

**İmplant Malzemelerine Antimikrobiyal Özellik
Kazandırılması**

Ceren Pekşen
Doktora Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü
Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı
Ağustos 2012

“Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca kabul edilen 080246 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.”



JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ceren PEKŞEN'in "İmplant Malzemelerine Antimikrobiyal Özellik Kazandırılması" başlıklı **Seramik Mühendisliği** Anabilim Dalındaki, Doktora tezi 28.05.2012 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Aydın DOĞAN
Üye	: Prof. Dr. Sinan SEBER
Üye	: Prof. Dr. Nusret KÖSE
Üye	: Prof. Dr. A.Savaş KOPARAL
Üye	: Yrd.Doç.Dr. Emrah DÖLEKÇEKİÇ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü



ÖZET

Doktora Tezi

İMLANT MALZEMELERİNE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİK KAZANDIRILMASI

Ceren PEKŞEN

Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Seramik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aydın DOĞAN
2012, 222 sayfa

Kırık tedavisi için yapılan operasyonlar sonrasında gelişen ve implant ilişkili enfeksiyonlardan birisi olan osteomyelit, Ortopedi ve Travmatolojinin en önemli sorunlarından birisidir. Enfeksiyonun önlenmesi için birçok teknik ve yöntem geliştirilse de bu sorun ortadan kaldırılamamıştır.

Bu çalışmada kemik enfeksiyonlarının önlenmesi için Ag^+ iyonu katkı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz elektrosprey yöntemi kullanılarak 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çiviler ve Ti6Al4V intramedüller çivilerin yüzeyine kaplanmıştır. Kaplanan numunelerin sinterlenmesi için radyo frekansı (RF) yöntemi kullanılmıştır. Numunelerin yüzey özellikleri Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ile incelenmiş ve içerdikleri metal iyonu miktarları Enerji Saçınımlı X-Işınları Difraksiyonu (EDX) ve X-Işınları Fotoelektron Spektrometresi (XPS) analizleri ile belirlenmiştir. Kaplamaların mekanik özellikleri yüzey çizilme dayanım testi ile belirlenmiştir. Kaplanan implant malzemelerin antimikrobiyal etkinlikleri *in vivo* testler ile araştırılmıştır. İmplantlar tavşanlara implante edilmiş, iyileşme için yeterli süre tamamlandığında implantlar çıkartılmış ve tavşanlar öldürülmüştür. Çıkartılan implantlar ve buldukları bölgeden alınan sürüntü örnekleri mikrobiyolojik ve histolojik olarak incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal, Ag^+ iyonu, elektrosprey kaplama, Ti6Al4V, 316L paslanmaz çelik

ABSTRACT

PhD Dissertation

FABRICATION OF IMPLANT MATERIALS WITH ANTIMICROBIAL PROPERTIES

Ceren PEKŞEN

Anadolu University
Graduate School of Sciences
Ceramic Engineering Program

Supervisor: Prof. Dr. Aydın DOĞAN
2012, 222 pages

Bone infections after orthopaedic surgery especially implant related osteomyelitis still one of the most important problem of Orthopaedics and Traumatology. Several techniques and methods have been developed to prevent infection but none have proved to be successful.

In this study, 316L stainless steel external fixator pins and Ti6Al4V intramedullary pins were electrospray coated by Ag⁺ doped calcium phosphate based ceramic powder to prevent local infections. Coated samples were sintered by using RF sintering. Surface characteristic of coated samples were investigated by Scanning Elektron Microscopy (SEM) and metal ion content of coatings were determined by Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDX) and X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). Mechanical properties of coatings were investigated by using scratch test method. Antimicrobial efficiency of metallic implants coated with Ag⁺ ion doped calcium phosphate based ceramic powder via *in vivo* tests. Implants were implanted to rabbits. After several weeks of implantation, rabbits were euthanized, lateral radiographs were taken of medullar canal and implant smear, bone and implant were microbiologically and histologically analyzed.

