

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ANTİMİKROBİYAL, HİDROKSİAPATİT KAPLI EKSTERNAL
FİKSATÖR PİNLERİN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ, HAYVANLARDA DENEYSEL
ÇALIŞMA**

Dr. Ahmet ULUDAĞ

**Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2009**

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ANTİMİKROBİYAL, HİDROKSİAPATİT KAPLI EKSTERNAL
FİKSATÖR PİNLERİN ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ, HAYVANLARDA DENEYSEL
ÇALIŞMA

Dr. Ahmet ULUDAĞ

Ortopedi ve Travmatoloji
Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof.Dr.Nusret KÖSE

ESKİŞEHİR
2009

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Ahmet ULUDAĞ' a ait “Antimikrobiyal, hidroksiapatit kaplı eksternal fiksator pinlerin etkinliğinin değerlendirilmesi, hayvanlarda deneysel çalışma” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı’ nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:30.12.2009

Jüri Başkanı	Prof.Dr.Hakan ÖMEROĞLU Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Prof.Dr.Nusret KÖSE Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza
Üye	Yrd.Doç.Dr.Ulukan İNAN Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu’ nun
.....tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr.Zübeyir KILIÇ
Dekan

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı'nda hazırlamış olduğum tez çalışmam süresince; değerli vaktini ve tecrübesini benden esirgemeyen başta tez danışmanım Prof.Dr.Nusret KÖSE'ye, Prof.Dr.Aydın DOĞAN'a, Araş.Gör.Ceren PEKŞEN'e, Prof.Dr.Cengiz BAYÇU'ya ve Yrd.Doç.Dr.Abdurrahman KİREMİTÇİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım

ÖZET

Uludağ A. Antimikrobiyal ve hidroksiapatit kaplı eksternal fiksator çivilerinin etkinliğinin değerlendirilmesi, hayvanlarda deneysel çalışma. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi. Eskişehir, 2009. Çalışmadaki amacımız gümüş ve hidroksiapatit kaplı eksternal fiksasyon çivilerinin, çivi dibi enfeksiyonunu ve çivi gevşemesindeki etkinliğini göstermekti. Hayvanlarda deneysel bir çalışma planlandı. Ağırlıkları 3000-3500 kg arasında olan 24 adet tavşan çalışmaya alındı. Tavşanlar sekizerli üç gruba ayrıldı. Çalışmada 96 adet 2 mm çapında ucu yivli çelik çiviler kullanıldı. Bu çiviler tavşanların sağ ve sol tibialarının anteromedial bölgesine ikişer adet, toplam her tavşana dört adet olacak şekilde yerleştirildi. Birinci gruptaki tavşanlara kaplamasız çiviler, İkinci gruba hidroksiapatit kaplı çiviler, üçüncü gruba ise gümüş ve hidroksiapatit ile kaplı çiviler yerleştirildi. Çivilere tibiaya yerleştirilmeden önce Stafilokokus epidermidis inokülasyonu yapıldı. Her çivinin yerleştirme tork değerleri torkmetre ile ölçülerek kayıt edildi. Altı hafta sonunda tavşanlar öldürülerek çivilerin sökme torkları ölçüldü. Çivi ile ilişkili bölgeden sürüntü kültürü alındı, implant üzerine yapışmış halde bulunan bakterilerin sayımı yapıldı. Çivi çevresi kemik dokudan histopatolojik örnekler alındı. Yapılan tork ölçümleri sonunda hidroksiapatit kaplı çivilerin sökme torkları diğer iki gruba oranla anlamlı şekilde yüksekti. Gümüş kaplı çivilerin de sökme değerleri kaplamasız çivilere oranla anlamlı şekilde yüksekti. Yapılan mikrobiyolojik çalışmada gümüş ve hidroksiapatit ile kaplı çivilerde enfeksiyon oranının diğer iki gruba göre anlamlı derecede az olduğu görüldü. Hidroksiapatit kaplı çivilerdeki enfeksiyon oranının kaplamasız çivilere oranla anlamlı şekilde az olduğu tespit edildi. Yapılan histolojik çalışmada kaplamasız çivilerin kemik ara yüzünde inflamasyon dokusunun diğer iki gruba oranla daha yoğun olduğu görüldü. Sonuç olarak gümüş ve hidroksit kaplamanın çivi dibi enfeksiyonunu azalttığı ve çivi sağlığını arttırdığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler : Hidroksiapatit kaplı implant, gümüş kaplı implant

ABSTRACT

Uludağ A. Evaluation of efficiency of antimicrobial and hydroxyapatite coated external fixatör pins, an experimental animal study. Eskisehir Osmangazi University Medicine Faculty, Medical Speciality Thesis in Orthopedics and Traumatology Department, Eskisehir, 2009. In this study, our aim was to detect the efficiency of silver and hydroxyapatite coated external fixatör pins in preventing pin tract infection and pin loosening. This study was planned as experimental study an animals. Twentyfour rabbits weighing between 3000-3500 grams was included. They were randomized into 3 groups with 8 rabbits in each group. Two mm caliber, screwed-edge steel pins were used. For each rabbit, 4 pins were placed on right and left tibias, anteromedially. In total, 96 pin were used. First group received pins without coating ,second group received hydroxyapatite coated pins, third group received silver and hydroxyapatite coated pins. Before placement on tibia, pins were inoculated with staphylococcus epidermidis. Torque valves of every pin were measured with torquimeter and recorded.Six weeks later rabbits were sacrificed and extraction torque valves were recorded. Swap cultures were taken from places around pins and bacteria were counted on the implant. Histopathological specimens were taken from bony tissues around pins. After the end of torque recordings, we found out that extraction torque valves of hydroxyapatite coated nails were significantly higher than other two groups. Also, extraction torque valves of silver coated nails were significiantly higher than withouth coating group. Microbiological study revealed that silver and hydroxyapatite coated nails were found to have significantly lower infection rates than other two groups. İnfection rate of hydroxyapatite coted were significantly lower than nails without coating. Histopathological study revealed that inflammatory tissue of bony structure around nails without coating were found to be more dense than other two groups.This study show that Ag and HA coating efective to decrease pin tract infection and increase pin stability.

Key words: Antimicrobial, silver-coated implant,hydroxyapatite coated implant

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Eksternal Fiksasyon	3
2.2.Biyoseramikler	12
2.3 Gümüşün antimikrobiyal etkisi	18
2.4 Metal İyon Katkılı Antimikrobiyal Toz	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
4. BULGULAR	35
4.1 Mikrobiyolojik Bulgular	35
4.2Tork ölçümleri	38
4.3 Histopatolojik Bulgular	40
5.TARTIŞMA	45
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABT	Antibakteriyel seramik toz
Ag⁺	Gümüş iyonu
EF	Eksternal Fiksasyon
HA	Hidroksiapatit
TCP	Trikalsiyom Fosfat
ppb	Parts per billion

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1 Kemik ve biyomateryal üzerinde oluşan biyofilm tabakasının şematik çizimi	11
3.1 XRD analizi sonuçları	24
3.2 ABT'a ait tane boyut dağılım grafiği	25
3.3 ABT tozunun SEM görüntüsü	25
3.4 ABT toz için Halo test sonucu	27
3.5 (A) HA kaplanmış paslanmaz çelik tel, (B) ABT kaplanmış paslanmaz çelik	29
3.6 Kılavuz tel ile giriş deliğinin açılması	31
3.7 Çivinin tork metre yardımı ile yerleştirilmesi	31
3.8 Torqueleader Quickset Minor 5-120 cNm	31
3.9 Çivilerin yerleştirilip uygun boyda kısaltılması sonrası	32
3.10 Çivilerin yumuşak dokudan temizlenmiş hali	32
4.1 Grup1' den histopatolojik inceleme	41
4.2 Grup1' den histopatolojik inceleme	41
4.3 Grup 1' den histopatolojik inceleme	42
4.4 Grup 2' den histopatolojik inceleme	42
4.5 Grup 2' den histopatolojik inceleme	43
4.6 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	43
4.7 Grup 3' ten histopatolojik inceleme	44

TABLÖLAR

	Sayfa
3.1. ABT toz için Halo testi sonuçları	26
3.2. ABT antimikrobiyal etkisinin dağılımı	27
3.3. ABT agar dilüsyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisinin dağılımı	28
4.1. Mikrobiyolojik Bulgular	36
4.2. Kemik sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi	37
4.3. İmplant dilüsyonel kültürlerin mikrobiyolojik incelenmesi	37
4.4. Tellerin sıkma ve sökme tork değerleri	39
4.5. Histolojik örneklerde görülen inflamasyon yoğunluğu	

1. GİRİŞ

Eksternal fiksasyon, kırık bölgesinden uzağa yerleştirilen kemiği sabitleyen pinlerin (çivilerin) kullanımına dayanan biyomekanik bir yöntemdir. Eksternal fiksasyonda rastlanılan en önemli komplikasyon hasarlanmış komşu dokular ya da vücuda giren biyometaryal yüzeyleri bakteri kolonizasyonuna son derece uygun olması nedeni ile oluşabilen çivi dibi infeksiyonudur (1). İnfeksiyon gelişme oranı %0.5-30 arasında değişmektedir.(1) Çivi dibi infeksiyonu sonrası kronik osteomyelit görülme sıklığı %0-4 arasındadır. Gelişen infeksiyon ya implantın gereğinden erken çıkarılmasına ya da gevşeme nedeni ile kırık pozisyonunun kaybına neden olmaktadır.

Yapılan çalışmalarda çivi dibi infeksiyonuna çoğunlukla gram pozitif bakterilerin neden oldukları belirtilmiştir (S.epidermidis, S.aureus) (2).Stafilokok infeksiyonlarındaki en önemli virülans etkeni implantlar üzerinde biyofilm oluşturma yetenekleridir (3). Eksternal fiksasyonun sağlamlığındaki kritik alan kemik-çivi ara yüzüdür. Oluşan infeksiyon, kemik çivi ara yüzünün sağlamlığını azaltarak gevşemeye neden olmaktadır.

Sistemik antibiyotik kullanımı, kemik dokuda uygun antibiyotik konsantrasyonuna ulaşamaması ve implanta yapışan mikroorganizmaların oluşturdukları biyofilmin koruyuculuğu nedeni ile etkisizdir(4). Günümüzde nanoteknolojinin kullanılması ile implantların yüzeylerini biyoyoumluluğu yüksek antimikrobiyal malzemelerle kaplama çalışmaları hız kazanmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi olan metaller arasında gümüş hem uygun antimikrobiyal aktivitesi hem de düşük toksisitesi nedeniyle ilgi çekmektedir (5). Bakteriler 35 ppb kadar düşük gümüş konsantrasyonlarının bakterisidal etkisine oldukça duyarlıdırlar (6). Yapılan çalışmalar yüzey kaplamasından ayrılan serbest gümüş iyonlarının çevre dokularda antimikrobiyal etki gösterecek konsantrasyonlara ulaştığını göstermiştir(7).Gümüş iyonları antimikrobiyal etkisini membran, enzim ve nükleik aside bağlanarak gösterir. Böylece çok çeşitli geri dönüşlü ya da geri dönüşsüz hücresel olay gerçekleşir (5). Gümüş iyonları mikroorganizmaların solunum zincirini inhibe eder(8). Gümüşün henüz antimikrobiyal etkisine direnç gelişimi bildirilmemiştir. Gümüş iyonlarının etkisi elementer gümüşün oligodinamik etkisi nedeniyle uzun

sürelidir. Pek çok bakterinin biyofilm oluşturabilme yeteneği ve kolonizasyonu gümüşle azalır(9).

Kemik – implant ara yüzünün sağlamlığını etkileyen bir diğer önemli etken kemik implant bütünleşmesidir. Hidroksiapatitin kemiğe bağlanma yeteneği gösterilmiştir. Bu biyoseramik metaryalin yüksek biyo uyumluluğu ve düşük yıkımı da kanıtlanmıştır. Bu nedenlerle hidroksiapatitin, implantların sağlam fiksasyonunun sağlanmasında uygun bir kaplama metaryali olduğu belirtilmiştir.(10)

Kırıkların sağaltımında ortopedik implant kullanımı hızla artmaktadır. Bu artışa paralel olarak implantların hazırlanmış olduğu uygun zeminde gelişen infeksiyonlarda da artış mevcuttur. Bu durum, sağaltımda yetersizliklere, gecikmelere ve sağaltım masraflarında artışlara neden olmaktadır. Antibakteriyal etkinliği olan biyoyumlu yüzey ile kaplanmış implantların kullanılması ile bu infeksiyonların ve oluşturdukları kötü sonuçların önüne geçilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada özel olarak hazırlanmış gümüş iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz ile hazırlanmış çelik çivilerin antibakteriyal etkinliği *invivo* olarak çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Eksternal Fiksasyon

Kırık yeri fizyolojisini bozmamak ve kırık yerinde cerrahi girişime ait komplikasyonlar yaratmamak amacı ile kırık hattının distal ve proksimalinden kemik eksenine dik olarak yerleştirilen paralel çivilerin, çubuklar aracılığı ile tespit edilmesine eksternal fiksasyon, bu amaçla kullanılan araçlara eksternal fiksator denilmektedir (11).

Kırığın bilinçli olarak bir çeşit eksternal fiksator (EF) ile ilk sağaltımını 1853'de Malgaigne yapmıştır. Patella kırığını ciltten bir çift pergel şeklinde dişli çengel ile tesbit etmiştir. 1893'de Keetley femuru dışarıdan çivi ile tespit ederek bir çeşit EF uygulamıştır. 1897'de ilk kez Parkhill uzun kemiklerde, iki adet proksimal, iki adet distal parçadan yarım çiviler gönderip dıştan bir tespitle bağlayarak ilk gerçek anlamda EF'ü uygulamıştır. 1902'de Lambotte kendi ismini taşıyan EF'ü geliştirerek uygulamıştır. 1912'de Lambotte ve 1917'de Humphry ilk kez yivli çivileri kullanmış, ancak kırık parçalarına birer çivi tatbik etmiştir. Crile 1919'da savaş yaralılarının femurlarına EF uygulanmıştır. 1914'de Juvara ve 1930'da Riedel kalçanın shanz tipi osteotomilerinde yarım çivileri dışarıdan klemplayerek kalçada EF'ü ilk olarak kullanmıştır. 1931'de Bosworth ekstremitte uzatmasında EF cihazlarını tanımlamıştır. Bu yıllarda Pitkin ve Blackfield iki korteksi de çivilerle geçerek çift taraflı çubuk kullanmaya başlamışlardır. 1932'de Judet açık kırıkta EF kullanmıştır. 1937'de Sadler hayvan kemiklerine çivi geçip bunları alçıya monte ederek kullanmıştır. Anderson alçı tesbit yerine demir çubuklarla çivi tesbitini yapmış ve bugünkü EF'ü ortaya koymuştur. 1933'den 1955'e kadar Anderson ve arkadaşlarının bu şekilde çok sayıda klinik çalışmaları olmuştur (12,13).

1930 ile 1950 arasında Kuzey Amerika'da bazı iyi sonuçlar elde edilmiş olsa da çivilerle çubukların sağlam bağlanamaması ve fazla miktarda çivi yolu enfeksiyonu gözlenmesi nedeniyle EF uygulamalarında bir duraklama olmuştur. 1938 ve 1954 yılları arasında Kuzey Amerika'da bu duraklama olurken. İsviçre'de Hoffman'ın kendi ismiyle anılan EF'ü geliştirmesi ve bununla üç boyutlu redüksiyonu sağlayabilmesi nedeniyle diğer Avrupalı hekimlerle birlikte mükemmel sonuçlar almışlardır. Bu iyi sonuçlar Kuzey Amerika'da EF'u tekrar gündeme

getirmiş ve Amerikan Ortopedik Cerrahi Akademi'since anatomi ve fizyolojiyi iyi bilen deneyimli kişiler tarafından uygulanması kabul edilmiştir (12).

Japon Toshiro Ohasili, çift korteksten geçirilen vidaları kemik çimentosuyla tesbit etmiş ve böylece karmaşık fiksasyonlarda bir kolaylık kazandırmıştır. Charnley 1948'de kendi kompresyon EF'ünü artrodezlerde yaygınlaştırmıştır. 1960'lı yıllarda İlizarov, sirküler EF'lü ve kompresyon yapan telleriyle EF'de büyük bir aşama katetmiştir (13).

Bu tekniğe yeniden ilginin artmasının nedenleri arasında çerçeve ebadı ve konfigürasyonlarının çeşitliliğindeki artış, daha büyük ve daha güçlü teller, daha iyi metaller, tekniğin ve endikasyonların daha iyi anlaşılması yer alır.

2.1.1. Eksternal Fiksatorlerin Avantajları ve Dezavantajları

Eksternal Fiksatorlerin Avantajları:

- a) Eksternal fiksatorler herhangi bir nedenle kırık hattında hareketsizliğin sağlanamadığı durumlarda, kemiğin rijit tespitini sağlamak amacıyla kullanılabilir. Gustilo Anderson tip 2 ve tip 3 açık kırıklarda, yumuşak doku yaralanmalarının alçı ya da traksiyona izin vermemesi, internal tespit uygulanması , dokularda beslenmenin bozulması, geniş bir alana patojen ajanların yayılması ve infeksiyon riskinin artması ya da ekstremitenin kaybedilme riskinin olması durumlarında eksternal fiksator kullanılabilir.
- b) Parçalı olmayan transvers kırıklarda kompresyon (sıkıştırma), parçalı kırıklarda majör proksimal ve distal fragmanlar arasında kısalığı önlemek ve uygun dizilim sağlamak amacıyla nötralizasyon ve kemik kaybının olduğu kırıklarda, ekstremitte uzatma amacıyla, distraksiyon (ayrılma) yapmak için eksternal fiksator kullanılabilir.
- c) Eksternal fiksatorle yaranın durumu, iyileşmesi, damar ve sinirin durumu, cilt fleplerinin canlılığı ve kompartman gerginliği doğrudan gözlenebilir.
- d) Tespit ya da kırık dizilimini bozmadan pansuman değişimi, cilt greftlemesi, kemik greftlemesi ve irrigasyon gibi müdahaleleri yapmak olasıdır.
- e) Distal ve proksimal eklemlerin hareketine hemen izin verir. Böylece ödem azalır, eklem yüzeyinin beslenmesi kolaylaşır. Ayrıca kapsüler fibrozis, eklem sertliği, kas atrofisi ve osteoporozu geciktirir. Hastaların erken hareket kazanmasını sağlar.

Stabil, ayrılmamış kırıklarda erken hareket mümkündür. Pelvis kırığı olan hastalarda eksternal fiksasyonu takiben hareketlilik sağlanabilir.

f) Ekstremitenin yükseltilmesi ile posterior yumuşak dokulardaki basınç azalır. Çiviler ve çerçevenin, gece baş seviyesinin üzerine asılması ile ödem geriler ve posterior yumuşak dokulardaki basınç azalır.

g) Hastanın genel ya da spinal anestezi almasının kontrendike olduğu durumlarda lokal anestezi altında dahi uygulanabilir.

h) Enfekte akut kırıklar ve enfekte kaynamama durumlarında en önemli nokta sağlam tespit oluşturmaktır. Böylece infeksiyonun kontrol altına alınması ve yok edilmesi sağlanır. Modern eksternal fiksatörler sağlam tespit oluşturarak infeksiyonun kontrol altına alınmasını sağlar.

ı) Enfekte ve başarısız artroplastilerde eksternal fiksatörler ile başarılı artrodez sağlanır.

Eksternal Fiksatörlerin Dezavantajları:

a) Çiviler çok titiz tatbik edilmelidir. Çivi yolu infeksiyonunu önlemek için özenli cilt ve çivi yolu bakımı yapılmalıdır.

b) deneyimsiz cerrah fiksatörü oluştururken zorluklar yaşayabilir.

c) Fiksatörün biçimsiz olması ve hastanın estetik nedenlerle istememesi olabilir.

d) Çivi komşuluğunda kırık meydana gelebilir.

e) Fiksatör çıkarıldıktan sonra ekstremitte yeterince korunmaz ise kaynama dokusunun geç sürede oluşması sonucunda kemiğin olağan bir strese maruz kalmasıyla bile refraktür gelişebilir.

f) Fiksatörün pahalı olabilir.

g) Uyumsuz hasta fiksatörün yapısını bozabilir.

h) Fiksatöre yakın eklemden eklem sertliği olabilir. Bu durum kemiğin proksimal veya distal ucuna yakın kırığı olan olgularda daha sık oluşur.

