

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GÜMÜŞ KAPLANMIŞ TİTANYUM İNTRAMEDÜLLER
RODLARIN AÇIK KIRIK TEDAVİSİNDE
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI
HAYVANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Remzi ÇAYLAK

Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2010

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GÜMÜŞ KAPLANMIŞ TİTANYUM İNTRAMEDÜLLER
RODLARIN AÇIK KIRIK TEDAVİSİNDE
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI
HAYVANLARDA DENEYSEL ÇALIŞMA

Dr. Remzi ÇAYLAK

Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nusret KÖSE

ESKİŞEHİR
2010

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

Dr. Remzi ÇAYLAK'a ait "Gümüş kaplanmış titanyum intramedüller rodların açık kırık tedavisinde etkinliğinin araştırılması, hayvanlarda deneysel çalışma" adlı çalışma jürimiz tarafından Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:07.06.2010

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Erol GÖKTÜRK Ort. ve Trav. Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof. Dr. Nusret KÖSE Ort. ve Trav. Anabilim Dalı	İmza
Üye	Yrd. Doç. Dr. Ulukan İNAN Ort. ve Trav. Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun .../.../..... Tarih ve .../... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum tez çalışmam süresince değerli vaktini ve tecrübesini benden esirgemeyen başta tez danışmanım Prof. Dr. Nusret KÖSE'ye, Yrd. Doç. Dr. Ulukan İNAN'a, Prof. Dr. Aydın DOĞAN'a, Prof. Dr. Savaş KOPARAL'a, Prof. Dr. Cengiz BAYÇU'ya, Prof. Dr. Mehtap KUTLU'ya, Araş.Gör. Ceren PEKŞEN'e, Yrd. Doç. Dr. Abdurrahman KİREMİTÇİ'ye ve Öğr. Gör. Dr. Dilek BURUKOĞLU'ya teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Çaylak, R. Gümüş kaplı titanyum intramedüller rodların açık kırık tedavisinde etkinliğinin araştırılması, hayvanlarda deneysel çalışma. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir, 2010. Çalışmadaki amacımız gümüş iyon katkılı hidroksiapatit esaslı nano seramik toz (ABT) kaplı titanyum intramedüller rodların açık kırık tedavisinde ki etkinliğini ve kullanılan dozlardaki gümüşün in vivo toksisitesinin araştırılması idi. Ağırlıkları 3-3,5 kg arasında olan 33 adet sağlıklı Yeni Zelanda tipi tavşan çalışmaya alındı. Tavşanlar 11'erli üç gruba ayrıldı. Titanyum rodlar tavşanların sol femurlarına diz bölgesinden retrograd olarak yerleştirildi. Rodlar yerleştirilmeden önce tüm tavşanlarda intramedüller alana 10^6 CFU/ml metisiline dirençli Staphylococcus Aureus(MRSA) bulunan solüsyondan 50µl enjekte edildi. İlk gruba herhangi bir kaplama uygulanmayan rodlar, ikinci gruba hidroksiapatit kaplı rodlar ve üçüncü gruba da ABT kaplı titanyum intramedüller rodlar yerleştirildi. Tavşanlar 10 hafta boyunca izlendi. Girişim öncesinde, girişim sonrası 2., 6., ve 10. haftalarda deneklerden kan alındı. Bu kanlardan kan biyokimyası, tam kan sayımı, C-reaktif protein ve kan gümüş düzeyi çalışıldı. 10. haftanın sonunda tavşanlar öldürülerek sol femurlarında bulunan implantları steril şartlarda çıkartıldı. Sonrasında intramedüller alandan sürüntü kültürü alındı. Çivi üzerinde bulunan bakteriler sayıldı. Tavşanların karaciğer, kalp, dalak, böbrek ve beyin dokularından örnekler alındı. Bu organ doku örneklerinden doku gümüş düzeyleri çalışıldı. Yapılan biyokimyasal ölçümlerde, CRP düzeylerinde ve tam kan sayımlarında başlangıç ve izlemlerde gruplar arasında farklılık saptanmadı.($p>0,05$) Kanda gümüş ölçümlerinde hiçbir tavşanda gümüş saptanmadı. Organlardan yapılan gümüş ölçümlerinde de yine cihazın ölçüm limitleri içerisinde gümüş saptanmadı. Mikrobiyolojik sonuçlar karşılaştırıldığında ABT kaplı implant kullanılan gruptaki enfeksiyon oranlarının diğer gruplar ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu tespit edildi. ($p<0,05$) Bu verilere göre ABT kaplanmış intramedüller rodların açık kırıklarda enfeksiyonun önlenmesinde etkili olduğunu ve kullanılan dozlardaki gümüşün toksik etkisinin olmadığını düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Açık kırık, gümüş kaplama, gümüş toksisitesi

ABSTRACT

Çaylak, R. Determination of silver coated titanium intramedullary rods efficiency in open fractures, invivo study. Eskişehir Osmangazi University, Faculty of Medicine, Department of Orthopaedics and Traumatology, Medical Speciality Thesis, Eskişehir, 2010. The aim of this study was to determine effectiveness of silver doped hydroxyapatite based nano ceramic powder coated titanium intramedullary rods in open fractures treatment and investigate toxicological aspects of silver invivo. In this study 33 healthy New Zealand rabbits which were 3-3,5 kg weight were included. They were divided into three groups which had 11 rabbits each. Titanium rods were implanted left femurs from knee regions with retrograde fashion. Before implantation of rods 50µl solution which was contained 10^6 CFU/ml methicilin resistance Staphylococcus Aureus(MRSA) injected intramedullary canal. In the first group uncoated, in the second group hydroxyapatite coated, and in the third group silver doped hydroxyapatite based nano ceramic powder coated titanium rods were inserted. Rabbits were monitored for 10 weeks. Blood was taken for every rabbits before surgery and on 2nd, 6th and 10th weeks. These blood was analysed for biochemical parameters, blood count, C-reactive protein (CRP) and silver levels. At the end of the 10 weeks rabbits were sacrificed and rods were extracted with sterile fashion which were in left femurs. Later swab cultures were taken from intramedullary canal. Bacteria were counted which were on titanium rods. Liver, heart, spleen, kidney and central nervous tissues samples were taken for silver levels. There were no differences for biochemical parameters, CRP levels and blood counts between groups. ($p>0,05$) Silver wasn't observed in blood samples in any rabbits. Silver wasn't observed in tissue samples in device measurement limits too. When microbiological results were compared between the groups, in group three which were used silver doped hydroxyapatite based nano ceramic powder coated implants low infection rate was observed than the other groups ($p<0,05$). It was concluded that with these datas silver doped hydroxyapatite based nano ceramic powder coated implants are effective for prevent infection in open fractures, and there is no toxicological side effect of silver with this dosage.

Key Words: Open fractures, nano particulate silver coating, silver toxicity

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Açık Kırıklar.....	4
2.2. İntramedüller Çivilerin Tarihçesi.....	8
2.3. İntramedüller Çivi Tipleri.....	11
2.4. Biyoseramikler.....	12
2.4.1. Biyo inert Seramikler.....	13
2.4.2. Biyoaktif Seramikler.....	13
2.5. Ortopedik İmplantların Kaplama Yöntemleri Ve Elektrosprey Kaplama.....	14
2.5.1. Elektrosprey Yöntemi.....	15
2.6. Gümüşün Antimikrobiyal Özellikleri, Etki Mekanizması Ve Toksisitesi.....	18
2.7. Staphylococcus Aureus.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gümüş İyon Katkılı Hidroksiapatit Esaslı Nano Seramik Toz Üretimi.....	23
3.2. Hidroksiapatit Üretimi.....	23
3.3. Biyocam Üretimi.....	24
3.4. Kaplama İçin Solüsyonların Hazırlanması.....	24
3.5. Metalik İmplantların Kaplanması.....	25
3.6. Metalik İmplantların Sinterlenmesi.....	26
3.7. Sinterlenmiş İmplantların Karakterizasyonu.....	26
3.8. Enfeksiyon Ajanı.....	29
3.9. Deney Hayvanları.....	29

3.10. Cerrahi Yöntem.....	30
3.11. Mikrobiyolojik İnceleme.....	34
3.12. Histopatolojik İnceleme.....	35
3.13. Kanda Gümüş İyonlarının Tespiti.....	36
3.14. Organlarda Gümüş İyonlarının Tespiti.....	36
3.15. İstatiksel Analiz.....	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. Biyokimyasal Ölçüm Sonuçları.....	38
4.2. Hematolojik Sonuçlar.....	43
4.3. Kan Gümüş Düzeyi Sonuçları.....	46
4.4. Organ Gümüş Düzeyi Sonuçları.....	46
4.5. Mikrobiyolojik Sonuçlar.....	46
4.6. Histopatolojik Sonuçlar.....	47
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ag ⁺	Gümüş iyonu
ABT	Gümüş iyon katkılı hidroksiapatit esaslı nano seramik toz
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Transaminaz
AST	Aspartat Transaminaz
BUN	Kan Üre Azotu
CFU	Colony Forming Unit
CK	Kreatin Kinaz
Cr	Kreatinin
CRP	C-Reaktif Protein
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
E.Coli	Escherichia coli
EDX	<i>Energy-dispersive X-ray spectroscopy</i>
GGT	Gama Glutamil Transaminaz
HA	Hidroksiapatit
Hgb	Hemoglobin
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
LDH	Laktat Dehidrogenaz
MRSA	Metisilin Rezistans Staphylococcus aureus
P. Aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
PMMA	Polimetilmetakrilat
RF	Radyofrekans
S. Aureus	Staphylococcus aureus
S. Epidermidis	Staphylococcus epidermidis
TCP	Trikalsiyumfosfat
TİCAM	Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi
TP	Total Protein
TSST	Toksik Şok Sendromu Toksini
XRD	X ışınları difraktometrisi
WBC	Beyaz Küre Sayısı

ŞEKİLLER

	Sayfa
1.1. Dikey elektrosprey kaplama ünitesi	16
3.1. HA ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği	24
3.2. ABT ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği	25
3.3. 6P57ABT ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği	25
3.4. 25mm uzunluğunda ve 2mm çapında Ti6Al4V implant	26
3.5. Kaplanmış implant	26
3.6. HA ile kaplanmış örneklerin SEM görüntüleri	27
3.7. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri	28
3.8. HA ile kaplanmış numunelerin EDX analizi	28
3.9. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış numunelerin EDX analizi	29
3.10. Femur interkondiler bölgeden 2,5mm lik dril ucu yardımı ile giriş deliğinin açılması	31
3.11. Bakteri inokulasyonu	31
3.12. İmplantın femur medullasına yerleştirilmesi	32
3.13. İntramedüller alana yerleştirilmiş olan implantın görünümü	32
3.14. İnterkondiler bölgede var olan deliğin kemik mumu yardımı ile kapatılması	33
4. 1. Grup 3'ten seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek	48
4. 2. Grup 2'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek	49
4. 3. Grup 1'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek	50
5.1. İnkübasyon sonrası kaplanmamış titanyum implantın farklı büyütmelerde SEM görüntüleri	58
5.2. İnkübasyon sonrası HA ile kaplanmış titanyum implantın farklı büyütmelerde SEM görüntüleri	58
5.3. İnkübasyon sonrası ABT ile kaplanmış titanyum implantın farklı büyütmelerde SEM görüntüleri	59
5.4. Grup 3'ten seçilen kemik örneğinin elektron mikroskopik görüntüsü	67
5.5. Grup 2'den seçilen kemik örneğinin elektron mikroskopik görüntüsü	68
5.6. Grup 1'den seçilen kemik örneğinin elektron mikroskopik görüntüsü	69
5.7. Kemik içerisinde implant varken yapılan kesim sonrası incelenen örnek	70

TABLOLAR

	Sayfa
4.1. Serum BUN seviyeleri	38
4.2. Serum Cr seviyeleri	39
4.3. 0., 2. ve 6. haftalarda serum ALT seviyeleri	39
4.4. 10. hafta serum ALT seviyeleri	40
4.5. Serum AST seviyeleri	40
4.6. Serum GGT 0. ve 10. hafta seviyeleri	40
4.7. Serum GGT 2. ve 6. hafta seviyeleri	41
4.8. Serum total protein seviyeleri	41
4.9. Serum LDH 0. hafta seviyeleri	42
4.10. Serum LDH 2., 6. ve 10. hafta seviyeleri	42
4.11. Serum ALP 0. hafta seviyeleri	42
4.12. Serum ALP 2., 6. ve 10. hafta seviyeleri	43
4.13. CK 0. ve 6. hafta seviyeleri	43
4.14. Serum CK 2. ve 10. hafta seviyeleri	43
4.15. Kan Hgb seviyeleri	44
4.16. Kan WBC sayımları	44
4.17. Kan trombosit sayımları	45
4.18. 0., 2. ve 10 hafta serum CRP seviyeleri	45
4.19. 6. hafta serum CRP seviyeleri	46
4.20. İntramedüller sürüntü kültürü sonuçları	46
4.21. İmplant üzerinden yapılan kantitatif kültür sonuçları	47
4.22. Histolojik örneklerin enflamasyon bulgularına göre incelenmesi	47
4.23. Histolojik örneklerin fibröz doku oluşumuna göre incelenmesi	48

1. GİRİŞ

Açık kırık deri ve altında bulunan yumuşak doku bütünlüğünün kaybolduğu, bu nedenle kırık hattının dışarıya ile bağlantılı olduğu kırıklardır(1). Kırığa eşlik eden yumuşak doku yaralanması mikroorganizmaların daha kolay bir şekilde bölgeye ulaşmasına ve tutunmasına neden olur. Bu nedenle de açık kırıklarda enfeksiyon sıklığı artmıştır(2). Kırık bölgesinin enfeksiyonu kırığın kaynama şansını azaltır. Açık kırıklarda ilk hedeflerden birisi enfeksiyonun önlenmesidir. Açık kırıklı hastalardaki enfeksiyon sıklığı yumuşak doku yaralanmasının düzeyi ile ilişkilidir. Tip I açık kırıklarda enfeksiyon oranı %0-2 iken Tip II açık kırıklarda %2-7, Tip IIIA açık kırıklarda %7, Tip IIIB açık kırıklarda %10-50 Tip IIIC açık kırıklarda %25-50 düzeyindedir(2). En sık görülen açık uzun kemik kırığı tibia kırıklarıdır. Açık alt ekstremitte kırıkları üst ekstremitte kırıklarına göre daha sık görülmektedirler(3).

Açık kırıklarda enfeksiyonun önlenmesi acil serviste başlar. Hayatı tehdit edebilecek sorunlar ortaya konduktan ve çözüme ulaştırıldıktan sonra kırık uygun bir dizilime alınmalı, atel gibi geçici bir yöntemle sabitlenmelidir(4). Sistemik antibiyotikler enfeksiyon oranlarını azalttığı için mutlaka kullanılmalıdır(1,5). Sonrasında engel bir durum yoksa hasta ameliyathaneye alınmalı, yara yeri yıkanmalı, nekrotik dokular ve yabancı cisimler yaralanma bölgesinden uzaklaştırılmalıdır(5). Kırık uygun bir dizilime alındıktan sonra mutlaka sabitlenmelidir. Bu sayede kırık hattındaki hareket engellenerek kırık uçlarının yumuşak dokuları daha fazla zarar vermesi ve mikroorganizmaların yayılımı engellenir. Ayrıca venöz dönüşü artırarak travma sonrası ödem ve sertlik oluşumunu engeller(4,5). Kırığın sabitlenmesi amacıyla alçı veya atel uygulaması, eksternal fiksasyon, intramedüller çivi ve plak vida uygulaması seçilebilir(1). Seçilecek olan sabitleme yöntemi sağaltım etkinliği ve başarısını önemli ölçüde etkiler.

Uzun kemiklerin cisim kırıklarında intramedüller çiviler ilk tedavi seçenekleridir. Kapalı yöntemle uygulanabiliyor olması, minimal yumuşak doku yaralanmasına gerek duyulması, periosta zarar verecek girişimlere gerek duyulmaması, yüksek kaynama ve düşük komplikasyon oranları bunda en önemli etkenlerdir(6-8). Önceleri açık kırıklarda kullanımı önerilmedi de özellikle son zamanlarda bu kırıklarda da

kullanımı giderek artmıştır ve literatürde başarılı sonuçlar bildirilmektedir(5). İntramedüller çiviler açık kırıklarda erken dönemde kullanılabilceği gibi geçici eksternal fiksator veya atel uygulamasından sonrada uygulanabilir. Ancak eksternal fiksator sonrasında uygulanmasının enfeksiyon sıklığını artırdığına dair yayınlar vardır(5,9).

Enfeksiyon profilaksisi amacıyla lokal antimikrobiyal ajanların kullanımı son zamanlarda giderek artan bir ilgi uyandırmaktadır. Bu amaçla kullanılan ajanlardan biriside gümüş iyonudur. Gümüşün medikal kullanımı eskiden beri bilinmektedir. Oftalmia neonatorum profilaksisinde ve yanıklı hastalarda yara yeri bakımında gümüş uzun zamandan beri kullanılmaktadır(10,11). Yeni olan gümüşün medikal implantların yüzey kaplamasında kullanılmasıdır. Bu amaçla santral venöz katater, üriner katater ve ortopedik implantların yüzey kaplamasında gümüş kullanımına ait araştırmalar bulunmaktadır(12-15).

Gümüş iyonu (Ag^+) yapısında sülfür, oksijen veya nitrojen içeren elektron verici gruplara güçlü bir şekilde bağlanarak yüksek kimyasal aktivite gösterir. Biyolojik moleküller genellikle bu bileşenleri *thio-*, *amino-*, *imidazole*, *carboxylate-* ve *phosphate* grupları içerisinde bulundurur(16). Gümüş iyonunun (Ag^+) bakteriyel DNA ya bağlanması fosfat, süksinat alımı gibi birçok önemli transport sürecini inhibe eder ve ayrıca hücre sel solunumu olumsuz yönde etkiler. Antibakteriyel etkinlikten temel olarak bakterinin *thio-* grupları ile etkileşmesi sorumludur. Bu gruplar daha çok bakteri DNA'sında bulunur(17). Gümüşün antibakteriyel etkinliği gümüş konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Yüksek gümüş konsantrasyonlarında antibakteriyel etki artar(16). Gümüş birçok bakteriye karşı antibakteriyel etki gösterir(16–20). Kemik ve cerrahi alan enfeksiyonlarında önemli bir sorun olan *Staphylococcus aureus* bu bakterilerden birisidir.

Gümüşün toksik etkileri prokaryotik hücrelerde ökaryotik hücrelere göre daha fazla görülür Çünkü ökaryotik hücreler daha büyüktür ve gümüş iyonları için daha büyük bir hedefdir. Bu nedenle toksik etkinin ortaya çıkabilmesi için daha yüksek gümüş konsantrasyonu gerektirir. Bu farklılık tedavi penceresini sağlar. Bakterilerde hücre sel enerji üretimini sağlayan elektron transport zinciri hücrenin dış kısımlarında bulunur. Gümüş iyonları buraya kolayca ulaşabilir. Ökaryotik hücrelerde ise elektron transport zinciri mitokondrilerde bulunur. Mitokondriyal proteinlerin inaktive

edilebilmesi için daha yüksek konsantrasyonda gümüş gereklidir. Çünkü hücre membranı geçilmesi gereken ilk engeldir. Ayrıca ökaryotik hücrelerde prokaryotlara göre daha fazla sayıda mitokondri bulunur. Bu nedenle bakteri enerji üretim sistemi gümüşten etkilenirken aynı konsantrasyonlarda ökaryotik hücreler etkilenmez(21).

Gümüşün internal kullanımını sınırlayan en önemli etken toksik etkileridir. Deri, dişeti, kornea, karaciğer, böbrek, adrenal bez, dalak, sinir sistemi ve kas dokusunda birikebilmekte ve bu organlarda istenmeyen etkiler gösterebilmektedir(22-27). Gümüş toksisitesinin en sık görülen klinik görünümü argyria'dır. Argyria'da gümüşün deri, dişeti, kornea ve iç organlarda birikmesi ile mavi-gri bir renk değişikliği görülür ve bu renk değişikliği geri dönüşümsüzdür(24,27). Gümüşün bu toksik etkilerinin görülebilmesi için vücutta normal değerlerinin yüzlerce katına çıkması gerekmektedir(24). Gümüşün vücutta bu düzeylere çıkması gümüş içerikli ilaçlarda bulunan gümüş oranının yüksek olması nedeni ile eskiden olası iken günümüzde düşük gümüş oranları nedeni ile bu risk oldukça azalmıştır.

Biyoseramikler vücudun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının tamiri, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için geliştirilmiş özel yapıdaki seramiklerdir(28). Ortopedide kullanılan seramikler implante edildiği kemik dokunun yanıtına göre; biyo inert ve biyoaktif seramikler olarak sınıflandırılabilirler. Biyoaktif seramikler kemik grefti olarak yada implant yüzeylerini kaplamada kullanılırlar(29). İmplant yüzeylerini kaplamada kullanılmasıyla implant-kemik tutunmasını güçlendirirler(29). Biyoaktif seramikler gümüş gibi antimikrobiyal ajanların lokal kullanımında taşıyıcı olarak kullanılabilirler(18).

Açık kırıkların tedavisinde kırığın sabitlenmesi amacıyla ortopedik cihazların kullanımı vazgeçilmez bir gerekliliktir. İntramedüller çiviler de kırık tedavisindeki yüksek etkinliği nedeniyle artan sıklıkta kullanılmaktadır. Açık kırıklarda tedavi esnasında ortaya çıkabilecek olan enfeksiyon sağaltım başarısını, süresini ve maliyetini olumsuz yönde etkilemektedir. Antimikrobiyal etkinliği olan gümüşün yüzey kaplamasında kullanılmasıyla enfeksiyonun bu olumsuz etkilerinden korunulabilir. Bu amaçla gümüş kaplanmış titanyum intramedüller rodların etkinliğini ve toksisitesini araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Açık Kırıklar

Açık kırık deri ve altında bulunan yumuşak doku bütünlüğünün kaybolduğu, bu nedenle kırık hattının dışarıya ile bağlantılı olduğu kırıklardır(1). Kırığa eşlik eden yumuşak doku yaralanması bazı özel durumların ortaya çıkmasına neden olur(1). Bunlar; yaralanma bölgesi dış ortamda bulunan bakteriler ile kontamine olabilir, etkilenen ekstremitayı çevreleyen ve kemiği saran fasya ve kas dokularının kan dolaşımının bozulması ekstremitayı enfeksiyona daha duyarlı hale getirir, kemiği çevreleyen yumuşak dokunun hasarlanması hekimin sağaltım seçeneklerini etkiler, kırık bölgesinin yumuşak dokusunun olmayışı kırık iyileşmesini olumsuz yönde etkiler, yaralanan kas, tendon, sinir, damar ve deri gibi yumuşak dokuların doğrudan işlev yitimi oluşabilir(1).

Açık uzun kemik kırığı toplumda sık olarak karşımıza çıkmamaktadır ancak ortopedik girişimlerin önemli bir bölümünü oluşturur. Erkeklerde daha sık görülür. En sık görülen açık uzun kemik kırığı tibia kırıklarıdır. Açık alt ekstremita kırıkları üst ekstremita kırıklarına göre daha sık görülmektedirler(3).

Açık kırıklar sınıflandırılırken en sık kullanılan sınıflama Gustilo-Anderson sınıflamasıdır(2). Bu sınıflamaya göre açık kırıklar üç ana gruba ayrılır. Tip I'de yara 1 cm'den küçüktür, yumuşak doku yaralanması minimaldir, kontaminasyon düşük düzeydedir ve kırık genellikle basit transvers veya kısa obliktir. Tip II'de yara 1 cm'den büyüktür, yumuşak doku yaralanması orta düzeydedir ancak geniş flep tarzı yaralanma yoktur, kontaminasyon orta düzeydedir, kırık orta düzeyde parçalıdır. Tip III'de kasları, cildi, nörovasküler yapıları içine alan geniş yumuşak doku yaralanması vardır, genellikle yüksek enerjili travmalar ile oluşur bu nedenle kırık parçalıdır, kontamine yaralardır. Tip III kendi içerisinde üç alt tipe ayrılır. Tip IIIA'da yaranın boyutlarına rağmen kırığın yumuşak doku örtüsü yeterlidir. Tip IIIB'de geniş yumuşak doku yaralanması ve doku kaybı, periosteal soyulma ve kemiğin açığa çıkması mevcuttur. Kemiğin kapatılabilmesi için yumuşak doku rekonstrüksiyonu gereklidir. Tip IIIC'de bu yaralanmalara ek olarak tamir edilmesi gereken arteriel yaralanma da vardır. Segmental kırıklar, tarım yaralanmaları, ileri derecede

kontamine çevrede oluşmuş kırıklar, ateşli silah yaralanmaları boyutuna bakılmaksızın Tip IIIC olarak sınıflandırılırlar.

Açık kemik kırığı bulunan hastaların tedavisinde ilk yapılması gereken hastanın yaşamını tehlikeye sokabilecek durumların ortaya konması ve çözüme ulaştırılmasıdır(5). Aktif kanama dışındaki açık kırığa ait durumlar ertelenmelidir(5). Etkilenen ekstremitte kırık uçlarının yol açabileceği nörovasküler ve yumuşak doku yaralanmasını engellemek amacıyla düzgün bir dizilime alınmalıdır(5). Hastanın ayrıntılı olarak fizik bakışı yapılmalı, distal dolaşım ve ekstremitenin nörolojik durumu ortaya konmalıdır. Bu ekstremitte kurtarıcı girişimlere karar vermek açısından da önemlidir(5). Hastanın yara yeri acil serviste yıkanmamalı, yıkama işlemi ameliyathanede yapılmalıdır(5). Çünkü hastane kaynaklı mikroorganizmaların daha derin dokulara ilerlemesine neden olabilir. Acil serviste sadece yarada kolayca ulaşılabilen yabancı cisimler çıkartılmalıdır. Sonrasında yara steril yara örtüleri ile kapatılmalı ve atellenmelidir(5). Açık kırıklı hastalarda profilaktik antibiyotik kullanımı enfeksiyon sıklığını azalttığı için kullanılmalıdır(1,5). Bu amaçla Gram pozitif etkinliği olan sefazolin, gram negatif etkinliği olan aminoglikozidler ve anaerobik etkinliği olan penisilin türevi antibiyotikler kombine edilerek kullanılır(1,5).

Hastanın stabilizasyonundan sonra mümkün olan en kısa sürede, tercihen ilk 6 saatte hasta ameliyathaneye alınmalıdır(1, 2, 5, 30, 31). Yara yeri bolca yıkanmalı nekroze dokular ortamdaki uzaklaştırılmalıdır. Bu açık kırık sağaltımının en önemli basamaklarından birisidir(1,2,5,30). Yıkama işlemi ile yara yerinde bulunan debris ve kan temizlenerek daha iyi bir görüş sağlanır. Bu yabancı cisimlerin çıkartılmasını ve debritlemeyi hızlandırır, yıkama solüsyonu içerisinde yüzen nekrotik dokuların yara yerinde tespit edilmesini sağlar. Yıkama ile kontamine kan pıhtıları dokuda görülmesi mümkün olmayan yerlerden çıkartılır, yaşayan dokuların tespiti kolaylaşır, bakteriyel popülasyonu azaltır(1). Yıkama amacı ile steril serum fizyolojik kullanılmalıdır(1,2). Yara yerinde povidone-iodine, hidrojen peroksit gibi solüsyonlar lokal toksik etkileri nedeni ile kullanılmamalıdır(1).