Keywords: Antimicrobial, Ag⁺ ion, electrospray deposition, Ti6Al4V, 316L stainless steel

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca bilgi ve desteğini hep yanımda bulduğum, kendisi ile çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Prof. Dr. Aydın DOĞAN'a en derin şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmalarımın yönlendirilmesi ve değerlendirilmesinde bana yol gösterici olan tez izleme jürimdeki hocalarım Prof. Dr. Nusret KÖSE ve Yard. Doç. Dr. Emrah DÖLEKÇEKİÇ'e ve görüş ve önerileri ile çalışmalarına katkıda bulunan Prof. Dr. A. Savaş KOPARAL ve Prof. Dr. Sinan SEBER'e teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalar için yapmış oldukları katkılarından dolayı Op. Dr. Ahmet ULUDAĞ ve Op. Dr. Remzi ÇAYLAK'a ve laboratuvar çalışmalarım süresince bana her türlü desteği veren başta Dr. Göktuğ GÜNKAYA olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu tezi yapabilmiş ve yazılabilmişsem sizin emeğiniz çok büyük; dedem Op. Dr. Ömer ERÇETİN'e teşekkürler...

Tüm hayatım boyunca bana her anlamda destek olan annem Dr. Yıldız PEKŞEN, babam Dr. H.Y. Fahrettin PEKŞEN ve tüm aileme sonsuz teşekkürler...

Ceren PEKŞEN
Ağustos 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xviii

1. GİRİŞ	1
1.1. İmplant Malzemeleri	4
1.1.1. Metaller	6
1.1.2. Polimerler	8
1.1.2.1. Doğal polimerler.....	8
1.1.2.2. Sentetik polimerler.....	9
1.1.3. Seramikler.....	11
1.1.3.1. Oksit seramikler.....	13
1.1.3.1.1. Alümina	13
1.1.3.1.2. Zirkonya.....	14
1.1.3.2. Kalsiyumfosfat seramikleri	15
1.1.3.3. Cam ve cam seramikler.....	16
1.1.3.4. Kompozitler.....	18
1.2. Ortopedi ve Travmatolojide İmplant Kullanımı	19
1.2.1. Ortopedi ve Travmatolojide Kullanılan İmplant Tipleri	20
1.1.1.1. Vidalar.....	20

1.2.1.2. Plaklar	21
1.2.1.3. Eklem protezleri	22
1.2.1.4. Eksternal fiksatorler	24
1.2.1.5. İntramedüller çiviler	26
1.3. Metalik İmplantların Kaplanması	29
1.3.1. Daldırma Yöntemi.....	31
1.3.2. Sputter Yöntemi	32
1.3.3. Sol-Jel Yöntemi	33
1.3.4. Plazma Sprey Kaplama	34
1.3.5. Elektrosprey Yöntemi.....	35
1.4. İmplant İlişkili Enfeksiyonlar	38
1.4.1. Antibiyotik Kullanımı ve Lokal İlaç Salınımı	39
1.4.2. İmplant Yüzeyi Modifikasyonları.....	40
1.4.2.1. Antibiyotik emdirilmesi	41
1.4.2.2. İmplantların HA ile kaplanması	41
1.4.2.3. Nitrik oksit içeren sistemler	42
1.4.2.4. TiO ₂ filmler	42
1.4.2.5. Gümüş içeren kaplamalar.....	44
1.4.3. Bakteriler İle İlgili Genel Bilgiler	46
1.4.3.1. <i>Escherichia coli</i>	46
1.4.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
1.4.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	49
1.4.3.4. <i>Staphylosus epidermidis</i>	51