ı) Yumuşak doku örtümü ya da damar-sinir tamiri girişimlerinin zorluğu.

i) Çivi yolu enfeksiyonu gelişirse daha sonra olası bir internal tespit ya da artroplasti uygulanmasında infeksiyon riskinin artabilir.

2.1.2. Eksternal Fiksator Endikasyonları:

Eksternal fiksatorlerin genelde iyi seçilmiş vakalarda, geleneksel açık redüksiyon-internal tespit ve alçı gibi tedavi yöntemlerinden daha avantajlı oldukları durumlarda endikasyonu düşünülmelidir.

Endikasyonlar 3'e ayrılır:

- A) Kabul edilmiş endikasyonlar
- B) Olası endikasyonlar
- C) Tartışmalı endikasyonlar

A) Kabul Edilmiş Endikasyonlar :

- 1) Gustilo Anderson tip 2 ve tip 3 açık kırıklar,
- 2) Kırıklara eşlik eden yanıklar ,
- 3) Sonradan karşı bacak flebi, serbest doku flebi ya da yeniden yapılanma gerektirecek kırıklarda geçici tespit,
- 4) Kemik kaybı gibi sonradan distraksiyon gerektiren kırıklar,
- 5) Ekstremitte uzatılması ,
- 6) Artrodez işlemi ,
- 7) Psödoartroz veya enfekte olan kırıklar.

B) Olası Endikasyonlar :

- 1) Pelvis kırıkları ve çıkıkları ,
- 2) Açık, enfekte pelvis kaynama yokluğu,
- 3) Rekonstrüktif pelvik osteotomi (mesane ekstrofisi gibi),
- 4) Tümör dokusunun tamamen temizlenip, otoplasti ya da allograft uygulanmasını takiben
- 5) Çocuklarda femoral osteotomilerde, (Çocuklarda plak-vida ile internal fiksasyondan sonra bunların çıkarılmasında 2. ameliyatı ortadan kaldırmak için)
- 6) Kırıklarla beraber olan damar-sinir yaralanmalarında bunların onarımı ya da yeniden yapılandırılmalarında ,
- 7) Ampute olan ekstremitenin reimplantasyonunda ,
- 8) Birden çok ekstremitede mevcut olan kapalı kırığın tespiti. (Politravmatize hastalarda eksternal fiksator ile tedavi alternatif tedavidir. Bu hastalarda traksiyon,

alçı veya açık redüksiyon internal tespit ile kırıklar tedavi edilebilir. Ancak bu metodlarda tespit zordur)

9) Doğuştan eklem kontraktürlerinin düzeltilmesi ,

10) Parçalı kırık gibi büyük kemik parçaları arasında sağlam olmayan internal tespitte destek amacıyla ,

11) Ligamentotaksis

12) Kafa travması olan hastalarda kırık tespiti amacıyla uygulanır. (Şiddetli kafa travması mevcut olan hastalarda konvülziyonlar oluşabilir. Bu durumlarda alçı, traksiyon veya eksternal tespit dışı yöntemlerle kırık tespiti pratik değildir ve konvülziyonların sık, kasılmaların şiddetli olması durumunda rijit tespitite yetersizlik meydana gelir. Bu nedenle bu durumlarda kırığın tespiti için geçici eksternal tespit uygulanabilir)

13) Hastaların tanı veya terapi amaçlı veya diğer cerrahi durumlar nedeniyle nakil edilmesi gerektiğinde geçici tespit amacıyla uygulanabilir. Eksternal tespit nakil sırasında kırık diziliminin bozulmasını önler

14) Üst tibia veya alt femur kırıklarında diz bağlarını tam olarak değerlendirmek çok zordur. Eksternal fiksator kırığa çok yakın uygulandığında diz bağlarının değerlendirilmesine izin verir.

C) Tartışmalı Endikasyonlar:

Kapalı kırıklarda cerrahi temel prensiplerine çok dikkat edilse de zamanla çivi yolu infeksiyonları, kaynama gecikmesi ve yeniden kırılma gibi potansiyel problemler meydana gelebilir. Uzun kemik kırıklarının sağaltımında eksternal tespit çok yararlıdır. Ancak geleneksel tekniklerle redüksiyon ve hareketsizliğin sağlanamadığı hastalar için kullanılmalıdır.

2.1.3. Eksternal Fiksasyonun Komplikasyonları

Çok geniş alanda kullanımları nedeni ile bir seri komplikasyona sahiptirler. Bununla beraber, diğer tekniklerde olduğu gibi temel prensiplere sadık kalınarak ve uygun teknik kullanılarak komplikasyonlar en az düzeyde tutulabilir.

A) Damar-Sinir Hasarı

Cerrah, ekstremitenin kesitsel anatomisine hakim ve alışık olmalı ve tel yerleştirimi için güvenli ve tehlikeli bölgeleri bilmelidir. Kolun distal yarısında ve ön

kolun proksimal yarısında radial sinir, el bileğinin hemen üzerinde dorsal duyusal radial sinir, bacağın 1/3 uç kısmında anterior tibial arter ve derin peroneal sinir en çok etkilenen yapılardır. Damarın delinmesi, tromboz, arteriovenöz fistül ve anevrizma oluşumları da gözlenmiştir.

B) Kas ya da Tendon Hasarı

Tendon ya da kas kitlesinin içinden yerleştirilen teller, kasın normal hareketini önler ve tendon rüptürü ya da kas fibrozisine yol açabilir.

C) Gecikmiş Kaynama

Sağlam çiviler ve çerçeve kırık hattını yükten kurtarır; eğer fiksator birkaç hafta ya da ay kalırsa internal rijit kompresyon plaklarında izlendiği gibi kortekste zayıflama izlenir. Oluşan kallus tamamen endostealdir ve literatürde rijit fiksatorün uzayan kullanımı ile birlikte kırıkların %20-30'unda gecikmiş kaynamalar bildirilmiştir.

D) Kompartman Sendromu

Gergin kas kompartmanlardan teller geçerken, kompartman içi basıncın birkaç mm Hg artması, tam bir kompartman sendromu ile sonuçlanabilir.

E)Tekrar Kırık Oluşumu:

Rijit tespit nedeni ile kaynama büyük oranda endostealdir ve çok az periferik kallus oluşumu izlenir. Rijit tespit nedeni ile kortikal kemiğin streten yoksun hale getirilmesi, korteksin zayıflaması ile sonuçlanır; fiksator çıkarıldıktan sonra eğer ekstremitte yeterince korunmaz ise yeniden kırık oluşumu muhtemeldir.

F) Daha Sonraki Seçenekleri Sınırlandırması

Eğer tel dibi infekte olursa, açık redüksiyon gibi bazı yöntemleri kullanmak güç veya imkansız olabilir(14).

G) Çivi Komplikasyonları

Çivi komplikasyonları çivi dibi infeksiyonu, kronik infeksiyon, gevşeme ve metal yorgunluğunu içermektedir. Birçok yazar çivi dibi infeksiyon oranının gelişen implant teknolojisi sayesinde azaltılacağı ancak hiçbir zaman sıfırlanamayacağını düşünmektedirler (15).Birçok eksternal fiksasyon çalışmasında en büyük problemin

çivi infeksiyonları olduğu görülmüştür. Çivi dibi infeksiyonunun ana iki nedeni; çivi etrafındaki yumuşak doku nekrozu ve çivi-doku aralığında fazla hareketin bulunmasıdır. İnfeksiyon, basit drenajdan, sekestrumun görüldüğü osteomyelite kadar uzanan bir klinik tablo şeklinde olabilir. Uygun çivi yerleştirme tekniği ve uygun çivi bakımı infeksiyon oranı ile yakından ilişkilidir.(16)

Doğru yerleştirme tekniğinde çivi ve aparatların girebileceği kadar cilt insizyonu yapılır, küçük elevatörler yardımı ile kemiğe kadar künt bir şekilde ilerlenir. Trokar ve matkapla dirilleme yapılarak her iki korteks delinir böylece yumuşak doku hasarı azaltılır. Bu işlemlerde düşük devirli motor ya da el matkabı kullanmak gerekir. Yüksek devirli motorların kullanımında ısının 55° C ye çıktığı ve ısı nekrozuna neden olduğu gösterilmiştir(16). Dirilleme sonrası kılıf içinden uygun çivi her iki korteksi tutacak şekilde yerleştirilir. Genellikle üst ekstremité için 4 mm, alt ekstremité için 5-6 mm'lik çivi uygulanır. Çivinin yivli kısmının proksimal korteksten içeri girmesine dikkat edilmelidir. Bu şekilde cilt tahrişi, mekanik stres ve kırılma riski azaltılmış olur.(15)

Evrensel bir çivi bakımı standartı belirlenmemiştir. Çivi bakımı, çivi çevresi infeksiyonlarının patofizyolojisinde yer almaktadır. Doğru çivi yerleştirme tekniği uygulanması çivi çevresi infeksiyonunu ve takip eden çivi gevşemesini azaltır. Hastaların ve ev hemşirelerinin yaptığı haftalık ve günlük tel bakımı karşılaştırıldığında aralarında bir fark bulunmamıştır. Ara sıra dilüe hidrojen peroksit ve salin ile çivi etrafındaki kabukların kaldırılması gerekir. Uygun ve düzenli bakım eksternal fiksatorün kullanım zamanını ve stabilitesini artırır. Bazı merkezler çivi etrafına antibiyotikli kremlerin sürülmesini önermektedir. Böylelikle normal cilt florası inhibe edilmiş olur.(15)

Çivi dibi infeksiyonuna neden olan en önemli mikroorganizmalar cilt florasında yoğun olarak bulunan stafilokokkus aureus ve stafilokokkus epidermitisdir(17). Çivi dibi infeksiyonunu takip eden kronik osteomyelitin oranı %0-4 arasında rapor edilmiştir.(18)

S. epidermidis koagülaz negatif bir stafilokoktur ve normal aerobik cilt florasının baskın mikroorganizmasıdır. Koagülaz-negatif stafilokoklar (KNS) hastane infeksiyon etkenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Kateter, yapay kalp kapakçıkları ve plastik malzemelerin yaygın olarak kullanımı KNS'ye bağlı hastane

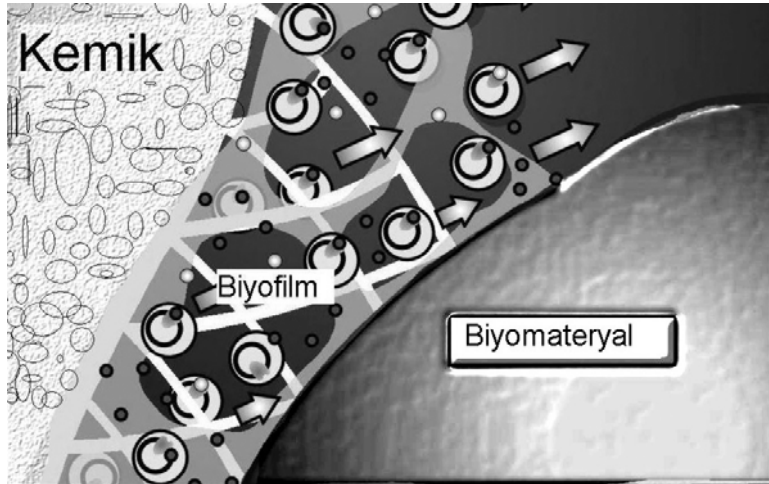
infeksiyonlarında önemli bir artışa neden olmuştur (19). Bu mikroorganizmanın etkili olduğu infeksiyonlar genellikle biyomateryaller üzerinde biyofilm tabakası oluşumuyla karakterizedir (20).

Biyofilm yapısı, konağın bağışıklık sistemi elementlerinin ve antibiyotiklerin organizmalara ulaşmasını engelleyen bir bariyerdir. Biyofilm içinde mikroorganizmaları barındıran korunaklı bir yapıdır. Biyofilmde yer alan mikroorganizmalar antimikrobiyal ajanlara, planktonik şekillerine göre 200-500 kat daha dirençlidir. Tıbbi açıdan biyofilm oluşturan mikroorganizmalar içerisinde en fazla araştırılanlar *P. aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Candida spp.*'dir. Biyofilmlerin antimikrobiyal ajanlara karşı dirençlerinde enzimatik inaktivasyon, atım pompaları, ilaç hedefinde mutasyon gibi mekanizmalar birincil sorumlu etkenler olarak gözükmemektedir. Herhangi bir şekilde antimikrobiyal ajanlara dirençli olmayan bir mikroorganizma biyofilm oluşturunca dirençli hale, biyofilmden ayrıldığında ise yeniden duyarlı hale dönüşebilmektedir. Biyofilm, yalnız antibiyotiklere karşı değil, dezenfektanlara karşı da direnç gelişmesinde rol oynamaktadır. Biyofilm tabakası içindeki bakteriler sıvı ortamda serbest üreyen bakterilere göre dezenfektanlara 10-100 kat daha dirençlidir. Bu yolla oluşan direncin mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte; glikokaliks bileşimi, hücre dışı enzimler, besin sınırlaması, dezenfektanın hücrelere ulaşmasında zorluk gibi çeşitli faktörlerin ilişkili olduğu varsayılmaktadır. Bakteriler biyofilm tabakasından uzaklaştırılıp sıvı kültür ortamlarında serbestçe üretilirse, dirençli oldukları dezenfektanlara tekrar duyarlı hale gelirler(21).

Vücutta bulunan biyofilmlerin %80'i stafilokoklar tarafından oluşturulur. Bunun nedeni cilt florasındaki bu mikroorganizmanın implantlar üzerine kolayca birikebilmesi, cerrahi sırasında yapılan manipulasyonlar sayesinde cilt florasının derin dokulara ve implant üzerine kolaylıkla ulaşabilmesidir. Biyofilmler insan vücudunda kateterler, implantlar, kalp kapakları, kontakt lensler, böbrek taşları ve organik dokularda bulunabilirler. Bütün yabancı cisimler vücut tarafından tanınıp laminin, fibronektin, vitronektin, kollajen ve fibrinojen içeren bir protein tabakası tarafından örtülür. Slime faktörü denen bu yapı, mikroorganizmayı hem implanta hem de organik dokulara bağlayabilir. Ayrıca stafilokokların yüzeyinde bulunan bir grup protein, bu slime yapısı ile sıkı bir bağlantı kurar ve glikokaliks (biyofilm)

oluşur. Bu bağlantıda teikoik asit yapısının da rolü büyüktür. Biyofilm tabakasının ana maddesi N-asetil glukozamindir ve iki farklı polisakkarit yapısı oluşturur. Tip 2 polisakkarit yapısı hücreler arası agregasyondan sorumlu olup diğer adı polisakkarit interselüler adezindir . Bu yapı, hidrofilik yüzeylere fizikokimyasal bağlarla tutunma özelliğine sahip olan bileşendir.

Genelde implantlar üzerine yapışma iki basamakta gerçekleşir. Birinci aşama hidrofobik güçler, van der Waals güçleri gibi fizikokimyasal çekimler ile bakterinin yüzeye tutunmasıdır (yapışma fazı). İkinci aşama ise özel protein yapılarla slime faktörü oluşması ve bakterilerin birikmeye devam etmesidir (birikme fazı). Her aşamada farklı moleküller devreye girer. Sonuçta yabancı materyalin yüzeyi çok katmanlı hücre kümelerinden oluşan biyofilm tarafından kaplanır(22).



Şekil 2.1. Kemik ve biyomateriyal üzerinde oluşan biyofilm tabakasının şematik çizimi (mikroorganizmalar ve fibriller yapı).

Çivi dibi infeksiyonlarının sınıflandırılması.(15)

Evre 0: Normal cilde göre çivi etrafında eritem mevcuttur ve haftalık çivi dibi bakımı gerektirir.

Evre 1: Sınırlı infeksiyon vardır ancak drenaj yoktur. Günlük sabun, peroksit ya da salin solüsyonu ile çivi bakımı gerektirir.

Evre 2: Çivi dibi infeksiyonu gelişmiştir ve seröz akıntı mevcuttur.

Evre 3: Çivi dibi infeksiyonu gelişmiştir ve pürülan akıntı mevcuttur.

Evre 4: Çivi dibi infeksiyonu oluşmuştur. Seröz ya da seropürülan akıntı mevcuttur ayrıca çivi etrafında kızarıklık vardır. Radyolojik olarak yakın ya da uzak kortekste osteolizis vardır. Genellikle çivinin çıkarılması ve çivi yerinin ve etrafının debridmanı, irigan solüsyonlarla temizlenmesi gerekir.

Evre 5: Çivi infeksiyonu gelişmiştir. Pürülan akıntı, osteolizis bununla birlikte medüller kanalda sekestrum mevcuttur. İlerlemiş infeksiyon vardır. Çivinin çıkarılması ve geleneksel debridman uygulanması gerekir.(15)

Çivi-kemik ara yüzü eksternal fiksatörün mekanik stabilitesi açısından en güçsüz bölgesidir. Yeterli stabilite için bu bölgedeki stresi azaltmak ve çivi gevşemesini engellemek gereklidir. Kemik-çivi ara yüzdeki stres kemik rezorbsiyonuna neden olur. Çivinin erken gevşemesinin önemli bir nedeni de çivi yerleştirilirken karşı kortekse geçilmemesidir. Çivinin yerleştirme öncesinde kemiğin dirillenmesi ve yüksek devirli motorların kullanılmaması ısı nekrozunun oluşmasını engeller ve erken gevşemeye engel olur. Yeni çivi dizaynları hidroksiapatit ile kaplanmıştır. Bu durum daha sağlam kemik çivi ara yüz elde edilmesini ve eksternal fiksatörlerin daha uzun zaman kullanılmasını sağlamıştır.(16)

Çivilerin kemiğin hangi bölgesine uygulandığı da stabilite açısından önemlidir. Çivinin kansellöz metafizyel kemiğe yerleştirilmesinden sonra ilerleyen dönemlerde gevşeme gelişir ve bu da fiksasyon yetersizliğine, infeksiyon riskinin artmasına neden olur. Kortikal diafizyel bölgede ise fiksasyon sağlamlığını uzun dönem korur.

2.2. Biyoseramikler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek, desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemeler olup, sürekli olarak ya da belirli aralıklarla vücut akışkanlarıyla temas ederler. Son 30 yıl içinde biyomalzeme/doku etkileşimlerinin anlaşılması konusunda önemli bilgiler elde edilmiştir. Biyoyumlu olan malzemeler, biyomalzeme olarak adlandırılmış ve biyoyumluluk; uygulama sırasında malzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği olarak tanımlanmıştır. Biyoyumlu, yani 'vücutla uyuşabilir' bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir. Wintermantel ve Mayer bu terimi biraz genişleterek

biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu ayrı ayrı tanımlamışlardır. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olması, yapısal uyumluluk ise, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı mükemmel uyumdur. Biyoyumluluğu yüksek olan malzemeler, bedene yerleştirilebilir cihazların hazırlanmasında kullanılırlar (23).

Canlı dokuya yerleştirilen tüm malzemeler, bu dokudan tepki alırlar. Bu tepki doku-implant ara yüzeyinde oluşur. İmplant malzemesine olan doku yanıtının dört türünden bahsedilebilir:

- * Malzeme toksikse, çevresindeki doku ölür.
- * Malzeme toksik değil ve biyoinertse, değişik kalınlıklarda fibroz doku oluşumu gerçekleşir.
- * Malzeme toksik değil ve biyoaktifse, doku implant arayüzeyinde bağlanma gerçekleşir.
- * Malzeme toksik değil, fakat çözünür yapıdaysa, çevresindeki doku, implantın yerini alır.

Biyoseramiklerin türüne bağlı olarak gözlenen doku cevabı farklı olur. Seramik implantların en ilgi çekici özelliklerinden biri, doku için toksik etki oluşturmamalarıdır.

