaplı naylon bezler, kalp ve beyinde kullanılmak üzere tasarlanmış gümüş kaplı sütürler, gümüş kaplı vasküler protezler ve gümüş kaplı ortopedik implantlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir (103).

Gümüşün bu antibakteriyel etkinliğinin yanında bazı istenmeyen toksik etkileride vardır. Sistemik toksisitesi gümüşün alım şekli, miktarı, yaş ağırlık gibi birçok durumdan etkilenir. En önemli toksik etkilerini santral sinir sistemi (güçsüzlük, rijidite, istemli hareketlerin kaybı vb.), kardiyovasküler sistem (aritmi vb.), solunum sistemi (plevral ödem vb.), kemik iliği (Agranülozitozis vb.), cilt (arria vb.) üzerinde gösterir (101,103). Gümüşün en sık görülen yan etkisi argyria' dır. Dokularda(cilt, vb.) mavi-gri renk değişikliği ile karakterizedir, özellikle 19. yüzyılda gümüş madeninde çalışan ve fotoğrafçılarda görülmektedir (130). Argyria ayrıca gümüş içeren sağaltım sonrası da görülebilir (131). Literatürde total gümüş konsantrasyonu 4-6 gramın üzerine çıktığında sistemik argyria' dan bahsedilir. Birçok vakada belirgin artmış gümüş seviyelerine rağmen, gümüş depositleri hastalığa yol açmamaktadır.Yapılan bir çalışmada en fazla gümüş biriken organların karaciğer, dalak ve beyin olduğu saptanmıştır. (97) Gümüş sülfodiazin ile sağaltım sonrasında kondrosit ve fibroblastlarda proliferasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir (138,139).

2.6. Seramik Biyomateryallerin Ortopedi ve Travmatoloji’de Kullanımı

Milyonlarca yıl önce ateşin keşfi ile kilin seramik çanak çömleğe dönüştürülmesi insan topluluklarının göçebe avcılıktan yerleşik tarımsal yaşama geçişinde en büyük faktör olmuştur. Seramiklerin insan yaşamında yarattığı bir diğer büyük devrim ise geçtiğimiz 40 yılda vücudun zarar gören ya da işlevini yitiren parçalarının onarımı, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için özel tasarımı seramiklerin geliştirilmesi ve kullanımı ile gerçekleşmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler biyoseramikler olarak adlandırılmaktadır. Biyoseramikler; polikristalin yapılu seramik (alümina ve hidroksiapatit), biyoaktif cam, biyoaktif cam seramikler veya biyoaktif kompozitler (polietilen-hidroksiapatit) şeklinde hazırlanabilmektedirler. İnorganik malzemelerin önemli bir grubunu oluşturan bu malzemeler, sağlık sektöründe çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Bu uygulamalardan bazıları; ortopedide kemik grefti olarak ya da implant yüzeyini kaplamada, gözlük camları, teşhis cihazları, termometreler, doku kültür kapları, endoskopide kullanılan fiber optiklerdir. Çözünmez gözenekli camlar, enzim, antikor ve antijen taşıyıcı olarak da kullanılmaktadır. Mikroorganizmalara, sıcaklığa, çözücülere, pH değişimlerine ve yüksek basınçlara olan dirençleri bu uygulamalar açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Seramikler, diş hekimliğinde dolgu malzemesi, altın-porselen kaplama ve protez parçaları olarak yaygın bir biçimde kullanılmakta ve diş seramikleri olarak adlandırılmaktadırlar. Biyoseramikler diş tedavisi dışında da sert doku implantı olarak da kullanılmaktadırlar (152,153).

Biyoaktif seramiklerin tıpta kullanılabilme sebebi; yüksek oranda oksidasyonlarına bağlı olarak mükemmel biyouyumluluklarıdır. Metallerle göre avantajları; konak dokuları ile etkileşime girebilmeleri ve bioaktiviteleridir. Seramik kompozitler, tek başlarına veya diğer materyallerle beraber kullanılabilirler. Osteojeni, osteokondüktif ve osteoindüktif özellikler göstererek klinik olarak kullanılmaktadırlar (155).

Biyoaktif seramikler temelde osteokondiktiftirler yani yalnızca kemik olan ortamda kemik oluşumuna yardımcı olurlar. Tek başlarına osteokondüktiftirler ancak taşıyıcı olarak (hücre yada büyüme faktörler vb. için) kullanılırsa osteoindüktif özellik kazanırlar. Kemik hücresi, büyüme faktörleri, ilaçlar-antibiyotik vb., için taşıyıcı olarak kullanılabilirler (156,157).

Biyoaktif seramikler temelde üç alt grup halinde incelenebilir. Bunlar; kalsiyum fosfat ailesi seramikler(hidroksiapatit, trikalsiyum fosfat), biyoaktif camlar ve biyoaktif kemik çimentolarıdır.

Kalsiyum fosfat ailesi seramikler, kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, trikalsiyumfosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ve oktakalsiyumfosfat $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_6$ bu yapılara örnek olarak verilebilir. Hidroksiapatit'in (HA) mekanik özellikleri trikalsiyumfosfat'dan (TCP) daha üstündür. Bükülme ve torsiyonel kuvvetler HA de kırık oluşturabilir. Kalsiyumfosfat bazlı biyoseramikler tıbbın çoğu uzmanlık alanında ve diş hekimliğinde 20 yıldan bu yana kullanılmaktadır. Bu malzemeler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde kemik tozu olarak kullanılmaktadır. Kalsiyumfosfat seramiklerin şekillendirme işlemini takiben sinterlenmesi genellikle $1000-1500^\circ\text{C}$ 'de gerçekleşmektedir. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri değişen hızlarda biyolojik olarak bozunmaktadırlar (153). TCP yaklaşık olarak yılda %35, HA ise yılda %1-3 oranında bozunur (157).

Kalsiyum fosfat seramikleri, gözenekli yapıda da hazırlanabilmektedir. Gözenekli seramik implantların en büyük avantajı; kemik, seramik malzemenin gözenekleri içerisinde büyüdüğünde, oluşan ara yüzeyin mekanik açıdan yüksek kararlılığa sahip olmasıdır. Gözenekli implantlar kemik oluşumu için yapı iskelesi olarak kullanılmaktadır (156).

Mercanların mikro yapısı, kontrollü gözenek büyüklüğüne sahip seramiklerin oluşturulması açısından en ideal malzeme olmalarını sağlamaktadır. Gözenekli malzemeler, her zaman için yığın formlarında daha zayıflar ve artan gözenekliliğe bağlı olarak, malzemenin dayanımı daha da azalmaktadır. Kemik kırıklarını doldurmak için gözenekli sentetik kalsiyum fosfat seramikler kullanılırken, diş implantlarında kaplama olarak gözenekli hidroksiapatit kullanılmaktadır. Gözenekli hidroksiapatitte gözenek boyutu $500\mu\text{m}$ 'ye kadar çıkabilirken, yoğun hidroksiapatit için bu değer maksimum $1\mu\text{m}$ civarında olup, toplam hacmin % 5'ini teşkil etmektedir (156,157).

Hidroksiapatit kemik dolgu malzemesi ve implant malzemelerine kaplanarak kullanılması oldukça yaygın uygulamalardır. FDA'e göre sadece akut travmatik

metafizyel kemik defektlerinin doldurulması için kullanımına izin verilmiştir. Tibia plato ve radius distal uç kırıklarında metafizi desteklemek amacı ile kullanıldığı klinik çalışmalarda otogrefte eşdeğer etkinliği gösterilmiştir. Ancak özellikle açık yaralanmalarda kemik dolgu malzemesi olarak ve tümü vücut içinde olmayan ve uzun süre vücutta kalan implant malzemelerinde kaplama malzemesi olarak kullanıldığı durumlarda enfeksiyon riski ortaya çıkmaktadır.

Hidroksiapatit seramiklerin dezavantajları; küçük tensil kuvvetler karşısında kırılındır. Gözenekler içine kemik büyümesi oluştuktan sonra mekanik özellikleri güçlü hale gelir. Kortikal kemik defektlerinde kansellöz kemiğe göre daha dayanaksızdır. Bu nedenle internal tespit ile desteklenmiş defektlerde yada yüklenmenin olmadığı bölgelerde kullanılabilir.(158)

Diğer biyoaktif seramik biyocam'dır. Silika (SiO_2) temelli seramiklerdir. Cam seramikler Lityum/Alüminyum veya Magnezyum/Alüminyum kristalleri içeren camlardır. Cam seramiklerin heterojen yapılarından dolayı uygulama alanları kısıtlıdır. Biyoaktif camlarda ise silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirebilmektedir (SiO_2 , Na_2O , CaO , P_2O_5). Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşmektedir. Biyoaktif camlar klasik bir üretim süreci ile üretilmelerine karşın her bir üretim basamağında titiz davranılması gerekmektedir. Bunun sebebi son ürünün insan vücudunda kullanılacak olmasıdır. Kimyasal kirlenmeler minimuma indirilmeli, oksit malzemeler yüksek saflıkta seçilmeli, silika yüksek saflıkta ve flint kalitesinde olmalıdır. Biyoaktif camların en önemli özelliği çok yüksek reaksiyon hızına sahip olup doku ile hızlı bir şekilde bağlanmayı sağlamasıdır. En önemli dezavantajları ise düşük mekanik dayanıklılığa ve düşük kırılma tokluğuna sahip olmalarıdır.

Genel olarak baktığımızda tek fazlı biyoaktif camlar örneğin biyocam insan kemiği uygulamalarında gerekli mekanik dayanıklılığı göstermezler. Doğal kemik yapısı bir kompozit olup, hidroksiapatit-hidroksikarbonapatit ana dokusundan oluşan ve organik kalojenler tarafından kuvvetlendirilen bir yapıdır. Bu kemik dokusu örnek alınarak wollastonit (CaO.SiO_2) ve silika zincirleri ile kuvvetlendirilmiş bir seramik cam kompozisyonu üretilmiştir. A/W camları $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5\text{-CaO.SiO}_2\text{-MgO.CaO.2SiO}_2$ bileşenlerinden oluşan bir faz diyagramında görülmektedir. A/W camları elmas işleme aletleri ile vida dahil birçok değişik şekle getirilebilirler. A/W

camları omurlar arası ve kemikler arası dolgu malzemesi olarak kullanılırlar. Diğer bir cam seramik yapısı ise içerisinde mika kristalleri bulunduran ve böylece camın işlenebilirliğini sağlayan işlenebilir ve fosfor içerikli cam seramiklerdir. Bu cam seramikler mikaapatit cam seramikler olarak da adlandırılabilir. Mikaapatit cam seramikleri üç gruba ayrılır; Biyoverit I camları silikofosfat tipi camlardır ve kompozisyonlarında SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , Na_2O , K_2O , F , CaO , P_2O_5 bulunmaktadır. Biyoverit II camları silikat cam grubuna girer ve kompozisyonunda SiO_2 - Al_2O_3 - MgO - Na_2O - K_2O - F bulunmaktadır. Biyoverit II cam seramikte ana kristal yapı olarak mika kristalleri, ikinci kristal yapı olarak kordiyerit kristalleri bulunmaktadır. Yüksek mika içerdiklerinden dolayı Biyoverit I ve Biyoverit II camları kolay işlenebilen camlardır. Biyoverit III camları ise fosfat cam olup, silika içermezler. Kompozisyonunda CaO - Al_2O_3 - P_2O_5 - Na_2O , (ZrO_2 - $\text{FeO}/\text{Fe}_2\text{O}_3$) bulunmaktadır. Biyoverit III'ün yapısında apatit, AlPO_4 ve kompleks fosfat yapıları oluşturulur. Biyoverit III'ün diğerlerinden farkı faz seperasyonuna uğramamasıdır (151).

Biyoseramikler, iskeletteki sert bağ dokusunun onarımı ya da yenilenmesinde kullanılmaktadır. Bu malzemelere olan gereksinim, özellikle ilerleyen yaşa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Yaşlılarda kemikler çok kırılabilir olur; çünkü kemik yoğunluğu ve dayanımı 30 yaşından itibaren azalmaktadır. Bunun sonucunda kemik üreten hücreler, yani osteoblastların yeni kemik üretiminde ve kemikte oluşan mikro çatlakların kapanmasındaki üretkenliği azalmaktadır. Ortalama insan ömrü 80 yıl olarak düşünülürse, 60 yaş civarında bağ dokusu için yedek malzeme ihtiyacı başlamakta ve en azından 20 yıl boyunca biyoseramiklere ihtiyaç duyulmaktadır (159).

Biyoseramiklerin kullanımını sınırlayan nedenlerin en önemlileri, bazı klinik uygulamalardaki yavaş ilerleyen çatlaklar, yorulma ve değişik darbe ve basınçlara dayanımlarının tam olarak bilinmemesidir. Bu olumsuzlukları önlemek için kullanılan iki yeni yaklaşımdan birisi, biyoaktif kompozitler, diğeryse biyoaktif seramiklerle yapılan kaplamalardır (151).

2.7. Tıpta Nanoteknoloji Kullanımı

Latince "nanus" kelimesinden gelen nano kelimesi cüce anlamına gelir. Bilim alanında nano kelimesinin günümüzdeki anlamı ise metrenin milyarda biri anlamına gelen teknik bir ölçü birimidir. Nanometre; bir metrenin milyarda biri ($1 \text{ nano} = 10^{-9}$ metre) ölçüsünde bir uzunluğu temsil eder ve bu da yaklaşık olarak ard arda dizilmiş 3 ya da 5 atom kadar eder (108). Elektron mikroskobunun bulunması ile birlikte, artık malzeme üretirken malzemeyi oluşturan elementlerin atomları üzerinde çalışmalar yapılarak (atomların diziliş biçimleri değiştirilerek) onlara çeşitli şekiller verilmeye başlanmıştır. Günümüzde nano teknoloji yardımıyla maddeyi oluşturan atomların dizilişinde şekillendirmeler yapılabilmektedir. Nano teknoloji; maddenin nanometre ölçeğinde yani moleküler düzeyde denetlenmesi yoluyla gerçekleştirilen işleme, ölçüm, modelleme ve düzenleme gibi çalışmalarla yeni malzeme, cihaz ve sistemlerin tasarlanması ve üretilmesini konu alan bir teknoloji dalıdır (132).