Açık kırıklı hastalardaki enfeksiyon sıklığı yumuşak doku yaralanmasının düzeyi ile ilişkilidir. Tip I açık kırıklarda enfeksiyon oranı %0–2 iken Tip II açık

kırıklarda %2–7, Tip IIIA açık kırıklarda %7, Tip IIIB açık kırıklarda %10–50 Tip IIIC açık kırıklarda %25–50 düzeyindedir(2).

Travma sonrası görülen osteomyelit çocukluk çağında görülen hematogen osteomyelitten farklıdır. Hematogen osteomyelitte patojen bölgeye kan yolu ile gelirken travmatik osteomyelitte patojen bölgeye direkt yolla gelir. Yani bütünlüğü bozulmuş olan deri veya mukozayı aşan patojenler direkt olarak kemiğe ulaşır. Birde travma nedeni ile konağın bağışıklık sisteminin bozulması konağın patojene olan yanıtını bozarak enfeksiyonun sınırlandırılmasını engeller. Açık kırıklar sonrası en sık osteomyelite neden olan ajan olarak Staphylococcus aureus karşımıza çıkmaktadır(32).

Açık kırıklarda enfeksiyon sıklığını azaltmak amacı ile sistemik antibiyotiklere ek olarak lokal antibiyotik kullanımı da vardır. Bu amaçla taşıyıcı olarak en sık polymethylmethacrylate (PMMA) sement kullanılmaktadır. Son zamanlarda biyoemilebilir ürünlerde taşıyıcı olarak kullanılmaya başlamıştır. Bu amaçla kalsiyum sülfat, sentetik polimerler ve fibrin örtüleri kullanılmaktadır. Antibiyotik olarakta aminoglikozidler, vankomisin ve sefalosporinler kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılacak olan antibiyotik toz formda olmalı ve yüksek ısıda da stabil olmalıdır. Zira sıvı formdaki antibiyotikler çimentonun polimerizasyonunu olumsuz etkilemektedirler(33).

Açık kırıkların sağaltımında yumuşak doku ve iskelet yaralanması eş zamanlı olarak sağaltılır(5). Kemik ideal olarak ilk debritmanda sabitlenmelidir. Bu ekstremitenin uygun dizilimini sağlar, kırık hattında olabilecek büyük hareketleri engelleyerek daha fazla yumuşak doku yaralanması oluşmasını ve bakteriyel yayılımı azaltır(4). Ayrıca ekstremitedeki venöz geri dönüşü artırarak travma sonrası ödem, ağrı ve sertlik oluşumunu azaltır(5).

Kırığın stabilizasyonu amacı ile seçilebilecek yöntemler; alçı veya atel uygulaması, iskelet traksiyonu, eksternal fiksasyon, plak vida uygulaması, intramedüller çivilerdir(1).

Alçı uygulaması açık kırıklarda sınırlıdır. Çünkü yaraya ulaşılmasını zorlaştırır, ekstremitenin sirküler olarak sarılması oluşabilecek ödem nedeni ile kompartman sendromu oluşmasına katkıda bulunur(1). Alçı uygulaması açık kırık olmadığı durumda konservatif olarak sağaltılabilecek tip I açık kırıkların

sağaltımında kullanılabilir. Bu amaçla ilk etapta atel uygulanır, yara iyileşmesi gerçekleşikten sonra sirküler alçıya geçilir. Veya ilk aşamada alçı uygulanır yaranın bulunduğu bölgeden alçıya pencere açılarak yaranın iyileşmesi takip edilir(1).

İskelet traksiyonu geçici sağaltım yöntemi olarak femur ve tibia kırıklarında kullanılabilir. Ancak günümüzde kötü sonuçları nedeni ile özellikle yetişkinlerde kalıcı sağaltım yöntemi olarak kullanılması önerilmez(1).

Eksternal fiksatörler 1970'lerden sonra açık uzun kemik kırıklarının acil sağaltımında kırığın stabilizasyonu amacıyla önemli bir seçenek olmuştur(1). Günümüzde özellikle tip IIIB ve tip IIIC açık kırıklarda kullanılmaktadır. Son zamanlarda sirküler ve hibrid fiksatörlerdeki gelişmeler sayesinde kullanılabilirliği artmıştır(1). Eksternal fiksatörlerin avantajları; uygulaması göreceli olarak basit ve hızlıdır, ana kemik fragmanları arasında iyi bir stabilite sağlar ve anatomik redüksiyonu olası hale getirir, uygulanması için ek olarak minimal yumuşak doku yaralanması gerektirir bu sayede enfeksiyon ve yara iyileşmesi olumsuzlukları riskleri azalır, özellikle multitravmalı hastalarda eklem hareketlerine izin vererek kardiyopulmoner fonksiyonların geri dönüşünü kolaylaştırır, debrütmanlar esnasında kolayca çıkarılarak yaraya ulaşılmasını kolaylaştırır(34). Eksternal fiksatörlerin dezavantajları ise, geniş yaraların bulunduğu kompleks kırıklarda uygulanması zaman alır, teller muskulotendinöz yapıları yakalayarak fonksiyonel eklem hareketlerini kısıtlayarak hastada rahatsızlığa yol açabilir, tedbirsiz olarak yerleştirilen teller yara rekonstrüksiyonu için gerekli olabilecek fleplerin mobilizasyonunu kısıtlayabilirler, tel yerleştirilmesinde ki uygun olmayan teknik nedeni ile kemik nekrozu veya tellerde erken gevşeme ve çivi yolu enfeksiyonu oluşabilir. Bu özellikle osteoporotik ve kansellöz kemiklerde daha büyük sorundur. Özellikle yük verilmesine olanak tanımayan eksternal fiksatörlerde uzamış kullanımı gecikmiş kaynama veya kaynamamaya yol açabilir(34).

Eksternal fiksatörler kalıcı sağaltım yöntemi olarak kullanılacakları gibi geçici yöntem olarak da kullanılabilir(5,1,35). Bu yöntemde ilk operasyon esnasında eksternal fiksatör yerleştirilir, sonrasında açık yaranın durumuna göre ilerleyen zamanlarda intramedüller çivi yerleştirilerek kalıcı sağaltım uygulanır. Ancak bu yöntemin derin enfeksiyon sıklığında artışa neden olduğu yönünde yayınlar vardır(9,36).

Enfeksiyon korkusu nedeni ile geleneksel olarak açık kırıklarda internal fiksasyonun kontrendike olduğu düşünülürdü(37). Ancak bu düşünce belirgin olarak değişmiştir. Erken dönemde, dikkatli bir şekilde yapılan agresif debridman sonrası uygulanan internal cihazlarla enfeksiyon oranlarında belirgin azalma kaydedilmiştir(1). Açık kırıkların fiksasyonunda kullanılabilir cihazlar; plak-vida, oymalı/oymasız intramedüller çivilerdir. Plak-vida fiksasyonu daha çok üst ekstremité ve eklem çevresi metafiziyel kırıklarda tercih edilirken özellikle alt ekstremité cisim kırıklarında intramedüller çiviler tercih edilmektedir.

Plak-vida fiksasyonu ile eksternal fiksatörlerin karşılaştırıldığı bir çalışmada plak-vida fiksasyonu kullanılan hastalarda enfeksiyon (%35), kaynama gecikmesi (%38) gibi sebeplerle yüksek reoperasyon oranları bulunmuştur(38). Plak-vida dizaynlarındaki ve uygulamalarında görülen ilerlemelerle bu oranlarda azalma görülmüştür(39). Ancak özellikle Tip III açık kırıklarda yüksek olan enfeksiyon oranları nedeni ile plak-vida fiksasyonu önerilmemektedir(40).

Intramedüller çivilerin açık kırıklardaki kullanımı ve bu konudaki araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Intramedüller çiviler uzun kemiklerin kapalı cisim kırıklarında ilk seçenek olmayı başarmışlardır. Açık kırıklarda kullanılmasında ise hala sorunlar mevcuttur. Bunların başında ise cerrahi alan enfeksiyonu riski gelmektedir(37). Cerrahi alan enfeksiyonu riskinin oymalı çivilerde daha fazla olduğuna dair düşünce vardır(41). Bunun sebebi olarak da oyma işlemi esnasında medüller kan akımının bozulmasının etkili olduğu düşünülmektedir(42). Ancak yapılmış olan bir metaanalizde oymalı ve oymasız çiviler arasında açık kırıklarda enfeksiyon ve kaynama oranları açısından fark olmadığı görülmüştür(43).

Yapılmış olan bir diğer metaanaliz çalışmasında enfeksiyon riski açısından en riskli sağaltım şeklinin plak-vida fiksasyonu olduğu ardından da eksternal fiksasyon sonrası yapılan intramedüller çivileme olduğu görülmüştür(5). Intramedüller çivilerdeki artmış olan bu enfeksiyon oranlarına rağmen reoperasyon riski diğer tedavi yöntemlerine göre belirgin olarak düşüktür(5).

2.2. İntramedüller Çivilerin Tarihçesi

Günümüzde uzun kemiklerin cisim kırıklarında en önemli sağaltım seçeneği olan intramedüller çiviler çok uzun zamandan beri kullanılmaktadır. De Sahagun Aztek

doktorlarının uzun kemik kaynamamalarının sağaltımında medüller kanala tahta çubuk geçirmelerine şahit olmuştur(44). 1800'lü yılların ikinci yarısından 1900'lü yılların ilk onyılına kadar yapılan işlerin çoğu fildişi çivilerin kullanımı etrafında şekillenmiştir. İnsan vücudunda metalik implantlarla karşılaştırıldığında çoğu fildişi çivilerin rezorbe olduğu görülmüştür, bunlar fibröz materyal ile enkapsüle olmaktadır. Bu işlemlerin çoğu zamanın Alman literatüründe kayıtlıdır(45). 1890'larda Gluck, kilitlenebilen intramedüller aygıtın ilk tanımını yapmıştır. Bu aygıt fildişi intramedüller çivi olup, uçlarında fildişi vidaların geçtiği delikler vardır(45). Birleşik Devletlerden Hohlund 1917'de otojen kemiğin intramedüller implant olarak kullanımını rapor etmiştir(45). Birinci dünya savaşı sırasında İngiltere'den Hey Groves, ateşli silah yaralanmalarının tedavisinde metalik rodların kullanımını rapor etmiştir(45). Bu rodlar kırık hattından bir insizyon yoluyla medüller kavite içerisinden geçirilmiştir. Bu teknik yüksek enfeksiyon oranı nedeniyle evrensel olarak kabul görmemiştir. Smith-Petersen 1931'de femur boyun kırığında başarılı saf çelik çivilerin kullanımını rapor etmiştir. Bundan sonra hızla metalik intramedüller çivi kullanımı artmıştır(45). Birleşik Devletlerde Rush proksimal ulna ve proksimal femur kırık sağaltımında metalik Steinman çivilerin medüller kanal içinden geçirilerek kullanımını rapor etmiştir(46). İntramedüller fiksasyon ile kırık sağaltımının ilkeleri bu teknikler sayesinde oluşmuştur.

Küntscher'in intramedüller çivilere olan ilgisi Smith-Petersen çivisinin femur boyun kırığında kullanımı ile birlikte ortaya çıkmıştır. Kadavra ve hayvan üzerinde denedikten sonra kendi geliştirdiği medulla çivileri kullanıma girmiştir. Kendisinin özgün intramedüller çivisi antegrad uygulanan V-şeklinde saf çeliktendi. 1940'da ilk defa V-şeklinde çivi kullanımını rapor etmiştir. İnternal bir splint olarak görev aldığı ve iç medüller kavitede elastik bir birleşme sağladığını göstermiştir(45). Görünen odur ki bu tekniğin gelişiminin erken dönemlerinde çivi kırık hattından bir miktar daha uzaktan sokulmuştur, böylece hasar bölgesindeki herhangi bir ekstra bozukluğa yol açmaktan kaçınılmıştır. Küntscher'in inanisına göre çiviler doğru yerleştirilir ise hastanın erken dönemde işlevsel mobilizasyonu mümkün olur. Küntscher'in erken dönem çalışmaları Almanya'da tam olarak anlaşılammış olup kendisi II. Dünya Savaşında Kuzey Finlandiya cephesine gönderilmiştir. Orada Finli cerrahlarla beraber çalışmış; 105 vakalık bir çalışmada V-şekilli çivilerin başarılı

kullanımını 1947’de rapor etmiştir(45). 1940’ların sonunda V-şekilli çivilerin kullanımını terketmiş ve yine kendi tasarımı olan yonca-yaprağı çivisi kullanmaya başlamıştır. II. Dünya Savaşında Avrupa’da Küntscher tekniğine ilgi duyulurken, ABD’de hiç bilinmemekte idi. Küntscher çivisinin kullanımı ilk kez 12 Mart 1945’de Time dergisinde “Muhteşem Uyluk Kemiği” başlığı ile rapor edilmiştir. Bu makalede ABD ordusundaki Alman doktorların metalik rodları kullanımına şüpheyle yaklaşmıştır.

Birleşik Devletlerde Hansen-Street Çivisi 1947’de sunulmuştur. Bu elmas şeklinde sert bir çiviydi, kansellöz kemik içinde kompresyon yaparak uyar ve kırık rotasyonunu önlerdi. Bu çiviler orijinal olarak kapalı yöntemle sokulur ve bu sayede Hey Groves tarafından rapor edilen yüksek enfeksiyon oranından kaçınılmış olur. Ancak, penisilin kullanımı ile birlikte Street, açık retrograd çivilemeye geçebilmiştir, bu sayede o günkü radyografik tekniklerin yan etkilerinden kaçınmaya çalışmıştır(45).

1950’ler sırasında iki önemli teknik geliştirilmiş ve sunulmuştur. 1942’de Alman literatüründe Fischer, intramedüller reamerlerin (delik genişleticiler) kullanımını rapor etmiştir(45). 1950’lerde sunulmuş olan ve halen kullanılan diğer teknik kilitleme vidalarının kullanılması ve kırığın stabilitesinin artırılmasıdır. Modny ve Bambara 1953’te intramedüller transfiksasyon çivilerini keşfetmiştir(47). Bu çivi haç şeklindeydi ve çivi boyunca birçok delik vardı. Bu deliklere 90 dereceyle vidalar yerleştirilirdi. Modny ve Lewert 261 femur kırığı serisinde bu çiviye kullanarak muhteşem sonuçlar rapor etmiştir(47).

Sefalomedüller çiviler ilk kez 1960’larda ortaya çıkmış, Zickel çivisinin gelişimi 1967’de ön plana çıkmıştır. Zickel Çivisi’nin proksimalinde bir delik bulunur; bu deliğe geçirilen vida proksimal femurun lateral korteksinden, femur-boynu ve başına doğru yerleştirilir(48).

Çivi tasarımında ve malzemelerde bazı gelişmeler olurken, asıl ilerleme oymalı veya oymasız çivi endikasyonlarında artışla olmuştur. Açık tibia cisim kırıkları şimdi çok iyi sonuçlarla intramedüller fiksasyonla tedavi edilmektedirler. Benzer şekilde, daha önceleri oymasız çivilerle tedavi edilen açık femur kırıkları şimdi artık oymalı intramedüller çivi kullanılarak tedavi edilmektedir. Ek olarak, aşırı proksimal tibia ve femur kırıkları, eskiden çivileme için uygun görülmezdi ama artık intramedüller

fiksasyonla tedavi edilmektedirler. Ek olarak, slotlu yonca-yaprağı şeklinde kesit alanı olan tasarımlar yerine artık slotsuz tasarımsal tercih edilmektedir, bunların torsiyonel rijiditesi daha fazladır(45).

Intramedüller çiviler şu şekilde sınıflandırılabilir(49);

2.3. İntramedüller Çivi Tipleri

- Sentromedüller çiviler: Kemiğe medüller kanal hizasından girerler. Kemik uzunluğu boyunca birçok noktada kemik ile temas ederler. Örnek olarak Küntscher'in klasik yonca yaprağı şeklindeki çivileri ve Sampson çivileri verilebilir.
- Kondilosefalik çiviler: kemiğe metafizdeki kondillerden girerler ve genellikle karşı metafiz-epifiz bölgesine uzanırlar. Rotasyonel stabilite için sıklıkla gruplar halinde yerleştirilirler. Ender ve Hachenthall telleri örnek olarak verilebilir
- Sefalomedüller çiviler: Bu çivilerin sentromedüller parçaları vardır. Ayrıca femur başının tespitine izin verirler. Küntscher'in Y çivisi ve Zickel subtrokanterik çivi bu grubun örneklerindedir.
- Kilitli çiviler: Kilitlemeyi sağlayan vidalar sayesinde aksiyel ve rotasyonel stabiliteyi sağlarlar.
 - a) Kilitli sentromedüller çiviler: Modney kilitli çiviye tasarlayan ilk kişidir. Küntscher'de Detensor çivisini tasarlamıştır. Russel-Taylor, AO-ASIF, Uniflex ve Alta sistemleri bu grubun üyelerindedir.
 - b) Kilitli sefalomedüller çiviler: İpsilateral kalça ve femur diyafiz kırıkları, patolojik kırıklar ve kompleks subtrokanterik kırıklar gibi aksiyel ve rotasyonel olarak instabil olan ve proksimal femura uzanan kompleks kırıkları tedavi etmek için tasarlanmışlardır. Bu çiviler Russel-Taylor rekonstrüksiyon çivisi, Williams Y çivisi ve Uniflex çivisinde olduğu gibi boltlar, çiviler ve özel çekme vidaları ile tespiti izin verirler.

Kilitli tespit dinamik, statik ve çift kilitli olarak ayrılabilir.

Dinamik tespit bükücü ve rotasyonel deformasyonu kontrol eder fakat kemikte tama yakın aksiyel yük transferine izin verir. Dinamik tespit aksiyel olarak stabil kırıklarda ve bazı kaynamamalarda kullanılır.

Statik tespit rotasyonel, bükücü ve aksiyel yükleri kontrol eder ve implantı daha fazla yük taşıy hale getirir ki bu da implantın potansiyel olarak daha az yorgunluk ömrüne sahip olması demektir.

Çift kilitli çiviler ise bükülme, rotasyonel ve bir dereceye kadar aksiyel yükleri kontrol eder. Fakat vidanın çivi içerisinde aksiyel translasyon yeteneği nedeni ile bir miktar kısalık olasıdır. Bu tip tespit humerus kırıklarında ve ara sıra gecikmiş kaynama ve kaynamamalarda kullanılır.

Intramedüller tespit yöntemlerinden bir diğeri de elastik çivilerdir. Bu tip çiviler pediatrik uzun kemik kırıkları ile erişkinlerde klavikula, metakarp, önkol ve humerus kırıklarında kullanılmaktadır(50, 51).

2.4. Biyoseramikler

Milyonlarca yıl öncesinde ateşin keşfiyle, kilin seramik çanak çömleğe dönüştürülmesi, insan topluluklarının göçebe avcılıktan yerleşik tarımsal yaşama geçişinde en büyük faktör olmuştur. Seramiklerin insan yaşamında yarattığı bir diğer büyük devrimse, geçtiğimiz 40 yılda vücudun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının tamiri, yeniden yapılandırılması ya da yerini alması için özel tasarımı seramiklerin geliştirilmesi ve kullanımıyla gerçekleşmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler, “biyoseramikler” olarak adlandırılmaktadır(28).

Kimyasal yapısına göre beş tip seramik vardır(52).

1. Cam seramikler
2. Plazma-sprey polikristal seramikler
3. Sırlı (vitrikiye) seramikler
4. Katı-sinterlenmiş seramikler
5. Polikristal cam seramikler

Ortopedide kullanılan seramikler implante edildiği kemik dokunun yanıtına göre;

1. Biyo inert seramikler
2. Biyoaktif seramikler olarak iki ana gruba ayrılabilir.

2.4.1. Biyo inert Seramikler;

Biyo inert seramiklerin biyoaktiviteleri yoktur. Vücutta sadece minör fibröz reaksiyonla karşılaşılır. Tribolojik özellikleri, aşınmaya karşı dirençleri nedeni ile total eklem replasmanlarında kullanılmaktadırlar. Biyo inert seramikler;

1. Sliding seramikler
2. Alumina seramikler
3. Zirconia seramikler
4. Mixed oxide seramiklerden oluşur.

2.4.2. Biyo aktif Seramikler;

Biyo aktif seramikler; biyolojik olarak kemikle etkileşime girebilen bu sayede de kemiğe bağlanabilme özelliği gösteren seramiklerdir. Biyo aktif seramikler kemik grefti olarak ya da implant yüzeylerini kaplamada kullanılırlar.

Bu grup seramikler;

1. Kalsiyum fosfat grubu seramikler
 - a. Hidroksiapatit
 - b. Trikalsiyumfosfat
2. Biyo aktif camlar-cam iyonomerler
3. Biyo aktif kemik çimentoları olarak alt gruplar halinde incelenebilirler.

I. Kalsiyum Fosfat Ailesi Seramikler;

Kalsiyumfosfat ailesi seramiklerin en bilinen ve üzerinde en çok araştırma yapılan iki üyesi Hidroksiapatit (HA) ve Trikalsiyumfosfat (TCP)'tir.

Hidroksiapatit'in kimyasal formülü $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ biçimindedir ve kalsiyum-fosfat oranı 1.67 dir. Yapısı kemiğin inorganik kısmının yapısına benzediği için kemik grefti olarak da bilinir. Hidroksiapatit'in kemiğe bağlanma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Osteojenik özelliği olan hücrelerin Hidroksiapatit'in yüzeyine bağlanarak osteoblastlara farklılaştığı düşünülmektedir. Daha sonra Hidroksiapatit'in yüzeyinde hücrel kemik metrikisi oluşur. Kemik dokusu ile Hidroksiapatit arasında içerisinde apatit kristalleri olan şekilsiz alanlar oluşur. Matürasyon oldukça bağlanma alanları büzülür ve hidroksiapatit ince epitaksiyel tabaka ile kemiğe tutunmuş olur. Sonuçta kemik ile hidroksiapatit arasında içerisinde

fibröz doku tabakası olmayan ara yüzey oluşur. Kemik oluşumu hidroksiapatitin yüzeyinden gözeneklerin merkezine doğru büyür(29).

Hidroksiapatit kaplama kalça protezlerinde femoral ve asetabular komponentlerin kaplamasında kemik çimentosunun komplikasyonlarının önlenmesi amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadırlar(29).

Hidroksiapatit'in klinik kullanımındaki önemli dezavantajları ise kırılğan bir yapıya sahip olmaları ve tensil gücünün zayıf oluşudur(29).

Trikalsiyumfosfat $Ca_3(PO_4)_2$ formülündedir ve kalsiyum-fosfat oranı 1.5 tir. Tri-kalsiyum fosfatın rezorpsiyonu hidroksiapatite göre daha hızlıdır(29).

II. Biyoaktif Camlar

Biyoaktif camlar kemiğe kimyasal olarak bağlanır. Tipik örneği Bioglass (45S5) tir ve yapısı ağırlık oranları ile %45 SiO_2 , %24.5 CaO , %6 P_2O_5 ve %24.5 Na_2O 'tir. Kemiğe bağlanma mekanizması bir seri reaksiyon sonucu cam yüzeyinde oluşan hidroksikarbonat apatit tabaka ile olur. Bunun için kritik aşama gözenekli silika jel tabakanın oluşumudur. Hidroksiapatit'e kıyasla daha fazla kemik oluşumuna neden olur ancak zayıf mekanik özellikleri nedeni ile yük taşıyan bölgelerde kullanılmamaktadır(29).

III. Biyoaktif Kemik Çimentoları

Kemik çimentolarının neden olduğu komplikasyonları ortadan kaldırmak için geliştirilmişlerdir. Bu grup içerisinde kalsiyum-fosfat temelli kemik çimentoları ve cam-seramik kemik çimentoları yer alır. Çimento yüzeyinde oluşan hidroksiapatit güçlü çimento-kemik ara yüzeyi oluşturur. Dahası kalsiyum-fosfat çimentolar ilerleyici olarak rezorbe olur ve yerini yeni oluşan kemik alır. Bu ürünler için yapılan araştırmalar devam etmektedir(29).

2.5. Ortopedik İmplantların Kaplama Yöntemleri ve Elektrosprey Kaplama

Hidroksiapatit (HA, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), biyoyumlu ve biyoaktif bir malzeme olarak bilinmesine rağmen, zayıf mekanik özelliklerinden dolayı yük taşıyan implant olarak kullanılamamaktadır. Metalik implantların hidroksiapatit ile kaplanarak kullanılmasıyla metalik implantların mekanik özellikleri ile HA'in biyoaktiflik

özelliği birleştirilmiş ve daha uygun özellikler kazandırılmış olup, biyomalzeme uygulamalarında sıkça karşımıza çıkmaktadır(53, 54). Metalik implantların HA ile kaplanması için birçok yöntem denenmiştir. Plazma sprej, sputter yöntemi, daldırma yöntemi, sol-jel yöntemi, elektroforetik çöktürme yöntemi, pulsed lazer çöktürme yöntemi en yaygın kullanılan yöntemlerdir(55). Elektrosprej yöntemi ile kaplama ise literatürde nano tozların kaplama teknikleri arasında bulunmakta fakat metalik implantların kaplanmasına yönelik çalışma bulunmamaktadır.

2.5.1. Elektrosprej Yöntemi

İleri teknoloji seramiklerinin ince film ve kaplamaları birçok alanda uygulama alanı bulmaktadır. Bu alanlara örnek olarak elektrik, elektronik, elektromekanik gibi alanlar örnek verilebilir. Korozyon, kimyasal dayanım, mekaniksel dayanım gibi istenilen bazı özellikleri elde etmek amacıyla kaplama yöntemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Özellikle ince film elde etmek amacıyla kullanılan yöntemlerden biride elektrosprej yöntemidir(56).

Elektrosprej yöntemi literatürde elektrostatik atomizasyon, elektrohidrodinamik atomizasyon olarak karşımıza çıkmaktadır. Elektrosprej yöntemi seramik süspansiyonların mikro ve nano seviyede damla üretilmesi ve bunların altlık üzerine püskürtülerek ince film elde etmek için kullanılan bir kaplama tekniğidir. Bu tekniğin kullanılmasının amacı altlık üzerine uygulanacak olan ince film tabakasının homojen bir şekilde elde edilmesi ve hazırlanan seramik süspansiyonun çok küçük boyutlarda püskürtülmesidir. Günümüzde malzeme biliminde nano yapıya sahip malzemelerin kullanılması ve bu alandaki araştırmalar artmaktadır. Bu teknik sayesinde depolama şartlarına bağlı olarak çok yoğun malzemedan poroz yapılı nano boyutta farklı yüzey özelliğine sahip malzemeler üretilmektedir. Film kaplama biçiminde elde edilen malzemelerin yüzey özelliği ise hazırlanan başlangıç solüne, kaplama sıcaklığına, boyut ve boyut dağılımına bağlıdır. Yüksek poroziteli nano yapıda ince film üretmek için yüksek sıcaklıkta kaplama ve metal alkoksit, metal asetat solları tercih edilir. Üretilen filmler gaz sensörü üretimi için oldukça uygundur(57, 58).