Dokuların çok karşılaşılan bir tepkisi de, dokunun implant çevresinde fibröz doku oluşumudur. Bu ipliksi doku, organizma tarafından implanta karşı bir duvar örmek için yada implantı izole etmek için üretilir. Kısacası, bir çeşit korunma mekanizmasıdır ve implant, zamanla fibröz doku ile tamamen kaplanarak doku yüzeyinden uzaklaştırılır. Ara yüzeydeki uyumluluk ve hareketlilik de fibröz tabakanın kalınlığını büyük ölçüde etkiler.

Üçüncü bir etkileşim de, implantla doku arasındaki ara yüzeyde bağlanmanın gerçekleşmesidir. Bu yüzey, “biyoaktif yüzey” olarak adlandırılır. Bağlanma, implantla doku arasındaki hareketliliği engeller, ayrıca implantın vücut tarafından dışlanması da engellenmiş olur.

Dördüncü tür etkileşimdeyse, implant onarım işlemi tamamlandığında çözünür ve kendisini çevreleyen doku tarafından emilerek yok edilir. Bu nedenle

emilebilir cinste biyomalzeme kullanıldığında, bu malzemenin vücut sıvılarınca kimyasal açıdan parçalanabilir yapıda olmasına dikkat edilmelidir. Bozunma ürünleri de toksik olmamalı ve hücrelere zarar vermeden dokudan uzaklaştırılmalıdır.

Gözenekli implant durumunda, dokunun canlı ve sağlıklı kalabilmesi için gözenekler 100-150 mikrometre çapa sahip olmalılar. Bu tür büyük gözenek boyutu, implanttaki kılcal boşlukların içerisinde büyüyen dokulara kan sağlanabilmesi için gereklidir. İmplant ve doku arasındaki üremeye bağlı olarak artan ara yüzey alanı, implantın hareketine karşı artan bir direnç oluşturur. Ara yüzey, gözeneklerde büyüyen doku ile belirlendiğinden, bu tür etkileşim “biyolojik sabitleme” olarak adlandırılır. İmplant olarak gözenekli metal kullanıldığında, büyük ara yüzey alanı doku içerisinde metal iyon kaybına ve metal implantın korozyonuna neden olabilmekte ve bu da tıbbi açıdan sorunlara yol açmaktadır. Ancak, yüksek gözeneklilik her tür malzemenin dayanımını düşürür. Sonuç olarak, metal alaşımlar üzerine gözenekli seramik kaplamalar ve dokulardaki boşlukları doldurucu malzemelerin kullanılması, arayüzey kararlılığını sağlamak için en uygun yaklaşımdır. Arayüzey problemlerinin çözümünde diğer bir yaklaşımsa, biyoaktif malzemelerin kullanılmasıdır. Bu malzemeler, arayüzeyde kendine özgü bir biyolojik tepki oluştururlar ve sonuçta malzeme ve dokular arasında kemik oluşumu gerçekleşir. Bu yaklaşımla, bağlanma süresi, dayanımı ve mekanizması birbirinden farklı olan çok sayıda biyoaktif malzeme üretilmiş bulunmaktadır.(23)

Seramikler, bileşiminde farklı elementlerin yer aldığı metalik olmayan inorganik materyallerdir. İçeriğindeki materyaller su ve organik bir bağlayıcı ile bir araya getirilip karıştırılarak elde edilir. İstenilen şeklin verilmesi için kalıplar içerisine basınçla yerleştirilir, suyun kaybolması için kurutulur ve ısıtılarak bağlayıcı materyallerin uzaklaşması sağlanır. Yakma ya da katılaştırma işlemi ile oldukça yüksek ısılarda reziduel materyalin yoğun olarak elde edilmesi sağlanır. Seramiğin mikro yapısı; uygulanan termal işlem, ulaşılan maksimum sıcaklık ve termal aşamaların süresi ile belirlenir.

Biyoseramikler, “biyo inert” ve “biyoaktif” olmak üzere iki grupta incelenebilir. Biyoaktif seramikler; biyolojik olarak kemiğe bağlanabilme özelliği olan, biyoaktivitesi olan seramiklerdir. Bu gruptaki seramikler kemik grefti yerine ya da implant yüzeylerini kaplamada kullanılırlar. Biyoaktif seramiklerin tıpta

kullanılabilme sebebi; yüksek oranda oksidasyonlarına bağlı olarak mükemmel biyoyoumluluklarıdır. Metallerle göre avantajları; konak dokuları ile etkileşime girebilmeleri ve biyoaktiviteleridir. Seramik kompozitler; tek başlarına veya diğer materyallerle beraber kullanılabilirler. Osteojenik, osteokondüktif ve/veya osteoindüktif özellikler göstererek klinik olarak kullanılmaktadırlar.

Biyoaktif seramikler temelde osteokondüktiftirler yani yalnız kemik olan ortamda kemik formasyonuna yardımcı olurlar. Tek başlarına osteokondüktifler ancak taşıyıcı olarak (hücre büyüme faktörler vb için) kullanılırlarsa osteoindüktif özellikte kazanırlar. Kemik hücresi, büyüme faktörleri, ilaçlar-antibiyotik vb, antikanser ilaçlar için taşıyıcı olarak kullanılabilir. İnert seramiklerin ise biyoaktiviteleri yoktur. Vücutta sadece az miktarda fibröz bir reaksiyonla karşılaşılır. Aşınmaya karşı dirençleri nedeni ile total eklem replasmanlarında kullanılmaktadırlar.

Yapısal işlevlerine göre seramikler üç gruba ayrılabilir.

2.2.1. Oksit Seramikler:

Bunlar inert yapıda olan ve oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. İki önemli türü mevcuttur. Alümina (Al_2O_3) ve zirkonya (ZrO_2).

Alümina: Yüksek yoğunluk ve yüksek saflığa (>%99.5) sahip alümina, korozyon direnci, yüksek dayanıklılığı ve iyi biyoyoumluluk özelliğinden dolayı kalça protezlerinde ve diş implantlarında yaygın kullanıma sahiptir. Bu uygulamalarda kullanılan alüminanın çoğu, iyi tane yapısına sahip, polikristalin alfa- Al_2O_3 'ün 1600-1700°C'de preslenmesi ve sinterlenmesi sonucu elde edilir. Alümina, 20 yılı aşkın süredir ortopedik uygulamalarda kullanılmaktadır.

Zirkonya: Zirkonya da, alümina gibi bulunduğu fiziksel ortam üzerinde inert etki gösterir. Alüminanın seramiklere göre avantajı, çok daha yüksek çatlama ve bükülme direncine sahip olmasıdır. Zirkonya kalça protezlerinde başarıyla kullanılmaktadır. Ancak uygulamalarında üç önemli sorunla karşılaşmaktadır. Fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla gerilme direncinin azalması, kaplama özelliklerinin zayıf oluşu ve potansiyel radyoaktif malzemeler içermesidir. Zirkonya içerisinde yarılanma ömrü çok uzun olan (uranyum, toryum vb) radyoaktif elementler bulunur. Bu elementleri yapıdan ayırmak çok zor ve pahalı işlemler gerektirir. Zirkonya bazlı seramiklerde

0.5 ppm U235'e rastlanmıştır. Radyoaktivite alfa ve gama etkileşimi olarak ortaya çıkar. Alfa-radyasyonu daha fazladır ve alfa-parçacıkları, yüksek iyonlaştırma kapasitesine sahip olduklarından hücreleri tahrip edebilirler.

2.2.2. Kalsiyum Fosfat Seramikler:

Kalsiyum fosfat ailesi seramikler, kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, trikalsiyumfosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ve oktakalsiyumfosfat $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ bu yapılara örnek olarak verilebilir. Hidroksiapatit'in (HA) mekanik özellikleri trikalsiyumfosfat'dan (TCP) daha üstündür. Bükülme ve torsiyonel kuvvetler HA de kırık oluşturabilir. Kalsiyumfosfat bazlı biyoseramikler tıbbın çoğu uzmanlık alanında ve diş hekimliğinde 20 yıldan bu yana kullanılmaktadır. Bu malzemeler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde kemik tozu olarak kullanılmaktadır. Kalsiyumfosfat seramiklerin şekillendirme işlemini takiben sinterlenmesi genellikle $1000-1500^\circ\text{C}$ 'de gerçekleşmektedir. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri değişen hızlarda biyolojik olarak bozunmaktadırlar (24). Trikalsiyumfosfat(TCP) yaklaşık olarak yılda %35, HA ise yılda %1-3 oranında bozunur (25).

Kalsiyum fosfat seramikleri, gözenekli yapıda da hazırlanabilmektedir. Gözenekli seramik implantların en büyük avantajı; kemik, seramik malzemenin gözenekleri içerisinde büyüdüğünde, oluşan ara yüzeyin mekanik açıdan yüksek kararlılığa sahip olmasıdır. Gözenekli implantlar kemik oluşumu için yapı iskelesi olarak kullanılmaktadır (25).

Hidroksiapatit kemik dolgu malzemesi ve implant malzemelerine kaplanarak kullanılması oldukça yaygın uygulamalardır. Tibia plato ve radius distal uç kırıklarında metafizi desteklemek amacı ile kullanıldığı klinik çalışmalarda otogreft eşdeğer etkinliği gösterilmiştir. Ancak özellikle açık yaralanmalarda kemik dolgu malzemesi olarak ve tümü vücut içinde olmayan ve uzun süre vücutta kalan implant malzemelerinde kaplama malzemesi olarak kullanıldığı durumlarda enfeksiyon riski ortaya çıkmaktadır.

Dezavantajları; küçük tensil kuvvetler karşısında kırılındır. Gözenekler içine kemik ilerlemesi oluştuktan sonra mekanik özellikleri ancak güçlü hale gelir. Köpeklerde onaltı haftada gözeneklerin %50-60'nın dolduğu gösterilmiştir. Kortikal

kemik defektlerde kansellöz kemiğe göre dayanıksızdır. Bu nedenle internal tespit ile desteklenmiş defektlerde veya yüklenmenin olmadığı bölgelerde kullanılabilir.

Sonuç olarak; kalsiyum fosfat ve kalsiyum sülfat içeren seramik materyaller güvenli, efektif, biyolojik olarak uyumlu materyallerdir. Otojen kemik dokusuna adjuvan özellikleri ile pek çok klinik problemde kullanılabilirler. Zayıf ve kırılabilir materyal özellikleri en zayıf noktalarıdır. Mekanik ve biyolojik özelliklerinin güçlendirilmesi gelecek için en büyük hedeflerdir.(26)

2.2.3. Cam Seramikler, Biyoseramikler:

Silika (SiO₂) temelli seramiklerdir. Cam seramikler Lityum/Alüminyum ve ya Magnezyum/Alüminyum kristalleri içeren camlardır. Biyocamdaysa silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirmiştir(SiO₂, Na₂O, CaO, P₂O₅). Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşir. Biyoseramikler, iskeletteki sert bağ dokusunun tamiri ya da yenilenmesinde kullanılırlar.

Biyoaktif silika (SiO₂) içeren cam ve cam-seramikler için yapılan araştırmaların sonuçları, kristal halde olmayan (amorf) ya da kristal faz halinde bulunan SiO₂'nin çözünebilir olması nedeniyle kalsiyum ve fosfor bakımından zengin yüzey tabakanın oluşumunu artırdığını desteklemektedir (27). Cam-seramikler, içindeki silika ve yüzeylerinde oluşan Si-OH grupları sayesinde temas ettiği sıvı ile iyon değişimi yapmakta, hidroksiapatit oluşturarak canlı kemik dokusu ile bağlantı kurmaktadır (28). Çözünebilir silikanın önemi, birçok yazar tarafından belirtilmiş, silikadan zengin tabakanın apatit çekirdeklenmesi için önemli birer odak oldukları bildirilmiştir (29-31). Malzeme içindeki çeşitli oksitlerin çözünebilirliği fazla olduğunda, biyoaktiviteden sorumlu yüzey tabakanın oluşması kolaylaşmaktadır(27).

Genel olarak baktığımızda tek fazlı biyoaktif camlar örneğin biyocam insan kemiği uygulamalarında gerekli mekanik dayanıklılığı göstermezler. Doğal kemik yapısı bir kompozit olup, hidroksiapatit-hidroksikarbonapatit ana dokusundan oluşan ve organik kolojenler tarafından kuvvetlendirilen bir yapıdır. İliak kanatta greft alınan bölgeyi doldurmak amaçlı, kemik çimentosuna bağlı komplikasyonları azaltmak ve protez tutunmasını ve osteoporotik kemiklerde vida tutunmasını arttırmak için kullanılmakta olan ürünler mevcuttur.(26)

Biyoseramiklerin kullanımını sınırlayan nedenlerin en önemlileri, bazı klinik uygulamalardaki yavaş ilerleyen çatlaklar, yorulma ve değişik darbe ve basınçlara dayanımlarının tam olarak bilinmemesidir. Bu olumsuzlukları önlemek için kullanılan iki yeni yaklaşımdan birisi, biyoaktif kompozitler, diğeri ise biyoaktif seramiklerle yapılan kaplamalardır (31).

2.3.Gümüşün Antimikrobiyal Etkisi

Gümüşün mikroorganizmalar üzerindeki öldürücü etkisi çok eski çağlardan beri bilinmektedir. Eski Romalı ve Yunanlıların, sularının taze kalmasını sağlamak için gümüş kaplar kullanmaları, Avrupa'daki veba salgınında zengin ailelerin kendilerini salgından koruyacağını düşündükleri için gümüş tabaklardan yemek yemeleri, Amerika'daki ilk göçmenlerin, bakterilerin oluşumunu önlemek için su ve süt taşıdıkları kaplara gümüş paralar koymaları bilinen örneklerdir. Günümüzde ise gümüş tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gümüş yanık örtülerinde, burun ve göz damlalarında mikrop öldürücü olarak kullanılmaktadır. Yıllar boyu kullanılan antibiyotiklere direnç gösteren bakteri türlerinin ortaya çıkması ile gümüşün yeniden antibakteriyal olarak kullanılması ilgi odağı olmuştur.

Günümüzde mikroorganizmaları öldüren binlerce kimyasal madde vardır. Bunlardan çoğu, bitki ve hayvansal özler, arsenik, kurşun, kalay, civa, gümüş gibi doğal maddelerdir. Ancak bazı maddelerin insan ve çevreye karşı da toksik etkileri bulunmaktadır. Araştırmacılara göre gümüş iyonunun antibakteriyal özelliği metal halinden çok daha etkilidir. Dolayısıyla antibakteriyal etkisi bulunan bir malzeme hazırlayabilmek için, gümüşün iyon halinde bulunabileceği bir sistem hazırlamak gerekir (32).

Gümüş metalinin diğer metallere göre daha sık kullanılmasının nedenleri; bakterilere karşı en dirençli metal olması, çoğu malzemeye göre nispeten daha ucuz olması ve kolay üretim işlemidir (33).

Tıbbi klinik ürünlerde en çok kullanılan gümüş bileşimi gümüş nitrattır(AgNO₃). Çünkü AgNO₃ gümüş iyonlarını en çabuk serbest bırakabilen maddedir(33).

Gümüş iyonlarının antimikrobik etki mekanizması onların enzim ve proteinlerindeki tiyol (sulfidril, -SH) gruplarıyla yakın ilişkisine bağlıdır. Bununla birlikte muhtemelen başka hedef yerleri de vardır. *P. aeruginosa*'nın bölünmesini

inhibe eder; hücre zarı ve içeriğini bozar. Virüsit etki –SH gruplarına bağlanma sonucudur. Mantar gruplarına bağlanarak bunlar üzerine etkili olur. Gümüş, mikroorganizmalardan K^+ salınımına neden olur; stoplazma ve stoplazma membranındaki pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. Gümüş iyonları nükleik asitlerle de ilişkiye girer (34).

Gümüş katyonu(Ag) sülfür, oksijen veya nitrojen içeren elektron verici gruplara kuvvetle bağlanan oldukça aktif bir kimyasaldır. Biyolojik moleküller genellikle bu bileşenleri thio-, amino-, imidazol, karboksilat- ve fosfat grupları halinde içerirler. Gümüş iyonları Ca ve Zn gibi diğer temel metallere yer değiştirerek hareket ederler. Gümüş iyonlarının bakteri DNA sına bağlanması fosfat ve suksinat alımı(uptake) gibi bir dizi önemli taşıma (transport) işlemini inhibe eder. Hücre oksidasyon işlemleri ve solunum zinciriyle etkileşir. Gümüşün antibakteriyel etkisi doğrudan gümüş konsantrasyonlarıyla orantılıdır; tipik olarak çoklu hedeflerde hareket ederler. Yüksek gümüş iyon konsantrasyonu yüksek antimikrobiyal etkinlik demektir. Gümüş iyonu salınım oranı cihazların antimikrobiyal aktivitesiyle de ilişkili olabilir.(35)

Gümüşün stafilokok oranlarına olan minimum inhibitör konsantrasyonları(MIC) 0.5 – 10 mg/L dir. Oysa minimum bakterisidal eki (MBC) oranı 2 -20 mg/L arasında değişir. Genelde pseudomonas ve gonokoklar gümüş iyonlarına stafilokoklardan daha hassastır. Bunun nedeni gram- pozitif bakterilerde kalın olan murein duvarına(10 nm) karşılık gram- negatiflerdeki ince murein duvarıdır(2 - 3 nm) (36). Emilme işlemleriyle gümüş iyonunun mureine bağlanması bakteristatik etkileri tetikler. Yüksek gümüş konsantrasyonlarında bakterisidal etki gümüş – DNA – şelat kompleksleriyle sağlanır (36).

Gümüş iyonunun bakterilerin implantlara yapışmasını sağlayan biofilm oluşumunu azalttığı belirtilmektedir.(37) Gümüş enfeksiyona dirençli üriner kataterlerin geliştirilmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca gümüş kaplı vasküler kataterler, peritoneal kataterler, gümüş kaplı vasküler greftler, gümüş kaplı prostetik kalp kapağı, gümüş kaplı sütürler, gümüş kaplı kırık fiksasyon cihazları araştırma ve geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Gümüş kaplı teknolojilerin kullanımı ile ilgili bir başka konu da 10 mg/L yüksek gümüş iyon konsantrasyonlarının bazı insan hücreleri için toksik olduğunu

belirten raporlardır.(38) Gümüşün toksisite potansiyeline bakarsak kullanılabilir limit halen araştırma konusudur. Gümüşe maruz kalmış kişilerde en sık görülen durum argiriadır ve dokuların (örneğin deri) gri-mavi renk alması olarak bilinir. 19.yy da gümüş kuyumcuları, madenci ve fotoğrafçı gibi meslek gruplarında görülürdü.(5,39). Argiria gümüş içeren ilaç kullanımında da görülebilir. Literatürde sistemik argiroza yol açan total gümüş konsantrasyonu 4-6 gr dır.(5,39)

Pek çok vakada gümüş birikmesi belirgin bir şekilde artmış gümüş seviyelerine rağmen hastalık etkisi yaratmaz.(40) Bununla birlikte karaciğer, böbrek ve kalp yağlanması tanımlayan vaka raporları vardır. Gümüş sülfadiazin ile tedavi sonrası keratinosit ve fibroblastların çoğalmasının inhibisyonu da rapor edilmiştir(40.41).

Gümüş kaplı kalp kapağı uygulanan hastalarda dikiş kenarında ince bir tabaka pannus ve mikroabse oluşumuyla kronik bir inflamatuvar reaksiyon tanımlayan bazı raporlar vardır. Zayıf doku gelişimi dikişlerin çözülmesine yol açar. Dikiş kenarından salınan gümüş nedenli toksik reaksiyonun normal fibroblast yanıtının inhibisyonuna neden olduğu düşünülmektedir.(42). Çevre dokularda gümüş konsantrasyonları ölçülmediğinden bu faktörlerin tutarlılığı şu ana kadar kanıtlanmamıştır. Gümüş konsantrasyonu 1200 ppb seviyelerine ulaşmaya kadar kültür fibroblastlarında gümüş nedenli herhangi bir toksisite kanıtı bulunmamıştır.(39) Bu nedenle ince bir pannus oluşumunun bir sitotoksikite oluşturmayacağı ama gümüş kaplı tıbbi cihaza çok yakın ortamlarda elementer gümüş nedenli kronik bir enflamasyon reaksiyonunun muhtemel olabileceği düşünülmektedir. Zayıf doku gelişimi ise ortopedik implantlarda kalp kapağı implantlarındaki kadar dramatik bir durum değildir. Yine de elementer gümüş nedenli osteoblast inhibisyonu göz ardı edilmemelidir. Tam tersine bazı araştırmacılar gümüşün sitotoksik etkisi olmadığını ve iyi uyum sağladığını rapor etmişlerdir(43,44). Bu çelişkili sonuçlar kullanılan konsantrasyon miktarlarına ve bunların değişik hücre tiplerindeki reaksiyonlarına bağlı olabilir. Gümüş toksisitesinin doza bağlı olduğu iyi bilinmektedir. Elementer gümüş organizmada yavaş yavaş iyonize olmaktadır (45). Oligodinamik etkisi nedeniyle gümüş salınımı düşüktür ve bu nedenle de sitotoksitesi düşüktür.