Maddeler nano boyutta farklı davranışlar hata olağanüstü davranışlar gösterir. Olağan halde ışığı ve elektriği iletmeyen maddelerin, nano boyutta tam tersi özellikler göstermesi ve olağan boyutta sert olmayan maddelerin nano boyutta elmadan bile sert bir davranış göstermelerinin anlaşılması, günümüzde nano teknolojiyi gündeme getirmiştir. Malzemeler nano düzeyde küçültüldüğü zaman, normalde görmediğimiz yeni üstün özelliklerin ortaya çıkması; böylece üretilen nano teknoloji ürünlerinin daha dayanıklı, daha hafif ve daha hassas özellikle donatılmış olması günümüzde nano teknolojiyi ilgi odağı haline getirmiştir. Nano teknoloji; sadece üç adet atomdan oluşan küçük bir su molekülünden, hemoglobin gibi oksijen taşıyan bir protein molekülüne ya da DNA zincirine kadar çok geniş bir alanı kapsayan yeni bir teknolojidir.

Nanoteknoloji yaşayan sistemlere moleküler seviyelerde müdahale etme olanağı yaratabilir. Yaşayan organizmalar ile etkileşime geçebilecek boyutlarda araçlar üretilmesi ile birçok yeni teşhis ve sağaltım yöntemlerinin gelişmesi olasıdır. Sadece hastalığın bulunduğu ve veya yayıldığı bölgelere saldırarak ilaç veren makineler, insan vücudu içinde hareket edilmesine imkan sağlayan teşhis araçları, nanoteknolojinin tıp ve sağlık sektörü üzerine potansiyel uygulamaları olarak gösterilebilir (132).

Nanoteknolojik gelişmeler ortopediyi nasıl etkiler diye düşündüğümüzde nano boyuttaki materyallerin implant teknolojisinde kullanılması ile yeni jenerasyon ortopedik implantlar üretilebilir. Bu implantlar antimikrobiyal ve osteokondüktif özellikte olabilir, böylece daha biyouyumlu implantlar üretilmiş olur. Yine nanoteknoloji sayesinde kemiğin ve kırıkdağın yerini alabilecek materyaller üretilebilir. Ameliyat malzemelerini de etkiler. En basitinden daha sağlam ve keskin bistüriler üretilebilir. Nanomembranöz yara örtüleri üretilerek ameliyat sonrası bakteriyel kontaminasyonlar önlenebilir. Nanoteknoloji ilaç alanında da kullanılabilir özellikle kanser ve artrit sağaltımında kullanılabilir (140).

Nanomateryal implantlar özellikle osteobastları etkiliyerek osteokondüktif bir etki oluşturlar, protez yüzeyinde biyoaktif alan oluşturarak adezyonu arttırlar böylece eklem protezlerinin aşınma ve gevşemesini engelleyebilir. Nano seramikler bunun için uygun bir örnektir (57). Günümüzde yaşlı popülasyonun arttığını düşünecek olursak daha uzun ömürlü daha biyouyumlu implantları üretmek zorundayız.

Bu yeni teknolojinin sağlıkta kullanımı ile yan etkiler ortaya çıkabilir. Nanomateryallerin boyutlarının küçük olmasına karşın geniş yüzeyler kaplandığı için riskli olabilir. Çünkü büyük materyallerle kıyaslandığında daha küçük ancak daha yoğundur bu yüzden büyük materyallerden daha toksik olabilir (56). Bu nedenle insanlarda kullanılmadan önce araştırılması gerekmektedir. Nanopartiküller zamanla oksidasyon yada oksidasyon nedeniyle implanttan ayrışabilir ve hücreler üzerinde toksik etki yapabilir. Titanyum ve karbon nanotüplerinde bu etki gösterilmiştir (55).

Kemiğin nanoboyuttaki yapısı incelenerek kemik benzeri greftler oluşturulabilir. Ayrıca nanoteknoloji ile üretilen bistürilerle, düşük penetrasyon, kesi uçlarının düzgün ve pürüzsüz olması ile yaraların daha hızlı iyileşmesi sağlanabilir.

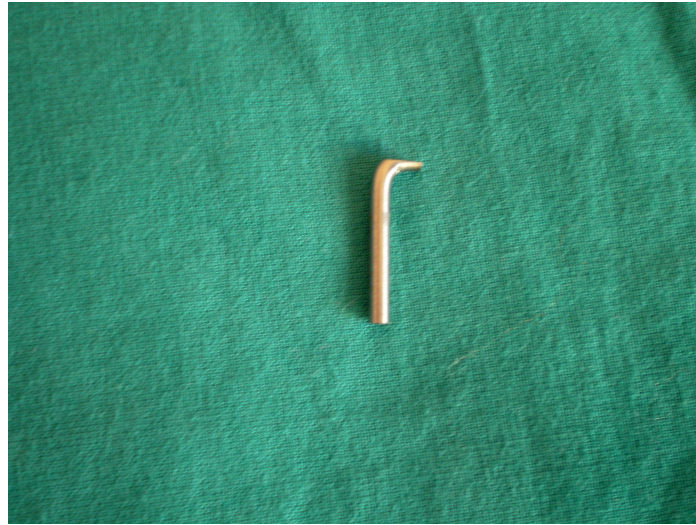
Nanoteknolojinin gelecekteki en önemli uygulaması ilaç alanında olabilir. Kemik tümöründe direk hedef hücrelere etki edebilir. Dünya çapında nanoteknolojiye ayrılan para 2005 yılında 9.5 milyar dolarken, 2010 'da bu rakamın 10 milyar dolar, 2015' te ise 180 milyar dolar olacağı tahmin edilmektedir (54). Bu rakamlara baktığımızda nanoteknoloji şüphesiz ki gelecekte ortopedik alanda çok önemli bir yere sahip olacaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı tarafından, Mikrobiyoloji ve Histoloji Anabilim Dallarının ve Anadolu Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümünün katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde 07.05.2008 tarihli 50 kayıt numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi hayvan deneyleri yerel etik kurulu kararı alınmıştır.

Çalışmada, Osmangazi üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM) hayvan evinde yetiştirilen, ağırlıkları 3-3.5 kg arasında değişen 27 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır. Uygun denek bulmanın zorluğu nedeniyle cinsiyetleri göz önünde bulundurulamamış, erkek ve gebe olmayan dişi tavşanlar seçilmiştir. Tavşanlar TİCAM hayvan evinde standart yem ve su ile beslenmiştir.

2.5 cm uzunluğunda ve 0.2 cm çapında 27 adet Ti6Al4V implantlara özel şekil verilerek basit bir diz protezine benzetilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Özel şekillendirilerek proteze benzetilen Ti6Al4V implant

Anadolu Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümünün laboratuvarlarında Ti6Al4V implantlara antimikrobiyal etki kazandırmak amacı ile gümüş iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı antibakteriyel seramik toz (ABT) ile kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. ABT tozun sentezi için yaş kimyasal yöntem

kullanılmıştır. Metal iyonu olarak Ag^+ , taşıyıcı bünye olarak kalsiyum fosfat kullanılmıştır. Stokiyometrik hidroksiapatit yapısına yakın bir yapı oluşturabilmek için pH sürekli olarak kontrol edilmiştir. Reaksiyon esnasında oluşan çökelti filtreden geçirilip 80 °C 'de kurutulmuştur. Toz üretimi son pH 5.5 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. ABT tozu ile kaplanacak implantlarda ara katman olarak kullanılan 6P57 biyocamın üretimi standart proseslerle gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu implantların kaplanması için kullanılmak üzere Ca/P oranı 1.67 olacak şekilde hidroksiapatit (HA) sentezlenmiştir. ABT tozun antimikrobiyal etkisini ölçmek amacı ile önceden Halo Test Methodu ve Agar Dilüsyon Test Methodu kullanılmış ve antimikrobiyal etkinliği standart bakteri ve mayalar için saptanmıştır (151).

Şekillendirilmiş 27 adet Ti6A14V implantın, tavşan deneylerinde kullanılmak üzere; kontrol grubu olarak kaplanmamış 9 adet Ti6A14V implant ve HA kaplanmış 9 adet Ti6A14V implant, antimikrobiyal olarak biyocam üzerine ABT kaplanmış 9 adet Ti6A14V implant hazırlanmıştır (Şekil 3.2). Kaplama için elektrosprey kaplama yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar elektrosprey ünitesine beslenerek 0.05 ml/dak akış hızında nozula 8 kV voltaj uygulanarak 7 dak. süre ile kaplanmıştır. Kaplanmış numuneler yüksek vakum altında RF (Radyo frekansı) ile sinterlenmiştir. Bu yöntem ve materyalle kaplanmış implantların antimikrobiyal etkinliği in vitro çalışma ile önceden saptanmıştır (154).



Şekil 3.2: Kaplanmamış Ti6A14V implant, HA kaplanmış Ti6A14V implant, ABT kaplanmış Ti6A14V implant

Deneysel enfeksiyon oluşturmak için metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) standart suşu (*S. aureus* ATCC 43300 / Oxoid-İngiltere) kullanıldı. MRSA standart suşun %15 gliserol içeren triptik soya buyyonda -70 oC'de saklanan stok kültüründen %5 koyun kanlı agara pasaj yapılarak 35 oC'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası üreyen kolonilerin MRSA'ya ait ve saf oldukları kontrol edildikten sonra buradan inokülasyon için standart bakteri süspansiyonu hazırlandı. Buna göre önce spektrofotometrik olarak bakterinin steril serum fizyolojik (SF) içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklığı hazırlandı. Mililitrede 108 bakteri (108 CFU/ml) içeren 0.5 McFarland standart bulanıklığı steril SF'le sulandırılarak 104 CFU/ml'lik bakteri süspansiyonu elde edildi. Her bir inokülasyon için bu süspansiyondan 50 µl kullanıldı (inokülüm miktarı: 5×10^2 CFU).

Tavşanlar aşağıda görüldüğü gibi grublara ayrıldı.

Grup1: Kaplanmamış implant

Grup2: Seramik toz kaplanmış implant

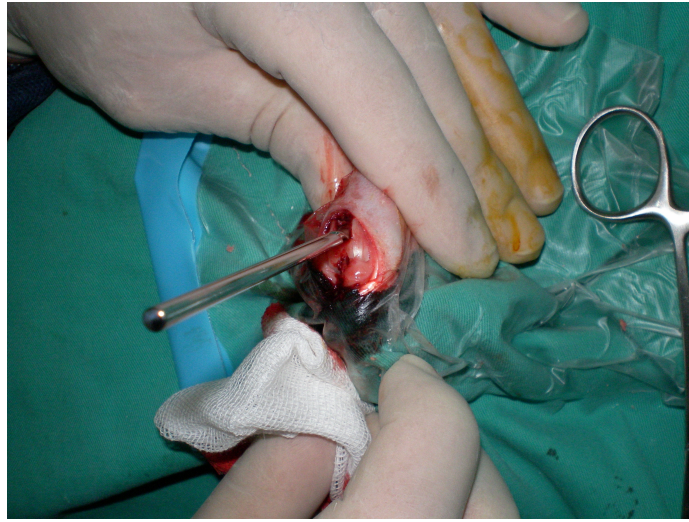
Grup3: Gümüş + Seramik toz kaplanmış implant

Her grupta 9'ar olmak üzere toplam 27 tavşan çalışmaya alındı. Çalışma süresinde grup 1'den iki, diğer iki gruptan birer toplam dört tavşan öldü. Ölenlerin yerine yeni tavşanlar çalışmaya alındı

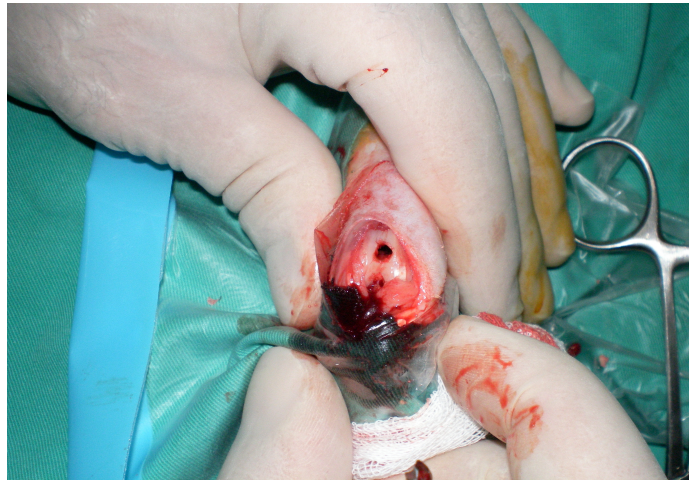
Tavşanlara intramusküler ksilazin hidroklorid(Ronpun® 0.2 mg/kg) ve subkutan ketamin hidroklorür(Ketalar® 10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra tavşanların sol dizi traşlandı ve yıkandı. Betadin ile boyandıktan sonra delikli kompres ile örtülerek drape yapıştırıldı. Patella üzerinden 5 cm lik longitudinal insizyonla girildi, ciltaltı geçildikten sonra medial parapatellar insizyonla eklem açıldı, patella laterale devrilerek femoral çentiğe ulaşıldı, 2mm lik K teli ile femoral kanal açıldı, 2.5 mm lik dril ile genişletildi.(Şekil 3.3,4) İntramedüller kanaldaki kan enjektör ile aspire edildi, 50 µl bakteriyel süspansiyon (inokülüm miktarı: 5×10^2 CFU *Staphylococcus aureus*) kanala verildi (Şekil 3.5) ve implant femoral medüller kanala çakıldı (Şekil 3.6), patella redükte edilip katlar usulüne uygun kapatıldı.