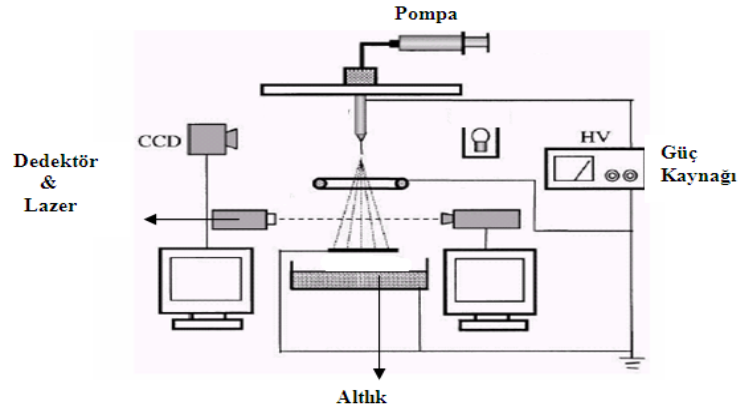
Bu yöntem diğer yöntemlerle (kimyasal buhar biriktirme, fiziksel buhar biriktirme, ve plazma sprej karşılaştırıldığında bazı avantajlara sahiptir. Bunlar ;

- Kolay deney düzeneği kurulumu
- Geniş başlangıç malzemesi seçimi
- Hızlı film üretimi
- Atmosfer şartlarında çalışabilme
- Kaplama yapılan tabakanın yüzey özelliğinin ve kompozisyonunun kolay kontrol edilmesi
- Diğer tekniklere göre ekonomik olması
- Toz sentezi için uygun bir teknik olması, topaklanması düşük ve nano boyutta toz elde edilmesi(58,59).

Elektrosprey tekniği ile kaliteli ince filmler elde etmek için genel olarak bazı parametrelerin iyileştirilmesi gerekir, bunlar;

- Kılcal boru ağızlığının (nozzle) dizaynı
- Kaplama (altlık) sıcaklığı
- Uygulanan potansiyel (voltaj)
- Süspansiyonun yada solün akış hızı
- Çözücünün kompozisyonu
- Seramik malzemenin elektriksel ve mekanik özellikleri
- Tane ve tane boyut dağılımıdır(60)

Elektrosprey tekniği deney düzeneği hem yatay hem de dikey olarak kurulabilmektedir. Yapılan çalışmalara göre deney düzeneğinin yatay yada dikey olarak hazırlanması deneysel sonuçları değiştirmedini göstermiştir. Fakat dikey olarak hazırlandığı zaman deneysel ekipmanlar daha az yer kaplamaktadır. Şekil 1.1 de elektrosprey kaplama ünitesi görülmektedir(58).



Şekil 1.1. Dikey elektrosprey kaplama ünitesi

Deneysel düzenek üç kısımdan oluşmaktadır:

- 1) Elektrosprey ünitesi; bu ünite yüksek doğru akım voltajı sağlayan güç kaynağına, ağızlığa, ve altlık tutucuya sahiptir.
- 2) Sıvı besleme ünitesi; bu ünite pompa, sıvı kabına, ve esnek tüpe sahiptir.
- 3) Sıcaklık kontrol ünitesi(58).

Şekil 1.1’de görüldüğü gibi hazırlanan çözelti kılcal boru içinden geçerken yüksek potansiyele maruz kalmakta ve elektrik alan etkisiyle yüklü damla elde edilmektedir. Daha sonra basınç ve voltaj azalmakta, böylece bu geçiş esnasında damla boyutu azalmaktadır ve çözücünün buharlaşmasıyla gaz iyonları oluşmaktadır. Yani kısacası işlem üç aşamadan meydana gelmektedir, bunlar;

- 1) Damla oluşumu
- 2) Damlanın küçülmesi
- 3) Gaz iyon oluşumudur(61).

Nano yapıdaki seramik ince filmlerin elektrosprey kaplanma yöntemi ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genel olarak sol-gel tekniği ile elektrosprey yöntemi birleştirilerek elektrostatik-sol spreyleme tekniği yaratılmıştır. Yapılan çalışmalara göre metal alkoksit ve metal asetat kullanarak ZnO, ZrO₂, SnO₂, BaTiO₃, ve Al₂O₃ ‘ün nano boyutta ince film olarak kaplanması çalışılmıştır. Yapılan çalışmalara göre yapılan kaplamalarının özelliklerinin etkileyen parametreler; konik jet (Cone- jet) modunda kararlı spreyleme fonksiyonu, geniş depolama alanının kaplanması, yüksek depolama hızı nozul geometrisinin spreyleme davranışına etkisi, kaplama sıcaklığının etkisi, akış hızının etkisi, altlık-ağızlık arası mesafenin etkisidir(58). Sonuç olarak elektrosprey yöntemi ile nano yapıli ince seramik filmleri üretilmektedir. Üretilen film kalitesi ve son üründen beklenen fonksiyonel özelliklerin etkili olabilmesi için gerek malzeme sentezlenmesinde gerekse sentezlenen malzemenin kaplanması esnasında kaplama parametrelerinin iyileştirilmesi gerekmektedir.

Nano yapıda ince film elde etmek için elektrosprey yönteminde ağızlık geometrisi, kaplama sıcaklığı, akış hızı, uygulanan voltaj ve altlık-ağızlık arası mesafe gibi parametrelerin iyileştirilmesi önemlidir. Bu parametrelerin yanında ayrıca tane boyutu ve dağılımı, süspansiyonun yada solün yoğunluğu, viskozitesi ve

iletkenliği de önemlidir. Bu parametreler optimize edildiği zaman kaplaması yapılan malzemenin proses kontrolü daha kolaydır ve son üründen beklenen özellikler daha verimli olacaktır(57).

2.6. Gümüşün Antimikrobiyal Özellikleri, Etki Mekanizması ve Toksikitesi

Modern travma cerrahisinde implantlar cerrahların vazgeçilemez yardımcılarıdır. Bu araçlar sayesinde kırıklar istenildiği gibi sabitlenebilmektedir. Ancak bu araçların da bazı sorunlu yanları vardır. Enfeksiyon bu sorunların en önemlilerinden birisidir. Travma cerrahisinde enfeksiyon günümüzde de hala önde gelen başarısızlık nedenlerinden birisidir. İmplant yüzeyleri enfeksiyona temelde iki nedenden dolayı duyarlıdır; biyofilm oluşumu ve bakterinin implant-doku aralığında konağın immun yanıtından korunması(62). Ortopedi ve travmatolojide önde gelen enfeksiyon etken ailesinden olan stafilokoklar biyofilm oluşturabilmektedirler(63). Bu sayede konağın immunitesinden korunabilmektedirler. Biyofilm içerisinde bulunan bakteriler sağaltıma daha dirençlidirler ve rutin antibiyotik sağaltımı implant ilişkili enfeksiyonların sağaltımında yetersiz kalmaktadır(62). Enfeksiyon oluştuktan sonra sağaltımı zordur ve sorunun çözümünde çoğu zaman implantın çıkartılması gerekmektedir(62). Bu durumda da hastanın sağaltımı gecikmekte beraberinde ek sorunlar çıkmaktadır. Uzamış hastane sağaltımları, karmaşık revizyon girişimleri, implant yetmezliği, hastanın çektiği acılar, ekonomik külfetleri ve ölüme kadar gidebilen medikal durumlar bu sorunlardan bazılarıdır(62). Sağaltımındaki bu zorluklar nedeniyle implant ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde bakterinin implant yüzeyine yapışmasının önlenmesi en önemli basamak gibi görünmektedir(62).

Bakterinin implant yüzeyine yapışmasının ve kolonizasyonunun önlenmesi amacıyla birçok yöntem denenmiştir. İmplant yüzeylerinin antibakteriyel özellikteki maddelerle kaplanması bunlardan en ilgi çekicilerinden birisidir. Bu amaçla implant yüzeylerinin kaplanmasında birçok madde kullanılmıştır. Antibiyotikler, çinko, hidroksiapatit, nitrik oksit ve gümüş bunlardan bazılarıdır(16, 64-68).

İmplant ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için gümüşün implant yüzeyine kaplanması giderek artan oranda ilgi uyandırmaktadır. Gümüşün implant yüzeyi kaplamasında tercih edilmesinin nedenleri, kullanılan dozlarda lokal ve sistemik

toksik etkilerinin görülmeysi, etkisinin uzun olması, bakteriyel direnç görülmeysi, birçok madde ile birlikte kullanılabilmesidir(62, 69, 70).

Gümüşün antimikrobiyal olarak kullanımı ilk olarak Yunan tarihinde Herodotun yazılarında karşımıza çıkmaktadır. O dönemde gümüş içme sularını temiz tutmak amacıyla kullanılmıştır(71). Hippocrates gümüş preparatlarını ülser tedavisinde ve yara iyileşmesini desteklemek amacıyla kullanmıştır(71). Gümüş nitratın medikal tedavide kullanımına ait ilk kayıt 702-705 yıllarında Gabor tarafından bildirilmiştir(71). Paracelsus 16. yy. da gümüşü internal olarak kullanmış ve yara tedavisindeki kullanımına ait çalışmalar günümüzde de devam etmektedir(71).

Gümüş günümüzdeki kullanım alanları oldukça geniştir. Oftalmia neonatorum profilaksisinde gümüş nitrat solüsyonu uzun zamandan beri kullanılmaktadır(10). Yanıklı hastalarda gümüşün kullanımı yüzyıllardan beri vardır(11). Zaman içerisinde kullanımında değişiklikler görüle de yanıklı hastaların sağaltımında büyük yararlar sağlamaktadır(11).

Son zamanlarda gümüş medikal implantların yüzey kaplaması amacı ile de kullanılmaktadır. Buradaki amaç medikal araçların neden olabileceği enfeksiyonu önlemektir. Bu yöntemle üretilmiş olan santral venöz katater, üriner katater, metal implantlar gibi araçların enfeksiyon oranlarında in vitro ve/veya in vivo etkinliği gösterilmiştir (12-15).

Gümüş iyonu (Ag^+) yapısında sülfür, oksijen veya nitrojen içeren elektron verici gruplara güçlü bir şekilde bağlanarak yüksek kimyasal aktivite gösterir. Biyolojik moleküller genellikle bu bileşenleri *thio-*, *amino-*, *imidazole*, *carboxylate-* ve *phosphate* grupları içerisinde bulundurur(16). Gümüş iyonu (Ag^+) kalsiyum (Ca^{++}) ve çinko (Zn^+) gibi esansiyel metal iyonlarını çıkartarak etki gösterir(16). Gümüş iyonunun (Ag^+) bakteriyel DNA ya bağlanması *phosphate*, *succinate* alımı gibi birçok önemli transport sürecini inhibe eder ve ayrıca hücre solunumu olumsuz yönde etkiler. Antibakteriyel etkinlikten temel olarak bakterinin *thio-* grupları ile etkileşmesi sorumludur. Bu gruplar daha çok bakteri DNA'sında bulunur(17). Gümüşün antibakteriyel öldürme oranı gümüş konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Yüksek gümüş konsantrasyonlarında antibakteriyel etki artar(16).

Gümüş birçok bakteriye karşı antibakteriyel etki gösterir(16–20). Kemik ve cerrahi alan enfeksiyonlarında önemli bir sorun olan *S. aureus* bu bakterilerden birisidir.

Gümüşün kullanımını sınırlayan etkenlerin başında toksik etkileri gelmektedir. Bu konuda yapılmış olan araştırmalar yanık tedavisinde kullanılan gümüş sülfodiazin üzerinde yoğunlaşmaktadır. Gümüş vücutta geniş bir şekilde dağılıma uğramaktadır. Vücuttan atılımı gaita ve idrar yolu ile olmaktadır(22,23). Gümüş vücutta bazı organlarda birikebilmekte ve buna bağlı olarak toksik etkileri görülebilmektedir. Deri, dişeti, kornea, karaciğer, böbrek, adrenal bez, dalak, sinir sistemi ve kas dokusu bu organlardan bazılarıdır(22-27). Gümüş toksisitesinin en sık görülen klinik görünümü argyria'dır. Argyria'da gümüşün deri, dişeti, kornea ve iç organlarda birikmesi ile mavi-gri bir renk değişikliği görülür ve bu renk değişikliği geri dönüşümsüzdür. Bu durum kozmetik sorunlara yol açabilir(24,27). Gözdeki birikimi korneal hasara neden olabilir(22). Karaciğerde enzim yüksekliğine neden olabilir(72). Böbreklerde bazal membranda birikerek immun-kompleks tip yaralanmayı düşündüren glomerulonefrite yol açabilir(73). Kemik iliği toksisitesi nedeni ile lökopeniye neden olabilir(74). Normalde kan-beyin bariyerini aşamamasına rağmen aksonal taşınma ile santral sinir sistemine ulaşarak santral sinir sistemi toksisitesine neden olabilir(75). Gümüşün bu toksik etkilerinin görülebilmesi için vücutta normal değerlerinin yüzlerce katına çıkması gerekmektedir(24). Gümüşün vücutta bu düzeylere çıkması gümüş içerikli ilaçlarda bulunan gümüş oranının yüksek olması nedeni ile eskiden olası iken günümüzde düşük gümüş oranları ile bu risk oldukça azalmıştır.

2.7. Staphylococcus Aureus

Staphylococcus aureus micrococcaceae ailesi içerisinde yer alır(76). Mikroskopta genellikle üzüm salkımı şeklinde kümeler yapmış olarak görülür. 0,5-1,5 mikrometre çapında gram pozitif koklardır. Hareketsiz, sporsuz kapsülsüzdürler(77). *S. aureus* fakültatif anaeroptur ve optimum üreme ısısı 37°, optimum üreme pH'sı 7,5'tir. Kültür besiyerlerinde 1-3mm çapında düzgün, parlak yüzeyli, çoğu portakal renkli olmak üzere sarı veya krem renkli koloniler oluşturur. Çoğu suşları koyun, insan veya tavşan kanlı besiyerlerinde ve %20 CO2'li ortamda inkübe edildiğinde hemoliz

oluşturur. Bazı suşları ise hemolitik değildir(78, 79). Katalaz pozitif, oksidaz negatiftirler. Asetoin üretimi yaparlar; nitratı nitrite indirgerler ve indol negatiftirler. İnsan kaynaklı suşlarının çoğu jelatin hidrolizi yapar ve serumu koagüle eder. Glikoz, maltoz, laktoz, sakaroz, trehaloz ve mannitolden asit oluşturur. İnsan kaynaklı suşlarının birçoğu anaerob ortamda mannitölü fermente eder(78, 79). Patogenezinde rol oynayan koagülaz, α toksin, lökosidin, ekfoliyatif toksin, enterotoksin, toksik şok sendromu toksini gibi bir dizi hücre dışı enzim ve ekzotoksinlere sahiptir(76).

Önemli oranda morbidite ve mortaliteye sahip olan *S. aureus* nozokomiyal bir patojendir. Neden olduğu enfeksiyonlar sıklıkla akut ve piyojeniktir, bakteriyemiye neden olabilir. Etkeni olduğu enfeksiyonlardan bazıları fronkül, sellülit, impetigo, pnömoni, endokardit, myokardit, perikardit, serebrit, menenjit, çeşitli bölgelerde olabilen abseler ve osteomyelittir(77).

S. aureusun birçok potansiyel virulans faktörü vardır;

1. *Slime*/Biyofilm üretimi
2. Konak dokunun kolonizasyonunu artıran yüzey proteinleri
 - a. Protein A
 - b. Kümelenme faktörü
3. Koagülaz
4. Dokularda bakteriyel yayılmayı sağlayan invazinler
 - a. Lökositin
 - b. Kinazlar-Stafilokinaz
 - c. Hiyaluronidaz
5. Diğer hücre dışı enzimler
 - a. Lipaz
 - b. Deoksiribonükleaz
 - c. Termostabil nükleaz
 - d. Beta-laktamaz
6. Fagositik aktiviteyi inhibe eden yüzey faktörleri
 - a. Kapsül polisakkariti
7. Fagositlerde canlı kalmayı arttıran biyokimyasal özellikler
 - a. Pigmentasyon

- b. Katalaz enzimi
8. Ökaryot hücre membranlarının lizisine neden olan ve membran hasarı yapan toksinler.
- a. α toksin
 - b. β toksin
 - c. γ toksin
 - d. δ toksin
9. Süperantijenler
- a. Enterotoksinler
 - b. Toksik şok sendromu toksini (TSST-1)
 - c. Eksfoliyatif toksin

10. Antimikrobiyal maddelere karşı olan doğal ve kazanılmış direnç

S. aureus'un implant ilişkili enfeksiyonları oluşturmasında önemli bir faktör olan biyofilm/slime oluşturma yeteneği vardır. Bakteriyel glikokaliks bakteri tarafından oluşturulmuş polisakkarit kaplı tabakadır. Bu materyal yapışma özelliğinden dolayı slime olarak da adlandırılmaktadır. *S. aureus*'un kolonizasyonu ve biyofilm oluşturması polisakkarit yapıda olan glikozaminglikandan ibaret olan "B/S" olarak adlandırılan ekstrasellüler mukoid bir tabaka oluşturması ile sağlanır(80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı tarafından, Mikrobiyoloji ve Histoloji Anabilim Dalları'nın ve Anadolu Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü'nün katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde 26.03.2008 tarihli 08-51 kayıt numaralı "Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu" kararı alınmıştır.

3.1. Gümüş İyon Katkılı Hidroksiapatit Esaslı Nano Seramik Toz (ABT) Üretimi

Yapılan çalışmalarda, gümüş iyon katkılı hidroksiapatit esaslı nano seramik toz (ABT) hazırlanmasında yaş kimyasal yöntem kullanılmıştır. Bu süreçte ilk önce, gümüş iyonları aynı miktardaki saf suda tamamen çözündürülmüş ve kalsiyum hidroksite eklenerek süspansiyon hazırlanmıştır. Daha sonra ortofosforik asit, yavaşça eklenerek kimyasal reaksiyona sokulmuş ve bu sırada çözelti manyetik çubuk yardımıyla karıştırılmıştır. Stokiyometrik hidroksiapatit yapısına yakın bir yapı oluşturabilmek için pH sürekli kontrol edilmiştir. Reaksiyon sırasında oluşan çökelti filtreden geçirilip 80 °C'de kurutulmuştur.

Toz üretimi son pH 5.5 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Üretilen tozların faz analizi X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku-Rint 2200) kullanılarak 20-80° açıları arasında 2 °/dk ile gerçekleştirilmiştir. XRD analizi sonucunda elde edilen grafiklerdeki piklerin Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapının trikalsiyum fosfat (TCP) ve hidroksiapatit (HA) karışımından oluşan kalsiyum fosfat yapısında olduğu belirlenmiştir.

3.2. Hidroksiapatit Üretimi

Hidroksiapatit (HA) sentezi yaş kimyasal yöntem kullanılarak son pH 5.5 ve Ca/P oranı 1.67 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Üretilen tozların faz analizi X-ışınları difraktometresi kullanılarak 20-80° açıları arasında 2 °/dk ile gerçekleştirilmiştir. XRD analizi sonucunda elde edilen grafiklerdeki piklerin JCPDS

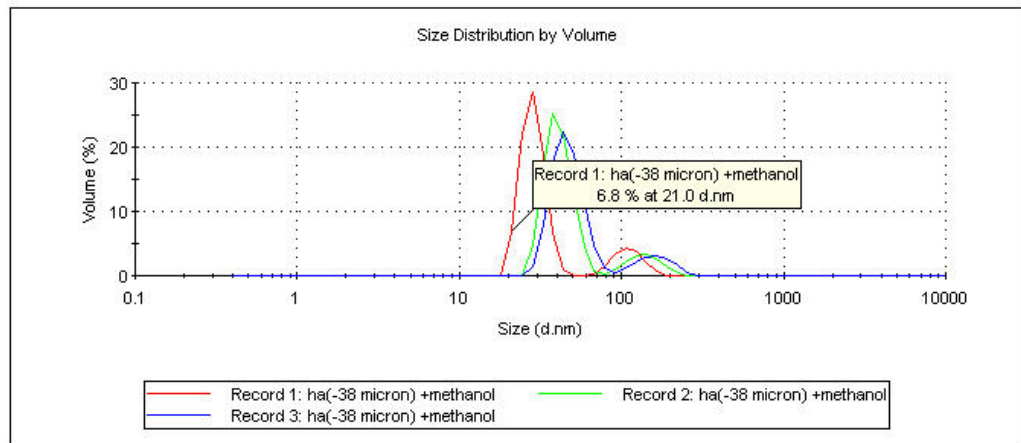
katalogundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapının hidroksiapatit (HA) olduğu belirlenmiştir.

3.3. Biyocam Üretimi

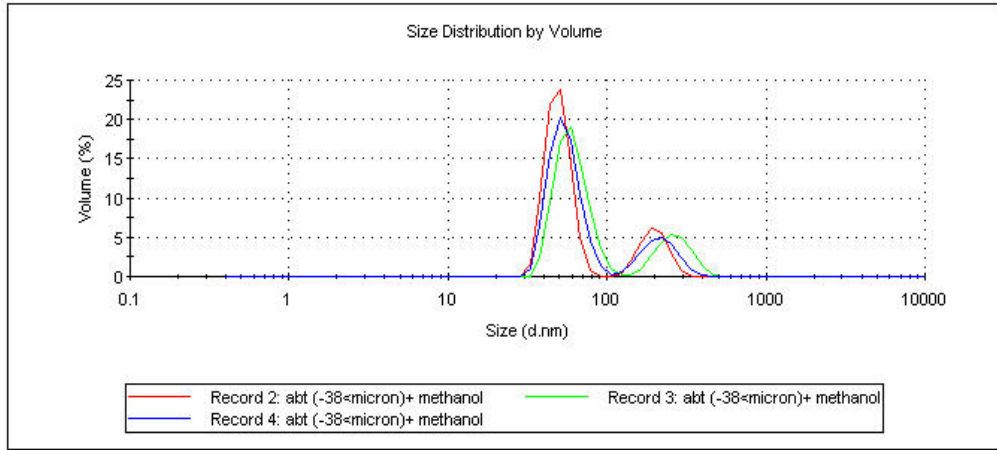
Ticari olarak bilinen 6P57 biyocam kompozisyonu ağırlıkça %56.5 SiO₂, %11.0 Na₂O, %15.0 CaO, %8.5 MgO, %6.0 P₂O₅ ve %3.0 K₂O içermektedir. 6P57 biyocama antibakteriyel özellik kazandırmak için %30 oranında ABT katılmış (6P57ABT) ve 1400 °C de dökülmüştür.

3.4. Kaplama İçin Solüsyonların Hazırlanması

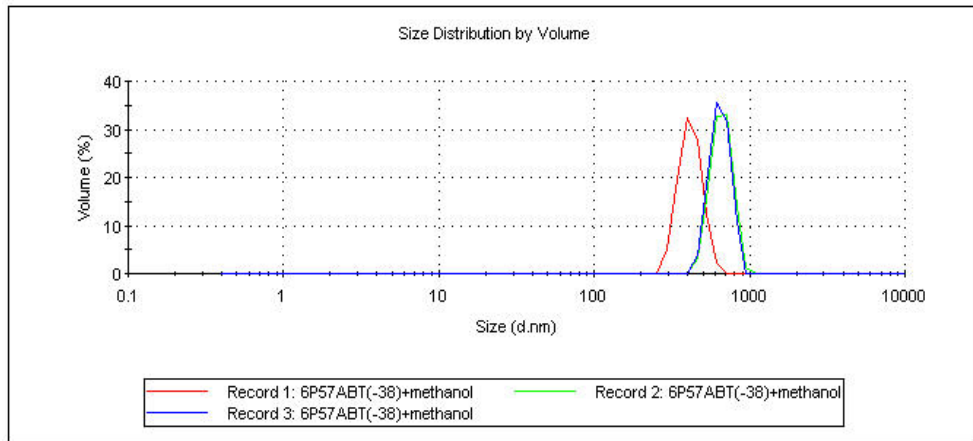
Kaplamalar için kullanılmak üzere HA, ABT ve 6P57ABT (ara katman) tozlarından solüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlarda alkollü sistem tercih edilmiş ve yapılan denemeler sonucunda (etanol, isopropil alkol ve metanol) metanol tercih edilmiştir. Hazırlanan solüsyonlarda ağırlıkça %1 toz kullanılmıştır. Solüsyonların tane boyut ölçümleri ve zeta potansiyeli ölçümleri (Zetasizer, Malvern ZS) yapılmıştır. Tane boyut ölçümleri sonucunda HA ve ABT ile hazırlanan solüsyonların tane boyutlarının 100 nm den düşük olduğu, 6P57ABT tozunun ise 300 nm olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1, 3.2, 3.3).



Şekil 3.1. HA ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği.



Şekil 3.2. ABT ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği.



Şekil 3.3. 6P57ABT ile hazırlanan solüsyonun tane boyut dağılım grafiği.

3.5. Metalik İmplantları Kaplanması

Yapılan kaplama çalışmalarında metalik implant olarak Ti6Al4V alaşımı kullanılmıştır. İmplantlar 25mm uzunluğunda 2mm çapında silindirik çubuklar olarak hazırlanmıştır. (şekil 3.4.) HA ve ABT tozun kaplanması için elektrosprey yöntemi kullanılmıştır. 6P57ABT, ABT ile metalik implant arasında ara katman olarak uygulanmıştır. Ancak 6P57ABT tozu ile hazırlanan solüsyonun stabil olmaması ve çok hızlı bir şekilde çökmesinden dolayı daldırma yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Elektrosprey ile kaplama için yapılan çalışmalar için en iyi kaplama süresi 4 dakika, voltaj 8.0 kV ve akım 20 mA olarak belirlenmiştir. Mesafe 3 cm dir.



Şekil 3.4. 25mm uzunluğunda ve 2mm çapında Ti6Al4V implant

3.6. Metalik İmplantların Sinterlenmesi

Sinterleme işlemi RF (radyo frekansı) kullanılarak, 2×10^{-5} torr vakum altında yapılmıştır. $T=56-57$ değerine hızlı bir şekilde getirilmiş ve $L=58-73$ değerindeyken metalik implant kor halini almıştır. Kor halini aldıktan sonra 15-20 sn arasında tutulmuş ve hızlı soğutulmuştur. (şekil 3.5.)