2.4. Metal İyon Katkılı Antimikrobiyal Toz

Bilindiği üzere Ag, Cu, Zn gibi bazı metal iyonları bakterilerin metabolizmalarına girmekte ve enzimlerini etkisiz hale getirmektedirler. Diğer bazı sistemler ise hidrojen peroksit oluşturarak bakterilerin ölmesine sebep olmaktadır. Ancak bu mekanizmalarda açıklanması gereken bazı noktalar bulunmaktadır (46).

Antibakteriyel seramiklerde bir taşıyıcı bünyenin bulunması ve metal iyonlarının yapıya kolay katılması gereklidir. Antibakteriyel seramikler, taşıyıcı bünye baz alınarak; amorf silika, zeolit ve kalsiyum fosfat bünyeli olarak sınıflandırılabilirler. Bu malzemelerin ortak özelliği geniş kristal yapısına sahip olmalarıdır. Böylece metal iyonları sisteme girebilmekte ve bakteriler üzerinde etkin olabilmektedirler (47).

Bu tür seramikler doğrudan insanla temas halinde olabileceklerinden biyolojik uyumluluk göstermelidirler. Daha önce yapılan çalışmalar hidroksiapatitin biyoyumluluğunun yüksek olduğunu belirlemiştir. Ameliyatla yapılan birçok implantasyonda insan vücudunun çeşitli yerlerinde hidroksiapatit kullanılmaktadır. Ayrıca, hidroksiapatitin Ag, Cu, Zn vb. metal iyonları ile katyon değişim hızı çok yüksektir (46).

Kimyasal arınma yöntemlerinden çoğunun insan sağlığını tehdit edecek yönde zararları olduğu düşünülerek hazırlanan metal iyon katkı antimikrobiyal toz üretiminde kullanılan metal iyonu gümüş, taşıyıcı bünye ise bu tür malzemelerin insanla temas halinde olabileceklerinden dolayı kalsiyum fosfattır (31).

Metal iyon katkı kalsiyum fosfat esaslı antimikrobiyal seramik tozun hazırlanmasında yaş kimyasal yöntem ve nanoteknoloji kullanılmaktadır. Toz yaş kimyasal yöntem kullanılarak sentezlenmekte, filtrasyon ve kurutma işlemlerini takiben toz uygulama alanına göre 200 µm'den 70 µm aralığında istenilen tane boyutuna öğütülmektedir. Üretilen toz uygulama alanlarına bağlı olarak farklı boyut ve miktarda kullanılmaktadır (31).

Metal iyon katkı antimikrobiyal toz oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptir. Özellikle hastane infeksiyonlarını önlemek için antimikrobiyal tozun; seramik karo ve sağlık gereci, su ve plastik bazlı boyaların içerisine belirli yüzdelerde katılması, çok az miktarlarda dahi antimikrobiyal etki gösterecek niteliktedir (31).

Metal iyon katkılı antimikrobiyal tozun diğer uygulama alanları arasında; hastaya yönelik olarak antimikrobiyal sargı bezi ve antimikrobiyal ayakkabı keçesi bulunmaktadır. Yanık ve yara bakım tedavilerinde, sargı ve pansuman amaçlı kullanılan sargı bezlerinin yüksek oranda enfeksiyon riskine sahip olduğu bilinmektedir. Özellikle açık yaraların pansumanında kullanılacak sargı bezlerinin, %1-3 oranında antimikrobiyal toz emdirilerek hazırlanması, bunlara enfeksiyon riskini ortadan kaldıracak özellik kazandıracaktır (31).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

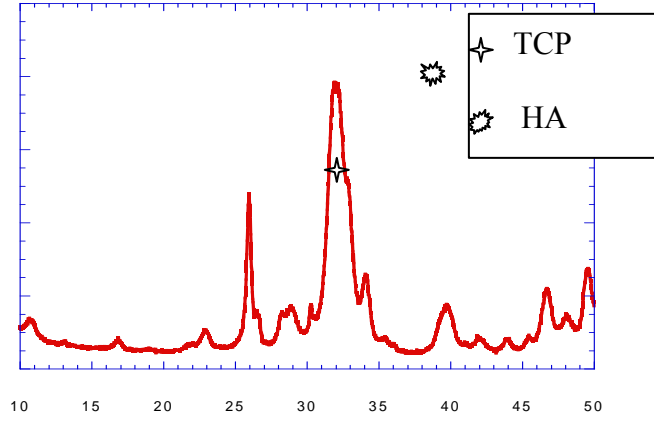
Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı tarafından, Mikrobiyoloji, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarının ve Anadolu Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü'nün katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma öncesinde 26.03.2008 tarihli 49 kayıt numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu kararı alınmıştır.

Çalışmada, Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TİCAM) hayvan evinde bulunan, ağırlıkları 3-3.5 kg arasında değişen 24 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar TİCAM hayvan evinde standart yem ve su ile beslendi.

Çalışmada kullanılmak üzere 316L paslanmaz çelikten 30 mm uzunluğunda 2 mm kalınlığında ve uçları 10 mm yivli 96 adet tel hazırlandı.

Anadolu Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümünün laboratuvarlarında 316L paslanmaz çelik implantlara antimikrobiyal etki kazandırmak amacı ile metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı antibakteriyel seramik toz (ABT) ile kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. ABT un sentezi için yaş kimyasal yöntem kullanılmıştır. Metal iyonu olarak Ag^+ , taşıyıcı bünye olarak kalsiyum fosfat kullanılmıştır. Stokiyometrik hidroksiapatit yapısına yakın bir yapı oluşturabilmek için pH sürekli olarak kontrol edilmiştir. Reaksiyon esnasında oluşan çökelti filtreden geçirilip 80 °C 'de kurutulmuştur. Toz üretimi son pH 5.5 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. ABT ile kaplanacak implantlarda ara katman olarak kullanılan 6P57 biyocaminin üretimi standart işlemlerle gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu implantların kaplanması için kullanılmak üzere Ca/P oranı 1.67 olacak şekilde hidroksiapatit (HA) sentezlenmiştir.

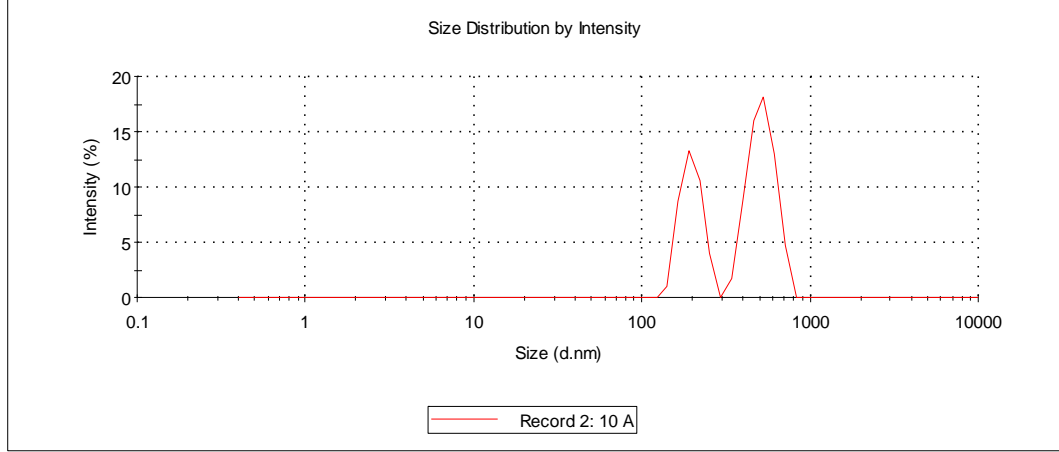
Önceki yapılan çalışmalarda sözkonusu antibakteriyel seramik tozun karakterizasyonu yapılmıştır. (33) X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku-Rint 2200) kullanılarak üretilen tozların faz analizi gerçekleştirilmiştir. XRD analizleri 10-80° açıları arasında 2 °/dk hız ve 10-50° açıları arasında 0,1 °/dk hız ile yapılmıştır.



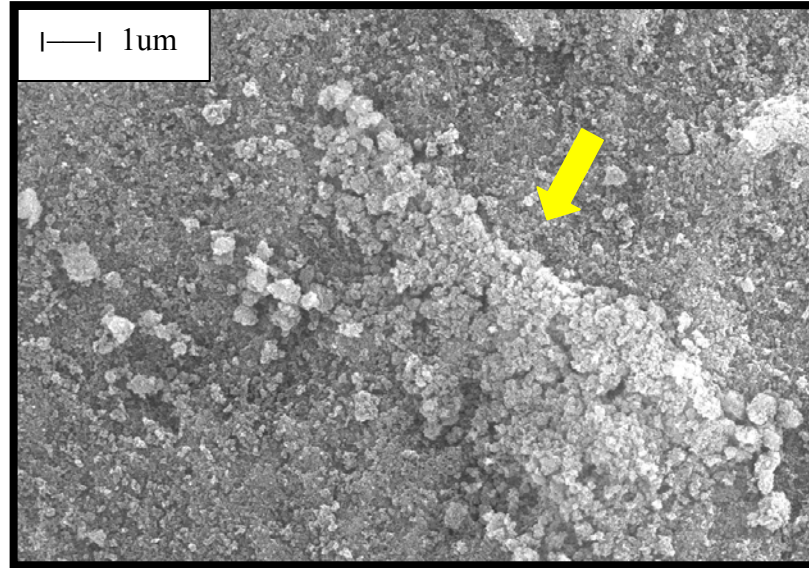
Şekil 3.1. XRD analizi sonuçları(HA:hidroksiapatit,TCP:trikalsiumfosfat)

A serisi için 10-80° açıları arasında 2 °/dk hızla çekilen XRD analizi sonucunda elde edilen grafiklerdeki piklerin JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapının trikalsiyum fosfat (TCP) ve hidroksiapatit (HA) karışımından oluşan kalsiyum fosfat yapısında olduğu belirlenmiştir. Piklerin ayırt edilebilmesi için 10-50° açıları arası 0,1 °/dk hızla tekrar analiz yapılmıştır (Şekil 3.1).

Üretilen tozların morfolojisini görüntülemek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Zeiss Supra V50) ve ağırlıkça metal katyonu miktarlarını ve metal katyon salınımlarını belirlemek üzere Enerji Saçınımlı X-Işınları Spektrofotometresi (EDX, Oxford Instruments) kullanılmıştır. EDX ile elde edilen değerler toz üretiminde hesaplanan değerlerle karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.2. ABT'a ait tane boyut dağılım grafiği



Şekil 3.3. ABT tozunun SEM görüntüsü (ok)

ABT'un tane boyut dağılımı lazer difraksiyon methodu (Malvern NanoZS 2000) ile ölçülmüştür (Şekil3.2). Sentezlenen antimikrobiyal toz kimyasal destekli öğütme işleminden sonra tane boyu analizi ve SEM analizleri yapılmıştır. Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun taramalı elektron mikroskobunda ikincil elektron görüntü alma tekniği ile alınan görüntülerde tozların nanometre boyutunda olduğu ve tozlarda aglomerasyon eğilimi olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 3.3). SEM analizleri

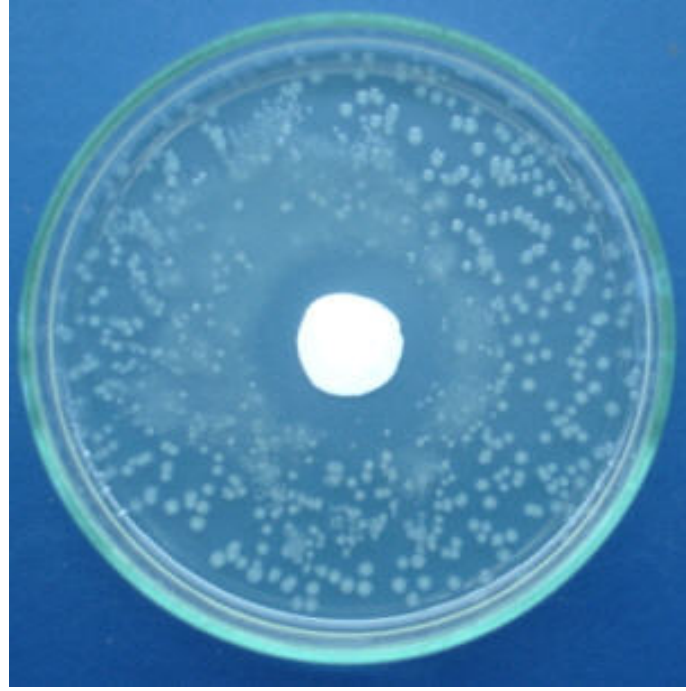
tane boyut analizleri ile desteklenmiştir. Tane boyut analizleri sonucunda tozların tane boyutu 200 nm dir.

ABT için, toz formunda yapılan mikrobiyolojik analizlerde Halo Test Methodu ve Agar Dilüsyon Test Methodu kullanılmıştır. Halo Test Methodunda *E.coli* (ATCC 25922) kullanılmış ve 24. saat için etkinlik değerlendirilmiştir. Agar Dilüsyon methodu 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 araştırılmıştır.

Ag^+ iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz sentezi sonrasında toz formunda yapılan mikrobiyolojik analizlerinde antimikrobiyal etki saptanmıştır. ABT için Halo Test Methodu sonucu Şekil 3.4 ile verilmektedir. Halo testi sonuçlarında antimikrobiyal tozun etrafında oluşan hare, bakteri büyümeyen alan, ve genel bakteri yoğunluğu görsel açıdan antimikrobiyal etkiyi göstermektedir. Tozun etrafında oluşan hare difüze olup dışarı saçılan antimikrobiyal ajanlarının yayılım mesafesini ve miktarını göstermektedir. Agar Dilüsyon Methodu ile standart bakteri (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 43300) ve mayalar (*Candida Albicans* ATCC 10231) 24. ve 48. saatlerdeki dağılımları kontrol grubu için Tablo 3.2 ile ve ABT için Tablo 3.3 ile verilmektedir.

Tablo 3. 1. ABT toz için Halo testi sonuçları

Numune	0 saat (cfu)	24 saat (cfu)
ABT	2×10^3	0



Şekil 3.4. ABT toz için Halo test sonucu

Tablo 3.2. Kontrol grubu tozun agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48. saatde antibakteriyel etkinliğinin dağılımı

(+ : bakteri üremesi gözlemlenmiştir. - : bakteri üremesi gözlemlenmemiştir)

	% 2,5	% 1,25	% 0,625	%0,3125
<i>P. aeruginosa – 24. saat</i>	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa – 48. saat</i>	+	+	+	+
<i>E. coli - 24. saat</i>	+	+	+	+
<i>E. coli - 48. saat</i>	+	+	+	+
<i>S.aureus -24. saat</i>	+	+	+	+
<i>S.aureus -48. saat</i>	+	+	+	+
<i>Candida – 24. saat</i>	+	+	+	+
<i>Candida – 48. saat</i>	+	+	+	+

Tablo 3.3. ABT'un agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48. saatde antibakteriyel etkinliğinin dağılımı

(+ : bakteri üremesi gözlemlenmiştir. - : bakteri üremesi gözlemlenmemiştir)

	% 2,5	% 1,25	% 0,625	%0,3125
<i>P. aeruginosa</i> – 24. saat	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> – 48. saat	-	-	-	-
<i>E. coli</i> - 24. saat	-	-	-	-
<i>E. coli</i> – 48. saat	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -24. saat	-	-	-	-
<i>S.aureus</i> -48. saat	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 24. saat	-	-	-	-
<i>Candida</i> – 48. saat	-	-	-	-

Tavşan deneyinde kullanılmak üzere; kontrol grubu olarak kaplanmamış 32 adet 316 L paslanmaz çelik implant ve HA kaplanmış 32 adet 316 L paslanmaz çelik implant, ABT kaplanmış 32 adet 316 L paslanmaz çelik implant hazırlanmıştır.(şekil3.5) Kaplama için elektrosprey kaplama yöntemi kullanılmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar elektrosprey ünitesine beslenerek 0.05 ml/dak akış hızında nozula 8 kV voltaj uygulanarak 5 dak. süre ile kaplanmıştır. Kaplanmış numuneler yüksek vakum altında RF(Radyo frekansı) ile sinterlenmiştir.



A

B

Şekil 3.5. (A) HA kaplanmış paslanmaz çelik tel, (B) ABT kaplanmış paslanmaz çelik tel

Deneyisel infeksiyon oluşturmak için staphylococcus epidermidis klinik izolatu kullanıldı. Bu izolatin %15 gliserol içeren triptik soya buyyonda $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan stok kültüründen %5 koyun kanlı agara ve Kongo kırmızılı agar plaklarına pasaj yapıldı. Plaklar, $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de bir gece inkübe edildi. İnkübasyon sonrası Kongo kırmızılı agarda slime faktörü ürettiği saptanan S. epidermidis suşunun kanlı agardaki kolonilerinden steril triptik soya buyyon içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklığı hazırlandı (10^8 CFU/ml). Hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan steril cam tüplere birer ml dağıtıldıktan sonra herbir tüpe bir adet implant steril şartlarda yerleştirildi. Tüpler, üzerleri parafilm ile kapatıldıktan sonra çalkalamalı etüvde $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 80 rpm'de 3 saat süreyle inkübe edilerek bakterilerin implantlara tutunması sağlandı. İnkübasyon sonrası steril şartlarda tüplerden çıkartılan implantlar steril serum fizyolojikle 3 kez yıkanarak implantlara tutunmamış bakterilerin uzaklaşması sağlandı. Daha sonra implantlar hayvanlara uygulanmak üzere ayrı ayrı vida kapaklı steril polistren tüplere kondu.(50)

Diğer taraftan bakterilerin implantlara tutunduğunun gösterilmesi amacıyla kaplamasız, gümüşle kaplı ve gümüş-hidroksiapaptitle kaplı implantlardan birer tanesi yıkama sonrası bir ml SF içeren tüplere kondu ve tüpler 30 saniye

vortekslendi. Daha sonra her bir sıvıdan 50 µl alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edildi. 35 °C’de bir gece inkübasyon sonrası üremenin varlığı araştırıldı.

Tavşanlar aşağıda görüldüğü gibi gruplara ayrıldı.