Postoperatif dönemde tavşanlar günlük olarak izlendi. Dizi hareketsiz tutmak için herhangi bir tespit aracı kullanılmadı. 1. , 3. ve 5. gün pansumanları yapıldı, haftalık rektal ateş takibine alındı. Altıncı haftada intrakardiyak 3 cc tiopental sodyum verilerek tavşanlar öldürüldü. Bacaklar kalçadan dezartiküle edilerek diz yan grafileri

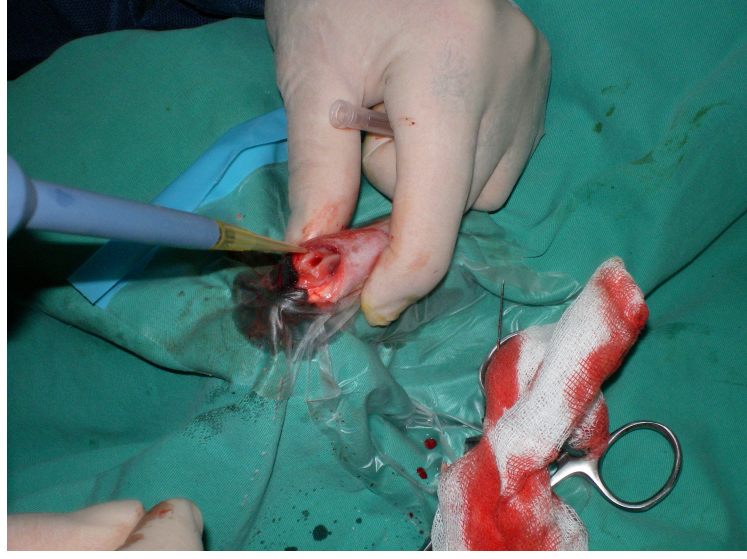
çekildi, implant çevresinde osteoliz olup olmadığına bakıldı. Bacaklar boyanarak steril şekilde örtüldükten sonra diz eski insizyon yerinden açıldı implanta ulaşıldı, implant steril şekilde çıkarılarak vida kapaklı steril tüplere, implanttan ve medülladan alınan sürüntü örnekleri'de eküvyonlu transport besiyerine (Copan/İtalya) alındı, steril ronger yardımıyla kemik örneği'de alınarak vida kapaklı steril tüplere koyuldu bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı ve mikrobiyolojik incelemeleri yapıldı. 3 cm lik femoral bölge kesilerek formaldehid'e koyuldu ve histoloji laboratuvarına ulaştırıldı.



Şekil 3.3 : 2.5 mm dril ile femoral kanalın açılması



Şekil 3.4 : Femoral kanalın açılmış hali



Şekil 3.5 : 50 µl Staf aureus'un (5×10^2 CFU) femoral kanala inoküle edilmesi



Şekil 3.6 : İmplantın femoral kanala çakılmış hali

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örneklerden intramedüller kanal ve implant yüzeyi sürüntü örnekleri, %5 koyun kanlı agara ekildi. Daha sonra implant örnekleri 2 ml steril SF içerisinde 3 dakika süreyle vortekslendi ve kantitatif kültür için implantın içinde bulunduğu sıvıdan (10^0) 0.1 ml alınıp 0.9 ml steril SF'e ilave edilerek 10^{-1} dilüsyonu hazırlandı, bu işleme seri halde devam edilerek 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4}

dilüsyonları yapıldı. Herbir dilüsyondan (10^0 'dan 10^{-4} 'e kadar) 50 μ l alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edildi. Kemik dokusu ise steril koşullarda tartıldıktan sonra içerisinde 1 ml steril triptik soya buyyon olan tüplerin içerisine alındı ve homojenizator ile (Diax 100, Heidolph, Almanya) homojenize edildi. Daha sonra kantitatif kültür için homojenattan (10^0) 0.1 ml alınıp 0.9 ml steril triptik soya buyyon ilave edilerek 10^{-1} dilüsyonu hazırlandı, bu işleme seri halde devam edilerek 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} dilüsyonları yapıldı. Herbir dilüsyondan (10^0 'dan 10^{-6} 'ya kadar) 50 μ l alınıp %5 koyun kanlı agara ekildi. İnoküle edilen tüm %5 koyun kanlı agar plakları aerop ortamda 35 °C'de 48 saate kadar inkübe edildi. MRSA'nın tanımlanmasında Gram boyama, koloni özellikleri (hemoliz, pigmentasyon vb) ve hızlı biyokimyasal testler (katalaz, koagulaz) gibi geleneksel yöntemlerden ve otomatize identifikasyon sisteminden (Phoenix, BD, Amerika) yararlanıldı. İmplant örneklerinin kantitatif kültürleri yapıldığından implantlardaki bakteri sayıları belirlendi. Buna göre sayılabilecek kadar MRSA üremesinin olduğu kültür plakları alınarak koloniler tek tek sayıldı. İmplantın konduğu sıvı miktarı (2 ml) ve dilüsyon kat sayısı dikkate alınarak implantlardaki bakteri sayısı hesaplandı. Kantitatif kültür yapılan kemik dokunun gramı başına düşen koloni (colony forming units/gram = CFU/gr) sayısının belirlenmesi için 30-300 koloni üremiş olan plaktaki koloniler sayıldı ve hesaplamada aşağıdaki formül kullanıldı (Formül 3.1).

$$\frac{N \times D \times F \times 20}{W} = \text{koloni sayısı (CFU/gr)} \quad (3.1)$$

N: Plaktaki koloni sayısı

D: Dilüsyon miktarı (10^{-4} gibi)

F: Dilüsyon faktörü (V+W/W)

V: Buyyon hacmi (ml)

W: Doku ağırlığı

20: sabit sayı (0.05 ml ekim yapıldığı için)

Histoloji laboratuvarına getirilen kemik dokusu örnekleri histolojik izlem için %10'luk formalin fiksativi içerisine alındı. Gerekli küçültme işlemlerinin ardından kemik dokusu örnekleri 5 gün boyunca %10'luk formalinde fiksatif günlük olarak değiştirilerek tespit edildi. Daha sonra kemik dokusunun dekalsifikasyon işlemine geçildi. Bu aşama için 5cc formik asit ve 95cc distile su içeren dekalsifikasyon solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyon arasına tazelenerek kemiğin 10 gün yumuşaması sağlandı. Bu süre esnasında toplu iğne ile kemiğin yumuşayıp yumuşamadığı kontrol edildi. Yumuşayan kemikler 24 saat çeşme suyunda yıkandı. Ardından 80 derece alkolde 12 saat kaldı. 96 derece alkolde ise kurumamasına dikkat edilerek kemik dokusunun takibine devam edildi. Alkol takibinin ardından ksilol aşamasına alınan kemiğin şeffaflaşp şeffaflaşmadığı kontrol edildi.Şeffaflanan kemik dokusu örnekleri ksilol aşamasının ardından parafine alındı. Parafin 4 defa değiştirildi ve her bir parafinde 1 saat bekletilen örnekler parafine gömüldü. Gömme işleminin ardından ışık mikroskopik incelemeler için kemik dokusu örneklerinden 5 mikronluk kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilin-Eozin boyası ile boyandı ve ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.İmplant çevresindeki inflamatuvar yanıt ve gümüşün neden olabileceği toksik yanıtı bakıldı.

Gruplar arasında mikrobiyolojik açıdan yapılan karşılaştırmada istatistiksel analiz olarak ki-kare testi, grupların kendi arasında ikişerli karşılaştırmalarında two proportions testi kullanıldı. Ateş değerlerinin istatistiksel analizinde ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı. $P < 0,05$ anlamlı kabul edildi. Histopatolojik değerlendirme için istatistiksel analiz yapılmadı.

4. BULGULAR

4.1. Ateş

Tüm tavşanların ölçülen rektal ateş ortalaması 38.5 ile 39.5°C arasındaydı. 1. grubun ateş ortalaması 39°C, 2. grupta ateş ortalaması 38.5°C , 3. grubun ateş ortalaması ise 38°C bulundu. 1. ve 3. gruplar arasında anlamlı fark bulundu. ($p < 0,05$) Diğer gruplar arasında istatistiksel fark yoktu. Ateş ölçümleri optimal yapılamadı.

4.2. Mikrobiyolojik Bulgular

Gruplara göre her tavşan için mikrobiyolojik sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir (Tablo 4.1,2,3). Genel olarak bakıldığında grup 3' te tüm kültürlerde üreme diğer iki gruba oranla daha azdı.

Tablo 4.1 : Grup 1'in mikrobiyolojik sonuçları

Tavşan Grup1	Medulla sürüntü Üreme +/-	İmplant sürüntü Üreme +/-	İmplant kültürü Üreme +/-	Kemik kültürü Üreme +/-
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	-	+
6	+	+	+	+
7	-	-	-	-
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+

Tablo 4.2 : Grup 2'nin mikrobiyolojik sonuçları

Tavşan Grup2	Medulla sürüntü Üreme +/-	İmplant sürüntü Üreme +/-	İmplant kültürü Üreme +/-	Kemik kültürü Üreme +/-
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	+	+	+	+
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	+	+	+	+

Tablo 4.3 : Grup 3'ün mikrobiyolojik sonuçları

Tavşan Grup3	Medulla sürüntü Üreme +/-	İmplant sürüntü Üreme +/-	İmplant kültürü Üreme +/-	Kemik kültürü Üreme +/-
1	+	+	+	+
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-

Medulla Sürüntü

Alınan medulla sürüntü örneklerinde 1. grupta 9 tavşanın 8' inde üreme olurken 2. grupta 9 tavşanın 5'ine üreme oldu. Grup 3' te ise 9 tavşanın sadece 1' inde üreme oldu. Grup 3' te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($p=0,005$) (Tablo 4.4). Grupların ikili karşılaştırmalarında two proportion testi kullanıldı. Grup 3'ün grup 2'ye oranla enfeksiyonu anlamlı derecede önlediği saptandı ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.4 : Medulla sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi

enfeksiyon	Grup			Total
	Titanyum Grup1	HA Grup 2	Ag+HA Grup 3	
Medulla Yok	1	4	8	13
Var	8	5	1	14
Total	9	9	9	27

Ki-kare=10,978

SD=2

P=0,005

İmplant Sürüntü

Alınan implant sürüntü örneklerinde, 1. grupta 9 tavşanın 8' inde üreme olurken 2. grupta 9 tavşanın 5'ine üreme oldu. Grup 3' te ise 9 tavşanın sadece 1' inde üreme oldu. Grup 3' te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($p=0,005$)(Tablo 4.5). Grupların ikili karşılaştırmalarında two proportion testi kullanıldı. Grup 3'ün grup 2'ye oranla enfeksiyonu anlamlı derecede önlediği saptandı ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.5 : İmplant sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi

enfeksiyon	Grup			Total
	Titanyum Grup1	HA Grup 2	Ag+HA Grup 3	
İmplant Yok	1	4	8	13
Var	8	5	1	14
Total	9	9	9	27

Ki-kare=10,978

SD=2

P=0,005

İmplant Kültürü

Alınan implant'ın mikrobiyolojik incelenmesinde 1. grupta 9 tavşanın 7' sinde üreme olurken 2. grupta 9 tavşanın 5'inde üreme oldu. Grup 3' te ise 9 tavşanın sadece 1' inde üreme oldu. Grup 3' te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($p=0,025$) (Tablo 4.6). Grupların ikili karşılaştırmalarında two proportion testi kullanıldı. Grup 3'ün grup 2'ye oranla enfeksiyonu anlamlı derecede önlediği saptandı ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.6 : Alınan implantın mikrobiyolojik incelenmesi

enfeksiyon	Grup			Total
	Titanyum Grup1	HA Grup 2	Ag+HA Grup 3	
İmplant Yok	2	4	8	14
Var	7	5	1	13
Total	9	9	9	27

Ki-kare=8,308

SD=2

P=0,025

Kemik Kültürü

Alınan kemik kültüründe, 1. grupta 9 tavşanın 8' inde üreme olurken 2. grupta 9 tavşanın 5'ine üreme oldu. Grup 3' te ise 9 tavşanın sadece 1' inde üreme oldu. Grup 3' te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($p=0,005$) (Tablo 4.7). Grupların ikili karşılaştırmalarında two proportion testi kullanıldı. Grup 3'ün grup 2'ye oranla enfeksiyonu anlamlı derecede önlediği saptandı ($p<0,05$). Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 4.7 : Alınan kemik örneğinin mikrobiyolojik incelenmesi

enfeksiyon	Grup			Total
	Titanyum Grup1	HA Grup 2	Ag+HA Grup 3	
İmplant Yok	1	4	8	13
Var	8	5	1	14
Total	9	9	9	27

Ki-kare=10,978

SD=2

P=0,005

4.3. Radyolojik Bulgular

Her üç grubunda radyolojik incelemelerinde implant çevresi kemikte enfeksiyonu düşündürecek bulgulara (osteoliz) rastlanmamıştır (Şekil 4.1,2,3).