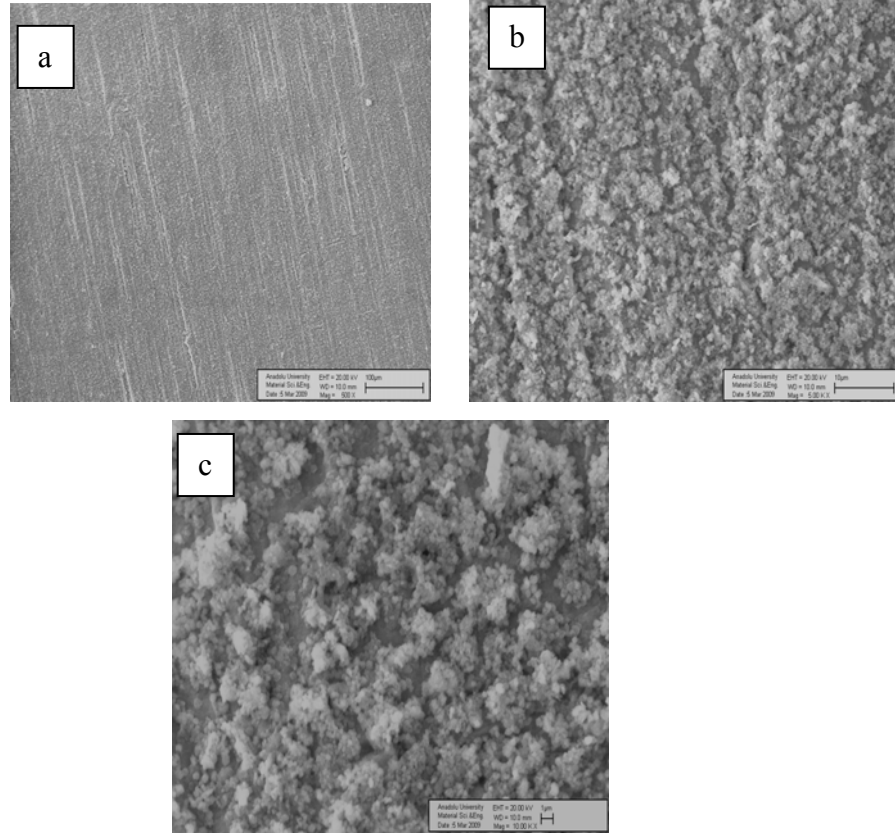


Şekil 3.5. Kaplanmış implant

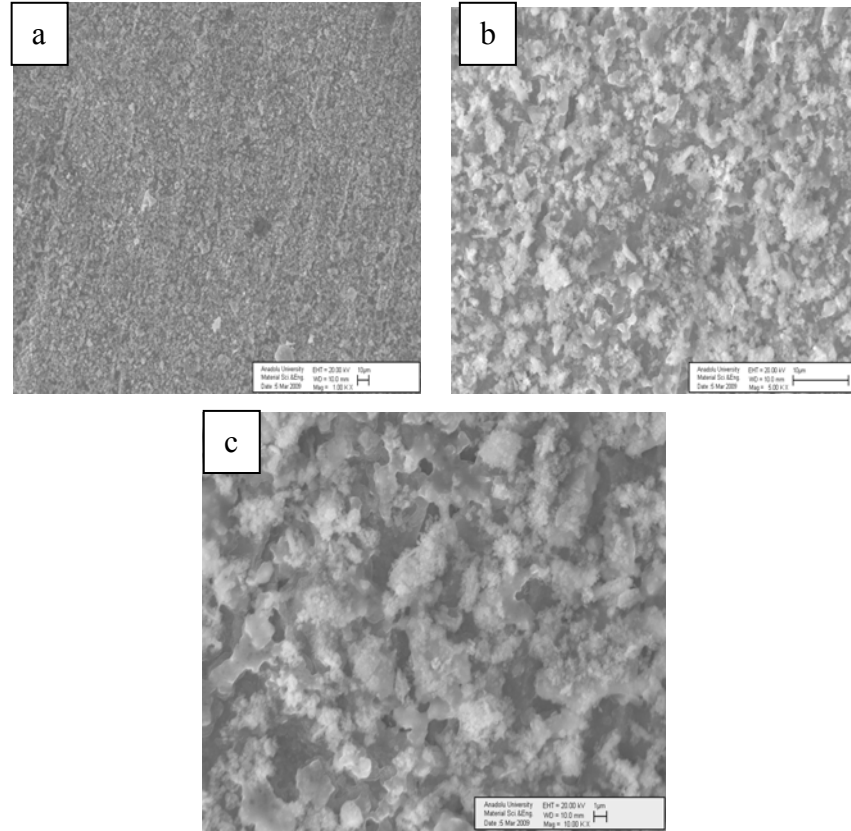
3.7. Sinterlenmiş İmplantların Karakterizasyonu

Sinterlenmiş kaplamaların taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron microscopy=SEM, Zeiss Evo V50) ile yüzey morfolojileri incelenmiş ve enerji saçınımlı X-ışınları difraksiyonu (Energy-dispersive X-ray spectroscopy= EDX) ile kimyasal analizleri yapılmıştır. İmplantların üzerinde uniform kaplamalar

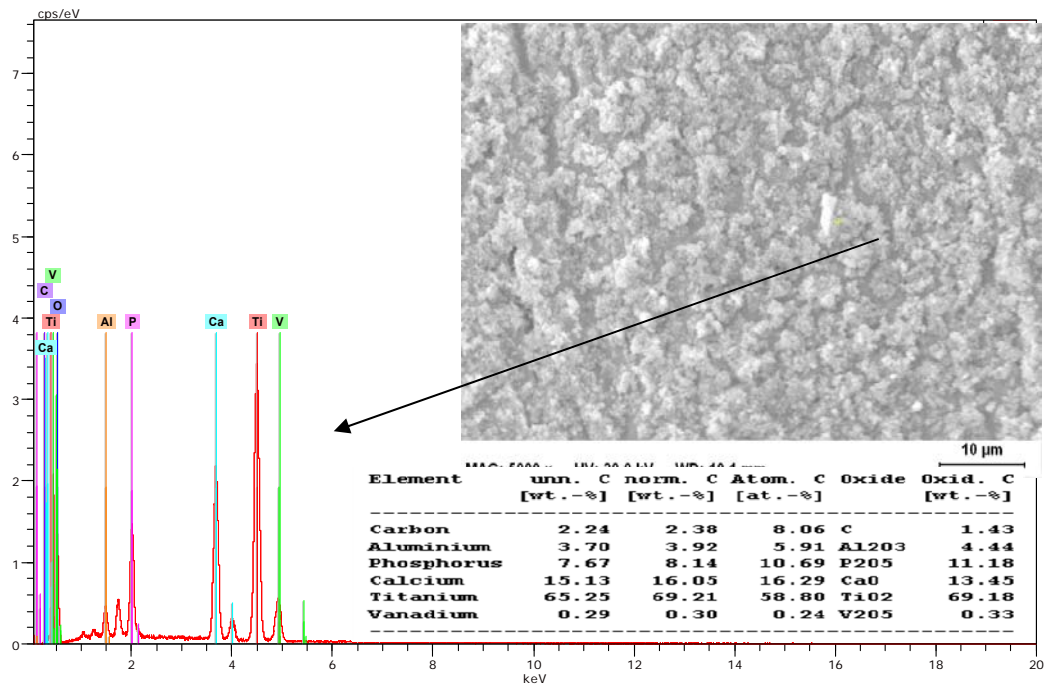
gözlemlenirken, kimyasal analizlerde antibakteriyel kaplamanın % 1 civarında Ag^+ içerdiği saptanmıştır (Şekil 3.6, 3.7, 3.8,3.9).



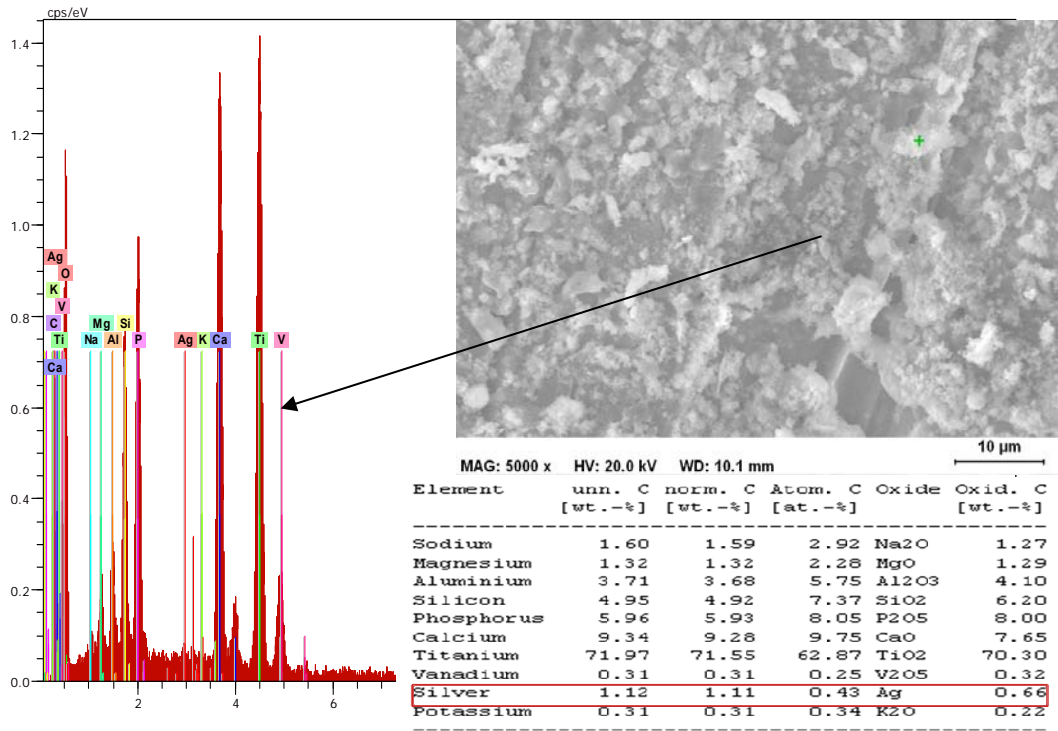
Şekil 3.6. HA ile kaplanmış örneklerin farklı büyütmelerde SEM görüntüleri
(a) 1000 büyütme (b) 5000 büyütme (c) 10000 büyütme



Şekil 3.7. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış numunelerin SEM görüntüleri
(a)1000 büyütme (b) 5000 büyütme (c) 10000 büyütme



Şekil 3.8. HA ile kaplanmış numunelerin EDX analizi.



Şekil 3.9. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış numunelerin EDX analizi.

3.8. Enfeksiyon Ajanı

Deneysel enfeksiyon modelinde metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) standart suşu (*S. aureus* ATCC 43300 / Oxoid-İngiltere) kullanılmıştır. MRSA standart suşun %15 gliserol içeren triptik soya buyyonda $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan stok kültüründen %5 koyun kanlı agara pasaj yapılarak $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası üreyen kolonilerin MRSA'ya ait ve saf oldukları kontrol edildikten sonra buradan önce spektrofotometrik olarak bakterinin steril serum fizyolojik (SF) içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklığı (10^8 CFU/ml) hazırlandı. Elde edilen standart bulanıklık, steril SF'le 100 kez sulandırılarak bakterinin 10^6 CFU/ml'lik süspansiyonu elde edildi. Her bir inokülasyon için bu süspansiyondan 50 µl kullanıldı (inokülüm miktarı: 5×10^4 CFU).

3.9. Deney Hayvanları

Çalışmada, Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM) hayvan evinde bulunan, ağırlıkları 3-3,5 kg arasında değişen 33

adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar TİCAM hayvan evinde standart yem ve su ile beslendi.

Tavşanlar 3 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kaplanmamış implant kullanılan tavşanlar

Grup 2: Hidroksiapatit kaplanmış implant kullanılan tavşanlar

Grup 3: Gümüş iyon katkılı hidroksiapatit esaslı nano seramik toz (ABT) kaplanmış implant kullanılan tavşanlar

3.10. Cerrahi Yöntem

İntramusküler ksilazin hidroklorid(Ronpun® 0,2 mg/kg) ve subkutan ketamin hidroklorür(Ketalar® 10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra deneklerden intrakardiyak olarak ~6ml kan aspire edildi. Tavşanların sol alt ekstremiteleri kalçadan itibaren traşlandı ve yıkandı. Delikli steril örtü ile operasyon sahası izole edilecek şekilde ekstremiteler örtüldü ve bu bölgeye steril drape yapıştırıldı. Standart cerrahilerde olduğu gibi yıkanma işlemi gerçekleştirildikten sonra cerrahiye geçildi. Deneklerin sol dizlerine anterior orta hat insizyonu ile girildi. Medial parapatellar insizyon ile kapsülotomi yapılarak patella laterale devirildi Femur interkondiler bölgeden 2,5mm'lik matkap ucu ile interkondiler çentikten femur medullasına giriş deliği açıldı (şekil 3.10). Femur medullasında oluşan kanama enjektör yardımı ile aspire edildi. Bakteri inokulasyonu amacı ile hazırlanan solüsyondan 50µl intramedüller bölgeye enjekte edildi (şekil 3.11).

Açık kırıklarda medüller kontaminasyon enfeksiyon gelişmesi açısından önemli bir faktördür (81). Kırık iyileşme süreci, yapacağımız deneysel çalışmada enfeksiyon gelişimini ve bunun ortaya konmasını etkileyebilecek bir faktördür. Enfeksiyon gelişiminin ve bunun ortaya konmasının incelendiği bu deney modelinde değişken sayısını azaltmak amacıyla deney hayvanlarında kırık oluşturmayarak homojen bir grup oluşturulmaya çalışılmıştır.



Şekil 3.10. Femur interkondiler bölgeden 2,5mm lik dril ucu yardımı ile giriş deliğinin açılması.



Şekil 3.11. Bakteri inokulasyonu.

Hazırlanmış olan implant femur medullasına yerleştirildi (şekil 3.12, 3.13). Medulladan taşan sıvı steril spanç yardımı ile temizlenip interkondiler bölgede var olan giriş deliği ekleme ilişkisinin kesilmesi amacı ile steril kemik mumu yardımı ile kapatıldı (şekil 3.14).



Şekil 3.12. İmplantın femur medullasına yerleştirilmesi



Şekil 3.13. İntramedüller alana yerleştirilmiş olan implantın görünümü



Şekil 3.14. İnterkondiler bölgede var olan deliğin kemik mumu yardımı ile kapatılması

Patella redükte edilip eklem kapsülü tamir edildi. Cilt altı ve cilt dokusu usulüne uygun olarak kapatıldı. Çalışmanın ilk 2 haftası boyunca tavşanların yara bakımları günlük olarak takip edildi. Tavşanların hiç birisinde yara iyileşme problemi yaşanmadığı için bu ekstremiteleri de serbest bırakıldı.

Tavşanlardan kan alma işlemi 2., 6. ve 10. haftalarda tekrarlandı. Alınan kanlardan;

1. Tam kan sayımı
2. C-Reaktif Protein (CRP)
3. Kan gümüş düzeyi
4. Kan biyokimyası parametreleri çalışıldı. Kan biyokimyasında Total protein (TP), Kan Üre Azotu (BUN), Kreatinin (Cr), Alanin Transaminaz (ALT), Aspartat Transaminaz (AST), Gama Glutamil Transferaz (GGT), Alkale Fosfataz (ALP), Laktat Dehidrojenaz (LDH), Kreatin Kinaz (CK) parametrelerine bakıldı.

Tavşanlar 10. hafta sonunda intrakardiyak 3cc tiopental sodyum verilerek öldürüldü. İmplant uygulanmış olan sol alt ekstremiteleri kalçadan dezartiküle edildi. Deneklerin implant bulunan femurları steriliteye dikkat edilerek disseke edildi. İmplantlar steril şartlarda çıkartıldıktan sonra steril burgu kapaklı tüplere kondu. Dokudaki enfeksiyonu göstermek amacıyla implantların çıkartıldığı bölgelerden

alınan sürüntü örnekleri eküvyonlu transport sistemine (Copan/İtalya) alındı. Alınan örnekler kültürü yapılmak üzere bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

Işık mikroskopunda histolojik çalışma yapmak için her gruptan 7'şer adet femur kemik bloğu çıkartılarak %10'luk formalin fiksatifine içerisine koyuldu. Her gruptan bir adet olmak üzere implantın bulunduğu femur bölgesi elektron mikroskopisi görüntüsü için alındı ve örnekler hızla histoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

Ekstremitelerle ilgili işlemler tamamlandıktan sonra tüm tavşanların karaciğer, dalak, sol böbrek, kalp ve beyin dokuları organlarda gümüş tespiti amacıyla ayrı ayrı kaplara yerleştirilerek işlem zamanına kadar -20°C derin donduruculu buzdolabında saklandı.

3.11. Mikrobiyolojik İnceleme

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örneklerden sürüntü örnekleri, %5 koyun kanlı agara ekildi. İmplantlar ikişer ml steril serum fizyolojik içerisinde 3 dakika süreyle döndürülerek tutunmuş bakterilerin serbestleşmesi sağlandı. Daha sonra kantitatif kültür için implantların 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. Her bir dilüsyondan (10^0 'dan 10^{-5} 'e kadar) 50 µl alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edildi. İnoküle edilen tüm %5 koyun kanlı agar plakları aerop ortamda 35 °C'de 48 saate kadar inkübe edildi. *S. aureus*'un tanımlanmasında Gram boyama, koloni özellikleri (hemoliz ve pigmentasyon) ve hızlı biyokimyasal testler (katalaz ve tüpte koagülaz) gibi geleneksel yöntemlerden ve otomatize identifikasyon-antibiyotik duyarlılık sisteminden (Phoenix, BD, Amerika) yararlanıldı. İmplant örneklerinin kantitatif kültürleri yapıldığından implantlardaki bakteri sayıları belirlendi. Buna göre sayılabilecek kadar üremenin olduğu kültür plakları alınarak koloniler tek tek sayıldı. İmplantın konduğu sıvı miktarı (2 ml) ve dilüsyon kat sayısı dikkate alınarak orijinal (dilüsyon yapılmamış) sıvıdaki bakteri sayısı belirlendi. Daha sonra her bir implantın santimetre karesi başına düşen koloni (colony forming units/cm² = CFU/cm²) sayısı, silindir yüzey alanı formülü kullanılarak hesaplandı (82, 83). İmplantların yüzey alanlarının 1,63cm² olduğu hesaplandı.

3.12. Histopatolojik İnceleme

Işık mikroskopisi için histoloji laboratuvarına getirilen örneklere gerekli küçültme işlemlerinin ardından kemik dokusu örnekleri %10'luk formalinde fiksatif günlük olarak değiştirilmek suretiyle 5 gün boyunca tespit edildi. Daha sonra kemik dokusunun dekalsifikasyon işlemine geçildi. Bu aşama için 5cc formik asit ve 95cc distile su içeren dekalsifikasyon solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyonda solüsyon sıvısı tazelenerek kemiğin 10 gün döndürülerek 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. Şeffaflaşan kemik dokusu örnekleri ksilol aşamasının ardından parafine alındı. Parafin 4 defa değiştirildi ve her bir parafinde 1 saat bekletilen örnekler parafine gömülerek bloklandı. Gömme işleminin ardından ışık mikroskopik incelemeler için kemik dokusu örneklerinden 5 mikronluk kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ve masson trikrom boyası ile boyandı ve ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

Elektron mikroskopik inceleme için her gruptan birer adet denekten alınan kemik dokusu örnekleri %2,5'luk Gluteraldehid tespit sıvısında 24 saat süre ile tespit edildi. Tespit edilen dokular fosfat tampon içerisinde yıkandı. Daha sonra bir gece önce kırılarak hazırlanan osmiyum içerisinde 2 saat bekletilerek hem ikinci fiksasyonları hem de boyanmaları sağlandı. Tampon çözeltilisine alınarak yıkanan dokuların daha sonra dekalsifikasyon işlemine geçildi. Bunun için hazırlanan formik asit+distile su içerisine alınan dokuların bu solüsyon içerisinde 15 gün süre ile iki günde bir yenisi ile değiştirilerek kontrollü olarak dekalsifikasyonu sağlandı. Dekalsifikasyonun ardından formik asidin uzaklaştırılması amacı ile dokular tampon çözeltilisinde yıkandı. Takip işlemi %50, %70, %90, %96 %100'lük alkol aşamalarıyla devam etti. Alkol aşamasının devamında kemik dokusu örnekleri propilen oksite ardından da propilen+araldit karışımına alınarak takip yapıldı. Dokular 1 gece saf araldit içerisinde döndürüldü. Ertesi gün taze olarak hazırlanan

araldite gömülen kemik dokuları gömme işleminin ardından 1. gün 45°C de 2. gün 60°C de olacak şekilde etüvde 2 gün süreyle bekletildi. Blok yapılan her bir bloktan 700-800nm olacak şekilde yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı. Daha sonra bu örneklerden yer tayin edildi ve ince kesitler için tıraşlandı. Trimlenen dokulardan ince kesitler alındı ve uranil asetat ve kurşun sitrat boyasıyla boyanarak JEOL-1220 Transmisyon Elektron mikroskopta inceleme yapıldı. Tüm kesitler elektron mikroskopta fotoğraflandı ve sonuçlar değerlendirildi.

3.13. Kanda Gümüş İyonlarının Tespiti

Kanda gümüş tespiti amacı ile alınan kanlar 3000 rpm/dk hızda 10 dakika santrifüj edildi. Kanın hücresel elemanları ayrıldıktan sonra serum elde edildi. Serum örnekleri nitrik asit ilavesi ile pH 2 ye getirilerek, analiz işlemine kadar +4 °C'de bekletildi. Analiz için Varian Spectra A 250 Plus Model Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılmış ve standart metot uygulanmıştır. Analiz işleminde örnekler öncelikle direk okumaya alınmış sonrasında n/10 luk HCl ile 2 ml si 10 ml olacak şekilde seyreltilerek okumaya alınmıştır.

3.14. Organlarda Gümüş İyonlarının Tespiti

Buzdolabından çıkarılan organ örnekleri çeşme suyu ve distile su ile bir kaç kez yıkandı. Paslanmaz çelik bistüri uçları ve pens yardımıyla yağ ve kas dokuları gibi yabancı dokuları temizlenen organlar 105°C'de 24 saat bekletilerek sabit tartıma kadar kurutulmuştur. Daha sonra 1gr tartılarak alınan örnekler, ısıya dayanıklı cam balonlar içinde HNO₃ ve HClO₄ asit ilavesi ile mineralizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Organik yıkımı biten örnekler siyah bant filtreden süzülerek, hacimleri n/10'luk HCl ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Tüm metal analizleri Varian Spectra A 250 Plus Model Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi'nde yapılmıştır

3.15. İstatiksel Analiz

Tüm veri analizleri SPSS 15.0 ve SigmaStat 3.1 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama ± standart sapma yada medyan (Q₁, Q₃) olarak, nitel veriler ise n ve oran olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım gösteren bağımsız yapıdaki verilere One Way Anova ile analiz edilmiştir. Normal dağılım

göstermeyen bağımsız yapıdaki verilere Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks ile analiz edilmiştir. Kategorik yapıdaki veri setlerine ise Ki-kare testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ olasılık değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kaplamasız implant kullanılan Grup 1’de ilk girişim sonrası 2 adet tavşan ölmüştür. Bunun sebebinin kan alma esnasında oluşan hava embolisi olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle Grup 1’de 9, Grup 2 ve 3’te ise 11 tavşan olmak üzere toplam 31 tavşan ile çalışmaya devam edilmiştir. Takipler esnasında başka istenmeyen ölüm olmamıştır.

4.1. Biyokimyasal Ölçüm Sonuçları

Çalışmada böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan BUN seviyeleri tablo 4.1’de verilmiştir. Gruplar arasında BUN seviyeleri açısından 0., 2., ve 6. hafta ölçümlerinde gruplar arasında fark bulunmadı. Grup 2’de 10. hafta BUN değerleri ortalamaları diğer gruplara göre yüksek bulundu ($p<0,001$). Ancak tüm değerler normal değerler içerisinde bulunmaktaydı.

Tablo 4.1 Serum BUN seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	16,222±3,492	15,364±3,355	16,455±3,857	0,280	0,758
2. Hafta	15,889±4,622	15,455±2,945	14,545±3,857	0,330	0,721
6. Hafta	13,111±4,256	13,818±2,228	11,909±2,071	1,205	0,315
10.Hafta	12,444±1,667 ^{a,b}	15,182±1,601 ^{a,c}	11,909±1,446 ^{b,c}	13,569	<0,001

One Way Anova

[†]: mg/dl ^a: Grup 1&Grup 2 p:0,025 ^b: Grup 1&Grup 3 p:0,050 ^c: Grup 2&Grup 3 p:0,017

Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer parametre olan serum Cr düzeyleri tablo 4.2’de verilmiştir. Cr seviyeleri açısından başlangıç ve takip düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı.

Tablo 4.2. Serum Cr seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	0,956±0,151	0,909±0,176	0,864±0,136	0,868	0,431
2. Hafta	0,956±0,235	0,836±0,242	0,900±0,195	0,706	0,502
6. Hafta	0,844±0,142	0,927±0,185	0,918±0,133	0,815	0,453
10. Hafta	0,989±0,183	0,982±0,264	0,891±0,192	0,662	0,524

One Way Anova

[†]: mg/dl

Karaciğer toksisitesinin varlığını araştırmak amacıyla ölçülen serum ALT düzeyleri tablo 4.3 ve tablo 4.4'te verilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak farklı iki yöntem ile karşılaştırılmasının ve tablolaştırılmasının sebebi 10. haftadaki ALT seviyelerinin normal dağılım göstermesine karşın 0., 2. ve 6. haftalardaki ALT seviyelerinin normal dağılım göstermemesidir. Normal dağılım gösteren verilere One Way Anova ile analiz yapılırken normal dağılım göstermeyen verilere Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks ile analiz yapılmıştır. Bu nedenle sonuçlar farklı 2 tabloda verilmiştir. Başlangıç değerlerinde Grup 2 ile Grup 3 arasında farklılık saptandı ($p<0,05$), ancak değerler normal sınırlar arasında idi. Takip düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı.

Tablo 4.3. 0., 2. ve 6. haftalarda serum ALT seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
0. Hafta	22,00 ^{a,b}	16,00	31,25	14,00 ^{a,c}	12,25	17,75	22,00 ^{b,c}	18,50	28,25	0,020
2. Hafta	16,00	12,50	16,75	12,00	10,25	16,25	16,00	13,00	28,75	0,196
6. Hafta	21,00	13,50	42,50	15,00	13,25	20,50	19,00	15,50	23,75	0,431

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: IU/L^a: Grup 1 & Grup 2 $p>0,05$ ^b: Grup 1 & Grup 3 $p>0,05$ ^c: Grup 2 & Grup 3 $p<0,05$

Tablo 4.4. 10. hafta serum ALT seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
10. Hafta	20,333±5,545	15,455±5,698	19,636±7,339	1,840	0,177

One Way Anova

[†]: IU/L

Karaciğer enzimlerinden olan AST düzeyleri tablo 4.5'te verilmiştir. Sonuçlara baktığımızda gruplar arasında fark saptanmadı.

Tablo 4.5. Serum AST seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	10,111±3,371	11,545±5,007	14,818±8,146	1,659	0,208
2. Hafta	15,444±6,405	12,909±6,503	16,000±7,616	0,618	0,546
6. Hafta	25,222±12,696	32,091±6,833	29,818±12,032	1,041	0,366
10. Hafta	25,667±7,156	25,727±5,368	26,727±11,748	0,0506	0,951

One Way Anova

[†]: IU/L

Bir diğer karaciğer enzimi olan GGT düzeyleri tablo 4.6 ve tablo 4.7'de verilmiştir. GGT düzeylerine bakıldığında başlangıç ve takip düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı.