2. AMAÇ VE ÖNEM	52
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	55
3.1. Kaplama İçin Kullanılacak Toz Üretimi	55
3.1.1. Hidroksiapatit Üretimi.....	55
3.1.2. Antimikrobiyal Toz Üretimi	56
3.1.2.1. Üretilen tozun karakterizasyonu	56
3.1.2.1.1. XRD analizi	56
3.1.2.1.2. SEM ve EDX analizleri	57
3.1.2.1.3. XRF analizi	57
3.1.2.1.4. XPS analizi	57
3.1.2.2. Ag ⁺ iyonu salınım miktarının belirlenmesi	58
3.1.3. Biyocam Üretimi.....	58
3.1.3.1. Üretilen biyocamların karakterizasyonu	59
3.1.3.1.1. XRD analizi	59
3.1.3.1.2. XRF analizi	59
3.1.4. Üretilen Tozların Mikrobiyolojik Analizleri	60
3.1.4.1. Halo Test Metodu	60
3.1.4.2. Agar Dilüsyon Test Metodu.....	60
3.2. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların Kaplanması.....	62
3.2.1. Plazma Sprey Yöntemi ile Kaplama Prosesi	62
3.2.2. Daldırma Yöntemi ile Kaplama Prosesi.....	62
3.2.2.1. Solüsyon hazırlanması	63
3.2.2.2. Kaplama prosesi	65
3.2.2.3. Sinterleme prosesi.....	69

3.2.2.4. Sinterlenmiş implantların karakterizasyonu.....	71
3.2.3. Elektrosprey Yöntemi ile Kaplama Prosesi.....	71
3.2.3.1. Solüsyon hazırlanması	71
3.2.3.2. Kaplama prosesi	71
3.2.3.3. Sinterleme prosesi.....	72
3.2.3.4. Sinterlenmiş implantların karakterizasyonu.....	72
3.2.3.5. 316L paslanmaz çelik implantların <i>in vivo</i> deneyleri.....	72
3.2.3.5.1. <i>In vivo</i> deneylerde kullanılmak üzere kaplamaların hazırlanması	73
3.2.3.5.2. <i>In vivo</i> deneyler	73
3.3. Ti6Al4V İmplantların Kaplanması	78
3.3.1. Ti6Al4V İmplantların HA İle Kaplanması.....	78
3.3.2. Ti6Al4V İmplantların Biyocam İle Kaplanması.....	78
3.3.3. Ti6Al4V İmplantların ABT İle Kaplanması.....	79
3.3.4. Ti6Al4V İmplantların Biyocam Üzerine ABT İle Kaplanması.....	79
3.3.5. Sinterleme Prosesi.....	80
3.3.6. Sinterlenmiş İmplantların Karakterizasyonu	80
3.3.6.1. SEM analizi	80
3.3.6.2. EDX analizi	80
3.3.6.3. XPS analizi.....	80
3.3.7. Ti6Al4V İmplantlara Uygulanan Mekanik Testler	81
3.3.7.1. Yüzey çizilme dayanımlarının incelenmesi	81
3.3.7.2. Mikrosertlik testi	82
3.3.8. Ti6Al4V İmplantların <i>In vitro</i> Deneyleri	82
3.3.8.1. Kaplanmış numunelerin mikrobiyolojik analizleri.....	82

3.3.8.2. Besiyerinde kantitatif kültür sayımı.....	83
3.3.8.3. İmplant yüzeyinde kantitatif kültür sayımı	84
3.3.8.4. İmplantlar yüzeylerinin SEM ile incelenmesi.....	83
3.3.9. Ti6Al4V İmplantların <i>In vivo</i> Deneyleri	84
3.3.9.1. <i>In vivo</i> deneylerde kullanılmak üzere kaplamaların hazırlanması.....	84
3.3.9.2. <i>In vivo</i> deneyler	85

4. TOZ ÜRETİMİ – SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME 90

4.1. Hidroksiapatit Tozunun Karakterizasyonu	90
4.2. Antimikrobiyal Tozun Karakterizasyonu	91
4.2.1. Ag ⁺ İyonu Salınım Miktarının Belirlenmesi.....	97
4.3. Üretilen Biyocam Kompozisyonlarının Karakterizasyonu.....	98
4.4. Üretilen Tozların Antimikrobiyal Etkinliği.....	103
4.4.1. Halo Test Methodu.....	103
4.2.1. Agar Dilüsyon Test Methodu	105