Grup1: Kaplanmamış implant uygulanan tavşanlar

Grup2: Hidroksiapatit kaplanmış implant uygulana tavşanlar

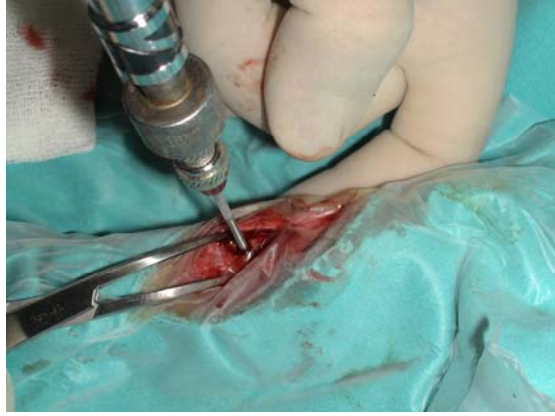
Grup3: Gümüş + Hidroksiapatit kaplanmış implant uygulanan tavşanlar

Her grupta sekizer olmak üzere toplam 32 tavşan çalışmaya alındı. Çalışma süresince Grup2 tavşanlardan 2 tavşan öldü. Ölenlerin yerine yeni tavşanlar çalışmaya alındı

Intramusküler ksilazin hidroklorid(Ronpun® 0.2 mg/kg) ve subkutan ketamin hidroklorür(Ketalar® 10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra tavşanların her iki tibia üzeri traşlandı ve yıkandı. Betadin ile boyandıktan sonra delikli kompres ile örtülerek drape yapıştırıldı. Patellanın 1 cm distalinden anteromedialden yaklaşık 1.5 cm lik insizyonla girildi, cilt ciltaltı geçildikten sonra kas yapılar klemp yardımı ile ayrılarak kemik dokuya ulaşıldı. Bir milimetre kalınlığında kılavuz tel yardımı ile her iki korteks delindi(şekil 3.6.). Yumuşak dokular ekarte edildikten sonra koagulaz negatif stafilokok aureus(KNS) inoküle edilmiş çiviler el ile kılavuz tel yardımı ile açılan deliklerden gönderildi.(şekil 3.7.) Tellerin sıkma tork değerleri torkmetre(Torqueleader Quickset Minor 5-120 cNm) (şekil.3.8) ile ölçülerek kayıt altına alındı. İlk açılan deliklerden 1 cm distale kılavuz tel ile 2. delik açılarak 2. KNS inokule edilmiş tel gönderildi ve sıkma torku ölçüldü. Cilt 3/0 ipek ile kapatıldı. Çiviler tel kesici yardımı ile tavşanın yumuşak dokularına zarar vermeyecek uzunlukta kesildi.(şekil 3.9.) Tel dibi pansumanı yapıldı, teller kesik spançlar yardımı ile kapatıldı. Aynı işlemler sırası ile tavşanın karşı tibiasında uygulandı. Bu şekilde bir tavşana aynı gruptan 4 adet tel gönderildi.



Şekil 3.6. Kılavuz tel ile giriş deliğinin açılması



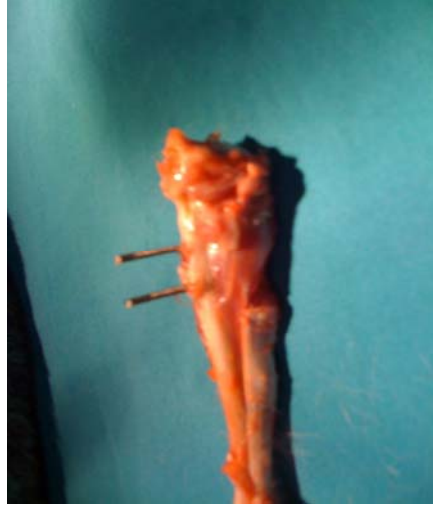
Şekil 3.7. Çivinin tork metre yardımı ile yerleştirilmesi



Şekil 3.8. Torqueleader Quickset Minor 5-120 cNm



Şekil 3.9. Çivilerin yerleştirilip uygun boyda kısaltılması sonrası



Şekil 3.10. Çivilerin yumuşak dokudan temizlenmiş hali

Postoperatif dönemde tavşanlar günlük olarak izlendi. Tavşanlara gün aşırı çivi dibi pansumanları yapıldı. Altıncı haftada intrakardiyak 3 cc tiopental sodyum verilerek tavşanlar öldürüldü. Bacaklar kalçadan dezartiküle edildi. Steril şartlarda tibia üzerindeki yumuşak dokular temizlendi.(Şekil 3.10) Çivilerin ortaya koyulması sonrası torkmetre ile gevşeme torkları ölçüldü. Çiviler çıkartıldıktan sonra steril cam tüplere yerleştirildi. Giriş delikleri üzerinden steril kıl testere ile kemik kesisi yapıldı. Korteks ve medulladan sürüntü kültürleri alındı. İmplantlar cam tüpler ile sürüntü örnekleri ise eküvyonlu transport sistemi (Copan/İtalya) ile bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Işık mikroskopunda histolojik çalışma

yapmak için her gruptan 7 adet, çivi giriş deliklerini içine alan kemik bloğu çıkartılarak %10'luk formalin fiksativi içerisine koyuldu. Her gruptan bir adet, tel giriş bölgesini içeren kemik dokusu elektron mikroskopisi görüntüsü için alındı ve örnekler hızla histoloji laboratuvarına ulaştırıldı

Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örneklerden sürüntü örnekleri, %5 koyun kanlı agar ekildi. İmplantlar birer ml steril SF içerisinde üç dakika süreyle vorteksenerek tutunmuş bakterilerin serbestlemesi 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. Herbir dilüsyondan (10^0 'dan 10^{-5} 'e kadar) 50 µl alınıp %5 koyun kanlı agar inoküle edildi. İnoküle edilen tüm %5 koyun kanlı agar plakları aerop ortamda 35 °C'de 48 saate kadar inkübe edildi. *S. epidermidis*'in tanımlanmasında Gram boyama, koloni özellikleri(hemoliz, pigmentasyon vb) ve hızlı biyokimyasal testler (katalaz, koagulaz) gibi geleneksel yöntemlerden ve otomatize identifikasyon sisteminden (Phoenix, BD, Amerika) yararlanıldı. İmplant örneklerinin kantitatif kültürleri yapıldığından implantlardaki bakteri sayıları belirlendi. Buna göre sayılabilecek kadar üremenin olduğu kültür plakları alınarak koloniler tek tek sayıldı. İmplantın konduğu sıvı miktarı (1 ml) ve dilüsyon kat sayısı dikkate alınarak orijinal (dilüsyon yapılmamış) sıvıdaki bakteri sayısı belirlendi. Daha sonra her bir implantın milimetre karesi başına düşen koloni (colony forming units/mm² = CFU/mm²) sayısı, silindir yüzey alanı formülü kullanılarak hesaplandı. .

Işık mikroskopisi için histoloji laboratuvarına getirilen örnekler 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 Hematoksilin-Eozin boyası ve masson trikrom boyası ile boyandı ve ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preperatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi. Görüntülerde inflamasyon olup olmadığına bakıldı. İnfeksiyon olan bölgelerde kantitatif değerlendirme yapıldı. Havers kanallarının ve osteonların yapıları değerlendirildi. Çalışmada kemik çivi arayüzün elektron mikroskopisi görüntülerinin elde edilmesi için çalışmalar yapıldı. Teknik yetersizlikler nedeni ile bu görüntüler oluşturulamadı.

Çivilerin sıkma ve sökme değerleri, mm² bakteri sayısının istatistiksel analizinde Kruskal Wallis Testi, kültür sonuçlarının tüm grupları içeren istatistiksel değerlendirmesinde Ki-kare Testi, grupların birbirleri ile olan değerlendirilmelerinde Two Proportion Testi uygulanmıştır. Histopatolojik sonuçlarda değişken sayısının az olması nedeni ile istatistiksel analiz yapılmamıştır.

4. BULGULAR

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular

Gruplara göre her tavşan için mikrobiyolojik sonuçlar aşağıdaki tablolarda özetlenmiştir (Tablo 4.1). Genel olarak bakıldığında grup 3' te tüm kültürlerde üremenin ve mm² deki koloni sayısının diğer iki gruba oranla daha az olduğu görülmektedir.

Tablo 4.1 . Mikrobiyolojik Bulgular

Tel no	Grup 1			Grup 2			Grup 3		
	Sürüntü kültürü	İmplant kültürü	Koloni (cfu)	Sürüntü kültürü	İmplant kültürü	Koloni (cfu)	Sürüntü kültürü	İmplant Kültürü	Koloni (cfu)
1	+	+	41600	Histoloji	-		Histoloji	-	
2	+	+	1050	-	+	12,6	-	-	
3	+	+	220	-	+	10,6	-	-	
4	+	+	632	Histoloji	+	1,9	-	-	
5	histoloji	+	366	+	+	44,4		-	
6	+	+	396	-	-		Histoloji	-	
7	histoloji	+	120	-	-		+	-	
8	-	-		+	+	1060	-	-	
9	Histoloji	+	434	Histoloji	+	940	Histoloji	-	
10	+	+	260	-	+	300	-	-	
11	Histoloji	+	244	+	+	5200	-	-	
12	+	+	380	+	-		-	-	
13	-	-		Histoloji	+	2800	-	-	
14	-	-		-	-		Histoloji	-	
15	+	+	84	+	+	25000	-	-	
16	+	+	52	+	+	2600	+	-	
17	Histoloji	+	1940	Histoloji	-		EMS	-	
18	+	+	840	+	+	1220	-	-	
19	-	-		+	+	734	-	-	
20	+	+	350	+	+	1220	-	-	
21	Histoloji	+	292	+	+	404	Histoloji		
22	+	+	286	+	+	172	-	-	
23	+	+	1220	-	-		-	-	
24	+	+	960	-	-		-	-	
25	Histoloji	+	318	Histoloji	-		-	-	
26	+	+	244	+	+	36600	Histoloji	-	
27	+	+	499	+	+	3180	-	-	
28	EMS			+	-		-	-	
29	+	+	2040	EMS			Histoloji	-	
30	+	+	194	Histoloji	-		-	-	
31	+	+	2380	-	-		-	+	208
32	+	+	1360	-	-		-	+	12

Ortalama: 1836

SD:7282

Ortalama: 2629

SD:7762

Ortalama: 110

SD: 138

Histoloji: Histolojik çalışma için ayrılan örnekler

EMS: Elektron mikroskopisi için ayrılan örnekler

(+): Üreme var

(-):Üreme yok

4.1.1. Kemik Sürüntü Kültürü

Alınan kemik sürüntü örneklerinde 1. grupta 24 telin 20'sinde üreme olurken 2. grupta 24 telin 14'ünde üreme oldu. Grup 3'te ise 24 telin sadece 2'sinde üreme oldu. Grup 3'te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($P<0,001$) (Tablo 4.2). Grupların ikili karşılaştırmalarında; Grup 1 ve Grup 2 arasındaki karşılaştırmada da Grup 2'de enfeksiyonun Grup 1'e oranla az olduğu saptandı. ($p<0,001$)

Tablo 4.2 . Kemik sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi

Enfeksiyon	Grup			Toplam
	Grup1	Grup 2	Grup 3	
Yok	4	10	22	36
Var	20 (%83)	14 (%58)	2 (%8)	36
Toplam	24	24	24	72

4.1.2. İmplant Kültürü

Yapılan implant dilüsyonel kültür örneklerinde, 1. grupta 31 telin 27'inde üreme olurken 2. grupta 31 telin 13'ünde üreme oldu. Grup 3' te ise 31 telin sadece 2'sinde üreme oldu. Grup 3'te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede azdı ($p<0,001$)(Tablo 4.3). Grup 1 ve grup 2 arasındaki karşılaştırmada Grup 2 deki enfeksiyon anlamlı derecede azdı. ($p<0,001$).

Tablo 4.3 . İmplant dilüsyonel kültürlerin mikrobiyolojik incelenmesi

Enfeksiyon	Grup			Toplam
	Kaplamasız Grup1	HA Grup 2	Ag+HA Grup 3	
Yok	4	13	29	46
Var	27(%87)	18(%58)	2(%6,5)	47
Toplam	31	31	31	93

4.1.3.Koloni Miktarı

İmplantların üzerinde mm^2 de bulunan koloni sayıları (Tablo 4.1) değerlendirildiğinde Grup 1 ve 2 arasında fark bulunamadı.($p>0.05$) Grup 3 teki bakteri sayısı Grup 1 ve Grup 2 deki bakteri sayısına göre önemli derecede azdı.($p<0,05$)

4.2.Tork Ölçümü

Tellerin sıkma ve sökme tork değerleri aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.(Tablo 4.4) Tork değerleri karşılaştırıldığında Grup 1'in sıkma değerleri diğer iki Gruba göre yüksekti.($P<0,05$) Grupların sıkma ve sökme tork değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldığında Grup 2 deki tork farkı Grup1 ve 3'e göre yüksekti.($P<0,05$). Ayrıca Grup 3'ün tork farkı Grup 1'e göre yüksekti.($P<0,05$)

Tablo 4.4 . Tellerin sıkma ve sökme tork değerleri

Tel No	Kaplamasız Teller			HA Kaplı Teller			HA+Ag Kaplı Teller		
	Sıkma	Sökme	Fark	Sıkma	Sökme	Fark	Sıkma	Sökme	Fark
1	8	5	-3	9	19	10	9	7	-2
2	12	8	-4	8	20	12	8	8	0
3	14	11	-3	9	16	7	8	8	0
4	10	10	0	9	14	5	9	11	2
5	13	8	-5	9	10	1	8	11	3
6	11	9	-2	8	12	4	7	11	4
7	11	8	-3	9	14	5	8	27	19
8	11	17	6	9	14	5	8	13	5
9	10	8	-2	9	16	7	8	13	5
10	10	9	-1	12	18	6	8	11	3
11	11	8	-3	9	16	7	8	10	2
12	10	9	-1	10	18	8	7	10	3
13	11	17	6	10	14	4	8	9	1
14	11	18	7	9	14	5	9	14	5
15	13	10	-3	8	24	16	8	10	2
16	10	8	-2	8	36	28	8	16	8
17	9	11	2	9	12	3	8	9	1
18	10	10	0	8	11	3	7	19	12
19	11	16	5	9	7	-2	8	10	2
20	10	10	0	9	7	-2	8	12	4
21	11	9	-2	8	12	4	8	8	0
22	10	8	-2	7	12	5	8	10	2
23	12	9	-3	9	10	1	8	9	1
24	10	9	-1	7	10	3	8	8	0
25	10	9	-1	9	18	9	8	8	0
26	10	9	-1	8	20	12	8	10	2
27	9	7	-2	8	12	4	9	8	-1
28	9	8	-1	15	20	5	8	8	0
29	10	8	-2	9	20	11	8	9	1
30	9	8	-1	10	26	16	8	9	1
31	9	9	0	8	16	8	8	9	1
32	8	8	0	9	32	23	9	9	0

Ortalama : 0.6
SD: 2,92

Ortalama:7.28
SD: 6,42

Ortalama: 2.69
SD: 4,04

4.3. Histopatolojik Bulgular

Histolojik çalışmada kantitatif olarak yapılan değerlendirmede görülen inflamasyon bulguları; inflamasyon yok, az, orta, yoğun olarak sınıflandırılmıştır. İstatiksel anlamlı sonuç verecek sayıda değerin olmaması nedeni ile karşılaştırma yapılamamıştır. Gruplara genel olarak bakıldığında kaplamasız grupta inflamasyon bulgularının çoğunlukla yoğun olduğu diğer iki grupta ise genellikle az yoğunlukla inflamasyon bulguları gözlenmektedir.(Tablo 4.5) Grup1 de implant çevresinde yoğun inflamasyon bulguları ile birlikte havers kanallarında da inflamasyon hücreleri görülmüştür.(şekil 4.1,4.2,4.3)Grup2-3 te implant çevresinde genelde az yoğunlukta inflamasyon bulgusu görülürken havers kanalları ve kemik hücreleri normal olarak izlenmiştir. (şekil 4.4,4.5,4.6,4.7)

Tablo 4.5 . Histolojik örneklerde görülen inflamasyon yoğunluğu

Tel no	Kaplamasız	HA Kaplı	HA+Ag Kaplı
1	+++	-	-
2	+	+	+
3	++	+	+
4	+++	-	-
5	++	-	+
6	+++	+	+
7	+++	-	+

(-) =inflamasyon yok

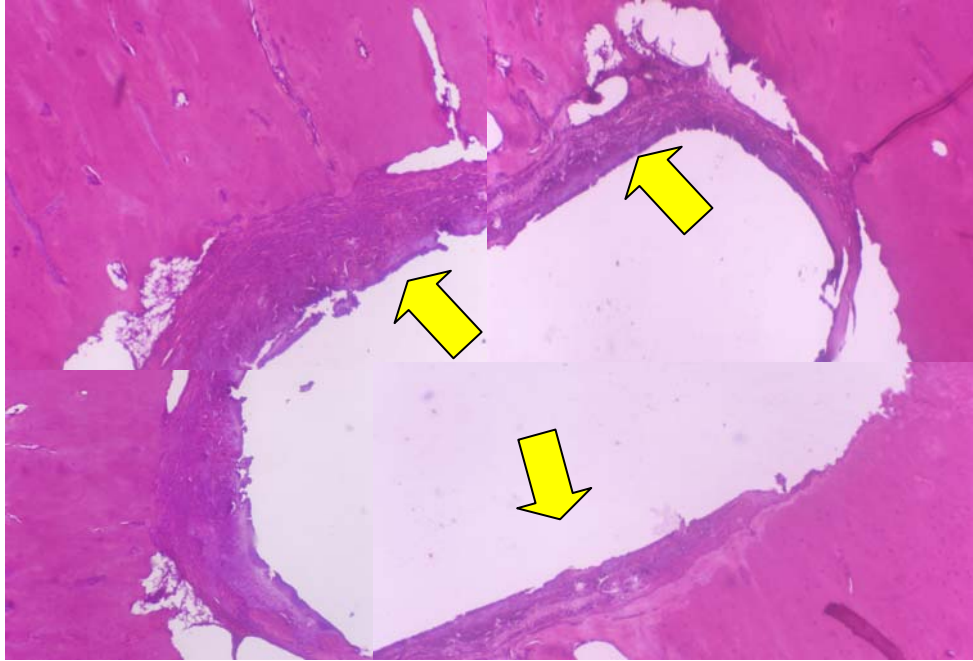
(+) =az yoğunlukta inflamasyon

(++) =orta yoğunlukta inflamasyon

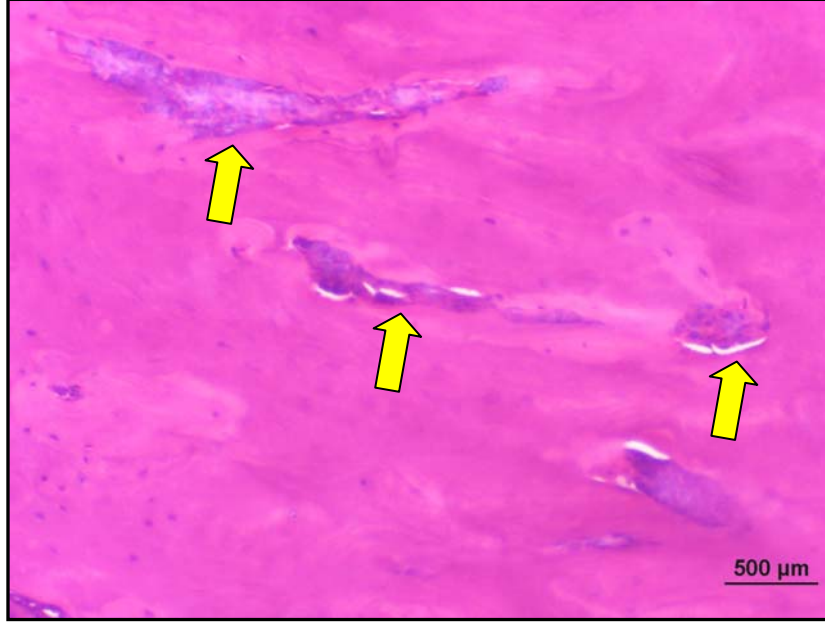
(+++)=yoğun inflamasyon



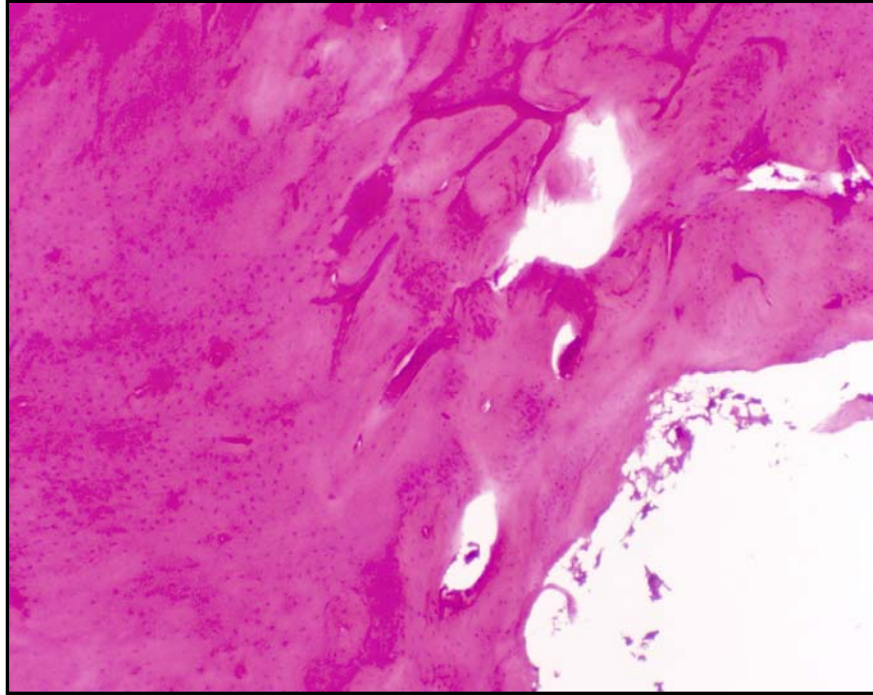
Şekil4.1. Grup 1(Kaplamasız) implantın bulunduğu bölgelerdeki hücresel inflamasyon alanları gözlenmekte (ok)(HEx4)