Tablo 4.6 Serum GGT 0. ve 10. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	4,222±1,856	6,818±3,027	5,455±3,532	1,930	0,164
10. Hafta	8,667±2,179	7,273±1,849	8,091±3,534	0,702	0,504

One Way Anova

[†]: IU/L

Tablo 4.7. Serum GGT 2. ve 6. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
2. Hafta	5,00	5,00	6,25	7,00	6,00	8,00	7,00	4,25	10,00	0,167
6. Hafta	7,00	6,00	10,25	7,00	7,00	9,75	8,00	7,00	11,50	0,643

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: IU/L

Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan diğer önemli bir parametre de serum TP düzeyidir. TP düzeyleri tablo 4.8’de verilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında başlangıç ve takip sonuçlarında gruplar arasında farklılık saptanmadı.

Tablo 4.8. Serum total protein seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	5,844±0,873	5,836±0,832	5,736±1,00	0,0465	0,955
2. Hafta	5,867±0,735	5,936±1,044	6,300±0,595	0,844	0,441
6. Hafta	6,911±0,703	6,964±0,644	7,545±0,622	3,061	0,063
10. Hafta	6,800±0,522	6,555±0,757	6,818±0,645	0,539	0,589

One Way Anova

[†]: mg/dl

Deneklerden alınan kanlarda LDH enzim düzeylerinin karşılaştırmasında başlangıç ve takip sonuçlarında fark bulunamadı. Ancak LDH enzim düzeyleri, tüm gruplarda tüm ölçümlerde normal düzeylerin (48-259U/l) üzerinde saptandı. (Tablo 4.9, Tablo 4.10)

Tablo 4.9. Serum LDH 0. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	270,667±170,534	320,091±142,551	413,273±291,684	1,160	0,328

One Way Anova

[†]: IU/LTablo 4.10. Serum LDH 2., 6. ve 10. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
2. Hafta	563,00	459,50	713,50	472,00	371,25	541,00	517,00	456,75	711,00	0,318
6. Hafta	754,00	418,50	1222,75	1019,00	711,50	1210,25	1002,00	737,75	1291,00	0,402
10. Hafta	775,00	693,25	955,00	637,00	540,500	710,00	653,00	472,50	807,75	0,124

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: IU/L

Deneklerden alınan kanlarda ALP düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında 0., 2., ve 6. hafta düzeylerinde farklılık saptanmadı. Ancak Grup 2’de ALP’nin 10. hafta düzeyleri Grup 1 ve Grup 3’e göre daha yüksek saptandı. (p<0,05) ALP düzeyleri ortalamaları tüm gruplarda ve tüm ölçümlerde normal düzeylere göre yüksek saptandı. (Tablo 4.11, Tablo 4.12)

Tablo 4.11. Serum ALP 0. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
0. Hafta	78,00	44,75	176,75	85,00	69,50	145,00	61,00	52,75	73,25	0,226

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: IU/L

Tablo 4.12. Serum ALP 2., 6. ve 10. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
2. Hafta	39,778±15,881	43,273±19,734	38,273±11,332	0,280	0,758
6. Hafta	37,333±13,973	51,364±16,458	49,727±18,150	2,091	0,142
10. Hafta	45,667±7,890 ^{a,b}	60,818±14,183 ^{b,c}	43,273±13,506 ^{a,c}	6,309	0,005

One Way Anova

[†]: IU/L^a: Grup 1 & Grup 2 p:0,025, ^b: Grup 1 & Grup 3 p:0,050 ^c: Grup 2 & Grup 3 p: 0,017

Serum CK düzeyleri tablo 4.13 ve tablo 4.14'te verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında başlangıç ve takip düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı.

Tablo 4.13. CK 0. ve 6. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	%25	%75	MEDYAN	%25	%75	MEDYAN	%25	%75	
0. Hafta	1192,00	816,75	1757,50	1030,00	772,00	1984,50	989,00	790,75	1195,75	0,901
6. Hafta	2638,00	1975,75	4459,00	3685,00	3198,00	7383,75	4279,00	1866,75	5300,25	0,245

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: IU/LTablo 4.14. Serum CK 2. ve 10. hafta seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
2. Hafta	3736,333±1792,111	2623,091±1483,951	2718,364±825,121	1,875	0,172
10. Hafta	2766,444±1683,674	2863,727±947,389	2501,000±1390,059	0,211	0,811

One Way Anova

[†]: IU/L

4.2. Hematolojik Sonuçlar

Deneklerden alınan kanlardan yapılan kan sayımlarında Hgb düzeylerinde gruplar arasında başlangıç ve takip düzeylerinde farklılık saptanmadı. Bütün

gruplarda Hgb düzeyleri takiplerde azalmıştır. Ancak gruplar arasında fark saptanmamıştır. (Tablo 4.15)

Tablo 4.15. Kan Hgb seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	11,922±0,954	11,500±1,159	11,591±1,429	0,324	0,726
2. Hafta	9,133±1,448	9,255±1,370	9,873±1,314	0,871	0,430
6. Hafta	8,300±0,879	8,745±1,053	8,727±1,482	0,435	0,652
10. Hafta	8,267±0,812	8,882±1,495	8,455±1,405	0,601	0,555

One Way Anova

[†]:g/dl

Yapılan kan sayımlarındaki beyaz küre (WBC) sayılarında başlangıç ve takiplerde gruplar arasında farklılık saptanmadı. (Tablo 4.16)

4.16. Kan WBC sayımları[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	6989±1194	7473±2016	7036±1473	0,284	0,755
2. Hafta	12733±3561	12300±3397	11836±3317	0,172	0,843
6. Hafta	14456±2826	11418±4440	11491±3645	2,046	0,148
10. Hafta	16733±5191	12636±6541	11536±2823	2,799	0,078

One Way Anova

[†]: /mm³

Tam kan sayımlarındaki trombosit sayılarında gruplar arasında başlangıç ve takiplerde fark saptanmadı. (Tablo 4.17)

Tablo 4.17. Kan trombosit sayımları[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
0. Hafta	395333±97577	500909±301797	416364±131486	0,783	0,467
2. Hafta	949444±429232	911909±244317	971909±399655	0,077	0,926
6. Hafta	839000±212757	840273±362651	827273±183699	0,007	0,992
10. Hafta	767556±347725	670909±338127	524455±284108	1,450	0,252

One Way Anova

[†]: /mm³

Deneklerden yapılan serum CRP düzeylerinde başlangıçta fark saptanmadı. İkinci hafta ölçümlerinde ise Grup 3’de CRP düzeyleri ortalamaları diğer gruplara göre daha düşük saptandı.(p<0,05) 6. ve 10. hafta ölçümlerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı. (Tablo 4.18, Tablo 4.19).

Tablo 4.18. 0., 2. ve 10 hafta serum CRP seviyeleri[†]

	GRUP 1			GRUP 2			GRUP 3			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
0. Hafta	0,00	0,00	0,033	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,878
2. Hafta	0,231 ^{a,b}	0,200	0,269	0,205 ^{a,c}	0,173	0,263	0,147 ^{b,c}	0,131	0,192	0,003
10. Hafta	0,257	0,205	0,287	0,239	0,179	0,279	0,209	0,203	0,221	0,219

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: mg/dl^a: Grup 1 & Grup 2 p>0,05 ^b: Grup 1 & Grup 3 p<0,05 ^c:Grup 2 & Grup 3 p<0,05

Tablo 4.19. 6. hafta serum CRP seviyeleri[†]

	GRUP 1 (ORTALAMA±SD)	GRUP 2 (ORTALAMA±SD)	GRUP 3 (ORTALAMA±SD)	F	P
6. Hafta	0,259±0,093	0,205±0,069	0,208±0,055	1,650	0,210

One Way Anova

[†]: mg/dl

4.3. Kan Gümüş Düzeyi Sonuçları

Deneklerden alınan kanların tamamında serumda gümüş saptanmamıştır.

4.4. Organ Gümüş Düzeyi Sonuçları

Deneklerden alınan karaciğer, dalak, beyin, kalp ve böbrek örneklerinin tamamında gümüş saptanmamıştır.

4.5. Mikrobiyolojik Sonuçlar

Deneklerden alınan intramedüller sürüntü kültürlerinde ABT kaplı implant kullanılan Grup 3'te diğer gruplar ile karşılaştırıldığında bakteri üremesi daha az bulundu.(Tablo 4.20)

Çivilerin üzerinden yapılan bakteri ekimi sonrası birim alanda üreyen bakteri sayısına göre ABT kaplı implant kullanılan Grup 3'te bakteri sayısı belirgin olarak daha az bulundu. (Tablo 4.21)

Tablo 4.20 İntramedüller sürüntü kültürü sonuçları

SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ	GRUP 1 (Kaplama Ø)	GRUP 2 (HA Kaplı)	GRUP 3 (ABT)	P
ÜREME				
-	0	1	5	0,003
+	2	0	5	
++	2	3	1	
+++	5	7	0	
Toplam	9 ^{a,b}	11 ^{a,c}	11 ^{b,c}	

^a: Grup 1 & Grup 2 p:0,432 ^b: Grup 1 & Grup 3 p:0,004 ^c: Grup 2 & Grup 3 p: 0,0002

Tablo 4.21. İmplant üzerinden yapılan kantitatif kültür sonuçları

	GRUP 1 (Kaplama Ø)			GRUP 2 (HA Kaplı)			GRUP 3 (ABT Kaplı)			P
	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	MEDYAN	Q ₁	Q ₃	
Üreme Miktarı [†]	13189	4932 ^{a,b}	73619	107361 ^{a,c}	18404	184049	70 ^{b,c}	0	736	<0,001

[†]: CFU/cm²

^a: Grup 1 & Grup 2 p>0,05 ^b: Grup 1 & Grup 3 p<0,05 ^c: Grup 2 & Grup 3 p<0,05

4.6. Histopatolojik Sonuçlar

Yapılan histolojik takip sonucunda her gruptan 7 adet örneğin tamamından değerlendirme için görüntü elde edildi. İncelenen örnekler karşılaştırıldığında kemik dokusundaki enflamasyon açısından gruplar arasında farklılık saptandı. (p:0,033) Ancak farklılığın hangi gruplar arasında olduğu tespit edilemedi. Grup 1’de 7 örneğin 5 tanesinde enflamasyon hiç gözlenmezken, Grup 2’de ve Grup 3’te 7 örnekten 2 tanesinde enflamasyon hiç gözlenmemiştir. Bu durumun tersine Grup 1’de 7 örnekten 2 tanesinde enflamasyon az miktarda gözlenirken Grup 2’de 2 örnekte az miktarda 3 örnekte orta miktarda gözlenmiştir. Grup 3’te ise 7 örnekte 5 tanesinde az miktarda enflamasyon gözlenmiştir (Tablo 4. 22).

Tablo 4.22. Histolojik örneklerin enflamasyon bulgularına göre incelenmesi

ENFLAMASYON	GRUP 1 (Kaplama Ø)	GRUP 2 (HA Kaplı)	GRUP 3 (ABT Kaplı)	P
-	5	2	2	0,033
+	2	2	5	
++	0	3	0	
+++	0	0	0	
Toplam	7	7	7	

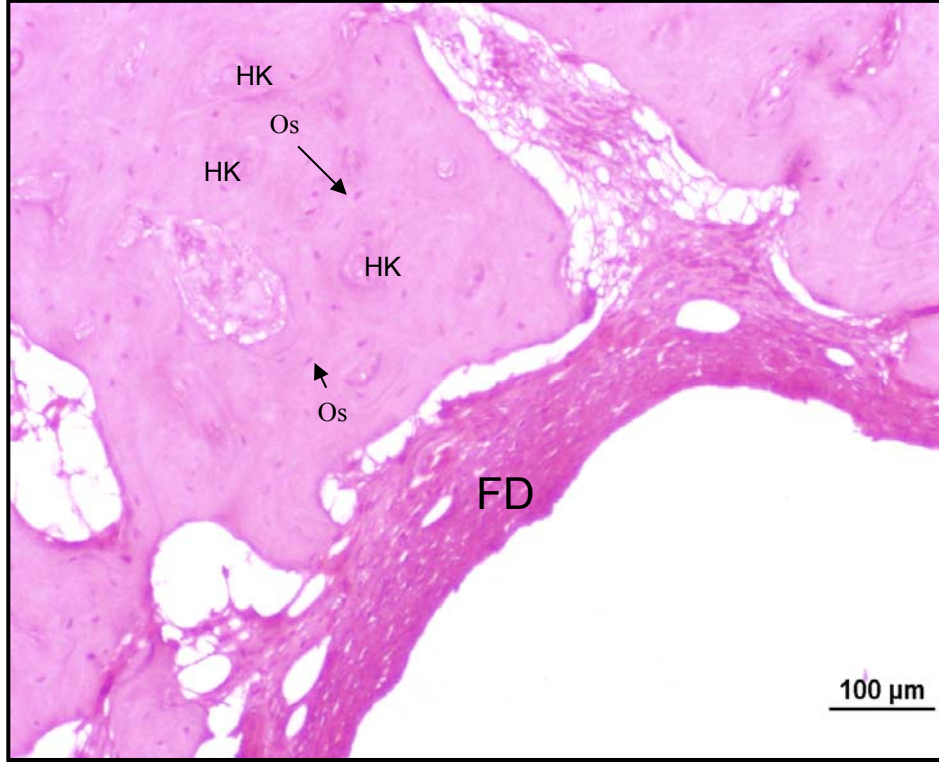
Histolojik örnekler fibröz doku oluşumu açısından incelendiğinde gruplar arasında farklılık saptanmadı. (p:0,35) (Tablo 4.23)

Tablo 4.23. Histolojik örneklerin fibröz doku oluşumuna göre incelenmesi

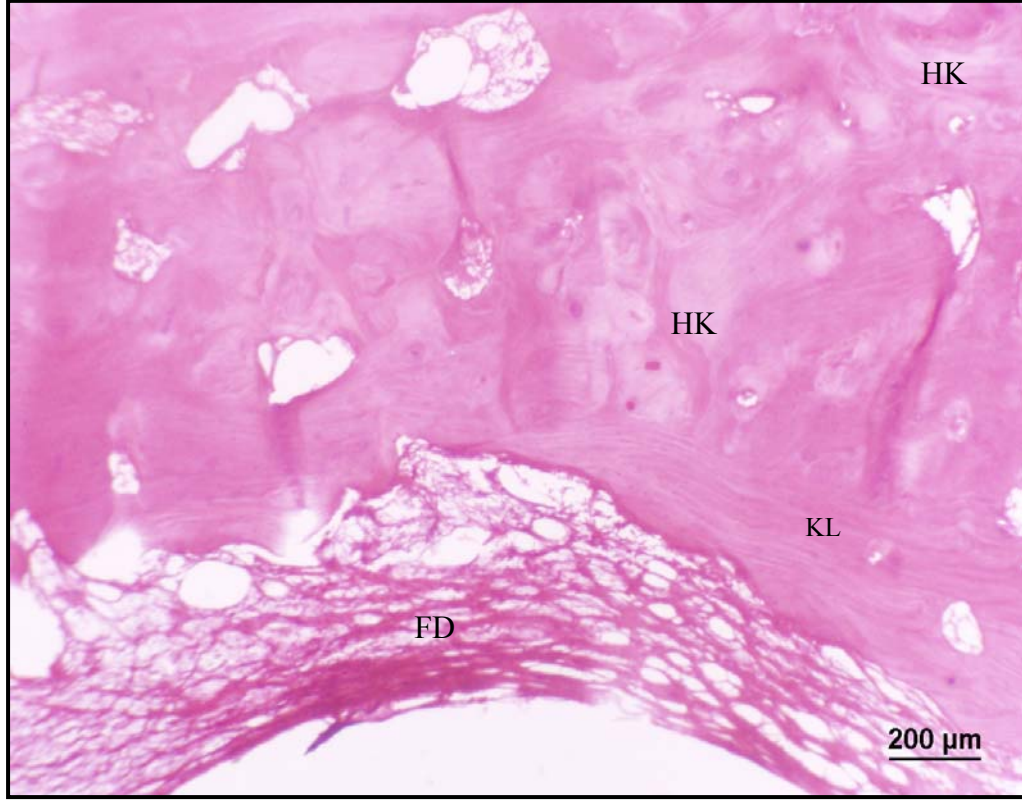
FİBRÖZ DOKU OLUŞUMU	GRUP 1 (Kaplama Ø)	GRUP 2 (HA Kaplı)	GRUP 3 (ABT Kaplı)	P
-	5	2	2	0,35
+	2	2	2	
++	0	1	0	
+++	0	2	3	
Toplam	7	7	7	



Şekil 4.1. Grup 3 ten seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek. Resmin sol alt kısmında görülen matür kemik yapısı havers kanalları (HK) ve etrafındaki sirküler liflerle beraber osteon yapısı (Os) ve kemik iliği (Kİ) hematopoietik kan hücreleri ve yağ hücreleriyle normal histolojik yapıda gözlendi. Resmin sağ üst kısmında ise henüz lameller yapısını tamamlamamış immatür kemik yapısı gözlenmekte (İK).



Şekil 4.2. Grup 2'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek.
Resimde incelenen örnekte kemikte havers kanları (HK)
lameller kemik yapısı, osteositler (Os) normal histolojik
yapıda görüldü. Ancak implantın bulunduğu yerde
yoğun fibröz doku dikkat çekmekte (FD).



Şekil 4.3. Grup 1'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örnek. Resimde dekalsifiye olmuş kemikten alınan örnekte kemik lameller yapısını oluşturan kollajen liflerinin sirküferansiyel devam ettiği alanlar (KL) ve havers kanallarını çevrelediği sirküler yapıları (HK) irregüler düzende görülmekte. Ayrıca implantın yerleştiği alanda ise infiltrasyon içeren fibröz doku görülmekte(FD).

5. TARTIŞMA

Açık kırıkların sağaltımı ortopedinin önemli sorunlarından birisidir. Ekstremitenin bozulmuş olan yumuşak doku desteği ve yaralanmış olan deri örtüsü nedeni ile enfeksiyon riski belirgin olarak artmıştır. Ayrıca bozulmuş olan ekstremiten kan akımı nedeni ile kırık iyileşmesi de olumsuz yönde etkilenmektedir. Açık kırıklı hastalarda kaynamama nedeni ile tekrar operasyon riski ve greftleme gereksinimi de artmıştır(5). Açık kırıklı hastalarda kaynamamaya ve geç kaynamaya etkili faktörler; kırığın tipi, yumuşak doku yaralanmasının sağaltımı, yaranın kapatılma zamanı, yüzeysel veya derin enfeksiyonun varlığıdır(9).

Kırıklı hastalarda sağaltım sonucunu etkileyen en önemli faktörlerden birisi enfeksiyondur. Enfeksiyon gelişmesi kırığın kaynama şansını azaltır. Bu hastalarda ek cerrahi girişim gerekliliği, kemik greftlemesi gereksinimi daha fazla olur (5). Herhangi bir nedenle enfeksiyon gelişmiş bir kırıklı hastada hastanede kalış süresi, rehabilitasyon gereksinimi ve sağaltım maliyetleri artar (84).

İntramedüller çiviler uzun kemiklerin cisim kırıklarında uzun zamandan beri başarıyla kullanılmaktadır. Kapalı tibia ve femur cisim kırıklarında intramedüller çivileme seçkin sağaltım yöntemidir. (6, 7). Uygun teknik kullanıldığında kapalı intramedüller çivileme ile komplikasyon oranı oldukça düşüktür. Cerrahi sonrası erken hareket ve erken yük vermeye izin verir. Ameliyat sonrası bakımı kolaydır ve hastanede kalış süresi ve iş kaybı kısadır. Enfeksiyon oranları diğer cerrahi sağaltım yöntemlerine göre daha düşüktür (8). İntramedüller çiviler ile sağaltım sonrası %97-100 oranlarında kaynama elde edilir.

Açık kırıklı hastaların tedavisinde kırılmış olan kemiğin sabitlenmesi amacı ile birçok yöntem kullanılabilir. Eksternal fiksatorler, oymalı veya oymasız intramedüller çiviler, plak-vida fiksasyonu bu yöntemlerden bazılarıdır(5). Bu hastalarda kırığın erken sabitlenmesi kırık hattının hareketini engelleyerek yumuşak dokunun daha fazla yaralanmasını ve bakteriyel yayılımı engeller. Ayrıca ekstremitenin kan akımını ve venöz dönüşü artırır, travma sonrası ödemi, ağrıyı ve sertliği azaltır(5). Normal kemik diziliminin sağlanması yumuşak doku iyileşmesi için ideal lokal ortamın elde edilmesini kolaylaştırır, bu sayede de enfeksiyon oluşmasının önüne geçilebilmiş olur(85-87).

Intramedüller çivilerin kapalı kırıklarda ki başarıları nedeni ile açık kırıklı hastalarda da kırık kemiklerin sabitlenmesi amacı ile kullanılabilir (88, 89). Bu sayede yara bakımı daha kolay olmakta hastaların erken mobilizasyonuna imkan sağlanmaktadır. Intramedüller çivilerin açık kırıklı hastaların sağaltımında kullanılmasıyla ilgili en büyük çekincelerden birisi endosteal kan akımının bozulmasıdır. Zaten bozulmuş olan periosteal kan akımının endosteal kan akımının da bozulmasıyla kırık kemiğin kanlanması ciddi sorunlar yaşanabileceğine ait düşünceler mevcuttur (6,7). Ancak yapılan çalışmalarda intramedüller çivilerin uzun kemiklerin açık kırıklarının tedavisinde kaynama açısından diğer yöntemlere göre daha başarılı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca intramedüller çiviler ile sağaltılan açık kırıklarda enfeksiyon oranlarının diğer cerrahi fiksasyon yöntemlerine göre daha düşük olduğu gösterilmiştir(5). Ayrıca intramedüller çiviler ile tedavi edilen hastalarda reoperasyon, greftleme gereksinimi ve malunion riski daha düşüktür(5).

Titanyum alaşım implantlar ortopedide yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu materyallerin kullanılması beraberinde enfeksiyon sorununu da getirmektedir. İmplant yüzeyleri temelde iki sebepten dolayı enfeksiyonu kolaylaştırmaktadır; implant yüzeyine tutunan bakterilerin biyofilm oluşturması ve implant-doku ara yüzeyinde konak savunmasının yeterli olmaması. Biyoyumlu bir materyal olan titanyum vücut içerisinde fizyolojik şartlar altında protein kılıf ile sarılır. Bu protein kılıf bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm oluşumu için uygun bir ortam oluşturur (62, 90-92). Biyofilm oluşturan bakteriler konağın immun sisteminden korunur(93, 94). Konağın immun sistemi implant yüzeyinde göreceli olarak bozulmuştur. İmplantın yerleştirilmesinden sonraki erken dönemlerde konağın immun sistemi lokal olarak cerrahi travma nedeni ile ciddi şekilde bozulur. Bu dönem enfeksiyon için en riskli dönemi oluşturur(62).Ortopedik cerrahide titanyumun yanı sıra paslanmaz çeliklerde kullanılabilir. Ancak paslanmaz çelik implantlar titanyuma göre daha yüksek enfeksiyon oranlarına sahiptir(41, 95).

Açık kırığı bulunan hastalarda tedavi öncesinde alınan kültürlerde %70'lere varan oranlarda üreme mevcuttur(37,96,97). Yapılan çalışmalarda tedavi öncesinde intramedüller alandan alınan kültürlerin enfeksiyon gelişmesi açısından %83 oranında sensitif olduğu bulunmuştur(81). Biz çalışmamızda açık kırıklarda bulunan bu yüksek kontaminasyon oranları nedeniyle ABT'un implant yüzeyine kaplanması

ile enfeksiyon profilaksisinde etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirmeyi amaçladık. Kırık iyileşme süreçleri yapacağımız deneysel çalışmada enfeksiyon gelişimini ve bunun ortaya konmasını etkileyebilecek bir faktördür. Enfeksiyon gelişiminin ve bunun ortaya konmasının incelendiği bu deney modelinde değişken sayısını azaltmak amacıyla deney hayvanlarında kırık oluşturmayarak homojen bir grup oluşturmaya çalışılmıştır. Açık kırıklarda medüller kontaminasyonun enfeksiyon gelişmesi açısından önemli bir faktör olduğunu bildiğimiz için deney hayvanlarında kırık oluşturmadan medüller alan kontamine edilmiştir.

Açık kırıkların sağaltımı sırasında enfeksiyon oluşumunun engellenmesi ile sağaltımın başarısı önemli ölçüde artırmaktadır. Bu sayede kırık iyileşmesi amacı ile daha uygun bir çevre elde edilmiş olur. Bu amaçla birçok yöntem kullanılabilir. Bu hastalarda enfeksiyon oluşumunu azaltmak amacı ile; sistemik ve/veya lokal antibiyotik kullanımı, yara yeri debritleme, yara yerinin yıkanması, yaranın kapatılması, kırığın erken fiksasyonu bu yöntemlerden bazılarıdır(33).

Açık kırıklarda sistemik antibiyotiklerin kullanılması enfeksiyon sıklığını azaltır (97,98). Bu nedenle bu hastalara profilaktik amaçla sistemik antibiyotik başlanmalıdır. Kullanılacak olan antibiyotikler gram pozitif ve gram negatif etkinlikte olmalıdır (33). Biz çalışmamızda enfeksiyon oluşmasının engellenmemesi amacı ile sistemik antibiyotik kullanmadık.

Kas-isklet sisteminde enfeksiyon profilaksisinde veya tedavisinde antibiyotikler sistemik olarak kullanılabilceği gibi lokal olarakta kullanılabilir. Bu sayede hedef dokuda yüksek konsantrasyon sağlanırken sistemik yan etkiler azaltılmış olur. Antibiyotiklerin lokal uygulanmasında taşıyıcı olarak en sık kemik çimentosu kullanılmaktadır (99-104). Ancak bunun yanında kollajen, apatit-cam seramikler, fibrin örtüleri, polilactide/poliglicolide implantlar kullanılabilir(102). Ancak bu taşıyıcıların elde edilmesi daha zordur ve maliyetleri daha yüksektir.

Lokal olarak kullanılabilen antibakteriyel ajanlardan biriside gümüştür. Gümüş katyonu yapısında sülfür, oksijen veya nitrojen içeren elektron verici gruplara güçlü bir şekilde bağlanarak etki gösterir. Biyolojik moleküller bu komponentleri genellikle *thio-*, *amino-*, *imidazole*, *carboxylate-*, *phosphate* formlarında içerir. Gümüş iyonu kalsiyum ve çinko gibi diğer esansiyel metal iyonlarını yerinden

çıkartarak etki gösterir. Gümüş bakteriyel DNA ya bağlanarak hücre solunum gibi birçok fonksiyonu bozar. Gümüşün etkinliği doza bağımlıdır. Yani yüksek düzeylerde etkinliği artar (16, 19). Gram negatif bakteriler gümüşe gram pozitiflerden daha duyarlıdır(105). Gümüşün antibakteriyel etkisi 35ppb gibi düşük düzeylerde bile görülebilmektedir (106).