5. 316L PASLANMAZ ÇELİK İMPLANTLARIN KAPLANMASI

ve <i>In Vivo</i> DENEYLER – SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME 107	107
5.1. Plazma Sprey Kaplama Yöntemi	107
5.2. Daldırma Yöntemi.....	110
5.2.1. Kaplanmış Numunelerin Stereo Mikroskop Görüntüleri	109
5.2.2. Sinterlenmiş Numunelerin Stereo Mikroskop Görüntüleri	115
5.2.3. SEM ve EDX Analizleri.....	120
5.3. Elektrosprey Kaplama Yöntemi.....	132

5.3.1. Kaplama İçin Kullanılacak Solüsyonların Hazırlanması	132
5.3.2. Kaplanmış İmplantların Karakterizasyonu	139
5.4. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların <i>In Vivo</i> Deneyleri.....	144
5.4.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar	144
5.4.2. Histopatolojik sonuçlar.....	146
5.4.3. Çivilerin Tork Değerlerinin Belirlenmesi.....	152

6. Ti6Al4V İMPLANTLARIN KAPLANMASI, *In Vitro* ve *In Vivo*

DENEYLERİ– SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME	155
6.1. Elektrosprey Kaplama Süresinin Belirlenmesi	155
6.2. Ti6Al4V İmplantların Karakterizasyonu.....	159
6.2.1. SEM Analizi	159
6.2.2. EDX Analizi	163
6.2.3. XPS Analizi	171
6.3. Ti6Al4V İmplantlara Uygulanan Mekanik Testler	173
6.3.1. Yüzey Çizilme Dayanımlarının İncelenmesi.....	173
6.3.2. Mikrosertlik Testi.....	186
6.4. Ti6Al4V İmplantların <i>In Vitro</i> Deneyleri.....	188
6.4.1. Besiyerinde Kantitatif Kültür Sayımı.....	188
6.4.2. İmplantlardan Kantitatif Kültür Sayımı	190
6.4.3. İmplant Yüzeylerinin SEM ile İncelenmesi	190
6.5. Ti6Al4V İmplantların <i>In Vivo</i> Deneyleri.....	195
6.5.1. Hematolojik Sonuçlar.....	195
6.5.2. Mikrobiyolojik Sonuçlar	197
6.5.3. Histopatolojik İnceleme.....	199

6.5.4. Kanda Gümüş İyonlarının Tespiti.....	203
6.5.5. Organlarda Gümüş İyonlarının Tespiti.....	203
7. GENEL SONUÇLAR	204
7.1. Toz Üretimi.....	204
7.2. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların Kaplanması ve <i>In Vivo</i> Deneyleri...	205
7.3. Ti6Al4V İmplantların Kaplanması, <i>In Vitro</i> ve <i>In Vivo</i> Deneyleri.....	208
KAYNAKLAR	209

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. İmplant malzemelerinin çeşitleri.....	5
1.2. Alümina kalça kemiği protezi.....	13
1.3. HA implant uygulamaları (a) yapay göz implantı (b) metalik implant kaplaması.....	15
1.4. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan çeşitli implantlar.....	20
1.5. Ortopedi ve Travmatolojide kullanılan farklı tipteki plaklar.....	21
1.6. Plağın radyolojik görüntüsü.....	22
1.7. Kalça protezinin radyolojik görüntüsü.....	23
1.8. Eklem protezleri (a) kalça protezi ve (b) diz protezi.....	24
1.9. Eksternal fiksatorün kullanımı	26
1.10. Daldırma yöntemi ile kaplama prosesi.....	31
1.11. Sputter yönteminin şematik gösterimi.....	32
1.12. Sol-jel prosesi	34
1.13. Plazma spray kaplamanın şematik gösterimi.....	35
1.14. Dikey elektrosprey kaplama ünitesinin şematik gösterimi.....	37
1.15. <i>E.coli</i> kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	47
1.16. <i>P.aeruginosa</i> kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.....	48
1.17. <i>S. aureus</i> kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	50
1.18. <i>S. epidermidis</i> kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	51
3.1. Tek tabakalı kaplamaların şematik olarak gösterimi.	66
3.2. Çift tabakalı kaplamanın şematik olarak gösterimi.....	66
3.3. Sinterleme prosesisin gerçekleştirildiği tüp fırının şematik gösterimi.....	69
3.4. Kılavuz tel ile giriş deliğinin açılması.....	74
3.5. Çivinin tork metre yardımı ile yerleştirilmesi	75
3.6. Çivilerin yerleştirilip uygun boyda kısaltılması sonrası.....	75
3.7. Çivilerin yumuşak dokudan temizlenmiş hali.	76
3.8. 6P57ABT üzerine ABT kaplamanın şematik olarak gösterimi.	79
3.9. Yüzey çizilme dayanımı testinin şematik gösterimi.	81
3.10. Mikrosertlik testinin gösterimi.....	82