Şekil 4.1 : Grup 1 ' den seçilmiş düz grafi



Şekil 4.2 : Grup 2' den seçilmiş düz grafi

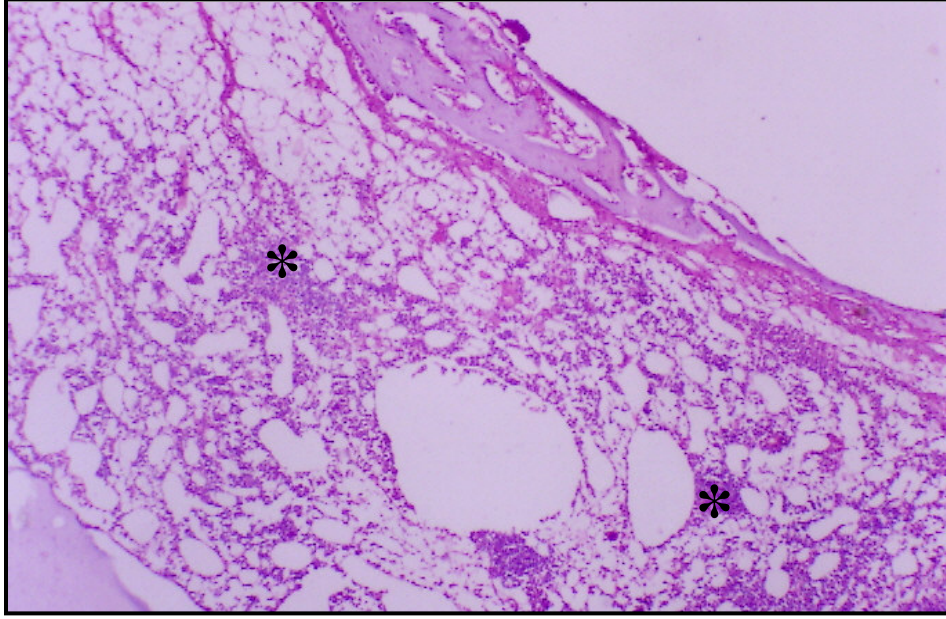


Şekil 4.3: Grup 3'ten seçilmiş düz grafi

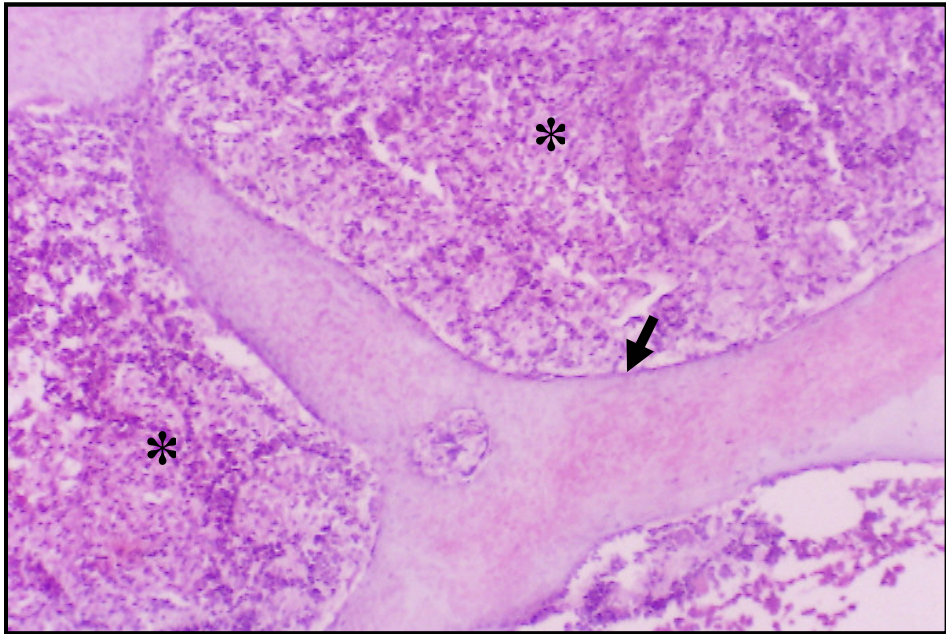
4.4. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik olarak kantitatif değerlendirme ve istatistiksel analiz yapılmadı. Grup1 (Kaplanmamış Ti6A14V implant)' de implant çevresinde ve kemik trabekülleri arasında yoğun hücreli inflamasyon görüldü (Şekil 4.4,5,6,7).

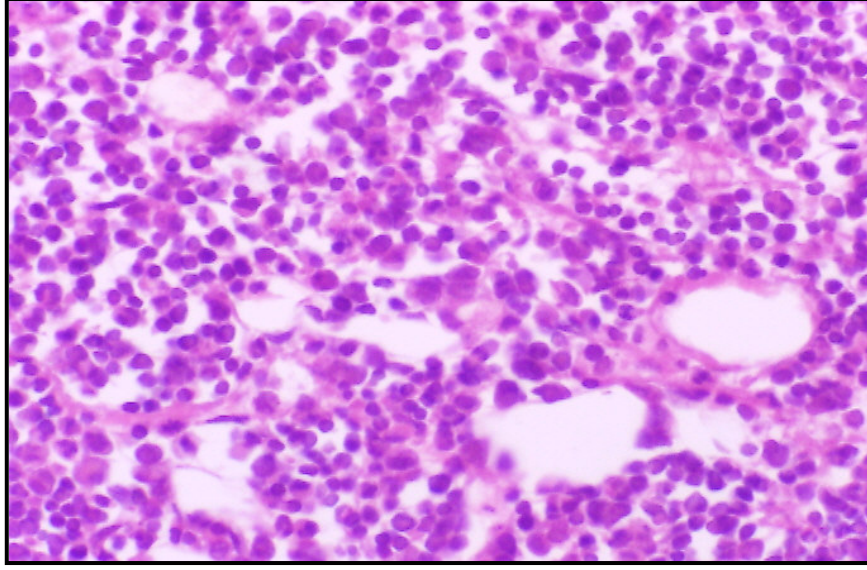
Grup3 (Gümüş ve seramik kaplanmış implant)' de ise implant çevresinde hücreli inflamasyon ve yabancı cisme bağlı granülom izlenmedi. Gümüşün osteoblastlar üzerinde toksik etkisine rastlanmadı. Ayrıca implant çevresinde gümüşten dökülme ve çevre kemik dokusunda aşınma da izlenmedi. Trabeküller ve kemik hücreleri normal olarak izlendi (Şekil 4.8,9,10,11).



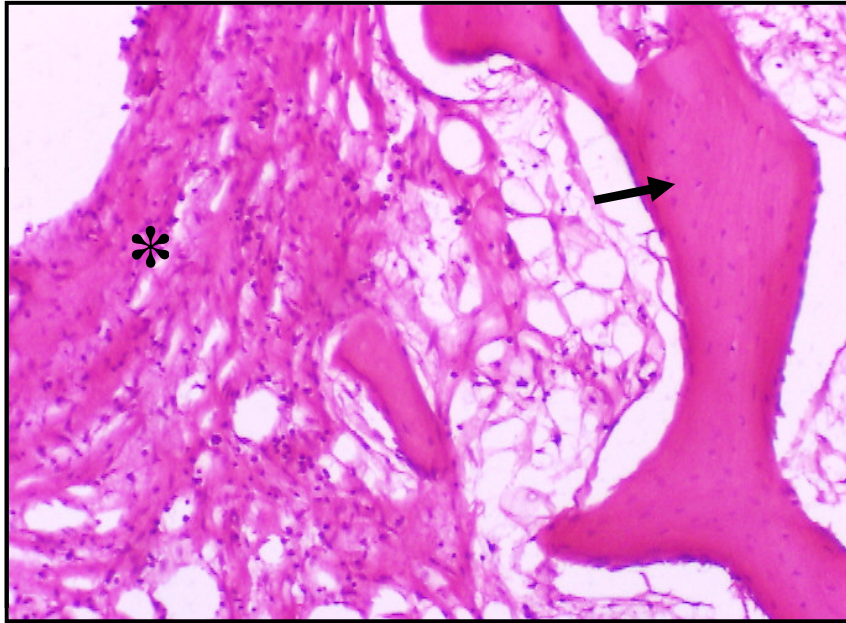
Şekil 4.4 : (Grup1) Bu preparatta implant etrafındaki bölgelerde yoğun hücresel inflamasyon (*) görülmekte.



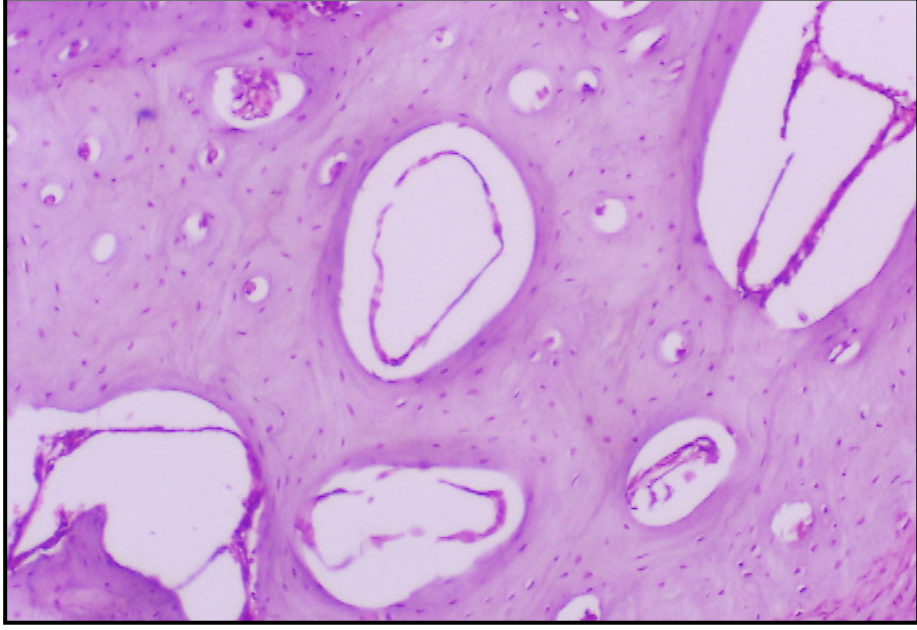
Şekil 4.5 : (Grup 1) Bu preparatta kemik trabekülleri (ok) ve trabeküllerin arasında yoğun hücresel inflamasyon (*) dikkat çekmektedir.



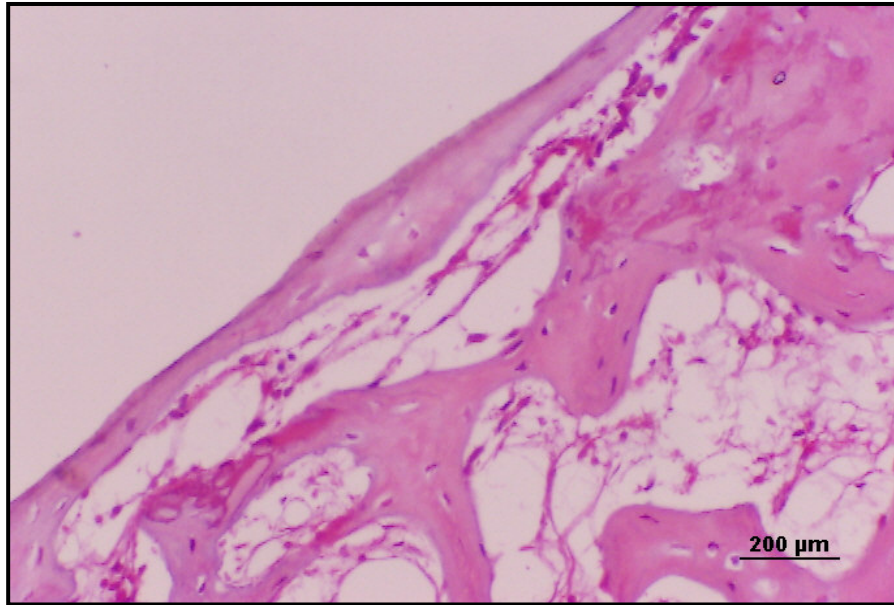
Şekil 4.6 : (Grup 1) Bu preperatta trabeküllerin arasındaki yoğun hücreli inflamasyon büyük büyültmede görülmekte.



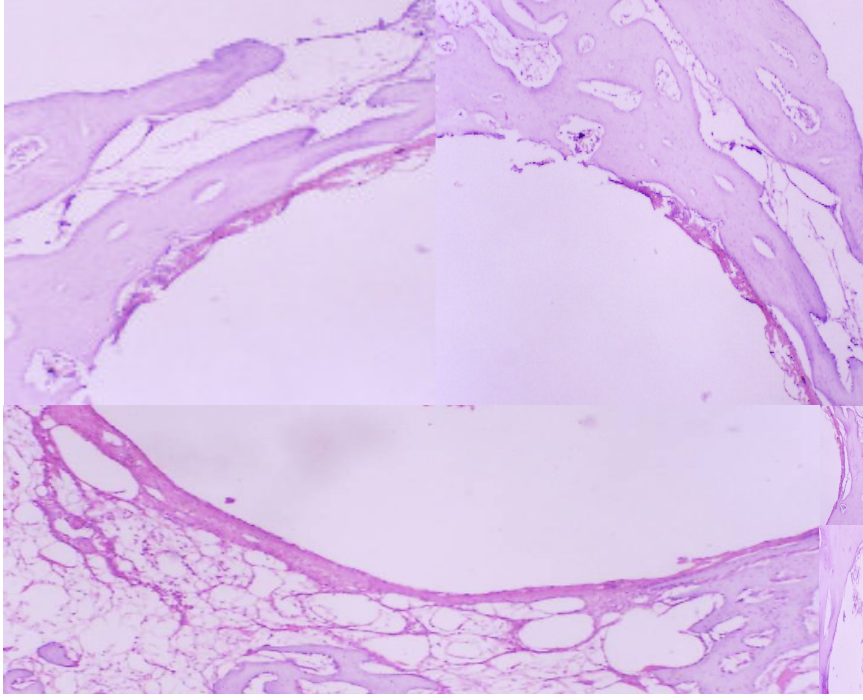
Şekil 4.7 : (Grup 1) Bu preperatta kemik trabekülleri (ok) ve implantın yakınındaki bölgedeki yoğun hücreli inflamasyon (*) dikkat çekmektedir.