Gümüş bu antibakteriyel etkileri nedeni ile geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Santral venöz katater, üriner katater, metalik implant gibi araçların yüzey kaplaması ile bu araçların kullanımına bağlı enfeksiyon oluşması azaltılmaya çalışılmış ve yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda etkinliği gösterilmiştir (12-15).

Gümüşün kullanımını sınırlayan en önemli faktör sahip olduğu toksik etkileridir. Gümüş vücutta bazı organlarda birikebilmekte ve buna bağlı olarak sistemik toksik etkileri görülebilmektedir. Deri, dişeti, kornea, karaciğer, böbrek, adrenal bez, dalak, sinir sistemi ve kas dokusu gümüşün birikime uğrayabildiği dokulardan bazılarıdır (22-27). Bu birikim vücuda alınan gümüş miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Gümüşün sistemik toksisitesinin en sık görülen şekli argyria'dır. Argyria'da gümüş çeşitli dokularda birikerek renk değişikliğine neden olur (24,27). Gözdeki birikimi korneal hasara neden olabilir(22). Karaciğerdeki birikimi hepatotoksik etkiye neden olabilir. Bu klinikte kendisini karaciğer enzim (ALT,AST,GGT) yüksekliği ile gösterir (72). Böbreklerde bazal membranda birikerek immun-kompleks tip glomerulonefrite yol açabilir(73). Bu durumda böbrek fonksiyon testlerinde (BUN, Cr) yükselmeye neden olur. Kemik iliği toksisitesi nedeni ile lökopeniye neden olabilir (74). Gümüş normalde kan-beyin bariyerinin aşamaz fakat aksonal taşınma ile sinir sisteminde birikime neden olabilir (75). Bu toksik etkilerin ortaya çıkabilmesi için gerekli gümüş miktarı normal bir insanda yaklaşık 4-6gr.'dır (107, 108).

Gümüşün hem antimikrobiyal etkisi hem de toksik etkisi hücre içerisindeki hedeflerine ulaşması ile mümkündür. Fare fibroblastları ile yapılan bir çalışmada gümüşün hücre içerisine voltaj bağımlı potasyum kanalları ile alındığı gösterilmiştir (109). In vitro çalışmalarda hücre kültürleri içerisinde serum bulunduğu için gümüşün toksik etki oluşturabilmesi için daha yüksek konstrasyonlara ihtiyaç duyar. Çünkü gümüş ortamda bulunan albümin gibi diğer serum proteinlerine de bağlanır (110). Literatürde yanıklı hastaların tedavisinde gümüş sülfodiazin kullanıldığında

sistemik (kan, serum veya plazma) gümüş düzeyinin 10 - 300 μ g/L (0,2-6,38 μ M) olduğu bulunmuş (111,112). Gümüş yüksek konsantrasyonlarda (>40 μ M) hücre morfolojisini bozar, DNA sentezini azaltır, hücrelerdeki mitokondriyal aktiviteyi bozar (110, 113–116). Düşük konsantrasyonlarda (<10 μ M) hücre morfolojisi, çoğalması ve mitokondriyal aktiviteler üzerine etkisi yoktur (117). Fakat hücre içerisinde reaktif oksijen radikalleri (hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, thyl radikalleri, karbonat anyon radikalleri gibi) üretimini güçlü bir şekilde artırır (117). Ayrıca mitokondri içerisinde de süperoksit anyon radikallerinin üretimini artırır (117). Hücre içerisinde reaktif oksijen radikallerinin artması lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına, enzim ve proteinlerin modifikasyonu veya inaktivasyonuna neden olabilir (117). Gümüş iyonu reaktif oksijen radikallerinin artışına iki yolla neden olabilir. Birincisi gümüş iyonu direkt olarak oksijenden reaktif oksijen radikallerinin üretimini kolaylaştırabilir, ikincisi mitokondride elektron transport zincirine ait olan enzimlerin sülfidril grupları ile etkileşerek buna neden olabilir(117).

Peki, neden gümüşün toksik etkileri prokaryotik hücrelerde ökaryotik hücrelere göre daha fazla görülüyor? Çünkü ökaryotik hücreler daha büyüktür, gümüş iyonları için daha büyük bir hedefdir. Ökaryotik hücreler prokaryotlara göre daha fazla miktarda yapısal ve fonksiyonel zenginlik sahibidir. Bu nedenle toksik etkinin ortaya çıkabilmesi için daha yüksek gümüş konsantrasyonu gerektirir. Bu farklılık tedavi penceresini sağlar. Bakterilerde hücresel enerji üretimini sağlayan elektron transport zinciri hücrenin dış kısımlarında bulunur. Gümüş iyonları buraya kolayca ulaşabilir. Ökaryotik hücrelerde ise elektron transport zinciri mitokondrielerde bulunur. Mitokondriyal proteinlerin inaktive edilebilmesi için daha yüksek konsantrasyonda gümüş gereklidir. Çünkü hücre membranı geçilmesi gereken ilk engeldir. Ayrıca ökaryotik hücrelerde çok sayıda mitokondri bulunurken prokaryotlarda aynı bolluk bulunmaz. Bu nedenle bakteri enerji üretim sistemi gümüşten etkilenirken aynı konsantrasyonlarda ökaryotik hücreler etkilenmez (21).

Hidroksiapatit kalsiyum fosfat ailesinde yer alan biyoaktif bir seramiktir. Hidroksiapatit ortopedide metal implantların biyoaktivitesini artırmak amacı ile implantların yüzeyine kaplanır. Bu sayede metal iyon salınımı azalır, implant yüzeyinde hidroksiapatitin indüklediği osteointegrasyon sayesinde hızlı kemik oluşumu ve bu sayede de güçlü bir kemik-implant tutunma gücü elde edilmiş olur

(118–122). Ancak bu avantajlarının yanı sıra hidroksiapatit kaplama enfeksiyon açısından dezavantajlar da içerir. Yapılmış olan in vivo çalışmalarda hidroksiapatit kaplamanın enfeksiyon riskinin ve şiddetini artırdığı gösterilmiştir (123–125). Bunun sebepleri olarakta hidroksiapatit kaplamanın yüzey pürüzlülüğünü artırdığı, hidrofobik bir ortama neden olduğu, yüzeyin elektrik yükünü elektropozitifleştirdiği ileri sürülmüştür (123,124). Literatürde kalsiyumfosfat seramiklerin implant yüzeyinde kullanılmasının enfeksiyonu engellediğine dair yayınlar da mevcuttur. Opalchenova ve arkadaşları (126) yaptıkları in vitro ve in vivo çalışmalarda kalsiyum fosfat seramiklerin antibakteriyel etkinlikte olduğunu vurgulamışlardır (127). Moroni ve arkadaşları da hidroksiapatit kaplı eksternal fiksator çivilerinin çivi yolu enfeksiyonunu azalttığını burada implant kemik ara yüzeyini azaltarak sağladığını belirtmişlerdir (128).

Ortopedik implantların yüzeyinde antibakteriyel etki elde etmek amacı ile gümüş kullanılması son yıllarda giderek artan bir ilgi alanı olmuştur. İmplant yüzeylerinin gümüş ile kaplanmasındaki amaç özellikle implant ilişkili enfeksiyonların ortadan kaldırılması veya sıklığının azaltılmasıdır. Yapılan birçok çalışmada metal implant yüzeylerinin gümüş ile kaplanması ile antibakteriyel etki elde edilirken toksik etki de görülmemiştir (21,129–131). Chen ve arkadaşlarının(131) yapmış oldukları in vitro çalışmada gümüş+hidroksiapatit kaplanan titanyum disklerin *S. Aureus* ve *S. Epidermidis*'e karşı antibakteriyel etkinlikte olduğu, kullanılan konsantrasyonlarda (%2,05±0,55) insan embriyonik mezenşimal hücrelerine karşı toksik etki göstermediği gözlenmiş. Yine bir başka in vitro çalışmada çeşitli oranlarda gümüş içeren (%1, %3 ve %5) gümüş+hidroksiapatit kaplanan titanyum plakların *E. Coli*, *P. Aeruginosa* ve *S. Aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlikte olduğu, fare fibroblastlarına karşı toksik etki göstermediği tespit edilmiştir (129). Bu çalışmada gümüş salınımının ilk günlerde giderek arttığı 14. günden sonra giderek azaldığı tespit edilmiştir. En yüksek gümüş salınımının ise 2,27ppb seviyesinde olduğu tespit edilmiştir (129). Takafumi ve arkadaşlarının (130) fareler üzerinde yaptıkları çalışmada gümüş+hidroksiapatit kaplanan titanyum diskler subkutan olarak yerleştirilmiş. Etkinliğinin değerlendirilmesi için Metisilin rezistan *S. Aureus* kullanılmış. Deneklerden alınan kanlardan 24. saatte, 48. saatte, 7. günde, 14. günde ve 28. günde gümüş düzeyi çalışılmış. Çalışmada hazırlanan disklerin

antibakteriyel özellikte olduğu gözlenmiş. Gümüş iyon konsantrasyonunun başlangıçta 48. saate kadar arttığı (50ppb<), ilerleyen günlerde giderek azaldığı gözlenmiştir ve hiçbir denekte toksik etkiler gözlenmemiştir (130). İnsanlarda yapılan bir çalışmada ise gümüş kaplanan tümör tipi kalça protezleri kullanılmış. Bu hastaların hiç birisinde gümüşün sistemik toksik etkileri görülmemiştir (69).

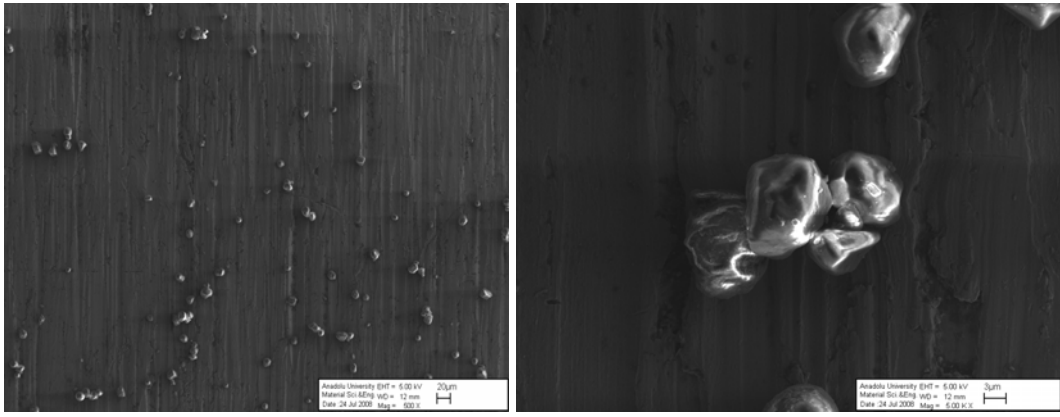
Gümüş kaplı kalp kapağı uygulanan hastalarda yapılan bazı çalışmalar dikiş kenarında ince bir tabaka pannus ve mikroabse oluşumuyla kronik bir enflamatuar reaksiyon göstermişlerdir (132–134). Doku iyileşmesinin bozulması dikişlerin açılmasına yol açar. Dikiş kenarından salınan gümüş nedeniyle toksik reaksiyonun normal fibroblast yanıtının baskılanmasına neden olduğu düşünülmektedir. Çevre dokularında gümüş konsantrasyonları ölçülmediğinden bu faktörlerin tutarlılığı şu ana kadar kanıtlanmamıştır. Tweden ve arkadaşları(107) yaptıkları çalışmada gümüş konsantrasyonu 1200 ppb seviyelerine ulaşınca kadar kültür fibroblastlarında gümüş nedeniyle herhangi bir toksisite kanıtı bulmamışlardır. Bu nedenle ince bir pannus oluşumunun bir sitotoksosite oluşturmayacağı ama gümüş kaplı tıbbi cihaza çok yakın ortamlarda elementer gümüş nedeniyle kronik bir enflamasyon reaksiyonunun olası olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle de elementer gümüş nedeniyle osteoblast inhibisyonu göz ardı edilmemelidir (14).

ABT'un üretim aşamasında antibakteriyel etkinliği tespit etmek amacıyla in vitro olarak çalışmalar yapıldı. Bu çalışmalarda mikrobiyolojik analizlerde Halo Test Metodu ve Agar Dilüsyon Test Metodu kullanıldı(135). Halo Test Metodunda *E.Coli* (ATCC 25922) kullanıldı ve 24. saat için etkinlik değerlendirildi. Değerlendirmenin sonucunda ABT'un *E.cali*'ye karşı etkili olduğu tespit edildi.

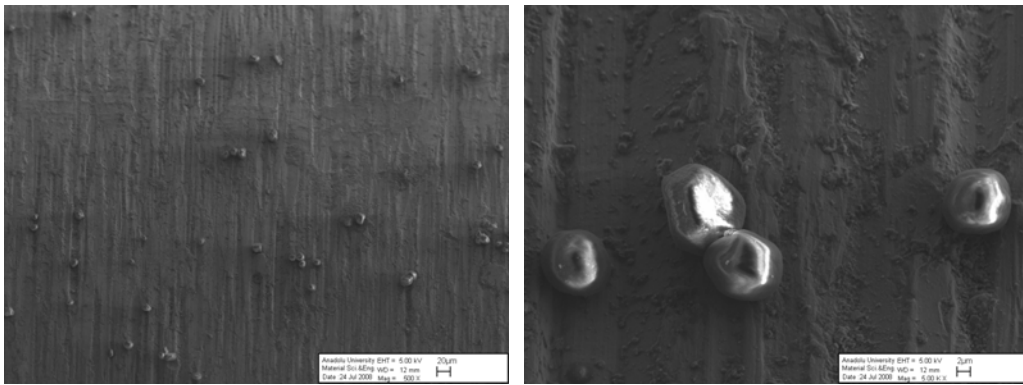
Agar Dilüsyon metodu ile standart bakteri (*P.Aeruginosa* ATCC 27853, *E.Coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 43300) ve mayalar (*Candida Albicans* ATCC 10231) ile 24. ve 48. saatlerdeki etkinlik araştırıldı. Kontrol grubunda 24. ve 48. saatde tüm kültürlerde üreme olurken ABT'un %2,5, %1,25, %0,625 ve %0,3125 konsantrasyonlarında gümüş içeren besi yerlerinde 24. ve 48. saatde üreme olmadığı tespit edildi.

ABT'nin antimikrobiyal etkisi toz formunda gösterildikten sonra tozun implant üzerine kaplama yapıldıktan sonraki antibakteriyel etkinliği yine invitro olarak araştırıldı (136). Bunun için öncelikle ABT elektrosprey yöntemi ile 2mm

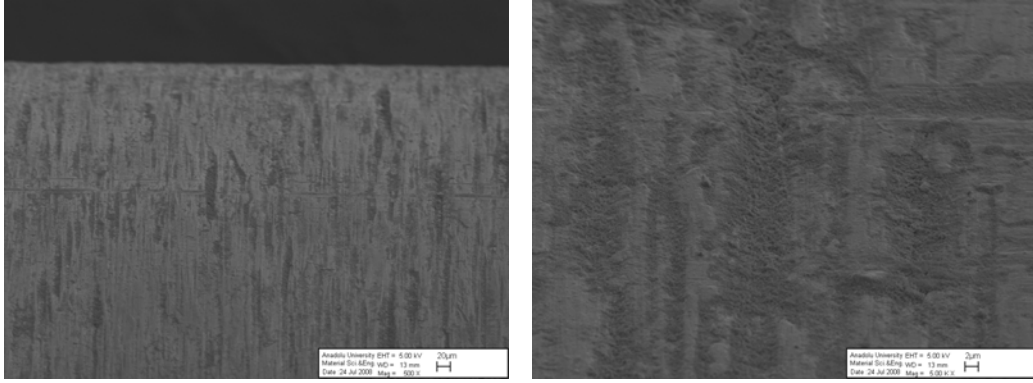
çapında 25 mm boyundaki implantlara kaplandı. Kontrol grubu olarakta kaplama yapılmayan titanyum implantlar ve HA kaplı titanyum implantlar kullanıldı. Tüm implantlar içerisinde *slime* özelliği (+) olan 10^4 CFU *S. Epidermidis* suşu ve Triptik Soy Broth bulunan steril cam tüplere yerleştirildi. Tüpler 35°C de çalkalamalı inkubatore yerleştirildi. 24. saatte implantlar inkubatörden çıkartıldı ve SEM ile yüzeylerindeki bakteri miktarı incelendi. Kaplama yapılmayan ve HA kaplı implantların yüzeyinde SEM ile bakteri gözlemlenirken ABT ile kaplı implant üzerinde bakteri gözlemlenmemiştir. (Şekil 5.2, 5.3, 5.4)



Şekil 5.1. İnkübasyon sonrası kaplanmamış titanyum implantın farklı büyütmelede SEM görüntüleri (a)500x (b)5000x.



Şekil 5.2. İnkübasyon sonrası HA kaplanmış titanyum implantın farklı büyütmelede SEM görüntüleri (a)500x (b)5000x



Şekil 5.3. İnkübasyon sonrası ABT ile kaplanmış titanyum implantın farklı büyütmelerde SEM görüntüleri (a)500x (b)5000x

Çalışmamızda kullandığımız ABT, daha önce diz protezi ve eksternal fiksatör modellerinde de implant yüzeyine kaplanarak hayvan deneyi çalışmaları yapılmıştır(137, 138). Diz protezi modelinde ABT kaplı implantlar, HA ve kaplamasız titanyum implantlar ile karşılaştırılmış. İmplant yerleştirilmeden önce deneklerin femurlarına protez yerleştirmek amacıyla açılan delikten 5×10^2 CFU *S. Aureus* içeren sıvı enjekte edilmiş. Sonrasında implantlar yerleştirilmiş ve 6. haftanın sonunda tavşanlar öldürülerek sol dizlerinde bulunan implantları steril şekilde çıkartılmış. İmplant üzerinden ve medulladan sürüntü kültürü alınmış. Femoral kondilden doku kültürü için kemik dokusu örneği alınmış. Ayrıca implant üzerindeki bakterileri tespit etmek amacıyla çıkartılan implantlardan dilüsyonel kültür çalışılmış(137).

Protez modelinde medulla sürüntü kültürü, implant sürüntü kültürü ve doku kültürü örneklerinde kaplama yapılmayan implant kullanılan grupta 9 örneğin 8 tanesinde üreme saptanırken HA kaplı implant kullanılan grupta 9 örneğin 5 tanesinde, ABT kaplı implant kullanılan grupta 9 örneğin 1 tanesinde bakteri üremesi saptanmış. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında kaplama yapılmayan implant kullanılan grup ile HA kaplı implant kullanılan grup arasında farklılık olmadığı gözlenmiş. ABT kaplı implant kullanılan grupta ise medulla sürüntü kültürlerinin, implant sürüntü kültürlerinin ve doku kültürlerinde bakteri üremesinin diğer gruplar ile karşılaştırıldığında daha az olduğu tespit edilmiş. Çıkartılan implantlardan elde edilen dilüsyonel kültür sonuçlarında ise kaplamasız implant kullanılan grupta 9 örneğin 7 tanesinde üreme gözlenirken HA kaplı implant kullanılan grupta 9 örneğin

5 tanesinde, ABT kaplı implant kullanılan grupta 9 örnekten 1 tanesinde üreme tespit edilmiş. Bu sonuçlarda da yine ABT kaplı implant kullanılan grupta diğer gruplar ile karşılaştırıldığında bakteri üremesinin daha düşük olduğu gözlenmiş. Kaplamasız implant kullanılan grup ile HA kaplı implant kullanılan grup arasında fark gözlenmemiş.

ABT ile kaplı implant çalışmalarından bir diğeri de eksternal fiksator modelidir. Bu çalışmada 316L paslanmaz çelik ucu yivli teller ile çalışılmış. ABT kaplı teller kaplamasız ve HA kaplı teller ile karşılaştırılmıştır. Teller içerisinde 1ml 10^8 CFU/ml *S. Epidermidis* bulunan sıvı dolu tüplerde 35°C de salımlı etüvde 3 saat süreyle inkübe edilerek bakterilerin implant üzerine tutunması sağlanmış. Sonra teller tavşanların her iki tibia proksimaline her tibiaya 2 adet olacak şekilde yerleştirilmiş. Yerleştirme esnasında torkmetre ile tellerin yerleştirme tork değerleri ölçülmüş. Altıncı haftanın sonunda tavşanlar öldürülüp her iki tibiaları steril şartlarda disseke edilmiş. Üzerlerinde bulunan implantları yine torkmetre yardımı ile sökölüp sökme tork değerleri ölçülmüş. Kemik steril olarak kesilip kemik medullasından sürüntü kültürü alınmış. Çıkarılan teller steril SF içerisinde çalkalanarak üzerlerinde bulunan bakterilerin dökülmesi sağlanmış ve bu sıvıdan dilüsyonel kültür çalışılmış. (138).

Eksternal fiksator modelinde HA kaplı ve ABT ile kaplı tellerin yerleştirme tork değerlerinin daha düşük olduğu görülmüş. Bunun sebebinin kaplama ile tellerin uç kısmında bulunan yiv derinliğinde azalmaya yol açmasından kaynaklandığı düşünülmüş. Gruplar arasında tellerin sökme-sıkma tork değerleri farkı incelendiğinde ise HA ile kaplı tel kullanılan Grup 2 de farkın diğer gruplara oranla daha fazla olduğu görülmüş. Bunun sebebi olarakta HA'in kemiğe olan integrasyonu olduğu düşünülmüş. Sökme-sıkma tork değerleri farkı ABT kaplı tel kullanılan grupta kaplamasız tel kullanılan gruba göre yüksek bulunmuş. Bu farkın hem kaplamasız tel kullanılan grupta enfeksiyon oranlarının yüksek olmasından hemde ABT kaplı tel kullanılan grupta tellerin kaplamasında kullanılan ABT'un içeriğinde HA olmasından kaynaklandığı düşünülmüş. Sökme-sıkma tork değeri farkının HA kaplı implant kullanılan grupta enfeksiyon oranları yüksek olmasına rağmen ABT kaplı implant kullanılan gruba göre yüksek olmasının sebebinin gümüşe karşı oluşan doku yanıtının olduğu düşünülmüş (138).

Eksternal fiksator modelinde mikrobiyolojik sonuçlarda ABT kaplı tel kullanılan grupta kemik sürüntü kültürlerinde bakteri üremesinin diğer gruplara oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Teller üzerinden yapılan dilüsyonel kültürlerde de yine ABT kaplı tel kullanılan grupta enfeksiyon oranlarının diğer gruplara oranla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Kaplamasız tel kullanılan grup ile HA kaplı tel kullanılan grup karşılaştırıldığında ise HA kaplı tel kullanılan grupta enfeksiyon oranlarının hem kemik sürüntü kültürü sonuçlarında hemde implant dilüsyonel kültür sonuçlarında daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar intramedüller rodlar ile yapmış olduğumuz çalışmamız ile uyumlu değildir. İntramedüller rodlar ile yapmış olduğumuz çalışmamızda sonuçlar kaplamasız implant kullanılan Grup 1 ile HA kaplı implant kullanılan Grup 2 arasında hem intramedüller bölgeden alınan sürüntü kültürü sonuçlarında hemde implant üzerinden yapılan dilüsyonel kültür sonuçlarında fark olmadığı şeklinde idi. (Bkz. Tablo 4.20, 4.21) Ancak her iki çalışmada da ABT ile kaplı implant kullanılan gruplarda daha düşük enfeksiyon oranları tespit edildi.

Yapmış olduğumuz çalışmada ABT kaplanmış titanyum implant kullanılan Grup 3'te daha düşük enfeksiyon oranları tespit ettik. Bu grupta intramedüller alandan alınan sürüntü kültürlerinde sadece hidroksiapatit kaplanmış implant kullanılan Grup 2 ve herhangi bir kaplama yapılmayan implant kullanılan Grup 1 ile karşılaştırıldığında daha az oranda pozitif kültür sonuçları tespit ettik (Grup 1 ve Grup 3 p:0,019, Grup 2 ve Grup 3 p:0,001). Pozitif kültürlerde de bakteri üremesi yoğunluğu diğer gruplara oranla daha düşüktü. (Bkz. Tablo 4. 20) Grup 3'te 11 denekten 5 tanesinde hiç bakteri üremesi olmazken, Grup 2'de 1 denekte bakteri üremesi olmadı. Grup 1 de ise 9 deneğin tamamında bakteri üremesi oldu. Yine Grup 1'de 9 deneğin 7 tanesinde orta veya yüksek yoğunlukta bakteri üremesi olurken, Grup 2'de 11 deneğin 10 tanesinde orta veya yüksek yoğunlukta üreme kaydedildi. Grup 3'te ise 11 deneğin 1 tanesinde orta yoğunlukta bakteri üremesi oldu. Grup 2 ile Grup 1 arasında intramedüller sürüntü kültürü açısından farklılık saptanmadı (Grup 1 ve Grup 2 p:1,000).

İmplantlar üzerinden yapılan kantitatif kültür sonuçlarında yine Grup 3'te birim alana düşen bakteri sayısı ortalamasının diğer gruplara oranla daha düşük olduğu tespit edildi (Grup 1 ve Grup 3 p:<0,05, Grup 2 ve Grup 3 p:<0,05). (Bkz.

Tablo 4. 21). Grup 2 ile Grup 1 arasında farklılık saptanmadı. (Grup 1 ve Grup 2 p:>0,05)

Çalışmamızda titanyum implantların ABT ile kaplanması intramedüller bölgenin MRSA inokulasyonuna rağmen enfeksiyon oranlarını azalttığı gösterilmiştir. Enfeksiyon oranlarındaki bu azalma hem kalitatif hemde kantitatif kültür sonuçlarında olmuştur. Bu azalmanın sebebinin gümüşün lokal antibakteriyel etkisi olduğu düşünülmüştür. Çalışmalar göstermiştir ki kaplama yapılan yüzeyden gümüş iyonları serbestleşir ve çevre dokuda antimikrobiyal etkinlik sağlayabilecek düzeylere ulaşır(139). İmplant yüzeyinin gümüş ile kaplanması antibiyotik ile kaplanmasına göre bazı önemli avantajlar sağlar. Öncelikle mikroorganizmaların gümüşe karşı bilinen bir direnci yoktur(14). İkincisi gümüş iyonlarının etkisi sürekli ve iyonik gümüşün mikroorganizmalar üzerindeki oligodinamik etkisi nedeniyle uzun süreli (16,140). Son olarak gümüş biyofilm oluşturabilen bakterilerin bu yeteneğini azaltır, bu nedenle de bakteriyel kolonizasyon azalır (141).

İmplantların ABT ile kaplanmasında kullanılan tozun gümüş içeriği %3'tür. Bu oranda kullanılan gümüş antibakteriyel etkinlik için yeterli olmuştur. Daha yüksek gümüş içeriği ile daha güçlü anti bakteriyel etkinlik elde edilebilir. Çünkü ortamdaki gümüş yoğunluğu arttıkça antibakteriyel etkinliği de artar (16). Ancak beraberinde toksisite riski de artar. Bu nedenle yüksek yoğunlukta gümüş kullanılmasından kaçınılmalıdır.