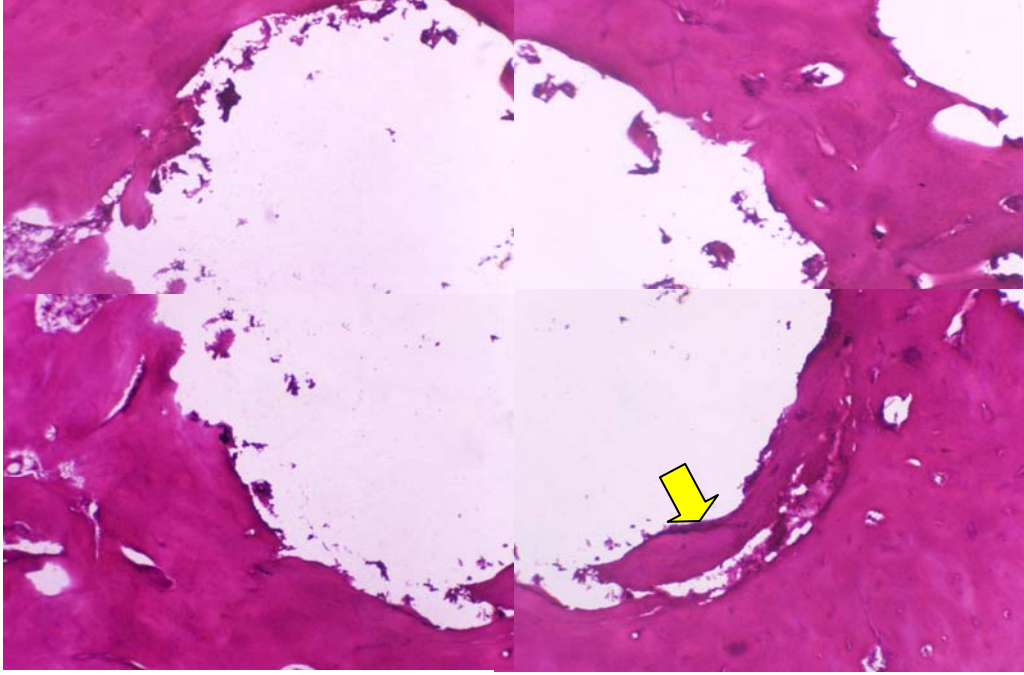
Şekil 4.2 . Grup 1(kaplamasız): İmplantın bulunduğu bölgelerden 4 lük objektifle alınan büyültmeler birleştirilerek tek bir görüntü üzerinde implantın bulunduğu yerdeki inflamasyon gösterildi (oklar)(HEx4)



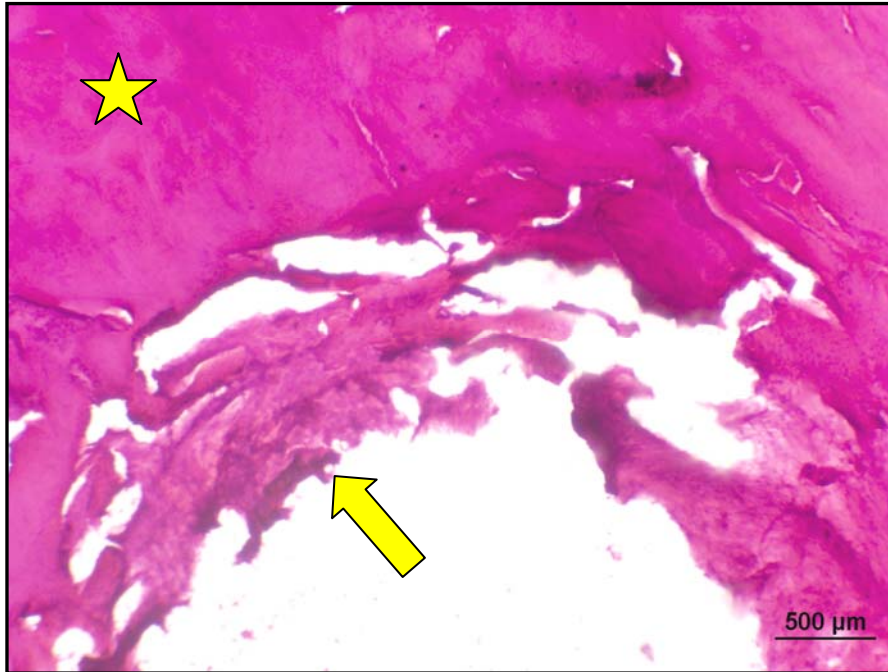
Şekil 4.3. Grup 1 (kaplamasız) :Havers kanallarının içinin enflamatik hücrelerle dolu olduğu görülmekte (ok) (HEx4)



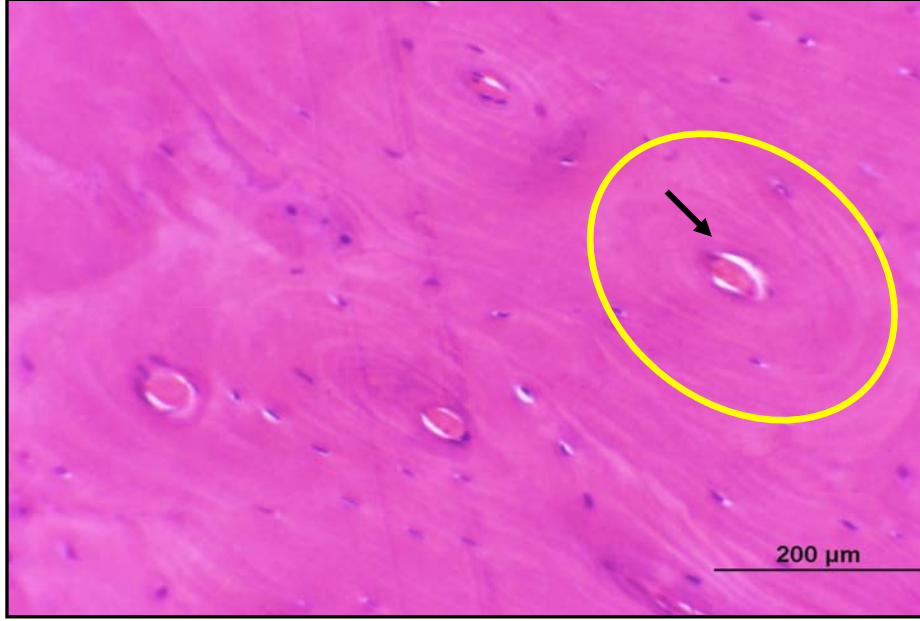
Şekil 4.4. Grup 2 (HA kaplı) kesitte inflamasyona rastlanmamakla birlikte havers kanalları ve kemik lameller yapısı ile normal olarak izlenmekte(HEx4)



Şekil 4.5. Grup 2 (HA kaplı) İmplantın bulunduğu bölgelerden alınan bu görüntüde çok az inflamasyon gözlemlendi (ok). Havers kanalları ve kemik lameller sistemiyle normal görünümlü kemik yapısı görüldü. (HEx4)



Şekil 4.6 . Grup 3 (HA+Ag kaplamalı) İmplant etrafından alınan kesitlerde az yoğunlukta inflamasyonla birlikte (ok) havers kanalları ve kemik lameller yapısı normal olarak izleniyor. (yıldız). (HEx4)



Şekil 4.7 . Grup 3(HA+Ag kaplama) implantın etrafından alınan kesitte havers kanalları ve kemik lameller sistemiyle normal görünümlü kemik yapısı görüldü ve herhangi bir inflamasyona rastlanmadı. Havers kanalı (ok), osteon (daire). (HEx4)

Histolojik çalışmada ışık mikroskopisine ilave olarak elektron mikroskopi çalışmasında planlanmıştı ancak teknik yetersizlikler nedeni ile gerçekleştirilememiştir.

5. TARTIŞMA

Eksternal fiksasyon kırık bölgesinden uzağa yerleştirilen kemiği sabitleyen materyallerin kullanımına dayanan osteosentez için biyomekanik bir metottur. Dış fiksasyonda rastlanılan en önemli komplikasyon hasarlı komşu dokular ya da vücuda giren biyomateryal yüzeylerinin bakteri kolonizasyonuna son derece uygun olması nedeniyle oluşabilen çivi yolu enfeksiyonudur(1,48). Gümüş antibakteriyal etkinliği bilinen ve tıpta kullanılan bir metal iyonudur. Hidroksiapatit implant kemik tutulumunu sağlayan bir seramiktir. Yaptığımız çalışmada bu iki maddenin karışımından elde edilen ve invitro ortamda antibakterial etkinliği kanıtlanmış antibakterial tozun, çivi dibi enfeksiyonunun ve çivi gevşemesinin engellenmesinde kullanılabirliğini hayvan deneyinde araştırdık.

Eksternal fiksasyon çivilerinin yerleştirilmesinden sonra endojen mikroorganizmalar çivinin yüzeyine yaklaşır, tutunur ve biyofilm oluşumuna neden olur. Bu biyofilm mikroorganizmanın en önemli virülans faktörüdür, dış etkenlere ve antibiyotiklere karşı mikroorganizmayı korur. İmplantlara bağlı enfeksiyon “komşu yayılım yolu ile oluşur, yani deri bakterileri cihaz boyunca subkütan olarak iç dokulara ilerler(49). İmplant edilmiş çivilerin yol açtığı enfeksiyon için sistemik antibiyotiklerle tedavi etkin değildir. Bu nedenle bu tip enfeksiyonları kontrol etmek için alternatif stratejiler gereklidir (51).

Eksternal fiksasyon tel ve çivileri genellikle *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* gibi bakterilerle kolonize olur (2). Mahan ve ekibi (1) çıkarıldıktan sonra kültürü yapılan vidalarda gram-negatif bakterilere karşı(%9.4 *Escherichia coli*) gram-pozitif bakterilerin oranının çok yüksek olduğunu rapor etmiştir(*S.epidermidis* ve *S.aureus*). Eksternal fiksasyon sonrası kronik osteomyelit insidansı %0 - %4 arasında rapor edilmiştir (52). Kronik osteomyelit kültürlerinde çivi yolu enfeksiyonuna aynı gram-pozitif bakteri türlerinin eşlik ettiği gösterilmiştir. İnfekte eksternal fiksasyon çivileri fiksasyonu takip eden intramedullar çivi işlemlerinde de komplikasyon oranını arttırır (53). Eksternal fiksasyon sonrası tibia intramedullar çivisi uygulaması sonrası derin enfeksiyon insidansı %71’e kadar yükselmiştir (53). Çivi bölgesinde enfeksiyon yoksa derin enfeksiyon oranı %5.9 olarak belirlenmiştir. Başka çalışmalarda da, çivi dibi enfeksiyonu yoksa ya da uygun

şekilde sağaltımı sağlandığında eksternal fiksasyon sonrası intramedular çividen kaynaklanan derin infeksiyon oranları %0 - %5.9 arasında bulunmuştur (50)

Hem ortopedik hem de travma cerrahisi için eksternal fiksasyon çivilerinin uzun dönem stabilitesi önemli bir konudur (54). Bazı çalışmalarda çivi gevşeme, infeksiyon ve kemik-çivi ara yüz sağlamlığının azalma oranı yüksek bulunmuştur (55,56). Pek çok hastada bu komplikasyonlar eksternal fiksasyon sağaltımından vazgeçirecek kadar şiddetli boyutlara ulaşmıştır. Hiç şüpesizdir ki eksternal fiksasyonun çivi infeksiyonu oranını azaltan ya da sağlamlığını arttıran bir yöntemin geliştirilmesi ortopedik cerrahide önemli bir adım olacaktır.

Çivi yerleştirilmesi sırasında kemiğin mekanik ve ısıl hasara uğraması nedeniyle kemik-çivi arayüzünde fibröz doku gelişimi çivi gevşemesi ve infeksiyonun başlıca nedenleri olarak tanımlanmıştır (57). Standart kaplamasız çivilerde şekil, çap ve yerleştirme tekniği hesaba katılmaksızın kemik-çivi arayüz sağlamlığında bozulmalar olduğu görülmüştür (54,55). Hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar kaplamasız çivilerin çıkarma kuvvetinin karşılık gelen yerleştirme kuvvetine göre düşük olduğunu göstermiştir(55,56). İmplantasyon sürecinin uzun olması kemik-çivi fiksasyonunun azalması için de potansiyel oluşturur. Bu bozulma fiksasyonun majör komplikasyonları olan çivinin gevşemesine ve infeksiyona yol açar (58,59,60). Aro ve ekibi (58) ile Petine (60) ve ekibi çivi yolunda herhangi bir sorun işareti görülmemesine rağmen çivi pozisyonundan bağımsız olarak çivilerin çıkarma kuvvetinde zamanla ilerleyen ciddi azalmalar olduğunu göstermişlerdir. Bu gevşemeyi ve dolayısıyla yarattığı sorunları azaltmak için pek çok mekanik girişim düşünülmüştür.(61) . Kırılan kemiğin uçları arasındaki teması iyileştirmek, pin sayısını arttırmak, fiksasyonun katılığı, kırık bölgesindeki baskı ve çivi şekillerinin değiştirilmesi bu girişimlerin konuları olmuştur.

Hidroksiapatitin kemiğe bağlanma yeteneği gösterilmiştir (10). Bu biyoseramik materyalin yüksek biyouygunluğu ve düşük yıkımı da kanıtlanmıştır(10). Bu nedenlerle hidroksiapatit implantların sağlam fiksasyonunda uygun bir kaplama materyali olarak önerilmiştir.(62) Victor ve arkadaşlarının 84 adet çivi kullanarak yaptıkları hayvan çalışmasında kaplamasız çivilerin başlangıç çıkarma kuvvetinin ortalama yerleştirme kuvvetlerinin 3 kat altında olduğu ve morfolojik analizler sonucunda kaplamasız çivilerin yivleri arasında fibröz doku

oluşumu gösterilmiştir. Aksine hidroksiapatit kaplı çivilerde tüm radyografik, biyomekanik, morfolojik ve histomorfometrik sonuçlar kemik-çivi arayüzünde iyileşme göstermiştir. Hidroksiapatit kaplı çivilerin başlangıç çıkarma kuvvetinin son yerleştirme kuvvetinden yüksek olduğu ve herhangi bir mekanik kemik-çivi arayüz yıkımının olmadığı gösterilmiştir (63). Kemik-çivi arayüz sağlamlığı morfolojik gözlemlerde fibröz doku oluşumu gelişmeden hidroksiapatit kaplı çiviler ile kemik arasında çok yakın doğrudan temas olarak görülmüştür. Bu gözlemler histomorfometrik ölçümlerle de doğrulanmış, hidroksiapatit kaplı çivilerin yivlerinde kemik oluşumunun yüksek olduğu görülmüştür. Moroni ve arkadaşlarının yapmış oldukları hayvan deneyindeki histolojik incelemede hidroksiapatit kaplı çivilerde kemik-çivi arayüzünde mekanik bozulmanın olmadığı, fibröz doku bulunmadan doğrudan temasın olduğunu göstermişlerdir. Çalışma sonucunda hidroksiapatit kaplamanın yüksek kemik iletkenliğinin çivilerin kemikle bütünleşmesini sağladığı ve bu başarılı bütünleşmenin biyomekanik olarak çivi fiksasyon sağlamlığını da etkilediği belirtilmiştir (64). Moroni ve arkadaşlarının 21 hastalık çalışmasında femur ve tibiaya uyguladıkları eksternal fiksatörler sonrasında hidroksiapatit kaplı ve kaplamasız çivileri karşılaştırmışlar, kaplamalı çivilerin çıkarma kuvvetinin kaplamsızlara oranla anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu bulmuşlardır. Histolojik çalışmada çivilerin çıkarıldığı kemik yüzeyde birkaç küçük parça bulunmuş bunların çivilerin kullanımını sınırlayabilecek faktörler olduğu düşünülmemiştir. Çivinin çıkarılmasının kaplı olamayanlara göre hidroksiapatit kaplı olanlarda biraz daha ağrı verici olduğu bulunmuştur. Bu rahatsız durum sadece başlangıçta kısa bir süre için kemik-çivi arayüzünün gevşemesi sırasında oluşmuştur. Hidroksiapatit kaplı çivilerin olumlu kemik bütünleşmesinin işareti olan bu ağrının klinik kullanımı engellememesi gerektiği ve hidroksiapatit kaplı çivilerin çıkarılmasının hastanede yatış ya da anestezi gerektirmediği belirtilmiştir. Yazarlara göre bu çalışma önerilen hidroksiapatit kaplamanın kemik-çivi arayüz kuvvetini iyileştirmede etkin bir yöntem olduğunu göstermiştir. Hidroksiapatit kaplı çivilerin olumlu fiksasyonu ve yüksek arayüz kuvvetinin çivinin gevşemesi, enfeksiyon gibi sorunları azaltacağı ve eksternal fiksasyon tedavisinde daha iyi klinik sonuçlar oluşturacağı belirtilmiştir (56) Moroni ve arkadaşlarının 38 hasta ve 157 çivi kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmada hidroksiapatit kaplı çivilerde düşük bir çivi yolu enfeksiyon oranı ve daha

iyi kemik-çivi arayüzü fiksasyonu sağlamlığı bulmuştur (65). Hidroksiapatit kaplı çivilerin fiksasyon sağlamlığının düşük çivi yolu infeksiyon oranına karşılık geldiği belirtilmiştir. Bu çalışmadaki araştırmacılar bu olumlu sonuçların hidroksiapatit kaplamanın biyouyumluluğu nedeniyle olduğunu düşünmektedirler. Hidroksiapatit kaplı çivi grubunda çivi yolu enfekte olmuş olsa da çıkarma kuvveti yüksekti ve enfekte olmamış çivi yolundan farklı değildi. Aksine standart çivi grubunda enfekte çivi yolundan çıkarılan çivi çıkarma kuvveti enfekte olmamışlara göre düşüktü. Hidroksiapatit kaplı çivilerin yüksek kemik integrasyon yeteneğinin kemik-çivi arayüzünü düzelttiği ve infeksiyonun buraya yakın yumuşak dokulara yayılmasını önlediği düşünülmektedir. Bu enfekte çivi yolundan çıkarılan hidroksiapatit kaplı çivilerde gözlenen kemik-çivi arayüzü fiksasyonu sağlamlığında herhangi bir düşüş olmamasının bir açıklaması olabilir. Bu çalışmanın sonuçları kemik-çivi fiksasyonu ve çivi yolu infeksiyonu için kemik çeşidinin de önemli bir parametre olduğunu göstermiştir. Çalışmada çivileri yerleştirdikleri kemik bölgesine göre de değerlendirmişler, her iki grupta da kanselöz kemikte yerleştirme kuvveti ile çıkarma kuvvetinin kortikal kemiğine göre düşük olduğunu bulmuşlardır. Standard çivilerde gözlenen kemik-çivi arayüz sağlamlığının bozulmasının kanselöz kemikte, hidroksiapatit kaplı çivilerde gözlenen kemik-çivi arayüz sağlamlığının iyiye gidişinin kanselöz kemikte daha fazla olduğu görülmüştür. Çivi yolu infeksiyonu standart çivilerde kanselöz kemikte daha fazla görülmektedir. Hidroksiapatit kaplı çivi grubunda kanselöz ve kortikal kemik arasında çivi yolu infeksiyon oranında farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuçlara göre hidroksiapatit kaplı çiviler herhangi bir kemik tipinde kullanılabilir. Çalışmada iyi yerleşmiş hidroksiapatit kaplı çivilerin çıkarılmasında hissedilen ağrının standart çivilerin çıkarılması sırasında oluşan ağrıdan yüksek olduğu bulundu Fakat hidroksiapatit kaplı çivilerin çıkarılması hiçbir vakada hastanede yatış ya da anestezi gerektirmedi. Bu çalışmanın sonuçlarına göre çivinin çıkarılması sırasındaki ağrının hidroksiapatit kaplı çivilerde olumsuz bir yön olduğu gösterildi, ama iyi fiksasyon ve düşük infeksiyon gibi olumlu özelliklerin bu ağrının olumsuzluğunu ortadan kaldırmaktadır yorumu yapılmadı. Çivinin çıkarılmasını kolaylaştırmak için kısmi ya da zamanla emilebilen bir kaplamanın çözüm olabileceği ama bu konu üzerine araştırmaların yapılması gerektiği belirtildi. Çalışmada hidroksiapatit kaplı çivilerin yerleştirme kuvvetinin kaplamasız çivilerin

yerleştirme kuvvetinden daha düşük olduğu görüldü. Hidroksiapatit kaplı çiviler kemik-çivi arayüzü fiksasyonu sağlamlığının iyileşmesinde klinik olarak etkin bulundu. Bu çivilerin hem kanselöz hem de kortikal kemikte kullanılabileceği belirtildi. Hidroksiapatit kaplı çivilerle sağlanan avantajların kanselöz kemikte kortikal kemiğe göre daha fazla olduğu gösterildi. (65)