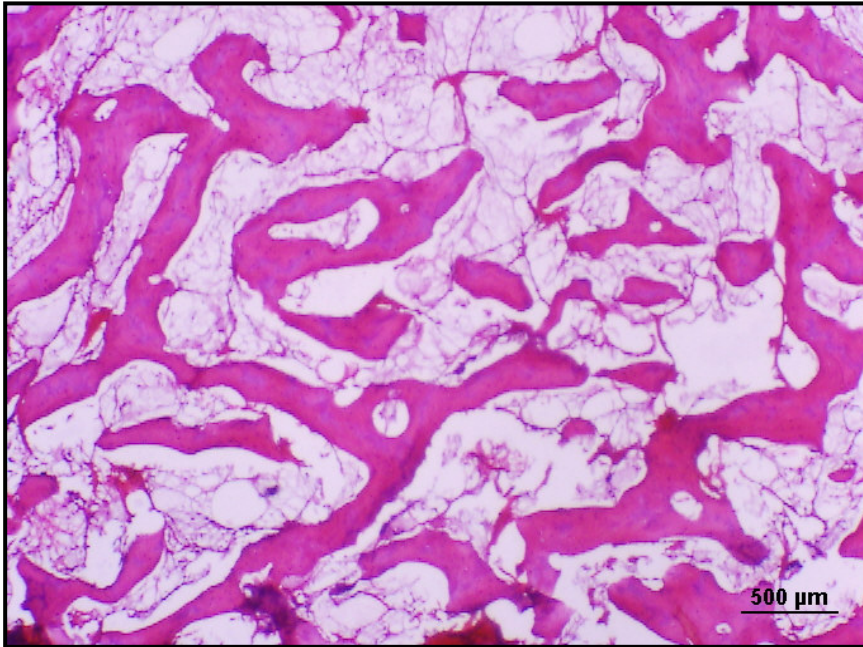
Şekil 4.8 : (Grup 3) Bu grupta kemik lameller yapısı ve osteositlerden oluşan osteonlarının normal olarak gözlemlendiği herhangi bir inflamasyon görülmediği dikkat çekmekte.



Şekil 4.9 : (Grup 3) Bu grupta implant etrafında normal kemik osteonlarının görünümü mevcut, inflamasyon yok.



Şekil 4. 10 : (Grup 3) Bu preperatta implant etrafındaki kemik yapısı normal inflamasyon bulunmamaktadır.



Şekil 4.11 : (Grup 3) Normal görümlü kemik trabekülleri ve trabeküller arası alan

5. TARTIŞMA

Ortopedik implantların kullanımı modern tıbbın gelişmesiyle birlikte giderek artmaktadır. Tüm implant materyalleri vücut için yabancı cisimlerdir ve enfeksiyon riskini arttırmaları (104,105).

Biyomateryal yüzeyine yapışmak için doku hücreleri ile bakteriler arasında bir yarış başlar. İmplant yüzeyinin kaderi bu yarışın sonucuna bağlıdır. Eğer bu yarış doku tarafından kazanılırsa yüzey işgal edilmiş ve savunulmuş olur. Böylece implantın yüzeyi bakterilerin kolonizasyonuna daha az elverişli hale gelir . Aksi halde implant yüzeyi bakteriler tarafından işgal edilecek ve enfeksiyon süreci başlayacaktır (15). Hem kalıcı hemde geçici ortopedik implant enfeksiyonlarında stafilkoklar önemli bir kısmı oluşturmaktadır (105) . Yakın yıllarda, Stafilkoklara bağlı yabancı cisim enfeksiyonlarında virulans faktörleri ve bunun patogeneze katkısı belirlenmiştir (106). En önemli patogeneze, implant yüzeyinde kolonizasyon ve yüzeyin biyofilm ile kaplanmasıdır (106,107). Biyomateryaller üzerinde kolonize olan bu bakteriler, aynı zamanda kalın ve biyomateryallere yapışık biyofilm tabakalar içerisinde de büyürler (12,17). İlk olarak Gristina bir hastasının femur kemiğinden enfeksiyon sonrasında çıkardıkları implantı incelemiş ve implant yüzeyinde glikokaliks kaplı biyofilm tabakalar içerisinde yaşayan bakteriyal mikrokolonileri göstermiştir (18). Cam, seramik ve titanyum gibi materyallerde, biyofilm tabakaların oluşturulması ile yapılan deneylerde, osteointegrasyonun bu biyofilm tabakalar tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (29). Günümüzde Ortopedik cerrahide kullanılmakta olan pek çok implant, bir ya da daha fazla metal ve polimerden oluşmaktadır. Biyolojik ortamdaki biyomateryaller, yabancı cisimler, ölü dokular ve kemikler, implante edildikleri biyolojik ortamda pasif, fizyo-kimyasal olarak ise aktiftirler. Enfeksiyona direnç gösteremezler ve enfeksiyona karşı hassastırlar (9). Klinik deneyimler göstermiştir ki Stafilkok enfeksiyonlarında, konak defans mekanizmaları iyi olsa da, antimikrobiyal etkinliği invitro çalışmalarla kanıtlanmış antimikrobiyal ajan kullanılsa da sağaltım genellikle başarısız olmaktadır, çok az bir kısmında mikroorganizma implanttan uzaklaştırılmaktadır, büyük bir kısmında implantın vücuttan çıkarılması gerekmektedir (104,109). Ortopedik implantlar belirgin morbiditeye yol açmadan çıkarılamamaktadır, bu sebeple bu enfeksiyonların önlenmesi, hasta morbiditesini ve maliyeti azaltmada

önemlidir. Tüm önlemlerin alınmasına karşın internal fiksasyon yapılanların %5-%20'sinde, protez yapılanlarında %0.5-%2'inde enfeksiyon saptanmaktadır. Maliyetinin yılda kişi başı 15000 ile 30000 dolar arasında olduğu saptanmıştır (2,3).

Antimikrobiyal etkisi olan metallerden gümüş, bir çok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Diğer metal iyonlarında antimikrobiyal etkinliği vardır. Çalışmamızda gümüşü tercih etme nedenimiz, bakterilere karşı en dirençli olması (direnç sıralaması $Ag > Hg > Cu > Cd > Cr > Pb > Co > Au > Zn > Fe > Mn > Mo > Sn$ şeklindedir), vücuda zararlı etkilerinin daha az olması, daha ucuz ve kolay üretilebilmesidir (107,110,111,112). Araştırmalara göre gümüş iyonunun (Ag^+) antibakteriyel özelliği metal halinden (Ag) çok daha etkilidir. Dolayısıyla antibakteriyel etkisi bulunan bir malzeme hazırlayabilmek için, gümüşün iyon halinde bulunabileceği bir sistem hazırlamak gerekir. Gümüş iyonunu taşıyabilecek en uygun madde, metal iyonlarının yapıya katılmasını sağlayacak taşıyıcı bünyenin bulunması nedeniyle seramiklerdir (156,157). Taşıyıcı bünye baz alınarak; amorf silika, zeolit ve kalsiyum fosfat (hidroksiapatit) bünyeli olarak sınıflandırılabilirler. Bu malzemelerin ortak özelliği geniş kristal yapısına sahip olmalarıdır. Böylece metal iyonları sisteme girebilmekte ve bakteriler üzerinde etkin olabilmektedirler (94). Bu tür seramikler doğrudan insanla temas halinde olabileceklerinden biyolojik uyumluluk göstermelidirler. Daha önce yapılan çalışmalar hidroksiapatitin biyoyumluluğunun yüksek olduğunu belirlemiştir.(155) Ayrıca, hidroksiapatitin Ag, Cu, Zn vb. metal iyonları ile katyon değişim hızı çok yüksektir (93). Bu sebeplerden dolayı metal iyon katkılı antibakteriyel tozu hazırlarken, metal iyonu olarak gümüşü, taşıyıcı bünye olarak biyoyumluluğu yüksek olduğu için kalsiyum fosfat (hidroksiapatit)'i kullandık.

Yakın zamanlı çalışmalar göstermiştir ki gümüş iyonları yüzey tabakadan salınmakta ve çevredeki dokularda antimikrobiyal etkili konsantrasyona ulaşmaktadır (113). Gümüşün antimikrobiyal etkisi bakteriyel DNA'ya bağlanarak fosfat ve süksinat uptake' i gibi önemli bir transport yolunu engelleyerek hücrel oksidasyon yolağını etkiler (95,101,102). Mikroorganizmadan potasyum salınımına neden olur. Sitoplazma ve sitoplazma membranındaki bir çok enzim gümüşün hedef yeridir, nükleik asitlerle de ilişkiye girer, hücre zarı ve içeriğini bozar, bu sebeple ciddi dönüşümlü veya dönüşümsüz hücre değişiklikleri meydana gelir (110,112). Gümüş

iyonları solunum zincirini inhibe etmekte, mikroorganizmanın aerob mekanizmasına zarar vermektedir (114). Ayrıca virüs ve mantarlar üzerinde de etki gösterir.

Yüzeyi antibiyotik kaplı implantlarla kıyaslandığında, gümüş kaplamanın birçok avantajı mevcuttur. Öncelikle, direnç gelişimi henüz tanımlanmamış, ikinci sırada gümüşün etkisi uzun dönemde devam etmekte (115,116), üçüncü olarak bakterilerin biyofilm oluşturmasını engellemekte ve bakteriyel kolonizasyon olasılığını azaltmaktadır (107,117). Gosheger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 30 tane tavşanın femur diyafizine (15 titanyum ve 15 gümüş kaplı titanyum) protez implante edilmiş. Öncesinde 5×10^2 cfu staf aureus direk inoküle edilmiş, gümüş kaplı implantlarda enfeksiyon oranını anlamlı düşük bulmuşlar, histopatolojik olarak gümüşlü grupta inflamatuvar hücreleri izlememişler aynı zamanda kan CRP, Lökosit sayısı, rektal ateşi de gümüş kaplı implantlarda anlamlı düşük bulmuşlar, toksikolojik olarak kan gümüş düzeyi ve organların histopatolojik incelemesinde gümüşün toksik etkilerine rastlamadıklarını bildirmişlerdir (118). Bizde çalışmamızda 5×10^2 cfu Staf aureus femoral intramedüller kanala direk inoküle ettik ve yine benzer şekilde gümüş kaplı implantlarda enfeksiyonu belirgin ölçüde düşük bulduk. Histopatolojik olarak elimizde somut veriler olmamasına karşın incelemelerde gümüş kaplı grupta inflamatuvar hücreleri izlemedik. Ayrıca gümüşün osteoblastlar üzerinde toksik etkisini de görmedik. Biz çalışmamızda, Gosheger ve arkadaşlarından farklı olarak üç gruba ayırdık, gümüşü taşıyıcı olarak hidroksiapatiti kullandığımız için üçüncü olarak sadece HA ile kaplı bir grupta oluşturduk. Yapılan bazı çalışmalarda sadece HA kaplı eksternal fiksator çivilerinin çivi dibi enfeksiyonu azalttığı gösterilmiştir (149,150). Chen ve arkadaşları (146), 13 mm büyüklüğü ve 0.5 mm inceliğindeki titanyum disklere püskürtme yöntemiyle Ag ve HA kaplamışlar. Bizim gibi üç gruba ayırmışlar kaplamasız titanyum, HA ve Ag-HA, in vitro olarak antimikrobiyal aktivite ve sitotoksiditeye bakmışlar. Mikroorganizma olarak Staf aureus ve epidermidisi kullanmışlar, diğer iki gruba oranla Ag-HA grubunda enfeksiyonu anlamlı derecede düşük bulmuşlar. HA grubunda da saf titanyuma oranla enfeksiyonu daha düşük bulmuşlar. Benzer şekilde bizim çalışmamızda da Ag-HA lı grupta 9 tavşanın sadece 1' inde üreme olurken, HA kaplı da 9 tavşanın 5' inde , kapsız titanyumda da 9 tavşanın 8' inde üreme oldu. Ayrıca Chen ve arkadaşları (146) osteoblastların öncül hücresi olan human embryonic

palatal mesenchyme (HEPM) hücreler üzerinde yaptıkları in vitro sitotoksik çalışmada Ag-HA kaplı implantta, hücede sitotoksiteye rastlamamışlar. Collinge ve arkadaşları (119), 6 koyunun iliak kanatlarına 36 gümüş kaplı, 12 paslanmaz çelik tel yerleştirip staf aureus'u direkt olarak tel yoluna inoküle ettikten sonra enfeksiyon oranındaki azalmayı (%84 ten %62 ye) ispat ettiklerini bildirmişler. Tel bölgeleri iki buçuk haftalıkken bakteri üremesi, inflamasyon ve hareket açısından değerlendirmişler Elektron mikroskopisinde, gümüş kaplı tellerin yüzeylerinde glikokaliks ile korunmuş kolonizasyon sayısının azaldığını tespit etmişler. Yazarlar, bakterilerin gümüş kaplı tellerin yüzeyine tutunmasının, gümüşün telden çevre dokuya filtre olması ile engellendiğini değilde, bakterilerin tel yüzeyindeki glikokaliks membran formasyonunun inhibe edilerek önlendiğini kabul etmişlerdir (119). Benzer bir çalışmada Coester ve arkadaşları gümüş kaplı ve kapsız telleri yan yana ve aynı hastada kullanarak bunları karşılaştırma imkanı olan bir çalışma yapmışlar, bu sayede farklı ortam ve farklı hastalardaki biyolojik ve mekanik farklılıklardan doğan problemleri geride bırakarak tellerin başarısını analiz etmeyi planlamışlar, çalışmaya tibia kırığı olan monolateral eksternal fiksator konulan 19 hasta alınmıştır. Sonuç olarak klinik, radyolojik ve mekaniksel olarak iki tel arasında fark bulamamışlar, ve gümüş kaplı telin lokal olarak filtrasyonla komşu teli etkilemediğini bildirmişlerdir. Ancak çalışmalarının az hasta üzerinde yapılması nedeniyle iki tel arasında enfeksiyon açısından farklılık olasılığının olmadığı kesin olarak denemeyeceği ve daha büyük hasta grupları olan çalışmalarla bu fark araştırılmalı sonucuna vardıklarını bildirmişler (120). Bizde çalışmamızda radyolojik olarak gruplar arasında fark bulamadık, mikrobiyolojik açıdan fark olmasına karşı radyolojik olarak fark olmamasını 6 haftada kemikte radyolojik değişikliklerin görünmesi için erken olduğu kanaatine vardık.