Çalışmamızda inokülasyon yöntemi olarak doğrudan inokülasyon yöntemi seçilmiştir. Enfeksiyon gelişiminin gümüş harici bir etken tarafından baskılanmaması amacıyla deneklere antibiyotik uygulanmamış ve inokülasyon yapılan intramedüller kanal yıkanmamıştır. Günlük uygulamada açık kırıklı hastaların sağaltımında antibiyotik kullanımı, yara yerinin yıkanması ve debritleme önemli basamaklardır (1,2,5,30). Bu basamakların uygulanmasına kırık kemiklerin sabitlenmesinde kullanılacak olan intramedüller araçların yüzeyine ABT kaplanmasının eklenmesi ile enfeksiyon gelişiminin önemli oranda azalacağı görüşündeyiz.

Çalışmamızda enfeksiyon ajanı olarak metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) seçilmiştir. Çünkü bu ajanın neden olduğu enfeksiyonların sağaltımı geniş antibiyotik direnci nedeniyle zor ve zahmetlidir. Sahip olduğu biyofilm oluşturabilme yeteneğiyle de konak savunmasından korunabilmektedir (81). Buna

rağmen implantların ABT ile kaplanması ile büyük oranda enfeksiyonu engellenebilmiştir. Bunun olası nedeni olarak bakterilerin gümüşe karşı geliştirmiş oldukları bilinen bir direnci söz konusu olmaması olduğu düşünülmüştür(14).

Çalışmamızda sadece hidroksiapatit kaplı implant kullanılan Gurup 2 ile kaplama yapılmayan implant kullanılan Gurup 1 arasında enfeksiyon açısından farklılık bulunmamıştır. Bu sonucumuz literatürde bulunan hidroksiapatitin antibakteriyel etkinlikte olduğuna dair bazı çalışmalar ile örtüşmemektedir (126,127). Literatürde bulunan bu yayınlar hidroksiapatitin antibakteriyel etki mekanizmasının implant-kemik ara yüzünde yeni kemik oluşumunu artırarak ölü boşluk oluşumunu azalttığı, bu sayede bakteriler için uygun ortamın ortadan kalktığı şeklindedir. Ancak hidroksiapatit implant yüzeyinin pürüzlülüğünü artırarak bakteriler için daha geniş bir tutunma yüzeyi de sağlar (123–125). Bu ortam yeni kemik oluşumu gerçekleşene kadar devam eder. Bu nedenle implantın hidroksiapatit ile kaplanması yerleştirildiği başlangıç döneminden hidroksiapatitin kemikle bütünleştiği osteointegrasyon dönemine kadar enfeksiyon gelişimini kolaylaştırabilir.

Çalışmamızda Hgb düzeylerinde takiplerde başlangıç seviyelerine göre periyodik azalma tespit ettik. Ancak bu azalma tüm gruplarda gözlemlendi. Bu azalmanın kan almaya ikincil olarak kan kaybına bağlı olduğu düşünülmüştür. Hgb düzeyleri kendi alınma zamanları ile karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık saptanmadı. (Bkz. Tablo 4. 15)

Kemik iliği toksisitesi gümüşün neden olabileceği yan etkilerden birisidir. Gamelli ve arkadaşları(74) farelerde gümüş sülfodiazin ile yaptıkları bir çalışmada 24 saat içerisinde periferik kan lökosit sayısında ve kemik iliği hücrelerinde azalma tespit etmişlerdir. Bu durum in vitro çalışmalar ile de desteklenmiştir(142). Bu çalışmalarda ayrıca nötrofil ve lenfostlerin aktivitelerinin ve proliferasyonlarında baskılandığı belirtilmiştir. Çalışmamızda beyaz küre ve trombosit sayımlarında başlangıç ve takip sonuçlarında gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. (Bkz. Tablo 4. 16, 4. 17) Gümüşün olası kemik iliği toksisitesi nedeni ile görülebilecek olan lökopeni ve trombositopeni çalışmamızda gözlemlenmemiştir. Ancak çalışmamızda kemik iliğine yönelik ek çalışma yapılmamıştır.

Kandaki yüksek gümüş düzeylerinden etkilenebilecek organlardan biriside böbreklerdir. Rosenman ve arkadaşları(143) gümüş etkisi altında bırakılan işçiler

üzerinde yaptıkları çalışmada bu işçilerde kreatinin klirensinin azaldığını belirtmişlerdir. Kanda yüksek gümüş düzeyi varlığında böbrekten yapılan histolojik incelemelerde glomerüler bazal membranda gümüş birikimi tespit edilmiştir(144). Literatürde ayrıca kandaki yüksek gümüş düzeyinin immun-kompleks tipi glomerulonefrite yol açabileceğine ilişkin görüşlerde vardır.(73) Çalışmamızda böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kan üre azotu (BUN) ve kan kreatinin değerleri kullanıldı. BUN değerleri gruplar arasında başlangıçta, 2. ve 6. haftalarda farklılık göstermedi (Bkz. Tablo 4. 1). 10. haftadaki BUN değeri ortalamalarına bakıldığında Grup 2'de diğer gruplar ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu tespit edildi. Ancak ortalama değerler yinede belirlenmiş olan normal sınırlar içerisindeydi Bu nedenle bu farklılık klinik olarak anlamlı bulunmadı. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirildiği diğer bir test olan serum kreatinin düzeyleri başlangıçta ve takiplerde gruplar arasında farklılık göstermedi(Bkz. Tablo 4. 2). Ayrıca böbrek örneklerinden yapılan doku gümüş düzeyi çalışmalarında gümüşe rastlanmamıştır. Bu verilere dayanarak, yaptığımız çalışmada kullanılan dozlarda gümüş kaplamanın böbrek fonksiyonları üzerine toksik etki göstermediği düşünülmüştür.

Karaciğer, vücudumuzda birçok ilacın detoksifikasyona(zehirsizleştirme) uğradığı organdır. Bu nedenle de ilaçların yan etkileri ile sıklıkla karşı karşıya kalır. Hussein ve arkadaşları (145) rat karaciğer hücrelerinde yapmış oldukları invitro çalışmada gümüşün hücrelerde mitokondriyal işlev bozukluğuna neden olduğu, hücrelerdeki koruyucu etkileri olan glutasyon miktarını azalttığı ve mitokondriyal membran potansiyelini düşürdüğünü belirtmişlerdir. Choi ve arkadaşları da (146) balıklarda yaptıkları çalışmada gümüşün programlanmış hücre ölümünü uyardığını belirtmişlerdir. Yaptığımız çalışmada karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla ALT, AST, GGT ve total protein değerleri ölçülmüştür. Yapılan takiplerde serum ALT seviyeleri başlangıç düzeyleri Grup 2 ile Grup 3 arasında farklılık olsa da bu düzeyler belirlenmiş olan normal sınırlar içerisinde yer aldığı için klinik olarak anlamlı bulunmamıştır. ALT, AST, GGT ve total protein değerleri takibinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. (Bkz. Tablo 4.3, 4.4, 4. 5, 4. 6, 4. 7) Ayrıca karaciğer dokularından yapılan gümüş ölçümlerinde gümüşe rastlanmamıştır.

Çalışmamızda ALP ve LDH düzeylerinin takibinde aynı zamanda alınan kan düzeylerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı (Bkz. Tablo 4.9, 4.10, 4.11, 4.12). Ancak bu enzimlerde çalışma süresince yükselme saptandı. Bu enzimlerdeki yükselmenin sebebinin deneklere uygulanan cerrahiye ikincil olduğu düşünülmüştür.

Protez modelinde implantın bulunduğu komşu kemik dokusundan yapılan histopatolojik değerlendirmede kaplanmamış implant kullanılan grupta implant çevresinde ve kemik trabekülleri arasında yoğun hücrel enflamasyon görülürken ABT kaplı implant kullanılan grupta hücrel enflamasyon ve yabancı cisme bağlı granulom izlenmemiş. Gümüşün osteoblastlar üzerine toksik etkisine de rastlanmamış(137).

Eksternal fiksator modelinde kaplamasız tel kullanılan grupta enflamasyon bulgularının genel olarak diğer gruplara oranla daha yüksek olduğu gözlenmiş. İncelemede ABT kaplı tel kullanılan grupta tellerin yerleştirildi bölgeye komşu kemik dokusunda kemik hücreleri normal olarak izlenmiş(138). Bu histopatolojik sonuçlar bizim intramedüller rodler ile yaptığımız çalışmamızdaki histopatolojik sonuçlar ile uyumlu değildir. Bizim çalışmamızda genel olarak HA kaplı implant kullanılan Grup 2 ve ABT ile kaplı implant kullanılan Grup 3'te komşu kemik dokusunda enflamasyon bulgularının kaplamasız implant kullanılan Grup 1 ile karşılaştırıldığında daha fazla olduğu görüldü.(Bkz. Tablo 4.22) Her ne kadar veri sayısı sağlıklı bir karşılaştırma yapmamızı engellese de bu durumun sebebi eksternal fiksator modelinde tellerin kemik dokusu ile temas yüzeyinin intramedüller rodlerle oranla az olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünüldü.

Çalışmada histolojik örneklere baktığımızda dokudaki enflamasyon açısından gruplar arasında farklılık olduğu saptandı (p:0,033) (Bkz. Tablo 4. 22). Ancak farklılığın hangi gruplar arasında olduğu tespit edilemedi. Gruplara baktığımızda ışık mikroskopisinde kaplanmamış implant kullanılan Grup 1'de 7 örneğin 5 tanesinde enflamasyon hiç gözlenmezken 2 tanesinde az miktarda enflamasyon gözlenmiştir. Hidroksiapatit kaplanmış implant kullanılan Grup 2'de ise 7 örneğin 2 tanesinde hiç enflamasyon gözlenmemiş, 2 tanesinde az miktarda, 3 tanesinde ise orta miktarda enflamasyon gözlenmiştir. ABT kaplanmış implant kullanılan Grup 3'de 7 örneğin 2tanesinde hiç enflamasyon gözlenmemiş, 5 tanesinde ise az miktarda enflamasyon gözlenmiştir. Grup 2 ve Grup 3'te enflamasyonun daha fazla görülmesinin sebebi bu

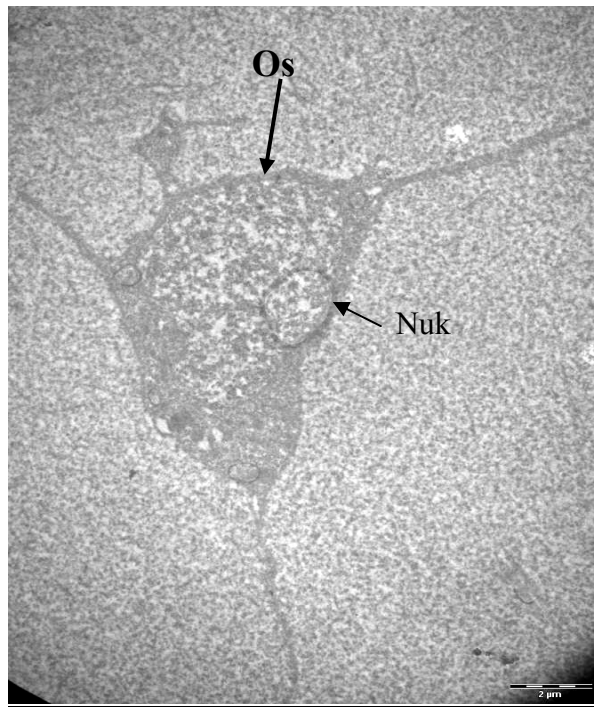
iki grupta kullanılan implantların kaplamasında hidroksiapatit kullanılması olabilir. Velard ve arkadaşları (147) yapmış oldukları çalışmada hidroksiapatitin enflamatuvar hücrelerden bazı sitokinlerin salınımını artırarak dokuda enflamasyonu arttırdığını belirtmişlerdir. Hatta yine Velard ve arkadaşları (148) yaptıkları bir diğer çalışmada hidroksiapatit içerisine çinko ekleyerek hidroksiapatitin neden olduğu bu enflamasyonun azaltılabileceğini belirtmişlerdir. Gümüşün yakın çevrede toksik etki göstermeden enflamatuvar yanıtı artırdığına dair yayınlarda mevcuttur (132–134). Bu enflamatuvar yanıt kalp kapağı protezinde önemli olabilir. Ancak bu düzeydeki enflamasyonun kemik dokusunda kritik önemde olmadığını düşünmekteyiz. Histolojik görüntüler fibröz doku oluşumu açısından karşılaştırıldığında ise gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (p:0,35) (Bkz. Tablo 4. 23). Histolojik örnekler incelenirken seçilen yöntemin kişiye bağımlı olması, objektif verilere dayanan sonuçlar vermemesi çalışmamızın zayıf noktalarından birisidir. Ayrıca histolojik örnek sayısının az olması nedeniyle güçlü bir istatistiksel sonuç elde etmemiz mümkün olmamıştır. Dokudaki enfeksiyonun gösterilmesi ve gümüşün lokal toksik etkilerinin varlığının araştırılması amacıyla farklı doku inceleme teknikleri kullanılabilir.

Yaptığımız çalışmada deneklerde kandaki gümüş düzeyinin tespiti için başlangıç, 2., 6., ve 10. haftalarda serum gümüş düzeylerine bakılmıştır. Cihazın ölçüm limitleri içerisinde hiçbir denekte serumda gümüş saptanmamıştır. Shimazaki ve arkadaşları (130) ratlarda yaptıkları çalışmada gümüş+hidroksiapatit kaplanan titanyum diskleri subkutan dokuya implante etmişler ve serum gümüş düzeylerinin ilk 48 saatte arttığını daha sonra ise kademeli olarak azaldığını ve normale döndüğünü belirtmişlerdir. Bu nedenle bizim ölçüm sıklığımız gümüş pikinin yakalanamamasına neden olmuş olabilir. Ancak bu gümüş düzeyi yükselişi olsa bile kritik düzeyi aşmadığını düşünüyoruz. Çünkü kan biyokimyası ve tam kan sayımında patolojik değerler saptanmamıştır.

Gümüşün vücuttan atılımı dışkılama ve idrar yolu ile olmaktadır (22,23). Biz çalışmamızda bu örneklerden gümüş ölçümü yapmadık. Deneklerde toksik etki görülmediği için de idrar ve dışkıda gümüş atılımının artmasının klinik olarak anlamlı olmadığını düşünmekteyiz.

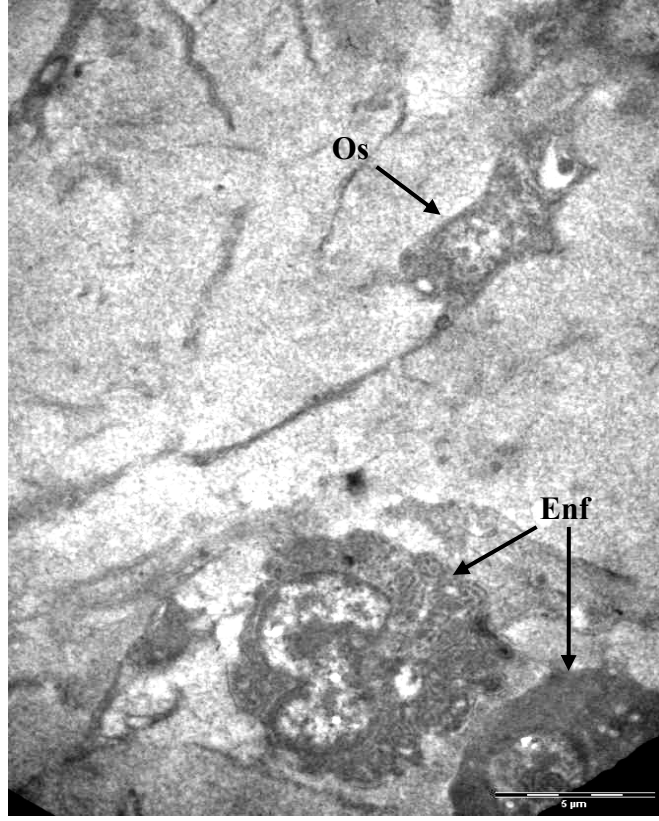
Yaptığımız elektron mikroskopik incelemede amacımız implantın bulunduğu medüller kanala komşu bölgedeki kemik dokusuna daha ayrıntılı bir bakış

sağlamaktı. Ancak teknik yetersizlikler nedeniyle istenilen düzeyde bir inceleme sağlanamadı. Bununla birlikte gümüş içerikli antibakteriyel toz ile kaplanmış implant kullanılan Grup 3'e ait görüntülerde kemik hücresinde hücre çekirdeğinde yoğunlaşma ve dejenerasyon izlenmiştir (Şekil 5.4). Bu dejenerasyon süreci hücrenin apoptozise (programlanmış hücre ölümü) gidişinden kaynaklanabilir. Hücrelerdeki apoptozis birçok durumda uyarılabilir. Gümüşe ait toksik etki bunlardan birisidir (146). Ancak örneğimizdeki hücre dejenerasyonunun gümüşün toksik etkisinden mi yoksa bölgedeki enflamasyon sürecinden mi kaynaklanmıştır bilinmemektedir.

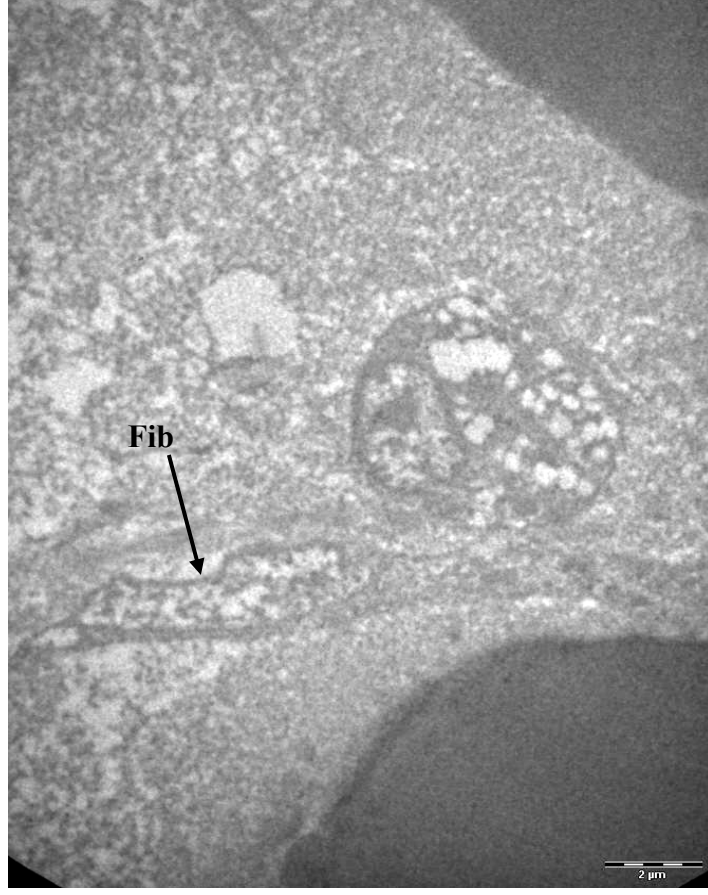


Şekil 5.4. Grup 3'ten seçilen kemik örneğinin elektron mikroskopik görüntüsü. Kemik dokusunda yoğun dejenerasyon gözlenen osteosit hücresi (Os), özellikle hücre nükleusu (Nuk) kromatin dağılımı açısından dejenerasyon göstermekte (TEM-x6000)

Bu hüresel bozulma sürecine içeriğinde gümüş bulunmayan toz ile kaplama yapılan implant kullanılan Grup 2'de ve kaplamasız implant kullanılan Grup 1'de rastlanmamıştır(Şekil 5.5, 5.6). Yaptığımız inceleme her gruptan birer adet örnekte olduğu için bu konuda karşılaştırma yapmamızı engellemektedir.

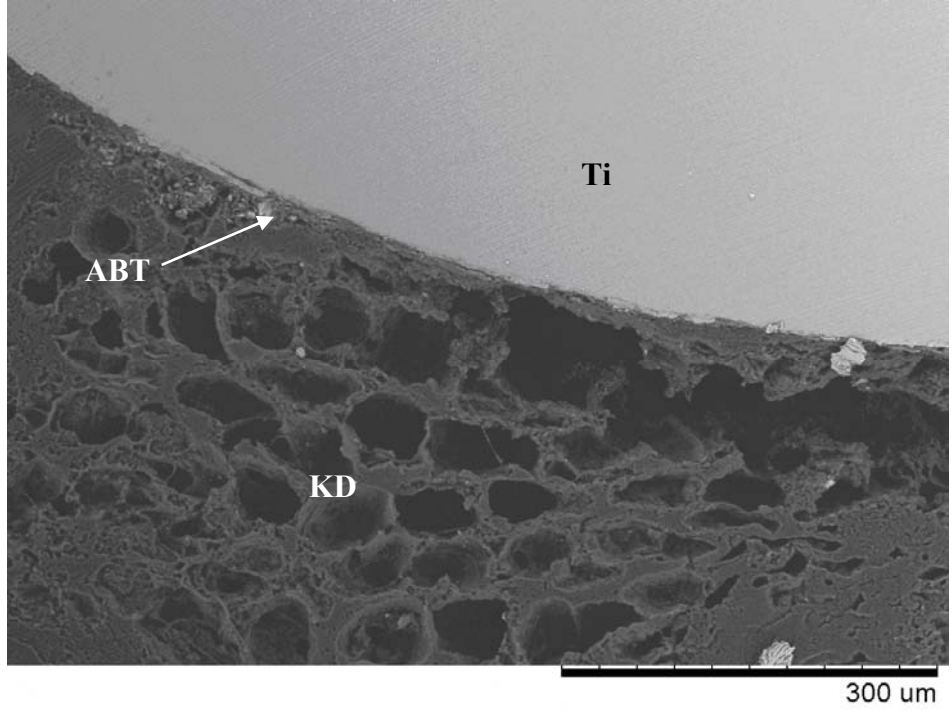


Şekil 5.5. Grup 2'den seçilen kemik örneğinin elektron mikroskopik görüntüsü. Kemik dokusunda laküna içinde yerleşmiş tipik uzantılı yapısıyla osteosit hücresi (Os) ve kemik dokusu içinde gözlenen birkaç enflamatuar hücre (Enf) (TEM- x4200)



Şekil 5.6. Grup 1'den seçilen kemik örneğinin elektrom mikroskopik görüntüsü. Resimde vakuolizasyon gösteren hücre dikkat çekmekte. Ayrıca bağ dokusu hücresi olan fibroblast hücresi (Fib) görülmekte. (TEM- tranmisyon elektron mikroskop x6000)

Çalışmamızın başlamadan önce olası aksaklıkları tespit etmek amacı ile yaptığımız ön çalışmada 2 adet deneğe ABT kaplı implant yerleştirildi. Bu denekler 2 hafta takip edildikten sonra öldürüldü ve implant yerleştirilen kemikleri içerisinde implant varken mikroskopik inceleme için kesim yapıldı. Ancak bu incelemeyi asıl çalışmamızda teknik aksaklıklar nedeniyle gerçekleştiremedik. Ön çalışmadaki bu örnekte implantın üzerinde bulunan ABT kaplamanın kemiğe tutunmasının başladığı, gümüşün bu bağlanmayı bozmadığı izlendi (Şekil 5.7).



Şekil 5.7 Kemik içerisinde implant varken yapılan kesim sonrası incelenen örnek. Örnekte içerisine titanyum implant (Ti) yerleştirilen kemik dokusu (KD) görülüyor. Yapılan ABT kaplamasının (ABT) implant ile kemik arasında bulunan ölü boşluğu doldurduğu görülmekte.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

1. AB T kaplı titanyum implant kullanılan grupta enfeksiyon oranlarının belirgin olarak düşük olması açık kırık tedavisinde önemli bir sorun olan enfeksiyon gelişimini azaltır. Bu azalmadan sorumlu olan temel etken gümüşür. Hidroksiapatit gümüşün kontrollü salınımını sağlar.
2. İmplantın kaplanması hidroksiapatitin tek başına kullanılması enfeksiyon riskini azaltmaz, ancak gümüş ile kullanılması gümüşün ortamdaki uzaklaşmasını sınırlar. Bu sayede gümüşün antibakteriyel etkisi hidroksiapatitin osteointegrasyonu tamamlanana kadar devam eder.
3. İmplantın kaplanması kullanılan tozun gümüş içeriğinin %3 oluşu etkili bir antibakteriyel güce sahipken olası toksik etkilerden de yoksun olduğunu göstermektedir. Bu dozlarda kullanılması gümüşün birikmesi olası organlar olan karaciğer, kalp, dalak, böbrek ve beyin dokusunda patolojik birikime neden olmaz.
4. Kullanılan dozlarda gümüş herhangi bir birikme oluşturmadan da olası olan karaciğer, böbrek ve kemik iliği toksisitesi göstermez ve bu organların fonksiyonlarını bozamaz.
5. ABT kaplı implantların yerleştirildiği kemiklerden yapılan histolojik incelemelerde gümüşün olası lokal toksik etkileri görülmemiştir. Ancak bu incelemelerde hem sadece hidroksiapatit kaplı hemde ABT kaplı implant kullanılan gruplarda enflamasyon ve fibröz doku oluşumunun artması bunun sebebinin hidroksiapatit olduğunu göstermektedir.
6. Yapılan elektron mikroskopik incelemede ABT kaplı implant kullanılan gruba ait görüntüde bir osteosit hücresinde dejenerasyon görülmesi gümüşün kemiğin yapısında olumsuz etki oluşturmadan hücresel düzeyde bozulmalara yol açabileceğini göstermektedir.

Öneriler:

İntramedüller çiviler uzun kemiklerin kırıklarında etkili, güvenli ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak özellikle Tip III açık kırıklarda enfeksiyon riski nedeniyle kullanımından kaçınılmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmada titanyum intramedüller rodların ABT ile kaplanmasıyla enfeksiyon oranları azaltılabilmektedir. Enfeksiyon oranlarının azalmasında sorumlu olan etken gümüşdür. Kullanılan dozlardaki gümüş sistemik toksik etki göstermemektedir. Titanyum implantların ABT ile kaplanması ortopedide enfeksiyonun önemli sorun olduğu diğer konularda da etkili bir çözüm olabilir. Enfeksiyonun önemli sorun olduğu alanların başında da protez enfeksiyonları gelmektedir. Eklem protezlerinin ABT ile kaplanmasıyla hem etkili bir enfeksiyon profilaksisi sağlanırken hemde güçlü bir kemik-implant tutunması elde edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Olson SA, Finkemeier CG, Moehring HD. Open Fractures. In: Bucholz RW, Heckman JD, editors. Rockwood and Green's Fractures in Adults 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins;2001.p285-319
2. Gustilo RB, Merkow RL, Templeman D. The management of open fractures. J Bone Joint Surg Am. 1990;72:299–304.
3. Court-Brown CM, Rimmer S, Prakash U, McQueen MM. The epidemiology of open long bone fractures. Injury 1998;29:529–534.
4. Worlock P, Slack R, Harvey L, Mawhinney R. The prevention of infection in open fractures: an experimental study of the effect of fracture stability. Injury 1994;25:31-38.
5. Giannoudis PV, Papakostidis C, Roberts C. A review of the management of open fractures of the tibia and femur. J Bone Joint Surg Br 2006;88:281-89.
6. Star AJ, Bucholz RW. Fractures of the shaft of the femur. In: Bucholz RW, Heckman JD, editors. Rockwood and Green's Fractures in Adults 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins;2001:p1683-1731
7. Court-Brown CM. Fractures of the tibia and femur. In: Bucholz RW, Heckman JD, editors. Rockwood and Green's Fractures in Adults 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins;2001:p:1939-2001
8. Küntscher G. Intramedullary surgical technique and its place in orthopaedic surgery: My present concept. J Bone Joint Surg Am. 1965;47:809-818.
9. Yokoyama K, Itoman M, Uchino M, Fukushima K, Nitta H, Kojima Y. Immediate versus delayed intramedullary nailing for open fractures of the tibial shaft: A multivariate analysis of factors affecting deep infection and fracture healing. Indian J Orthop. 2008;42(4):410-9.
10. Laga M, Meheus A, Piot P. Epidemiology and control of gonococcal ophthalmia neonatorum. Bulletin of the World Health Organization 1989;67(5):471-478.