Çalışmamızın zayıf yönleri ele alındığında; eksternal fiksasyon klinik kullanımda kırık proksimaline ve distaline çivilerin yerleştirildiği ve ara bağlantı çubuğu ile yüklerin çiviler üzerine aktarıldığı bir sistemdir. Bizim çalışmamızda ise kırık oluşturulmamış ve ara bağlantı çubuğu kullanılmamıştır. Bu durumda çivi - kemik arayüzey üzerine yük binmemiştir. Böylelikle yaptığımız çalışma klinik eksternal fiksasyon uygulamasından farklılık göstermiştir. Bu durum çalışmanın eksik yönü gibi görünse de kırık oluşturmamamızın nedeni çivi kemik arayüze etki eden faktör sayısını arttırarak ABT ve HA'in çivi sağlamlığı üzerindeki etkilerinin maskelenmesinin istenilmemesidir. Çalışmamıza başlarken kemik çivi arayüzünden alınan örneklerden elektron mikroskopi görüntülerinin oluşturulması ve bu alanda ABT , HA'in kemikle olan etkileşimlerinin değerlendirilmesi hedeflenmişti. Ancak alınan örneklerden teknik yetersizliklerden dolayı istenilen görüntüler elde edilemedi. Histolojik çalışmada ki diğer zayıflık ışık mikroskobisinde inflamasyon oranının kantitatif olarak değerlendirilmesi idi. Hücre sayımı yapılamadı. Her gruptan yedi örnek olması histolojik çalışmanın değerini azalttı ve istatistiksel anlamı olmadı. Çalışmamızdaki en önemli eksik gümüşün toksitesinin araştırılmamasıdır. Çalışmamızda kullanmış olduğumuz antibakterial tozun belirli dozlarda hücre büyümesine engel olmadığı ve sitotoksitesinin bulunmadığı invitro deneylerde gösterilmiştir.(31) Yapmış olduğumuz histolojik incelemede gümüşlü kaplama etrafında bir miktar inflamasyon dokusu görülmekle birlikte sitotoksik etkisi lehine bir bulguya rastlanılmamıştır. Bu bulgular antibakteriyal tozdaki gümüş düzeyinin sitotoksik olmadığını söylemek için yeterli değildir. Bunun için gümüşün kan düzeyinin ölçümü, dalak ve karaciğerdeki etkisinin araştırıldığı kapsamlı sitotoksik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Bizim çalışmamızda hidroksiapatit kaplı ve gümüş + hidroksiapatit kaplı çivilerin yerleştirme tork değerleri kaplamasızlara oranla düşüktü. Kaplama ile çivideki yiv derinliğinin azalmasının bu duruma neden olduğu düşünülmektedir.

Sökme tork değerlerinde ise hidroksiapatit kaplı çivilerde net bir artış mevcuttu. Sıkma değerleri düşük olmasına rağmen sökme değerlerinin bu derece yüksek çıkması hidroksiapatit ile kemik integrasyonunu göstermektedir. Kaplamasız çivilerin yerleştirme esnasında sıkma tork değerlerinin iki gruba göre yüksekken altı hafta sonra diğer gruplara oranla düşük bulunması gelişen infeksiyonun çivi sağlamlığını olumsuz etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Hidroksiapatit kaplı çivilerde infeksiyon oranı kaplamasızlara oranla anlamlı şekilde azdı. Antibakteriyal etkinliği gösterilmemiş olan hidroksiapatitin bu olumlu etkisini kemik implant arayüzündeki osteointegrasyon sonucunda fibröz doku oluşumunu azaltıp, bakteriler için uygun üreme ortamının oluşmasını engelleyerek sağladığı düşünülmektedir. Yaptığımız histolojik çalışmada en az inflamasyon dokusu HA'li çivilerin etrafındaki kemik çivi arayüzeyinde gözlemlendi. Bu bulgular da yukarıda belirttiğimiz hipotezi doğrular niteliktedir. Gümüş + hidroksiapatit kaplı çivilerin sıkma ve sökme değerleri arasındaki farkın kaplamasız olanlara göre anlamlı derecede yüksek olmasının gümüşün antibakteriyal etkisi nedeni ile infeksiyonun az olması ve hidroksiapatitin biyoyumluluğu nedeni ile olduğu düşünülmektedir. Hidroksiapatit kaplı çiviler ile gümüş ve hidroksiapatit kaplı çivilerin sıkma-sökme tork farkları karşılaştırıldığında hidroksiapatit kaplı çivilerin kemiğe daha iyi tutunduğu görülmektedir. İnfeksiyon oranının hidroksiapatitli çivilerde daha fazla olmasına rağmen bu anlamlı fark hidroksiapatit kaplı çivilerin çivi dibi infeksiyonunda dahi çivi sağlamlığını koruduğu sonucunu çıkarır ki bu sonucun klinik açıdan önemi büyüktür. Hidroksiapatit ve gümüş kaplı çivilerin sökme tork değerlerinin, sadece hidroksiapatit kaplı çivilere göre düşük olmasına gümüşe verilen doku yanıtının neden olduğu düşünülmektedir. Gümüş kaplı kalp kapağı uygulanan hastalarda dikiş kenarında ince bir tabaka pannus ve mikroabse oluşumuyla kronik bir inflamatuvar reaksiyon tanımlayan bazı raporlar vardır (42). Yaptığımız histolojik çalışmada da gümüş ve hidroksiapatit kaplı çivilerin kemikle temas alanında hidroksiapatit kaplı çivilere oranla daha fazla inflamasyon dokusu görülmüştür. Bu durum gümüş ve hidroksiapatit kaplı çivilerin kemiğe inkorporasyonunun hidroksiapatit kaplı çiviler kadar iyi olmadığı ve bu nedenle sökme tork değerlerinin daha düşük olduğunu düşündürmektedir. ABT içerisinde bulunan gümüşün çivinin kemiğe tutunma gücünü azaltması olumsuz olarak

değerlendirilebilirse de antibakterial etkisi nedeni ile engellemiş olduğu çivi dibi infeksiyonu oranının oldukça yüksek olması bu olumsuz özelliğinin önüne geçmektedir. Gümüşe verilen inflamatuvar yanıtın azaltılması gümüş konsantrasyonunun azaltılması anlamına gelir ki bu da infeksiyon oranının artması şeklinde karşımıza çıkacaktır. Sonuç olarak gümüş kullanımı ile elde edilen fayda kemik tutunmasındaki olumsuz etkisini gözardı ettirecek kadar önemlidir. ABT kaplı çivilerin tork farklarının kaplamasız çivilerin tork farklarına oranla önemli şekilde yüksek olması da bunu desteklemektedir. Gümüşe verilen doku yanıtının sonraki çalışmalarda daha ayrıntılı bir şekilde araştırılması gerekmektedir. Çalışmamız sonuçları antibakteriyal toz kaplı çivilerin eksternal fiksasyonun en önemli sorunu olan çivi gevşemesinin ve infeksiyonunun önlenmesi amacı ile kullanılması fikrini desteklemektedir.

Eksternal fiksasyonun başarısı kemik-çivi bütünleşmesine bağlı olsa da, bu implantların uzun dönem dayanması ve başarısı çivi çevreleyen bakteri varlığına da bağlıdır. İmplant yerleştirilmesinden sonra bakteri infeksiyonu önemli ve artan bir komplikasyondur. Çivi başarısızlığı için infeksiyon tek neden olmasa da ciddi medikal harcamalar, morbiditede artışı ve hasta memnuniyetsizliğine neden olmaktadır. Çivi nedenli infeksiyon insidansını azaltmak için birkaç biyomateryal yüzey tedavisi önerilmiştir. Biyomateryallere antibakteriyal özellik kazandırma üzerine önceki çalışmalar; kovalent olarak polikationik grupların bağlanması, antimikrobiyal ajanlarla birlikte nanopartiküllerinin yüklenmesi ya da emdirilmesi ve çivi yüzeyinin dördüncül amonyum bileşikleri, iodin veya gümüş iyonlarıyla(Ag) kaplanması gibi yüzeyi fonksiyonel hale getirme tekniklerine dayanır. Gümüş iyonlarının antibakteriyal etkinliği uzun yıllardan beri bilinmekte ve tıpta kullanılmaktadır (66,67).

Gümüş + hidroksiapatit yüzeylerinin antibakteriyal etkinliğini araştıran bir çalışmada gümüş + hidroksiapatit kaplı implantların S.aureus ve S.epidemis'i de içeren test edilen suşlarda canlı yapışan bakteri sayısını önemli derecede azalttığı gösterilmiştir (68). Bir materyal yüzeyine bakteriyal adhezyon iki fazlı bir işlem olarak tanımlanır; geri dönüşümlü başlangıç fazı(faz 1) ve bunu takibeden dönüşümsüz moleküler ve hücrel faz(faz 2)(68). Biomateryal implant yüzeylere bakteri adhezyonu infeksiyon patogenezinde önemli bir aşamadır. Yüzeye

yapışmayan bakteriler immün sistem tarafından hızla öldürülür. Yapışan organizmaların yüzey gelişimi bir biyofilm oluşumuna yol açar; bu olay biyomateryale bağlı infeksiyon patogenezinde oldukça önemlidir. Bu organizmaların biyomateryal yüzeyiyle doğrudan temas ederek gelişimleri biyofilm oluşumunda kilit noktadır. Genelde başlangıçtaki bakteriyal adezyonun bakteri ve biyomateryal yüzeylerin fizikokimyasal özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir(69,70)

Olson ve ekibi (71) köpeklerde gümüş kaplı endotrakeal tüp kullanımının kolonizasyon oranını düşürdüğünü ve *Pseudomonas aeruginosa* nedenli akciğer enflamasyonunu önemli derecede azalttığını göstermiştir. Gümüş, infeksiyona dirençli üriner kateterlerin geliştirilmesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır.(72) Gümüş sülfadiazin ve klorhekzidin içeren venöz kateterin randomize, karşılaştırmalı çalışmasında yoğun bakım ünitesindeki 204 hasta değerlendirilmiş ve bakteriyemi oluşum riskini 4 kat azalttığı kanıtlanmıştır. Diğer çalışmalar da şu anda ticari olarak var olan bu kateterin klinik kullanışlılığını göstermiştir (73). Collinge(74) çalışmalarında ve ekibi gümüş kaplı eksternal fiksasyon çivilerinde azalmış infeksiyon oranı bildirmişler. 36 gümüş kaplı ve 12 klasik paslanmaz çelik çiviye 6 tane koyunun iliak bölgesine yerleştirilmiş ve *S. aureus* ile inoküle edilip 2.5 hafta sonra çivi bölgeleri inflamasyon açısından kontrol edilmiş, çivi uçları kültürü alınmış ve elektron tarama mikroskobu(SEM) ile test edilmiş. Kaplı olmayan çivilerin %84 nün ve gümüş kaplı olanların %62 sinin infekte olduğu görülmüş(74). Liedberg ve Lundeberg (75) 120 hastada gümüş alaşım kaplı kateteri değerlendirmiş ve gümüş alaşım kaplı kateterlerin, katetere bağlı idrar yolu infeksiyon oranını azalttığını bulmuştur. Schaffer ve ekibi (76) spinal kord hasarı veya nörolojik hasar bulunan 74 hastayı değerlendirmiştir; bu hastalarda rastgele gümüş oksit kaplı silikon kateter, drenaj sistemi ya da antimikrobiyal ajan içermeyen drenaj sistemi olan kaplamasız silikon kateter kullanılmıştır. Sonuçta gümüş kaplı kateter grubunda %27, kontrol grubunda ise %55 oranında bakteriüri belirlenmiştir. Yapılan bir hayvan çalışmasında gümüş kaplı diz protezi uygulanan tavşanlarda infeksiyon oranı araştırılmıştır. Gümüş kaplı protezi olan 14 tavşandan sadece birinde makroskopik olarak infeksiyon gelişirken, kaplamasız gruplarda 7 tavşanda(%46.6) gözle görülür infeksiyon gelişmiştir. Gümüş kaplamanın infeksiyonu etkin bir şekilde azalttığı rapor edilmiştir (77). Masse ve arkadaşlarının femur ve tibia kırığı bulunan 24 hastada 106

çivi kullanarak yaptıkları bir çalışmada 50 adet gümüş kaplı çivinin 15'inde (%30), kapsız olan 56 çivin 24'ünde pozitif kültür tespit edilmiştir. Kültürlerde stafilokok aureus en sık üreyen mikroorganizma olduğu bildirilmiştir.%48 (78)

Yapmış olduğumuz mikrobiyolojik çalışmalarda kaplamasız 31 çivinin 27'sinde, HA kaplı 31 çivinin 13'ünde, HA ve gümüş kaplı 31 çivinin 2'sinde infeksiyon görülmüştür. Kemik sürüntü kültürlerinde her gruptan 24 örnek alınmış ve bunların kaplamasız grupta 20'sinde, HA'li grubun 14'ünde ve ABT'lu grubun 2'sinde üreme olmuştur. Ayrıca çiviler üzerindeki bakteri sayımı yapıldığında gümüşlü grupta üreme olan 2 çivideki bakteri sayısının diğer iki gruba göre oldukça az olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla gümüşün antibakteriyal etkinliği net olarak gözlenmektedir. HA kaplı grupta infeksiyon oranının az olmasının nedeni olarak HA'in mükemmel biyoyuyumluluğu nedeni ile çivi-kemik ara yüzünde fibröz doku oluşmaması bunun sonucu olarak mikroorganizmaların uygun üreme koşullarını elde edememesi olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar ışığında antibakteriyal tozun eksternal fiksasyonda kullanılması ile yöntemin komplikasyonlarının azalacağı, başarı ve güvenilirliğinin artacağı düşünülmektedir.

Gümüşün antibakteriyal etkinliğini destekleyen yayınlar ağırlıklı olmakla birlikte klinik kullanımda kaplamasız implantlara göre bir üstünlüğünün olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur. Coester ve arkadaşlarının 20 hasta üzerinde uyguladıkları eksternal fiksasyon çivilerinin yarısında gümüş kaplı yarısında ise kaplamasız çiviler uygulanmış sonuç olarak iki tip çivi arasında klinik, bakteriyolojik, mekanik veya radyografik istatistik açıdan önemli farklar gösterilememiştir. Ancak denek sayısının azlığının infeksiyondaki fark olasılığını net olarak ortaya koymayı engellediği belirtilmiştir.(79)

Gümüşün geniş antibakteriyal etkisine rağmen yüksek konsantrasyonlarının sitotoksik olduğu bildirilmiştir. İnsan hücreleri için maksimum toksik konsantrasyonun 10mg/L olduğu belirtilmiştir(80).Gümüş iyonlarının toksisitesi tüm özelleşmiş memeli hücrelerinin temel metabolik hücresel fonksiyonlarını etkiler. Hücre içi ATP içeriğinin konsantrasyon ve zamana bağlı tükenmesi Ag iyonlarının varlığına bağlanır ve hücre ölümüne doğru gider (81). Bu nedenle implant yüzeyler üzerinde bakteri adhezyonunu azaltacak en az Ag konsantrasyonu gereklidir. İn vivo bir çalışmada 2.05 ± 0.55 wt Ag konsantrasyonu içeren Ag-HA kaplamasında

antibakterisidal özellik görülürken osteoblast-prekürsör(öncül) hücre sitotoksitesisi gözlenmiştir (82) .

Pek çok durumda gümüş birikmesi belirgin bir şekilde artmış gümüş seviyelerine rağmen hastalık etkisi yaratmaz (83,84). Yine de karaciğer, böbrek ve kalp yağlanması tanımlayan vaka raporları vardır (83). Gümüş sülfadiazin ile tedavi sonrası keratinosit ve fibroblastların çoğalmasının inhibisyonu da rapor edilmiştir (85) .

Gümüş kaplı kalp kapağı uygulanan hastalarda dikiş kenarında ince bir tabaka pannus ve mikroabse oluşumuyla kronik bir inflamatuvar reaksiyon tanımlayan bazı raporlar vardır.(85) Zayıf doku gelişimi dikişlerin çözülmesine yol açar. Dikiş kenarından salınan gümüş nedenli toksik reaksiyonun normal fibroblast yanıtının inhibisyonuna neden olduğu düşünülmektedir (86). Çevre dokularda gümüş konsantrasyonları ölçülmediğinden bu faktörlerin tutarlılığı şu ana kadar kanıtlanmamıştır. Tweden ve ekibi (87) konsantrasyon 1200 ppb seviyelerine ulaşıncaya kadar kültür fibroblastlarında gümüş nedenli herhangi bir toksisite kanıtı bulmamıştır. Bu nedenle ince bir pannus oluşumunun bir sitotoksitesite oluşturmayacağı ama gümüş kaplı tıbbi cihaza çok yakın ortamlarda elementer gümüş nedenli kronik bir enflamasyon reaksiyonunun muhtemel olabileceği düşünülmektedir. Tam tersine bazı araştırmacılar gümüşün sitotoksik etkisi olmadığını ve iyi uyum sağladığını rapor etmişlerdir. Bu çelişkili sonuçlar kullanılan konsantrasyon miktarlarına ve bunların değişik hücre tiplerindeki reaksiyonlarına bağlı olabilir. Gümüş toksitesinin doza bağlı olduğu iyi bilinmektedir. Elementer gümüş organizmada yavaş yavaş iyonize olmaktadır (88). Oligodinamik etkisi nedeniyle gümüş salınımı düşüktür Bu nedenle de sitotoksitesisi düşüktür. Tavşanlarda gümüş kaplı diz protezinin antimikrobiyal etkisi ve sitotoksitesisi ile ilgili yapılan bir çalışmada gümüş kan konsantrasyonlarının ortalama 1.88 ppb olduğu ve 10 ppb seviyesinin altındaki değerlerin normal olduğu belirtilmiştir. Çalışmada gümüşün toksik etkilerine rastlanılmamakla birlikte karaciğer ve dalakta gümüş seviyelerinin oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Organların histolojik ve fonksiyonel testlerinde patolojiye rastlanılmamıştır (77).