Gümüşün klinikte kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur, randomize yapılan klinik bir çalışmada gümüş alaşım kaplı santral venöz kateterlerin enfeksiyonları %50 oranında azalttığı görülmüştür (121). Akiyama ve Okamoto, hiç bakteriüri epizotları olmayan 102 hasta ile yaptıkları kontrolsüz çalışmada gümüş kaplı üriner kateter kullanımını ilk defa tanımlamışlardır (122). Lundeberg, 52 hasta ile prospektif bir çalışmada gümüş kaplı üriner kateter kullanımını tanımlamıştır. Kontrol grubunun %34'ünde, gümüş kaplı kateter grubun %12' sinde bakteriüri

meydana gelmiştir (123). Liedberg ve Lundeberg 120 hastaya gümüş alaşım kaplı kateter uygulamışlardır ve kateter nedeniyle üriner yol enfeksiyon oranını gümüş alaşım kaplı kateterlerin azalttığını bulmuşlardır (124). Schaeffer ve arkadaşları, spinal kord hasarı veya nörolojik hasarı olan 72 hasta ile, bir gruba gümüş oksit kaplı silikon kateter, diğer gruba kaplamasız silikon kateter kullandıkları randomize bir çalışmada, 36 günlük ve 8 günlük zamanlarda, sırasıyla, gümüş kaplı kateterli grupta %27 ve kontrol grubunda %55 oranında bakteriüri saptamışlardır (125). Johnson ve arkadaşları, 482 hastada yaptıkları randomize ve kontrollü çalışma grubunda kullandıkları gümüş kaplı kateterlerin yalnızca antibiyotik almayan bayan hastalarda koruyucu etkisi olduğunu bulmuşlardır (126). Sonuç olarak serbest iyon konsantrasyonu ile orantılı olarak gümüş iyonlarının geniş bir bakteri spectrumuna karşı antimikrobiyal etkisi olduğuna kuşku yoktur. Fakat albumin ve halojen iyonlarında kapsayan bir ortamda, gümüş iyonlarının antimikrobiyal etkisi, albuminle spesifik absorpsiyon süreci ve çözünmez gümüşkloride dönüşerek çökelmeleri nedeniyle azalmaktadır. Gümüş kaplı aletler sadece serbest iyon konsantrasyonları artarak devam ettiğinde ve albumin ve klorid ile temas ettiğinde mümkün olduğu kadar minimum toksik etki göstererek klinik etkilerini gösterebilir (127).

Sheehan ve arkadaşları (128), tavşanlar üzerinde yaptıkları invivo çalışmada, staf aureus ve staf epidermidisin titanyum, paslanmaz çelik ve kontrol grubu olarakta gümüş kaplı implantlarda adezyon ve biyofilm oluşturma kabiliyetine ve inokülasyon metodlarının etkinliklerine bakmışlar. Tibianın kırılma riski olduğundan tavşanların femurları kullanılmış, direkt inokülasyonun (implante edilecek alanın inokülasyonu) daha etkili olduğunu, Staf aureusun, epidermidise oranla adezyonun ve biyofilm oluşturma kabiliyetinin daha iyi olduğunu saptamışlar. Ayrıca çelik implantta titanyuma oranla %150 daha iyi adhere yüzey oluşmuş bunu titanyumun paslanmaz çeliğe göre daha az elektrokimyasal aktivitesi olmasına bağlamışlar, paslanmaz çelik yüzeyinde daha yüksek serbest enerjiye sahip(>40 mN/m) bu da bakteri hücrelerinin iyonlarının biomateryal yüzeylere bağlanabilmesini sağlamaktadır. Gümüşün biyofim ve adezyon oluşmasını önlemediğini saptamışlar (128). Benzer şekilde bizde çalışmamızda femuru tercih ettik. İnokülasyon yöntemi olarak direk inokülasyonu, enfeksiyon ajanı olarak Staf aureusu kullandık. Eğer biz implantın

elektron mikroskopik incelemesini yapsaydık belki gümüşün biyofilm oluşumunu önlediğini gösterebilirdik.

Gümüşün potansiyel toksisitesiyle ilgili yayınlarda toksisitenin görülebilmesi için nasıl kullanılması ve ne kadar kullanılmasıyla ilgili kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir (129). Literatürde total gümüş konsantrasyonu 4-6 gramın üzerine çıktığında sistemik argyria' dan bahsedilir (110,133,134,135). Femural çivi implantasyonu için gerekli olan gümüş miktarı hesaplanmış (350 mm uzunluğunda, 25 mm kalınlığında , kaplamanın kalınlığı 0,004 mm) toplam 1.154 gr gümüşe denk gelmekte bu nedenle sistemik argyria oluşması neredeyse imkansızdır (118).

Birçok vakada belirgin artmış gümüş düzeylerine karşın, gümüş depositleri hastalığa yol açmamaktadır (130,131,137). Bununla birlikte karaciğerde yağlı degenerasyon yaptığına ilişkin vaka sunumları mevcuttur (136). Gümüş sülfodiazin ile tedavi sonrasında kondrosit ve fibroblastlarda proliferasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir (138,139). Tweden ve arkadaşları, gümüş konsantrasyonlarının 1200 ppb'ye ulaşmadan kültüre fibroblastlar üzerinde etkisinin olmadığını belirtmişler(133). Gümüşün osteoblastlar üzerinde inhibisyon etkisinin olabileceği unutulmamalıdır, yapılan bir hayvan çalışmasında protez steminin gümüşle kaplanması sonrası kemikteki hücresel yanıt incelenmiş, osteoblastları ihibe ederek büyümesini önlediği saptanmış. Başka yazarlarda karşıt olarak gümüşün sitotoksik etkisinin olmadığını ve iyi bir biyouyumluluk gösterdiğini savunmuşlar (141,142,143,144,145). Bizde implant direk gümüşle kaplı değil, kaplama olarak kullanılan seramiğin yaklaşık %3.5 kadarını içeriyor o nedenle toksik olma olasılığının olmadığını savunuyoruz. Çalışmamızda kantitatif değerlendirme ve istatistiksel analiz yapmamıza karşın histopatolojik olarak gümüşün osteoblastlar üzerinde olumsuz bir etkisine rastlamadık. Osteoblastlar, trabeküller tamamen doğal olarak izlendi. Ayrıca yabancı cisme bağlı gelişebilecek olan granülasyon dokusunda izlenmedi, gümüşlü implant çevresindeki kemikte aşınma ve kaplama maddesinden saçılma da gözlenmedi. Kaplamasız titanyum ve HA kaplı grupta implant çevresinde yoğun inflamatuvar hücreler görünürken gümüşlü grupta inflamatuvar hücreler de izlenmedi.

Gosheger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, gümüş kan konsantrasyonunu ortalama olarak 1,88 pbb vermiştir (118). Gümüş seviyesinin 10ppb nin altında

olmasını normal kabul etmişler (110), argyrosis, lökopeni, karaciğer ve böbrek hasarının oluşması için kan seviyesinin 300 pbb nin üstünde olması gerekmektedir (110,133,147). Gümüş kaplı kalp kapağı kullanılan çalışmalarda kan gümüş düzeyi 22 pbb'yi geçmemiştir (110). Gosheger ve arkadaşları yaptığı çalışmada tüm analiz edilen dokularda (karaciğer ve dalak) gümüş seviyesini artmış bulmuşlar, ortalama değer 90,4 ve 27,9 pbb bulunmuş, bu değerlere rağmen organların fonksiyonel parametrelerinde ve histolojik örneklerinde patoloji saptanmamıştır. (118)

Tüm bu çalışmalara karşın kan gümüş düzeyi 300 pbb nin altında olup yan etkinin tanımlandığı bir olgu vardır. 76 yaşında yaşlı bir kadında total kalça protezi için gümüş emdirilmiş sement kullanılmış, protezin yerleştirilmesinden 5 yıl sonra ipsilateral ekstremitede sensomotor defisit gelişmiş, eklem kavitesi ve serumda sırasıyla gümüş düzeyi 103 ve 6.3 pbb imiş (148). Bir çalışmada 30 gümüş intoksikasyonlu hastanın hiçbirinde kas paralizisine rastlanmadı (137). Bizim çalışmamızın eksik yönlerinden birisi kan gümüş düzeyine ve karaciğer, dalak gibi organlarda gümüş depozitlerinin olup olmadığına bakmamamızdır.

Bizim çalışmanın olumlu yönleri, literatürü destekliyor, diğer çalışmalardan farklı olarak biz gümüşü iyon halinde ve çok düşük miktarda kullandık ayrıca direk kaplamadık hidroksiapatit gibi biyouyumlu bir materyalle birlikte toplam gümüş %3.5 olacak şekilde kapladık. Bu sebepten toksik etkilerinin olmayacağını düşünüyoruz.

Çalışmamızın eksik yönleri, tavşanlarda cinsiyet ayırımı yapılmadı, kan gümüş düzeyine bakılmadı, histopatolojik olarak organlarda (Karaciğer, dalak) toksik çalışma yapılmadı, elektron mikroskopisinde implant incelenerek gümüşün biyofilm oluşumu üzerine etkisine bakılmadı ayrıca histopatolojik incelemeler kantitatif değerlendirilmedi ve istatistiksel analiz yapılmadı. Ancak yapmayı planladığımız diğer çalışmalarda bu eksiklikleri gidermeyi düşünüyoruz.

Bu çalışma, ileri hayvan deneyleri ve klinik çalışmalarla desteklendikten sonra yakın gelecekte klinikte sementsiz eklem protezi olarak gümüş ve hidroksiapatit kaplı protezlerin kullanabileceğini düşünüyoruz.

Gümüş kaplı endoprotezlerin maliyeti kaplı olmayanlara göre %5-7 daha fazladır, ancak enfeksiyonun önlenmesi revizyon cerrahilerinin sıklığını da

azaltacaktır, bu nedenle hasta morbiditesini ve hastane maliyetleri de azalacaktır (109,104).

Yakın zamanlı hayvan çalışmalarının ve önceki çalışmaların sonuçları incelendiğinde gümüş kaplı medikal implantların enfeksiyon hızını azalttığı saptanmıştır. Diz protezlerinde de en önemli revizyon sebebinin enfeksiyon olduğu düşünüldüğünde gelecekte gümüş kaplı protezlerin gelişmesinin önemini ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

1. Her üç grupta da ateş ortalamaları yakındı. 1. grup ile 3. grup arasında istatistiksel fark vardı. Ancak ateş ölçümleri optimal yapılamadı.
2. Kemik, implant ve sürüntü örnekleri incelendiğinde gümüşlü grubun antimikrobiyal etkinliği istatistiksel olarak diğer iki gruba oranla daha iyiydi.
3. İmplant çevresindeki kemiğin histopatolojik incelenmesinde, kantitatif bir değerlendirme ve istatistiksel analiz yapılmamasına karşın gümüşün osteoblastlar üzerinde lokal toksik etkisine rastlanmadı.
4. İmplant çevresindeki kemiğin histopatolojik incelenmesinde, kantitatif bir değerlendirme ve istatistiksel analiz yapılmamasına karşın, saf titanyum(grup 1) ve hidroksiapatitli(Grup 2) grupta inflamatuvar hücreler izlenirken, gümüşlü grubta inflamatuvar hücreler izlenmedi, normal kemik hücreleri izlendi.
5. Her üç grubun 6 hafta sonra radyolojik incelenmesinde, implant çevresindeki kemikte patolojik radyolojik bulgu saptanmadı.
6. Gümüş yüklenmiş hidroksiapatit ile kaplı titanyum implantların anti enfektif etkinliği gösterilmiştir.
7. Bu in vivo çalışma, daha yüksek hayvan modelleri ve klinik çalışmalarla desteklenmelidir.

Öneriler:

Yapılan bazı diğer çalışmalar gibi bizim çalışmanın da sonucunda gümüşün antimikrobiyal etkinliği ortaya konmuştur. Günümüzde ortopedik implant kullanımının arttığını göz önüne alırsak, vücuda bakterilerin yapışması ve çoğalması için yabancı bir cisim yerleştirilmektedir. İmplant enfeksiyonunun, hem hasta morbiditesini hemde hastane masraflarını arttırdığı bir gerçektir. İmplantların antimikrobiyal bir ajanla kaplanması ile implant enfeksiyonları engellenebilir. Gümüş geniş antimikrobiyal etki ve düşük yan etkisiyle kaplamaya uygun bir metaldir. Hidroksiapatit gibi biyoaktif yüzey materyali ile birlikte gümüş kullanılırsa hem osteointegrasyonu yüksek hem de antimikrobiyal etkinliği olan bir implant elde etmiş oluruz.