11. Klase HJ. Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I Early uses. *Burns* 2000;26:117–130.
12. Hanna H, Bahna P, Reitzel R, Dvorak T, Chaiban G, Hachem R, Raad I. Comparative in vitro efficacies and antimicrobial durabilities of novel antimicrobial central venous catheters. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;Oct:3283–3288.
13. Yorganci K, Krepel C, Weigelt JA, Edmiston CE. In vitro evaluation of the antibacterial activity of three different central venous catheters against gram-positive bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21:379–384.
14. Gosheger G, Hardes J, Ahrens H, Streitburger A, Buerger H, Eren M, Gonsel A, Kemper FH, Winkelmann W, Eiff C. Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects. *Biomaterials* 2004;25:5547–5556.
15. Johnson JR, Kuskowski MA, Wilt TJ. Systematic review: Antimicrobial urinary catheters to prevent catheter-associated urinary tract infection in hospitalized patients. *Ann Intern Med.* 2006;144:116-126.
16. Schierholz JM, Lucasj LJ, Rump A, Pulverer G. Efficacy of silver-coated medical device. *Journal of Hospital Infection* 1998;40:257–262.
17. Liao SY, Read DC, Pugh WJ, Furr JR, Russell AD. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in Applied Microbiology* 1997;25:279–283.
18. Valappil SP, Pickup DM, Carroll DL, Hope CK, Pratten J, Newport RJ, Smith ME, Wilson M, Knowles JC. Effect of silver content on the structure and antibacterial activity of silver-doped phosphate-based glasses. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* 2007;Dec.:4453–4461.
19. Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res.* 2000 Dec 15;52(4):662-8.

20. Pal S, Tak YK, Song JM. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle. *Applied And Environmental Microbiology* 2007;Mar:1712–1720.
21. Alt V, Bechert T, Steinrücke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E, Domann E, Schnettler R. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*. 2004;25(18):4383-91.
22. Fung MC, Bowen DL. Silver products for medical indications: Risk-benefit assessment. *Clinical Toxicology* 34; 1:119–126.
23. Wan AT, Conyers RAJ, Coombs CJ, Masterton PB. Determination of silver in blood, urine, and tissues of volunteers and burn patients. *Clin. Chem*. 1991;37/10:1683-1687.
24. Fuller FW. The side effects of silver sulfadiazine. *J Burn Care Res* 2009;30:464–470.
25. Jones VE. The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Letters in Applied Microbiology* 2009;49:147–152.
26. Manfred A. Hollinger MA. Toxicological aspects of topical silver pharmaceuticals. *Critical Reviews in Toxicology* 1996; 26(2):255-260.
27. Cutting K, White R, Edmonds M. The safety and efficacy of dressings with silver – addressing clinical concerns. *Int Wound J* 2007;4:177–184.
28. Gümüşderelioğlu M. Yeni Ufuklara, Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik. *Tübitak*, Temmuz 2002 eki, sayfa20-21.
29. Hamadouche M, Sedel L. Ceramics in orthopaedics. *J Bone Joint Surg (Br)* 2000;82-B:1095-9.
30. Ramseier LE, Bhaskar AR, Cole WG, Howard AW. Treatment of open femur fractures in children-comparison between external fixator and intramedullary nailing. *J Pediatr Orthop* 2007;27:748–750.

31. Crowley DJ, Kanakaris NK, Giannoudis PV. Debridement and wound closure of open fractures: The impact of the time factor on infection rates. *Injury* 2007;38: 879-889.
32. Tsukayama DT. Pathophysiology of posttraumatic osteomyelitis. *Clin Orth Relat Res* 1999;360:22–29.
33. Zalavras ZG, Patzakis MJ, Holtom PD, Sherman R. Management of open fractures. *Infect Dis Clin N Am* 2005;19:915–929.
34. Green SA. Complications of external skeletal fixation causes, prevention and treatment. Springfield , IL: Charles C Thomas 1981.
35. Gopal S, Majumder S, Batchelor AGB, Knight SL, De Boer P, Smith RM. Fix and flap: the radical orthopaedic and plastic treatment of severe open fractures of the tibia. *J Bone Joint Surg (Br)* 2000;82-B:959-66.
36. Maurer DJ, Merkow RL, Gustilo RB. Infection after intramedullary nailing of severe open tibial fractures initially treated with external fixation. *J Bone Joint Surg Am.* 1989;71:835-838.
37. Gustilo RB, Anderson JT. Prevention of infection in the treatment of one thousand and twenty-five open fractures of long bones retrospective analyses. *J Bone Joint Surg Am.* 1976;58:453-458.
38. Bach AW, Hansen ST Jr. Plates versus external fixation in severe open tibial shaft fractures: a randomized trial. *Clin Orthop* 1989;241;89-94.
39. Cole PA, Zlowodzki M, Kregor PJ. Treatment of proximal tibia fractures using the less invasive stabilization system. *J Orthop Trauma* 2004;18:528–535.
40. Clifford RP, Beauchamp CO, Kellam JF, Webb JK, Tile M. Plate fixation of open fractures of the tibia. *J Bone Joint Surg (Br)* 1988;70-B:644-648.
41. Melcher GA, Claudi B, Schlegel U, Peren SM, Printzen G, Munzinger J. Influence of type of medullary nail on the development of local infection. An experimental study of solid and slotted nails in rabbits. *J BoneJoint Surg (Br)* 1994; 76-B:955-9.

42. Schlegel U, Perren SM. Surgical aspects of infection involving osteosynthesis implants: implant design and resistance to local infection. *Injury*. 2006 May;37 Suppl 2:S67-73.
43. Xue D, Zheng Q, Li H, Qian S, Zhang B, Pan Z. Reamed and unreamed intramedullary nailing for the treatment of open and closed tibial fractures a subgroup analysis of randomised trials. *International Orthopaedics (SICOT)* DOI 10.1007/s00264-009-0895-x
44. Farill J. Orthopedics in Mexico. *J Bone Joint Surg Am*. 1952;34:506-12.
45. Bong MR, Koval KJ, Egol KA. The history of intramedullary nailing. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2006;64(3-4):94-7.
46. Rush LV, Rush HL. A technique for longitudinal pin fixation of certain fractures of the ulna and of the femur. *J Bone Joint Surg Am*. 1939;21:619-626.
47. Modny MT, Lewert AH. Transfixion intramedullary nail. *Orthop Rev*. 1986;15:83-8.
48. Zickel RE. A new fixation device for subtrochanteric fractures of the femur: A preliminary report. *Clin Orthop Relat Res*. 1967;(54):115-23.
49. Canale ST: *Campbell's Operative Orthopaedics Türkçe Baskısı*(Çeviri Akgün İ). İstanbul, Hayat Tıp Kitapçılık, 3. Cilt, 2007:2669-2724
50. Mueller M, Burger C, Florczyk A, Striepens N, Rangger C. Elastic stable intramedullary nailing of midclavicular fractures in adults: 32 patients followed for 1-5 years. *Acta Orthop*. 2007;78(3):421-3.
51. Hunter JB. The principles of elastic stable intramedullary nailing in children. *Injury* 2005;36: S-20-24.
52. Muratlı, HH Seramik biyomateryallerin Ortopedi ve Travmatoloji'de kullanımı. *Ortopedi ve Travmatolojide biyomateryaller*, ed. M. Görgeç, İ. Öztürk, B. Aksoy ve H. Bombacı, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği, İstanbul, 2005, s.49-57.

53. Mondrago'n-Cortez P, Vargas-Gutie'rrez G. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite submicron particles at high voltages. *Materials Letters* 2004;58:1336–1339.
54. Evis Z, Doremus RH. Coatings of hydroxyapatite - nanosize alpha alumina composites on Ti-6Al-4V. *Materials Letters* 2005;59:3824- 3827.
55. Song YW, Shan DY, Han EH. Electrodeposition of hydroxyapatite coating on AZ91D magnesium alloy for biomaterial application. *Materials Letters* 2008;62:3276-3279.
56. Miao P, Balachandran W, Xiao P. Formation of ceramic thin films using Electrospray in cone-jet mode. *IEEE Transactions On Industry Applications* 2002;38(1):50-55.
57. Miao P, Balachandran W, Wang JL. Electrostatic generation and theoretical modelling of ultra fine spray of ceramic suspensions for thin film preparation. *Journal of Electrostatics* 2001;51-52:43-49.
58. Chen CH, Emond MHJ, Kelder EM, Meester B, Schoonman J. Electrostatic sol-spray deposition of nanostructured ceramic thin films. *J. Aerosol Sci.* 1999;30(7):959-967.
59. Jaworek A. Micro nanoparticle production by electrospraying. *Powder Technology* 2007;176:18-35.
60. Balachandran W, Miao P, Xiao P. Electrospray of fine droplets of ceramic suspensions for thin film preparation. *Journal of Electrostatics* 2001;50:249-263.
61. Gaskell SJ. Electrospray: Principles and practice. *Journal of mass spectrometry* 1997;32:677-688.
62. Zhao L, Chu PK, Zhang Y, Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants. *J Biomed Mater Res Appl Biomater* 2009;91B: 470–480.
63. Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008;322:207-228.

64. Tamai K, Kawate K, Kawahara I, Takakura Y, Sakaki K. Inorganic antimicrobial coating for titanium alloy and its effect on bacteria. *J Orthop Sci* 2009;14:204–209.
65. Arciola CR, Montanaro L, Moroni A, Giordano M, Pizzoferrato A, Donati ME. Hydroxyapatite-coated orthopaedic screws as infection resistant materials:in vitro study. *Biomaterials* 1999;20:323-327.
66. Schmidmaier G, Lucke M, Wildemann B, Haas NP, Raschke M. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by antibiotic-coated implants: a review. *Injury* 2006;37:105-112.
67. Nablo BJ, Prichard HL, Butler RD, Klitzman B, Schoenfisch MH. Inhibition of implant-associated infections via nitric oxide release. *Biomaterials* 2005;26:6984-6990.
68. Furno F, Morley KS, Wong B, Sharp BL, Arnold PL, Howdle SM, Bayston R, Brown PD, Winship PD, Reid HJ. Silver nanoparticles and polymeric medical devices a new approach to prevention of infection? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2004;54:1019-1024.
69. Hardes J, Ahrens H, Gebert C, Streitbuerger A, Buerger H, Erren M, Gonsel A, Wedemeyer C, Saxler G, Winkelmann W, Gosheger G. Lack of toxicological side-effects in silver-coated megaprotheses in humans. *Biomaterials* 2007;28:2869–2875.
70. Bosetti M, Mass"e A, Tobin E, Cannas M. Silver coated materials for external fixation devices in vitro biocompatibility and genotoxicity. *Biomaterials* 2002;23:887–892.
71. History of the medical use of silver. *Surg Infect (Larchmt)* 2009;10(3):289-92.
72. Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma*. 2006;60:648–652.
73. Owens CJ, Yarbrough DR III, MD, Brackett NC Jr. Nephrotic syndrome following topically applied sulfadiazine silver therapy. *Arch Intern Med*. 1974;134(2):332-335.

74. Gamelli RL, Paxton TP, O'Reilly M. Bone marrow toxicity by silver sulfadiazine. *Surg Gynecol Obstet.* 1993;177(2):115-20.
75. Lansdown ABG. Critical observations on the neurotoxicity of silver. *Critical Reviews in Toxicology* 2007; 37:237–250.
76. Kayser F. İnfeksiyon Hastalığı Etkeni Bakteriler-Staphylococcus “Fritz H. Kayser, Kurt A. Bienz, Johannes Eckert, Rolf M. Zinkermagel (Eds), Küçüker MA, Tümbay E., Anđ Ö., Erturan Z. (Çevirenler): Tıbbi Mikrobiyoloji 9. baskı” s,221, Nobel Tıp Kitabevleri (2002)
77. Tammy L Bannerman: Gram-Positive Cocci, Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase-Positive Cocci That Grow Aerobically “Patrick R Murray, Ellen Jo Baron, James H Jorgensen, Michael A. Pealler, Robert H. Yolken (Eds): *Manual of Clinical Microbiology*, (th Edition” p. 384-404, ASM Pres, Washington DC (2003)
78. Akan E: Bakteriler, Mantarlar-Riketziyalar-Klamidyalar ve İnfeksiyonları “ Tıbbi Mikrobiyoloji 2. baskı” s. 1-12, Saray Tıp Kitabevleri (1993)
79. Mackie & McCartney: Staphylococcus aureus “ JG Collee, JP Duguid, AG Fraser, BP Marmion (Eds): *Practical Medical Microbiology* 13th Edition” p.305-311, Churchill, Livingstone (1989)
80. Akiyamah, Ueda Masumi, Kanzaki H, Tada J: Biofilm formation of Staphylococcus aureus strains isolated from impetigo and furuncule: role of fibrinogen and fibrin. *J Dermatol Sci*1997; 16:2–10.
81. D'Souza A, Rajagopalan N, Amaravati RS. The use of qualitative cultures for detecting infection in open tibial fractures. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2008 Aug;16(2):175–8.
82. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, Woods GL. Gram- Positive Cocci. Part I: Staphylococci and related Gram-Positive Cocci. In: Koneman’s *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th ed, Philadelphia PA: Lippincott Williams & Wilkins. 2006: 623-71.

83. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Staphylococcus, Micrococcus and similar organisms. In: Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, 12th ed, St. Louis: Mosby Elsevier. 2007: 455-77.
84. Pollard TC, Newman JE, Barlow NJ, Price JD, Willett KM. Deep wound infection after proximal femoral fracture: consequences and costs. *J Hosp Infect.* 2006 Jun;63(2):133-9.
85. Chapman MW. The use of immediate internal fixation in open fractures. *Orthop Clin North Am.* 1980;11(3):579-91.
86. Chapman MW. Role of bone stability in open fractures. *Instr Course Lect.* 1982;31:75-87.
87. Chapman MW, Mahoney M. The role of early internal fixation in the management of open fractures. *Clin Orthop Relat Res.* 1979;138:120-31.
88. Kakar S, Tornetta P 3rd. Open fractures of the tibia treated by immediate intramedullary tibial nail insertion without reaming: a prospective study. *J Orthop Trauma.* 2007;21(3):153-7.
89. O'Brien PJ, Meek RN, Powell JN, Blachut PA. Primary intramedullary nailing of open femoral shaft fractures. *J Trauma.* 1991;31(1):113-6.
90. Harris LG, Richards RG. Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury.* 2006 May;37 Suppl 2:S3-14.
91. Hetrick EM, Schoenfisch MH. Reducing implant-related infections: Active release strategies. *Chem Soc Rev* 2006;35: 780-789.
92. Dunne WM Jr. Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately? *Clin Microbiol Rev* 2002;15:155-166.
93. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:167-193.
94. Lewis K. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:999-1007.

95. Arens S, Schlegel U, Printzen G, Ziegler WJ, Perren SM, Hansis M. Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits. *J Bone Joint Surg Br.* 1996;78(4):647–51.
96. Ako-Nai AK, Ikem IC, Daniel FV, Ojo DO, Oginni LM. A comparison of superficial and deep bacterial presence in open fractures of the lower extremities. *Int J Low Extrem Wounds.* 2009 Dec;8(4):197–202.
97. Patzakis MJ, Harvey JP Jr, Ivler D. The role of antibiotics in the management of open fractures. *J Bone Joint Surg Am* 1974;56:532–41.
98. Patzakis MJ, Bains RS, Lee J, Shepherd L, Singer G, Ressler R, Harvey F, Holtom P. Prospective, randomized, double-blind study comparing single-agent antibiotic therapy, ciprofloxacin, to combination antibiotic therapy in open fracture wounds. *J Orthop Trauma.* 2000;14(8):529-33.
99. Evans RP, Nelson CL. Gentamicin-impregnated polymethylmethacrylate beads compared with systemic antibiotic therapy in the treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1993;295:37-42.
100. Zelken J, Wanich T, Gardner M, Griffith M, Bostrom M. PMMA is superior to hydroxyapatite for colony reduction in induced osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 2007;462:190–194.
101. Mendel V, Simanowski HJ, Scholz HC, Heymann H. Therapy with gentamicin-PMMA beads, gentamicin-collagen sponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rats. *Arch Orthop Trauma Surg* 2005;125(6):363-368.
102. Kanellakopoulou K, Giamarellos-Bourboulis EJ. Carrier systems for the local delivery of antibiotics in bone infections. *Drugs* 2000;59:1223–1232.
103. Kinik H, Karaduman M Cierny-Mader type III chronic osteomyelitis: the results of patients treated with debridement, irrigation, vancomycin beads and systemic antibiotics. *Int Orthop* 2008;32(4):551–558.
104. Sener M, Kazimoglu C, Karapınar H, Günal I, Afşar I, Karataş Şener AG. Comparison of various surgical methods in the treatment of implant-related infection. *Int Orthop.* 2010;34(3):419-23.

105. Modak SM, Fox CL Jr. Binding of silver sulfadiazine in the cellular components of *Pseudomonas auriginosa*. *Biochem Pharmacol.* 1973 Oct 1;22(19):2391-404.
106. Chambers C, Proctor C, Kabler P. Bactericidal effect of low concentrations of silver. *J Am Water Works Association* 1962: 208–216.
107. 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;6(5):553-61.
108. 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(1):123-9; discussion 129-30.
109. Zhan, D, Fan FR, Bard AJ. The Kv channel blocker 4-aminopyridine enhances Ag⁺ uptake: a scanning electrochemical microscopy study of single living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008;105:12118–12122.
110. Hidalgo E, Dominguez C. Study of cytotoxicity mechanisms of silver nitrate in human dermal fibroblasts. *Toxicol Lett.* 1998;98:169–179.
111. Lansdown AB. Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl. Dermatol.* 2006;33:17–34.
112. Payne CM, Bladin C, Colchester AC, Bland J, Lapworth R, Lane D. Argyria from excessive use of topical silver sulphadiazine. *Lancet* 1992;340:126.
113. McCauley RL, Linares HA, Pelligrini V, Herndon DN, Robson MC, Heggors JP. In vitro toxicity of topical antimicrobial agents to human fibroblasts. *J. Surg. Res.* 1989;46:267–274.
114. Baldi C, Minoia C, Di Nucci A, Capodaglio E, Manzo L. Effects of silver in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Lett.* 1988;41:261–268.
115. Rungby J, Hultman P, Ellermann-Erikson S. Silver affects viability and structure of cultured mouse peritoneal macrophages and peroxidative capacity of whole mouse liver. *Arch. Toxicol.* 1987;59:408–412.

116. Goldberg RL, Kaplan SR, Fuller GC. Effect of heavy metals on human rheumatoid synovial cell proliferation and collagen synthesis. *Biochem. Pharmacol.* 1983;32:2763–2766.
117. Cortese-Krott MM, Münchow M, Pirev E, Hessner F, Bozkurt A, Uciechowski P, Pallua N, Kröncke KD, Suschek CV. Silver ions induce oxidative stress and intracellular zinc release in human skin fibroblasts. *Free Radic Biol Med.* 2009;47(11):1570-7.
118. Browne M, Gregson PJ. Effect of mechanical surface pretreatment on metal ion release. *Biomaterials* 2000;21:385–392.
119. McPherson EJ, Dorr LD, Gruen TA, Saberi MT. Hydroxyapatitecoated proximal ingrowth femoral stems. A matched pair control study. *Clin Orthop Relat Res* 1995;315:223-230.
120. Chung RJ, Hsieh MF, Huang CW, Perng LH, Wen HW, Chin TS. Antimicrobial effects and human gingival biocompatibility of hydroxyapatite sol-gel coatings. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006;76:169–178.
121. Ong JL, Bessho K, Carnes DL. Bone response to plasma-sprayed hydroxyapatite and radiofrequency-sputtered calcium phosphate implants in vivo. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17: 581–586.
122. Yang Y, Kim K, Ong JL. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process—An alternative to plasma spraying. *Biomaterials* 2005;26:327–337.
123. Oosterbos, Vogely HC, Nijhof MW, Flier A, Verbout AJ, Tonino AJ, Dhert WJA . Osseointegration of hydroxyapatite-coated and noncoated Ti6Al4V implants in the presence of local infection A comparative histomorphometrical study in rabbits. *J Biomed Mater Res* 2002;60: 339–347.
124. Laure B, Besnier JM, Bergemer-Fouquet AM, Marquet-Van Der Mee N, Damie F, Quentin R, Favard L, Rosset P. Effect of hydroxyapatite coating and polymethylmethacrylate on stainless steel implant-site infection with *Staphylococcus epidermidis* in a sheep model. *J Biomed Mater Res A.* 2008;84(1):92-8.

125. Vogely HC, Oosterbos CJ, Puts EW, Nijhof MW, Nikkels PG, Fleer A, Tonino AJ, Dhert WJ, Verbout AJ. Effects of hydroxyapatite coating on Ti-6 Al-4V implant-site infection in a rabbit tibial model. *J Orthop Res*. 2000;18(3):485-93.
126. Opalchenova G, Dyulgerova E, Petrov OE. Effect of calcium phosphate ceramics on Gram-negative bacteria resistant to antibiotics. *Journal of Biomedical Materials Research* 1996;32:473-479.
127. Opalchenova G, Dyulgerova E, Petrov OE. A study of the influence of biphasic calcium phosphate ceramics on bacterial strains: In vitro approach. *Journal of Biomedical Materials Research* 1996;31:219-226.
128. Moroni A, Heikkila J, Magyar G, Toksvig-Larsen S, Giannini S. Fixation strength and pin tract infection of hydroxyapatite-coated tapered pins. *Clin Orthop Relat Res*. 2001;388:209-217.
129. Chen Y, Zheng X, Xie Y, Ding C, Ruan H, Fan C. Anti-bacterial and cytotoxic properties of plasma sprayed silver containing HA coatings. *J Mater Sci: Mater Med* 2008;19:3603-3609.
130. Shimazaki T, Miyamoto H, Ando Y, Noda I, Yonekura Y, Kawano S, Miyazaki M, Mawatari M, Hotokebuchi T. In vivo antibacterial and silver-releasing properties of novel thermal sprayed silver-containing hydroxyapatite coating. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 2010 92(B):386-389.
131. Chen W, Liu Y, Courtney HS, Bettenga M, Agrawal CM, Bumgardner JD, Ong JL. In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating. *Biomaterials* 2006;27:5512-5517.
132. Butany J, Scully HE, VanArsdell G, Leask R. Prosthetic heart valves with silver-coated sewing cuff fabric: early morphological features in two patients. *Can J Cardiol* 2002;18(7):733-8.
133. Tozzi P, Al-Darweesh A, Vogt P, Stumpe F. Silver-coated prosthetic heart valve: a double-bladed weapon. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001;19(5):729-31.

134. Schaff HV, Carrel TP, Jamieson WR, Jones KW, Ruffilanchas JJ, Cooley DA. Paravalvular leak and other events in silzonecoated mechanical heart valves: a report from avert. *Ann Thorac Surg* 2002;73(3):785–92.
135. Peksen., E., Kose, N., Caylak, R., Koparal, A.S., Dogan, A., "Antibacterial Activity of Ag+ Ion Doped Calcium Phosphate Based Ceramic Powder Coated Ti6Al4V Implants", 7-10 Eylül 2009 European Congress and Exhibition on Advance Materials and Processes (EUROMAT2009), İskoçya.
136. Peksen, C., Kose, N., İnan, U., Caylak, R., Kartal E.D., Koparal, A.S., Dogan, A., "Ag+ İyon Katkılı Kalsiyum Fosfat Esaslı Seramik Toz ile Kaplanmış Ti6Al4V İmplantların Antibakteriyel etkinliği", 16-17 Ekim 2008, IV. Ulusal Biyomekanik Kongresi, Erzurum.
137. Otuzbir A. Hidroksiapatit ve gümüş kaplanmış protez implantlarının in vivo antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi hayvanlarda deneysel çalışma. Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Eskişehir,2009
138. Uludağ A. Antimikrobiyal, hidroksiapatit kaplı eksternal fiksator pinlerinin etkinliğinin değerlendirilmesi, hayvanlarda deneysel çalışma. Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Eskişehir,2010
139. Illingworth B, Bianco RW, Weisberg S. In vivo efficacy of silver-coated fabric against *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis.* 2000 Jan;9(1):135-41.
140. 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 Jul;9(1):55-70.
141. Valappil SP, Knowles JC, Wilson M. Effect of silver-doped phosphate-based glasses on bacterial biofilm growth. *Appl Environ Microbiol.* 2008 Aug;74(16):5228-30.
142. Zapata-Sirvent RL, Hansbrough JF. Cytotoxicity to human leukocytes by topical antimicrobial agents used for burn care. *J Burn Care Rehabil.* 1993;14:132–40.

143. Rosenman KD, Seixas N, Jacobs I. Potential nephrotoxic effects of exposure to silver.. *Br J Ind Med*. 1987 Apr;44(4):267-72.
144. Mayr M, Kim MJ, Wanner D, Helmut H, Schroeder J, Mihatsch MJ. Argyria and decreased kidney function: are silver compounds toxic to the kidney? *Am J Kidney Dis*. 2009 May;53(5):890-4.
145. Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, Schlager JJ. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro*. 2005 Oct;19(7):975-83.
146. Choi JE, Kim S, Ahn JH, Youn P, Kang JS, Park K, Yi J, Ryu DY. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquat Toxicol*. DOI:10.1016/j.aquatox.2009.12.012
147. Velard F, Laurent-Maquin D, Guillaume C, Bouthors S, Jallot E, Nedelec JM, Belaouaj A, Laquerriere P. Polymorphonuclear neutrophil response to hydroxyapatite particles, implication in acute inflammatory reaction. *Acta Biomater*. 2009;5(5):1708-15.
148. Velard F, Laurent-Maquin D, Braux J, Guillaume C, Bouthors S, Jallot E, Nedelec JM, Belaouaj A, Laquerriere P. The effect of zinc on hydroxyapatite-mediated activation of human polymorphonuclear neutrophils and bone implant-associated acute inflammation. *Biomaterials*. 2010;31(8):2001–9.