Sudmann ve ekibi (87) gümüş katkılı kalça protezi olan 76 yaşındaki bir kadın hastada 5 yıl sonra ortaya çıkan ciddi nörolojik hasarı rapor etmişlerdir. Eklem

boşluğu ve serumdaki konsantrasyon 103 ve 6.3 ppb yi geçmediği halde ipsilateral ekstremitede sensomotor hasarı tespit ettiler. Yirmidört hastanın femur ve tibia kırıkları için eksternal fiksasyon uygulanarak yapılan bir çalışmada gümüş kaplı çivi kullanılan hastaların kan gümüş düzeyleri operasyon öncesi spektrofotometrenin ölçüm eşiğinin(0.20 mikrogram/L) altındayken operasyon sonrası 7 gün içinde ve çıkartılma esnasında yükseldiğini tespit ettiler. Operasyon öncesi ve sonrası kan gümüş değerleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu gösterildi. Operasyon sonrası ve çıkarılma esnasındaki kan gümüş seviyeleri arasında önemli bir fark bulunamadı. Yedinci günde gümüşün kan değerinin gümüş vida sayısı ile doğru orantılı olduğu görüldü. Aynı durum ikinci aydaki değerlerde de söz konusuydu. Çalışmada gümüş kan düzeyinin 14 mikrogram/L altında olması normal kabul edildi. İki örnekte değerler 14.88 ve 20.55 mikrogram/L olarak kaydedildi. Bu değerler çok sayıda gümüş kaplı vidası olan bir hastada ve 6 femoral gümüş kaplı vidası olan genç bir hastada kaydedildi. Bu sonuçla çoklu kırığı olan hastalarda çok sayıda gümüş kaplı vida kullanımı düşündürücüdür yorumu yapıldı.(78)

Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda gümüş ve hidroksiapatit kaplı çivilerin ortopedik cerrahi yöntemler içerisinde sık başvurulan eksternal fiksasyonda kullanılmasının bu yöntemin en önemli problemi olan çivi dibi infeksiyonu ve çivi gevşemesinin önlenmesinde etkili olacağını düşünmekteyiz. Geliştirilmiş olan antibakteriyal tozun diğer ortopedik implantların da kaplanmasıyla kullanılabileceği düşünüldüğünde; tüm cerrahi yöntemlerin başarı oranını arttıracığı, tedavi maliyetlerinin azalacağı, mortalite ve morbidite oranlarının düşeceği görüşündeyiz. Bu nedenle antibakteriyal toz ile yeni çalışmaların yapılması ve klinik uygulamaya geçilmeden önce tozun sitotoksik etkisinin olup olmadığı net bir şekilde ortaya koyulmalıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar:

1. Kaplamasız çivilerin sökme değerlerinin düşük oluşu ve bu gruptaki infeksiyonun fazla oluşu infeksiyonun çivi sağlamlığını etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.
2. Hidroksiapatit kaplı çivilerin sökme değerlerinin yüksek oluşu eksternal fiksasyon yönteminin önemli bir problemi olan çivi gevşemesini önlemek için iyi bir yöntem olduğunu göstermektedir.
3. Hidroksiapatitin antibakteriyal özelliği olmamasına rağmen bu çivilerde kaplamasızlara oranla infeksiyonun az oluşu hidroksiapatitin biyouyumluluğu ile çivi sağlamlığını arttırması dışında, infeksiyon oluşmasına zemin hazırlayan ortamı da engellediği göstermiştir.
4. Gümüş + Hidroksiapatit kaplı çivilerdeki infeksiyon oranının diğer iki gruba oranla anlamlı bir şekilde az oluşu gümüşün antibakteriyal etkinliğini net bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu kaplamada gümüş ile çivi dibi infeksiyonu azaltılırken hidroksiapatit ile çivi sağlamlığına katkıda bulunmaktadır.
5. Gümüş kaplı çivilerin ilişkili olduğu alanlardan alınan kesitlerin histolojik incelemesinde normal osteosit hücreleri, normal görünümde haversian kanallarının görülmesi kaplamamızdaki gümüşün toksik olmadığını düşündürmektedir. Ancak daha net bilgilere ulaşmak için gümüşün kan düzey takibi, karaciğer fonksiyonlarının ölçülmesi ve gümüşün dalak ve karaciğerdeki miktarlarının araştırılması gerekmektedir.
6. Gümüş ve hidroksiapatit kaplı çivilerin kemik ile temas alanlarından alınan kesitlerden yapılan histolojik incelemelerde çivi etrafında infeksiyon olmamasına rağmen inflamasyon dokusu olduğu görülmüştür. Yine bu çivilerin sökme tork değerleri hidroksiapatit kaplı çivilere göre az, kaplamasız çivilere göre yüksek olduğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığında antibakteriyal tozdaki gümüşün çivi dibi infeksiyonuna engel olurken hidroksiapatitin kemik çivi arayüz sağlamlılığını arttırma etkisini azalttığı düşünülebilir. Bu görüşün detaylı histolojik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Öneriler:

Eksternal fiksasyon ortopedide sık kullanılan bir yöntemdir. Çivi dibi infeksiyonu ve çivi gevşemesi yöntemin kullanılmasını ve başarısını etkileyen sorunlardır. Yapmış olduğumuz çalışma gümüşün antibakteriyal etkisini gösterirken hidroksiapatitin ise çivi gevşeme sorunlarında kullanılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmayı takiben gümüşün sitotoksitesinin araştırıldığı hayvan deneyleri yapılmalıdır. Gümüşün sitotoksik olmadığını kanıtlanması durumunda HA ve gümüş kaplı çivilerin klinik kullanıma girmesi ile eksternal fiksasyonun güvenilirliği artarken komplikasyonlarında azalma görülecektir. Ayrıca çalışmamızda kullanılan antibakteriyal tozun diğer implantlarda da uygulanması ile önemli bir morbidite nedeni olan implanta bağlı infeksiyon oranlarının azalacağı, kırık sağaltımının başarısının artacağı düşüncesindeyiz. Uzun süre antibiyotik tedavisi ve tekrarlayan ameliyatlara gerektiren implant infeksiyonlarının kolay ve ucuz bir şekilde önlenilecek olması bu yöntemin en önemli avantajlarından biridir.

KAYNAKLAR

1. Mahan J, Seligson D, Henry S, Hynes P, Dobbins J. Factors in pin tract infections. *Orthopedics* 1991;14:305–8.
2. Collinge CA, Goll G, Seligson D, et al. Pin tract infections: silver vs. uncoated pins. *Orthopedics* 1994;17:445–448.
3. Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(11):677–85.
4. Wassal M, Santin M, Isalberti C, Cannas M, Denyer S. Adhesion of bacteria to stainless steel and silver-coated orthopedic external fixation pins. *J Biomed Mater Res* 1997;36:325–30..
5. 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;
6. Chambers C, Proctor C, Kabler P. Bactericidal effect of low concentrations of silver. *J Am Water Works Associatin* 1962: (1)208–216.
7. Illingworth B, Bianco RW, Weisberg S. In vivo efficacy of silvercoated fabric against *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis* 2000;9(1):135–41.
8. Bragg PD, Rainnie DJ. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. *Can J Microbiol* 1974;20(6):883–9.
9. Boswald M, Mende K, Bernschneider W, Bonakdar S, Ruder H, Kissler H, et al. Biocompatibility testing of a new silverimpregnated catheter in vivo. *Infection* 1999.27.p.38–42.
10. Cook SD, Thomas KA, Kay JF: Experimental coating defects in hydroxyapatite-coated implants. *Clin Orthop Rel Res* ;1991.p.265:280,.
11. Ege R. Kırıkların cerrahi tedavisi. *Travmatoloji, kırıklar, eklem yaralanmaları* 4. baskı ;1989 s357-435
12. Russel T.A: General principles of fracture treatment. In: Crenshaw A.H., Campell's Operative Orthopaedics. Mosby-Year Book ;1992 p.725-784

13. Seligson D.,Duley D.:History and scientific basis.İn:Seligson D., Pape M.Concepts in eksternal fixation., 1982.p.1-138
14. Wood W.Kırık tedavisinin genel prensipleri.İç:Kırdemir V.Eksternal tespit. Campell’s Operative Orthopaedics Türkçe baskı 10 th ed. Ed.Akgün I.Hayat Tıp Kitapçılık 2007.s.2706-2712
15. J.Tracy W.:Principles of external fixation In:RobertW.ed.Rockwood and Geen’s Fracture in adults.Lipincott Williams&Wilkins.6 th.2006.p.289-293
16. Kiriti D.Local Comlications.In RobertW.ed.Rockwood and Green’s Fracture in adults.Lipincott Williams&Wilkins.6 th.2006.p 568.
17. Collinge CA, Goll G, Seligson D,Easley KJ.Pin tract infections: silver vs. uncoated pins. *Orthopedics*. 1994.17.445–448.
18. Maurer DJ, Merkon 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.
19. Monzon M, Oteiza C, Leiva J, Amorena B. Synergy of different antibiotic combinations in biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48:793-801.
20. Vogel L, Sloos JH, Spaargaren J, Suiker I, Dijkshoorn. Biofilm production by Stapphylococcus epidermidis isolates associated with catheter related bacteremia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 36:139-141
21. Uludağ H.Şener B. Biyofilm infeksiyonlar› ve antibiyotik direnci ,*Hacettepe Tıp Dergisi*, 2008; 39:82-88
22. Öztuna V, Osteomiyelit Patofizyolojisi ve Tedavi Prensipleri, TOTBiD(Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği) Dergisi, 2005.Cilt: 4 Sayı: 1-2
23. Gümüşderelioğlu, M., Yeni Ufuklara, Biyomalzemeler, Bilim ve Teknik, Tübitak, Temmuz 2002 eki s:20-21
24. Korkusuz P, Korkusuz F, Hard tissue-biomaterial interactions. In: Yaszemski, Trantolo DJ. Biomaterials in orthopedics. Newyork. Basel, Marcel Dekker, Inc. 2004. p.:1-40

25. Khan SN, Tomin E, Lane JM. Clinical applications of bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am* 2000;31:389-98
26. Muratlı H. Seramik biyometeryallerin ortopedi ve travmatolojideki kullanımı, 23. Akif Şakir Şakar Günleri Kongre Kitabı, 2004. s;49
27. Oliveira JM, Correia RN, Fernandes MH. Surface modifications of a glass and a glass-ceramic of the MgO-3CaO. P2O5-SiO2 system in a simulated body fluid. *Biomaterials* 1995;16:849-54
28. Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res* 2001;58:734-40.
29. Kokubo T, Kushitani H, Ohtsuki C, Sakka S, Yamamuro T. Chemical reaction of bioactive glass and glass-ceramic with a simulated body fluid. *J Mater Sci Mater Med* 1992; 3:79-83
30. Ebisawa Y, Kokubo T, Ohura K, Yamamura T. Bioactivity of CaO.SiO2-based glasses: invitro evaluation. *J Mater Sci Mater Med* 1990;1;239-44
31. Pekşen C. Metal iyon katkılı Kalsiyum fosfat esaslı antibakteriyel seramik tozun karakterizasyonu ve sitotoksitesinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı Eskişehir, 2006
32. Hasırcı N. Gümüş iyonunun antibakteriyel olarak kullanımı. *Haber ODTÜ*. 2007;17:1-4
33. Zhao, G. ve Stevens, S. E. Multiple Parameters for the Comprehensive Evaluation of the Susceptibility of *Escherichia coli* to the Silver Ion, *Biomaterials*, 1998. 11, 27-32
34. Öztürk, R. Antiseptik Dezenfektan Maddelere Karşı Direnç Sorunu, Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları, Simad Yayınları, 2004. 1. 41-60
35. J. M. Schierholz, L. J. Lucas, A. Rump and G. Pulverer. Efficacy of silver-coated medical devices, *J. Hos. Inf.* 1998 40: 257-262
36. Modak K, Fox C. Binding of silver sulfadiazine in the cellular components of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem Pharm* 1973; 22: 2392-2404.

37. Boswald M, Mende K, Bernschneider W, Bonakdar S, Ruder H, Kissler H, et al. Biocompatibility testing of a new silver-impregnated catheter in vivo. *Infection* 1999;27(Suppl. 1):S38–42.
38. Wahlberg JE. Percutaneous toxicity of metal compounds. *Arch Environ Health* 1989; 11: 201-203.
39. 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.
40. Wan AT, Conyers RA, Coombs CJ, Masterton JP. Determination of silver in blood, urine, and tissues of volunteers and burn patients. *Clin Chem* 1991;37(10):1683–7.
41. 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(3):267–74.
42. 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.
43. Greil J, Spies T, Boswald M, Bechert T, Lugauer S, Regenfus A, et al. Analysis of the acute cytotoxicity of the Erlanger silver catheter. *Infection* 1999;27(10):S34–37
44. Oloffs A, Grosse-Siestrup C, Bisson S, Rinck M, Rudolph R, Gross U. Biocompatibility of silver-coated polyurethane catheters and silver-coated Dacron material. *Biomaterials* 1994;15(10): 753–8.
45. Perrelli G, Piolatto G. Tentative reference values for gold, silver and platinum: literature data analysis. *Sci Total Environ* 1992;120(1–2):93–6.
46. Doğan A, Uzgur E, Koparal S, Bayrakçı F. Ceramic: art, science & technology. *Turkish Ceramic Society* 2001;17-20.
47. Kim TN, Feng QL, Kim JO, Wu J, Wang H, Chen CG, Cui FZ. Antimicrobial effects of metal ions in hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med* 1998;9:129-34.

48. Gristina A. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science* 1987;237:1588–95.
49. G. Reid and H. J. Busscher, “Importance of surface properties in bacterial adhesion to biomaterials, with particular reference to the urinary tract, *Biodeterior.* 1992.30. 105–122
50. Sheehan E, McKenna J, Mulhall KJ, Marks P, McCormack D. Adhesion of staphylococcus to orthopaedic metals, an in vivo study. *Jon. Ortho. Res.* 2004.22.39-43
51. Johnson EE, Simpson LA, Helfet DL. Delayed intramedullary nailing after failed external fixation of the tibia. *Clin Orthop.* 1990; 253:251–257
52. Green SA, Ripley MJ. Chronic osteomyelitis in pin tracks. *J Bone Joint Surg Am.* 1984;66:1092–1096.
53. Maurer DJ, Merkon 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.
54. Chao EYS, Aro H. Biomechanics of fracture fixation. In: Mow VC, Hayes WC, editors. *Basic orthopaedic biomechanics.* New York: Raven Press; 1991. p 293–336.
55. Moroni A, Aspenberg P, Toksvig-Larsen S, Falzarano G, Giannini S. Enhanced fixation with hydroxyapatite-coated pins. *Clin Orthop* 1998;346:171–177.
56. Moroni A, Toksvig-Larsen S, Maltarello MC. A comparison of hydroxyapatite-coated, titanium-coated, and uncoated tapered external-fixation pins. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:681–686.
57. Moroni A, Caja VL., Maltarello L. Biomechanical, scanning electron microscopy, and microhardness analysis of the bone– pin interface in hydroxyapatite-coated versus uncoated pins. *J Orthop Trauma* 1997;11:154 – 161.

58. Aro HT, Markel DM, Chao EYS. Cortical bone reactions at the interface of external fixation half-pins under different loading conditions. *J Trauma* 1993;35:776–785
59. Chao EYS, Wikenheiser MA, Pettine KA, Huiskes R. Biomechanical and biological response of pin–bone interface. In: *Proceedings of the 14th International Hoffman External Fixation Conference*. Rutherford, NJ: Howmedica; 1992. p 303–307.
60. Pettine KA, Chao EYS, Kelly PJ. Analysis of the external fixator pin bone interface. *Clin Orthop* 1993;293:18–27.
61. Chao EYS, Aro H: *Biomechanics of Fracture Fixation*. In Mow VC, Hayes WC (eds). *Basic Orthopaedic Biomechanics*. New York, Raven Pres 293-336,1991.
62. Geesink RGT: Hydroxyapatite-coated total hip prostheses. Two-year clinical roentgenographic results of 100 cases. *Clin Orthop* 261:39-58, 1990.
63. Victor L.Caja MD.Moroni A. MD Hydroxyapatite Coated External Fixation Pin,An Experimental Study.*Clinical Orthopaedics And Related Research* Number 325, pp 269-275
64. Moroni A.Faldini C.Pegreff F,Giannini S, Fixation Strength of Tapered versus Bicylindrical Hydroxyapatite-Coated External Fixation Pins: An Animal Study, 2002 .63: 61–64
65. Moron AI.Heikkila J Magyar G.Toksvig S.Giannini S.Fixation Strenght and Pin Pin Tract Infectionof Hydroxyapatite-Coated Tapered Pins, *Clin. Orthop. And Relat. Res.* 2001.388.p. 209–217.
66. 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; 21:379–84.
67. Ewald A, Gluckermann SK, Thull R, Gbureck U. Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium. *Biomed Eng Online* 2006; 5:22.
68. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res* 1998;43: 338–348.

69. Busscher HJ, Bos R, van derMei HC. Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion. *FEMS Microbiol Lett* 1995;128:229–234.
70. Gottenbos B, van der Mei HC, Busscher HJ. Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers. *J Biomed Mater Res* 2000;50: 208–214.
71. Olson ME, Harmon BG, KollefMH. Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs. *Chest* 2002;121(3):863–70.
72. Karchmer TB, Giannetta ET, Muto CA, Strain BA, Farr BM. A randomized crossover study of silver-coated urinary catheters in hospitalized patients. *Arch Intern Med* 2000;160(21):3294–8.
73. Sheng WH, Ko WJ, Wang JT, Chang SC, Hsueh PR, Luh KT. Evaluation of antiseptic-impregnated central venous catheters for prevention of catheter-related infection in intensive care unit patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38(1):1–5.
74. Collinge CA, Goll G, Seligson D, Easley KJ. Pin tract infections: silver vs uncoated pins. *Orthopedics* 1994;17(5):445–8.
75. Liedberg H, Lundeborg T. Silver alloy coated catheters reduce catheter-associated bacteraemia. *Bvit J Urol* 1990; 65: 379-381.
76. Schaeffer AJ, Story KO, Johnson SM. Effect of silver oxide/trichloroisocyanuric acid antimicrobial urinary drainage system on catheter-associated bacteriuria. *J.Urol.* 1988; 139:69-73.
77. . G. Gosheger, J. Harges, H. Ahrens, Streitburger A, Buerger H. “Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects,” *Biomaterials.* 2004; 25: 5547–56
78. Masse` A. Bruno,M. Bosetti,A. Biasibetti,M. Cannas, P. Gallinaro, Prevention of Pin Track Infection in External Fixation with Silver Coated Pins: Clinical and Microbiological Results, Inc. *J Biomed Mater Res* 2000.53. 600–604,

79. Coster LM, Nepola J, Allan J, The Effects of Silver Coated External Fixation Pins, Iowa Ort.J.2006;26:48-53
80. Vik H, Andersen KJ, Julshamn K, Todnem K. Neuropathy caused by silver absorption from arthroplasty cement. *Lancet* 1985;1:872.
81. Hidalgo E, Dominguez C. Study of cytotoxicity mechanisms of silver nitrate in human dermal fibroblasts. *Toxicol Lett* 1998;98: 169–79.
82. W.Chena, Y. Liua, H.S Courtneya, M. Bettengaa, M. Agrawa, J.D. Bumgardnere, J.L. Onga, In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetronco-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating *Biomaterials* 2006.27. 5512–5517
83. White JM, Powell AM, Brady K, Russell-Jones R. Severe generalized argyria secondary to ingestion of colloidal silver protein. *Clin Exp Dermatol* 2003;28(3):254–6.
84. Steininger H, Langer E, Stommer P. Generalized argyrosis. *Dtsch Med Wochenschr* 1990;115(17):657–62.
85. Kuroyanagi Y, Kim E, Shioya N. Evaluation of a synthetic wound dressing capable of releasing silver sulfadiazine. *J Burn Care Rehabil* 1991;12(2):106–15
86. 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.
87. 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.
88. Perrelli G, Piolatto G. Tentative reference values for gold, silver and platinum: literature data analysis. *Sci Total Environ* 1992;120(1–2):93–6.
87. Sudmann E, Vik H, Rait M, Todnem K, Andersen KJ, Julsham K, et al. Systemic and local silver accumulation after total hip replacement using silver impregnated bone cement. *Med Prog Technol* 1994;20(3–4):179–84.