KAYNAKLAR

1. Long, M., Rack, H. J., "Titanium Alloys in Total Joint Replacement", A Material Science Perspective, *Biomaterial* 1998;19:1621-39
2. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *N Engl J Med.* 2004;350:1422-9
3. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *N Engl J Med.*2004;351:1645-54.
4. Insall JN., Clarke HD. Historic development, clasification and characteristics of knee prosthesis. *Surgery of the knee Vol.2 Third ed.* New York, NY:Churchill Livingstone, 2001:1517-52
5. Fehring TK, Griffin WL: Revision of failed cementless total knee implants with cement. *Clin Orthop Relat Res*1988;356:34-38
6. Llinos G Haris, R. Geoff Richards 'Implant coatings to prevent infection' . *AO Dialogue* 2005;18:23-4
7. Rabih O. Darouiche 'Anti-infective Efficacy of Silver-Coated Medical Prostheses' *Clinical infectious Diseases* 1999;29: 1371-7
8. RO Becker and JA Spadaro 'Treatment of orthopaedic infections with electrically generated silver ions. A preliminary report. *J bone Joint Surg Am.* 1978;60:871-81
9. Gristina AG. Biomaterials centered infection. Microbial adhesion versus tissue integration. *Science* 1987; 237:1588-95
10. Dougherty SH, Simmons RL: Infections in bionic man: The pathobiology of infections in prosthetic devices- Part I. *Curr. Prob. Surg.* 1982; 19: 221-264
11. Dougherty SH, Simmons RL. Infections in bionic man: The pathobiology of infections in prosthetic devices- Part II. *Curr. Prob. Surg.* 1982; 19: 269-318
12. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence and the glycocalyx and their role in musculoskeletal infection. *Ort Clin North Am.* 1984; 15:517-35

13. Gristina AG, Hobgood CD, Barth E. in Pathogenesis and clinical significance of coagulase-negative staphylococci, Pulverer G, Quie PG, Peters G, Eds. Stuttgart 1987; pp 143-57
14. Kasemo B, Lausmaa J. Surface science aspects on inorganic biomaterials. CRC Crit.Rev.Biocompat. 1986; 2: 335-80
15. Gristina AG. Biomaterials centered infection. Microbial adhesion versus tissue integration. Science 1987; 237:1588-95
16. Christensen GD, Simpson WA, Beachey EH. in Bacterial Adhesion:Mechanisms and Physiological Significance. Savage DC, Fletcher MM. Eds. (Plenum, Newyork) 1985; pp 279-305
17. Gristina AG, Costerton JW. Bacteria-Laden Biofilms: A hazard to orthopedic prosthesis.Infect. Surg. 1984; 3: 655-62
18. Gristina AG, Costerton JW, Leake E, Kolkin J, Jon and Wright MJ. Bacteria and their relationship to biomaterials. Orthop Trans. 1981; 5: 332
19. D'Ambrosia RD, Hiromu S, Heater R. Secondarily infected total joint replacement by hematogenous spread. J Bone and Joint Surg Am. 1976; 58: 450-3
20. Gristina AG, Kolkin J. Current concepts review. Total joint replacement and sepsis. J Bone And Joint Surg Am. 1983; 65: 128-34
21. Prince A, Neu HC. Microbiology of infections of the prosthetic joint. Orthop Rev. 1979; 8: 91-6
22. Stinchfield FE, Bigliani LU, Neu HC, Goss TP, Foster CR. Late hematogenous infection of total joint replacement. J Bone and Joint Surg Am. 1980; 62: 1345-50
23. Bandyk DF, Berni GA, Theile BL, Townw JB. Aorto-femoral graft infection due to Staf. Epidermitis. Arch. Surg. 1984; 119: 102-8
24. Christensen GD, Simpson WA, Bisno AL, Beachey EH. Adherence of slime-producing strains of Staf. Epidermitis to smooth surfaces. Infection and immun 1982; 37: 318-26

25. Gristina AG, Costerton JW. Bacterial adherence to biomaterials and tissue; the significance of its role in clinical sepsis. *J Bone Joint Surg Am.* 1985; 67: 264-73.
26. Gristina AG, Oga M, Webb LX, Hobgood CD. Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis. *Science.* 1985; 228: 990-3
27. Baier RE, Meyer AE, Natiella JR, Natiella RR, Carter JM, J. Surface properties determine bioadhesive outcomes: Methods and results. *Biomed. Mater. Res.* 1984; 18, 337-55
28. Dankert J, Hogt AH, Feijen J. Biomedical polymers: bacterial adhesion, colonization, and infection. *CRC Crit. Rev. Biocompat.* 1986; 2, 219-301
29. Albektsson T, Arnebrandt T, Larsson K, Nylander T, Sennerby L. in transactions of the 5th european conference on biomaterials. Williams DF, Ed. (Elsevier, Amsterdam), 1985; pp.151- 2
30. Bombelli R, Giangrande A, Malacrida V, Puricelli G. The control of infection in orthopedic surgery. *Orthop Rev.* 1981;10: 67-72
31. Burchholz HW, Elson RA, Engelbrecht E, Lodenkamper H, Röttger J, Siegel A. Management of deep infection of total hip replacement. *J Bone and Joint Surg Br.* 1981; 63; 342-53
32. Eftekhari NS. Wound infection complicating total hip joint arthroplasty. Scope of the problem and its diagnosis. *Orthop Rev.* 1979; 8: 49-64
33. Gristina AG, Costerton JW, Leake E, Kolkin J. Bacterial colonization of biomaterials: Clinical and laboratory studies. *Orthop Trans.* 1980; 4: 355-7
34. Thadani PJ, Vince KG. Surgical technique for posterior cruciate retaining and posterior cruciate substituting total knee arthroplasties. In: Harner MD, Vince KG, Fu FH, editors. *Techniques in knee surgery.* 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2001. p. 209-30.
35. Gill GS, Joshi AB, Mills DM. Total condylar knee arthroplasty. 16- to 21-year results. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;367:210-5.

36. Rand JA, Peterson LF, Bryan RS, Ilstrup DM: Revision total knee arthroplasty. Instr Course Lect. 1986;35:305-18
37. Rand JA: Alternatives to reimplantation for salvage of the total knee arthroplasty complicated by infection. J Bone Joint Surg Am. 1993; 75 :282-9
38. Tözün R, Şener N. Total diz artroplastisi komplikasyonları, revizyon endikasyonları ve çözümler. Ege R (Ed). Diz sorunları. Bizim Büro Basımevi, Ankara, 1998: 451-72.
39. Rand JA: Sepsis following total knee arthroplasty. New York, Raven Press,1993,pp:349-75
40. Zhang HZ, Hackbarth CJ, Chansky KM, Chambers HF: A proteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to beta-lactams in staphylococi. Science2001;291:1962-5.
41. Fiztgerald RH Jr, Nolan DR, Ilstrup DM, Van Scoy RE, Washington JA II, Coventry MB: Deep wound sepsis following total hip arthroplasty. J Bone Joint Surg Am 1977;59:847-55.
42. Leone JM, Hansen AD. Managment of infection at the site of a total knee arthroplasty. J Bone Joint Surg Am 2005; 87: 2336-48.
43. Weis AP, Krackow KA. Persistent wound drainage after primary total knee arthroplasty. J Arthroplasty 1993; 8: 285-9.
44. Zimmerli W, Ochsner PE. Management of infection associated with prosthetic joints. Infection 2002; 30: 99-108
45. Widmer AF, Colombo VE, Gächter A, Thiel G, Zimmerli W. Salmonella infection in total hip replacement: Test to predict the outcome of antimicrobial therapy. Scand J Infect Dis 1990; 22: 611-8.
46. Wahl MJ. Myths of dental induced prosthetic joint infections. Clin Infect Dis 1995; 20: 1420-5.
47. Maurer AH, Chen DCP, Camargo EE, et al. Utility of threephase skeletal scintigraphy in suspected osteomyelitis: Concise communication. J Nucl Med 1981; 22:941-9.

48. Corstens FHM, Van der Meer JWM. Nuclear medicine's role in infection and inflammation. *Lancet* 1999; 354: 765-70.
49. Smith SL, Wastie ML, Forster I. Radionuclide bone scintigraphy in the detection of significant complications after total knee joint replacement. *Clin Radiol* 2001; 56: 221-4.
50. Ivaneeviae V, Perka C, Hasart O, Sandrock D, Munz DL. Imaging of low grade bone infection with a technetium-99m labelled monoclonal anti-NCA-90 Fab fragment in patients with previous joint surgery. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2002; 29: 547-51.
51. Lazeri E, Manca M, Molea N, Marchetti S, Consoli V, Bodei L, Bianchi R, Chinol M, Paganelli G, Mariani G. Clinical validation of the avidin/indium-111 biotin approach for imaging infection/inflammation in orthopaedic patients. *Eur J Nucl Med* 1999; 26: 606-14.
52. Chik KK, Magee MA, Bruce WJ, Higgs RJ, Thomas MG, Alman KC, Van der Hall H. Tc99m stannous colloid labeled leukocyte scintigraphy in the evaluation of the painful arthroplasty. *Clin Nucl Med* 1996; 21: 838-43.
53. Love C, Pugliese PV, Afriyie MO. Utility of F-18 FDG imaging for diagnosing the infected joint replacement. *Clin Positron Imaging* 2000; 3:159.
54. Andrew D. Maynard. Lux Research. *The Nanotech Report 4th Edition: Investment Overview and Market Research for Nanotechnology*. New York, NY: Lux Research Inc; 2006.
55. Sato M, Webster TJ. Nanobiotechnology: implications for the future of nanotechnology in orthopaedic applications. *Expert Rev Med Devices*. 2004;1:105–114.
56. Powell MC, Kanarek MS. Nanomaterials health effects—Part 1: background and current knowledge. *Wis Med J*. 2006;105:16–20.
57. Catledge SA, Fries MD, Vohra YK, Lacefield WR, Lemons JE, Woodard S, Venugopalan R. Nanostructured ceramics for biomedical implants. *J Nanosci Nanotech*. 2002;2:1–20.

58. Love C, Tomas MB, Marwin SE. Role of nuclear medicine in diagnosis of the infected joint replacement. *Radiographics* 2001; 21: 1229-38.
59. Spangehl MJ, Masri BA, O'Connell JX, Duncan CP. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 1999; 81: 672-83.
60. Sanzen L, Carlsson AS. The diagnostic value of C-reactive protein in infected total hip arthroplasties. *J Bone Joint Surg Am* 1989; 71: 638-41.
61. Macdonald DA. The infected joint replacement : prevention, diagnosis and treatment. *Current Orthop* 1995; 9: 21.
62. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR, Mandrekar J, Steckelberg JM, Patel R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004; 117: 556-62.
63. Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop* 2002; 401: 230-8.
64. Hebert CK, Williams RE, Levy RS, Barracck RL. Cost of treating an infected total knee replacement. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 331: 140.
65. Bengston S, Knutson K, Lidgren L. Treatment of infected knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1989; 245: 173-8.
66. Bengston S, Knutson K. The infected knee knee arthroplasty. A 6 year follow up of 357 cases . *Acta Orthop Scand* 1991; 62: 301-11.
67. Guyton JL, Crockarell JR, Jr. Arthroplasty of ankle and knee. *Campbell's Operative Orthopaedics.* 10th ed. St. Louis: Mosby Inc, 2003;243-313.
68. Hanssen AD, Rand JA. Evaluation and treatment of infection at the site of a total hip or knee arthroplasty. *Inst Course Lect* 1999; 48: 111-22.
69. Brandt CM, Sistrunk WW, Duffy MC, Hanssen AD, Steckelberg JM, Ilstrup, Osmon DR. Staphylococcus aureus prosthetic joint infection treated with debridement and prosthesis retention. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 914-9.

70. Deirmengian C, Greenbaum J, Stern J, Braffman M, Lotke PA, Booth RE Jr, Lonner JH. Open debridement of acute gram positive infections after total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2003; 416: 129-34.
71. Dixon P, Parish N, Cross J. Arthroscopic debridement in the treatment of the infected total knee replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2004; 86: 39-42.
72. Falahee MH, Matthews LS, Kaufer H. Resection arthroplasty as a salvage procedure for a knee with infection after a total arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 1987; 69: 1013-21.
73. Damron TA, McBeath AA. Arthrodesis following failed total knee arthroplasty: comprehensive review and meta-analysis of recent literature. *Orthopedics* 1995; 18: 361-65
74. Wiedel JD. Salvage of infected total knee fusion: the last option. *Clin Orthop Relat Res.* 2002; 404: 139-42.
75. Bose WJ, Gearen PF, Randall JC, Petty W. Long term outcome of 42 knees with chronic infection after total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1995; 319: 285-96.
76. Isiklar ZU, Landon GC, Tullos HS. Amputation after failed total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 1994; 299: 173-8.
77. Pring DJ, Marks L, Angel JC. Mobility after amputation for failed knee replacement. *J Bone Joint Surg Br* 1988; 70: 770-1.
78. Silva M, Tharani R, Schmalzried TP. Results of direct exchange or debridement of the infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop* 2002; 404: 125-31.
79. Buechel FF, Femino FP, D'Alessio J. Primary exchange revision arthroplasty for infected total knee replacement: a long term study. *Am J Orthop* 2004; 33: 190-8.
80. Goldman RT, Scuderi GR, Install JN. 2 stage reimplantation for infected total knee replacement. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; 331: 118-24.
81. Haleem AA, Berry DJ, Hanssen AD. Mid term to long term followup of two stage reimplantation for infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 2004; 428: 35-9.

82. Booth RE Jr, Lotke PA. The results of spacer block technique in revision of infected total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.*1989; 248: 57-60.
83. Hanssen AD, Spangehl MJ. Practical applications of antibiotic loaded bone cement for treatment of infected joint replacements. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 427: 79-85.
84. Haddad FS, Masri BA, Campbell D, McGraw RW, Beauchamp CP, Duncan CP. The PROSTALAC functional spacer in two stage revision for infected knee replacements. Prosthesis of antibiotic loaded acrylic cement. *J Bone Joint Surg Br* 2000; 82: 807-12.
85. Hofmann AA, Kane KR, et al. Treatment of infected total knee arthroplasty using an articulating spacer. *Clin Orthop Relat Res* 1995; 321: 45-54.
86. Kloos WE. Staphylococcus. In: Collier L, Balchows A, Susman M (eds). *Topley Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. New York, Oxford University Pres, 1998: 577-632.
87. Noble WC. Staphylococcal Diseases. In: Collier L, Balchows A, Susman M. *Topley Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. New York, Oxford University Pres, 1998: 231-256
88. Moreillon P, Que YA, Glauser MP. Staphylococcus aureus. In: Mandell GL, Bennet JE. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and practice of Infectious Diseases*. Philadelphia, Elsevier, 2005: 2321-2351
89. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray PR, Baron EJ. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, DC, American Society for microbiology, 2003: 384-404
90. Lyon BR, Skurray R. Antimicrobial resistance of staphylococcus aureus: Genetic basis. *Microbiol Rev* 1987;51: 88-134
91. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of staphylococcus aureus. *J.Clin Invest* 2003;11: 1265-73
92. Çetin ET. Staphylococci resistant to methicilin. *Br Med J* 1962;2:51-5

93. Doğan A, Uzgur E, Koparal S, Bayrakçı F. Ceramic: art, science & technology. Turkish Ceramic Society 2001;17:20.
94. Kim TN, Feng QL, Kim JO, Wu J, Wang H, Chen CG, Cui FZ. Antimicrobial effects of metal ions in hydroxyapatite. J Mater Sci Mater Med 1998;9:129-34.
95. Modak K, Fox C. Binding of silver sulfadiazine in the cellular components of *Pseudomonas aeruginosa*. Biochem Pharm 1973; 22: 2392-2404.
96. Schaeffer AJ, Story KO, Johnson SM. Effect of silver oxide/trichloroisocyanuric acid antimicrobial urinary drainage system on catheter-associated bacteriuria. J Urol 1988; 139: 69.
97. Becker RO, Spadaro JA. Treatment of orthopedic infections with electrically generated silver ions. J Bone Jt Surg Am 1978; 60 : 871-9.
98. Zhao, Guojing and S. Edward Stevens, Jr. "Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of *Escherichia coli* to the silver ion." BioMetals 1998; 11: 27-32
99. Gadd GM, Laurence OS, Briscoe PA, Trevors JT. Silver accumulation in *Pseudomonas stutzeri* AG 259. Bio Metals 1989; 2: 168-173.
100. Williams RL, Williams DF. Albumin adsorption on metal surfaces. Biomat 1988; 9: 206-12
101. Petering HG. Pharmacology and toxicology of heavy metals: silver. Pharmacol Ther 1976;1:127–30.
102. Illingworth B, Tweden K, Schroeder R, Cameron JD. In vivo efficacy of silver-coated (Silzone) infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis*. J Heart Valve Dis 1998; 7:524–30.
103. J.M. Schierholz, L.J. Lucas. Efficacy of silver-coated medical devices. Journal of Hospital infection 1998; 40: 257-62
104. Von Eiff C, Proctor RA, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. Pathogens have major role in nosocomial infections. Postgrad Med 2001;110: 63–4, 69–70, 73–6.

105. Brause BD. Infected orthopedic prostheses. In: Bisno AL, Waldrogl FA, editors. Infections associated with indwelling medical devices. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1989: 111-27
106. Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 677–85.
107. Olson ME, Harmon BG, Kollef MH. Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs. *Chest* 2002; 121 : 863–70.
108. International Organization for Standardization. ISO 1000:1992: SI units and recommendations for the use of their multiples and of certain other units. Geneva, Switzerland: ISO; 1992.
109. Herrmann M, Peters G. Catheter-associated infections caused by coagulase-negative staphylococci: clinical and biological aspects. New York: Marcel Dekker; 1997: 157-82
110. Brutel de la Riviere A, Dossche KM, Birnbaum DE, Hacker R. First clinical experience with a mechanical valve with silver coating. *J Heart Valve Dis* 2000; 9 : 123–9; discussion 129–30.
111. Klasen HJ. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I. Early uses. *Burns* 2000; 26: 117–30.
112. Hollinger MA. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Crit Rev Toxicol* 1996; 26: 255–60.
113. Illingworth B, Bianco RW, Weisberg S. In vivo efficacy of silver-coated fabric against *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis* 2000; 9: 135–41.
114. Bragg PD, Rainnie DJ. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. *Can J Microbiol* 1974; 20: 883–9.
115. Jansen B, Rinck M, Wolbring P, Strohmeier A, Jahns T. In vitro evaluation of the antimicrobial efficacy and biocompatibility of a silver-coated central venous catheter. *J Biomater Appl* 1994; 9: 55–70

116. Schierholz JM, Lucas LJ, Rump A, Pulverer G. Efficacy of silvercoated medical devices. *J Hosp Infect* 1998;40:257–62.
117. Boswald M, Mende K, Bernschneider W, Bonakdar S, Ruder H, Kissler H. Biocompatibility testing of a new silver impregnated catheter in vivo. *Infection* 1999;27:38–42.
118. G. Gosheger, J. Hardes, H. Ahrens, Streitburger A, Buerger H. “Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects,” *Biomaterials*. 2004; 25: 5547–56
119. Collinge CA, Goll G, Seligson D, Easley KJ. Pin tract infections: silver vs uncoated pins. *Orthopedics* 1994;17:445–8.
120. Lisa M Coester, MD, James V Nepola, et al. “The Effects of Silver Coated External Fixation Pins ” *Iowa Orthop J* 2006; 26: 48-53.
121. Goldschmidt H, Hahn U, Salwender HJ, Haas R, Jansen B, Wolbring P, Rinck M, Hunstein W. Prevention of catheter-related infections by silver coated central venous catheters in oncological patients. *Zbl Bakt* 1995; 283: 215-223.
122. Akiyama H, Okamoto S. Prophylaxis of indwelling urethral catheter infection: clinical experience with a modified Foley catheter and drainage system. *J Urol* 1979; 121: 40-48.
123. Lundeberg T. Prevention of catheter-associated urinary tract infections by use of silver-impregnated catheters. *Lancet* 1986; 2: 1031.
124. Liedberg H, Lundeberg T. Silver alloy coated catheters reduce catheter-associated bacteraemia. *Brit J Urol* 1990; 65: 379-81.
125. Schaeffer AJ, Story KO, Johnson SM. Effect of silver oxide-trichloroisocyanuric acid antimicrobial urinary drainage system on catheter-associated bacteriuria. *J Urol* 1988; 139: 69-73
126. Johnson JR, Robert PL, Olsen RJ. et al. Prevention of catheter-associated urinary tract infection with a silver oxide-coated urinary catheter: clinical and microbiologic correlates, *R Infect Dis* 1990; 162: 1145-50.

127. J. M. Schierholz, L. C. Lucas Efficacy of silver-coated medical devices *Journal of Hospital Infection* 1998 40: 257-262
128. E. Sheehan, J. McKenna et al. Adhesion of *Staphylococcus* to orthopaedic metals, an in vivo study *J Orthop Res* 2004;22: 39-43
129. Hollinger MA. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Crit Rev Toxicol* 1996;26:255–60
130. White JM, Powell AM, Brady K, Russell-Jones R. Severe generalized argyria secondary to ingestion of colloidal silver protein. *Clin Exp Dermatol* 2003;28:254–6
131. Steininger H, Langer E, Stommer P. Generalized argyrosis. *Dtsch Med Wochenschr* 1990;115(17):657–62
132. Silva GA. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *Surg Neurol*. 2004;61:216–20.
133. Tweden KS, Cameron JD, Razzouk AJ, Holmberg WR, Kelly SJ. Biocompatibility of silver-modified polyester for antimicrobial protection of prosthetic valves. *J Heart Valve Dis* 1997;65:553–61
134. Wan AT, Conyers RA, Coombs CJ, Masterton JP. Determination of silver in blood, urine, and tissues of volunteers and burn patients. *Clin Chem* 1991;37(10 Part 1):1683–7.
135. Perrelli G, Piolatto G. Tentative reference values for gold, silver and platinum: literature data analysis. *Sci Total Environ* 1992;120:93–6.
136. White JM, Powell AM, Brady K, Russell-Jones R. Severe generalized argyria secondary to ingestion of colloidal silver protein. *Clin Exp Dermatol* 2003;28:254–6.
137. Rosenman KD, Moss A, Kon S. Argyria: clinical implications of exposure to silver nitrate and silver oxide. *J Occup Med* 1979;21:430–5.
138. Kuroyanagi Y, Kim E, Shioya N. Evaluation of a synthetic wound dressing capable of releasing silver sulfadiazine. *J Burn Care Rehabil* 1991;12:106–15.

139. McCauley RL, Linares HA, Pelligrini V, Herndon DN, Robson MC, Heggors JP. In vitro toxicity of optical antimicrobial agents to human fibroblasts. *J Surg Res* 1989;46:267–74.
140. Tasker H, Sparey-Taylor G.J., Nokes L.D.M. Applications of Nanotechnology in Orthopaedics. *Clin Orthop Rel Res.* 2007; 456: 243-9
141. Tsai WC, Chu CC, Chin SS, Yao JY. In vitro quantitative study of newly made antibacterial braided nylon sutures. *Surg Gynecol Obstet* 1987; 165: 207-11
142. Greil J, Spies T, Boswald M, Bechert T, Lugauer S, Regenfus A. Analysis of the acute cytotoxicity of the Erlanger silver catheter. *Infection* 1999;27(Suppl. 1):34–7.
143. Bosetti M, Masse A, Tobin E, Cannas M. Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity. *Biomaterials* 2002;23:887–92
144. Hachem RY, Wright KC, Zermeno A, Bodey GP, Raad II. Evaluation of the silver iontophoretic catheter in an animal model. *Biomaterials* 2003;24:3619–22.
145. Oloffs A, Grosse-Siestrup C, Bisson S, Rinck M, Rudolph R, Gross U. Biocompatibility of silver-coated polyurethane catheters and silver-coated Dacron material. *Biomaterials* 1994;15: 753–8.
146. Chen W., Liu Y., Courtney H.S. In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating. *Biomaterials* 27(2006) 5512-5517
147. Chambers C, Proctor C, Kabler P. Bactericidal effect of low concentrations of silver. *J Am Water Works Association* 1962: 208–216.
148. Sudmann E, Vik H, Rait M, Todnem K, Andersen KJ, Julsham K, et al. Systemic and local silver accumulation after total hip replacement using silver-impregnated bone cement. *Med Prog Technol* 1994;20:179–84.

- 149.** Moroni A., Larsen S., Malterello M. A Comparison of Hydroksiapatit-coated, Titanium-coated and Uncoated Tapered External fixatör pins. J Bone Joint Surg Br 1998; 80: 4-6
- 150.** E. Schuyler DeJong, Thomas M., Daniel E. Brooks. Antimicrobial Efficacy of External Fixatör pins coated with a lipit stabilized hydroxyapatite/Chlorhexidine complex to prevent pin tract infection in a goat model. J Trauma. 2001;50: 1008-1014
- 151.** Pekşen C. Metal iyon katkılı Kalsiyum fosfat esaslı antibakteriyel seramik tozun karakterizasyonu ve sitotoksitesinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı Eskişehir, 2006
- 152.** Salyer, Kenneth E. M.D.; Hall, Craig D. M.D. Porous Hydroxyapatite as an Onlay Bone-Graft Substitute for Maxillofacial Surgery. Plast Recons Surg 1989;84:236-44
- 153.** Kattı, S. K., Biomaterials in total joint replacement, Colloids and Surfaces B:Biointerfaces;2004; **39**: 133-42
- 154.** Pekşen C., Köse N., Çaylak R., Doğan A. Ag⁺ İyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz ile kaplanmış Ti6Al4V implantların antibakteriyel etkinliği. 4. Ulusal biomekanik kongresi, Erzurum ,16-17 Ekim 2008.
- 155.** Fleming JE Jr, Cornell CN. Bone cells and matrices in orthopedic tissue engineering. Orthop Clin North Am 2000; 31:357-74
- 156.** Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. Orthop Clin North Am 2000;31:389-98
- 157.** Korkusuz P, Korkusuz F, Hard tissue-biomaterial interactions. In: Yaszemski, Trantolo DJ. Biomaterials in orthopedics. Newyork. Basel, Marcel Dekker, Inc. 2004. p.:1-40
- 158.** Bucholz RW. Nonallograft osteoconductive bone graft subsitutes. Clin Orthop Relat Res 2002;395:44-52

- 159.** Gümüşderelioğlu, M., Yeni Ufuklara, Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik, Tübitak, Temmuz 2002 eki s:20-21
- 160.** Hasırcı N. Gümüş iyonunun antibakteriyel olarak kullanımı. Haber ODTÜ. 2007;17:1-4