3.11. Femur interkondiler bölgeden 2,5mm lik dril ucu yardımı ile giriş deliğinin açılması.....	86
3.12. Bakteri inokulasyonu.....	86
3.13. İmplantın femur medullasına yerleştirilmesi.....	87
3.14. İmplant yerleştirilmiş kemik kesitinden alınan (a) ışık mikroskobu (b) SEM görüntüsü.....	88
4.1. HA tozuna ait XRD analizi sonucu.....	90
4.2. ABT tozuna ait XRD analizi sonucu.....	91
4.3. ABT tozuna ait SEM görüntüsü.....	93
4.4. ABT tozuna ait tane boyut dağılım grafiği (a) ultrasonik homojenizasyon öncesi (b) ultrasonik homojenizasyon sonrası.....	94
4.5. ABT tozuna ait EDX analizi sonucu.....	95
4.6. ABT tozuna ait XPS analizi spektrumu.....	96
4.7. ABT tozunun içerdiği Ag^+ iyonunun Laktatlı Ringer solüsyonunda salınım miktarı grafiği.....	97
4.8. 10 $\mu g/ml$ kontrol grubu ve ABT tozunun V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin MIT testi ile değerlendirilmeleri.....	98
4.9. (a) 6P57 ve (b) 6P57ABT biyocamlarına ait XRD analizi sonuçları.....	99
4.10. 45S5 biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analizi sonucu.....	101
4.11. 6P57 biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analiz sonucu.....	102
4.12. 6P57ABT biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analiz sonucu.....	102
4.13. (a)HA ve (b)ABT tozlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	104
4.14. 6P57ABT kompozisyonuna ait mikrobiyolojik analiz sonucu.....	104
5.1. ABT granüllerine ait SEM görüntüsü.....	107
5.2. ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü.....	108
5.3. 316L paslanmaz çelik üzerine plazma sprey yöntemi ile kaplanmış ABT tozuna ait EDX analizi.....	109

5.4. Kaplama sonrası tek tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) S1 (b) S2 (c) S3 (d) S4 (e) S5 (f) S6 (g) S7 (h) S8 (i) S9 solüsyonları ile hazırlanan kaplamalar	111
5.4. (Devam) Kaplama sonrası tek tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) S1 (b) S2 (c) S3 (d) S4 (e) S5 (f) S6 (g) S7 (h) S8 (i) S9 solüsyonları ile hazırlanan kaplamalar	112
5.5. Kaplama sonrası (a) ince ve (b) kalın olarak kaplanmış numunelere ait stereo mikroskop görüntüsü.	113
5.6. Kaplama sonrası çift tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) T1 (b) T1*(c) T2 (d) T2*.....	114
5.7. Sinterleme işlemi sonrası (a) K1 ve (b) K2 nolu kaplamalara ait farklı büyütme oranlarında alınmış stereo mikroskop görüntüleri.	116
5.8. Sinterleme işlemi sonrası kaplamalara ait farklı büyütme oranlarında alınan stereo mikroskop görüntüleri (a) K3 (b) K4 (c) K5 (d) K6 (e) K7 (f) K8 (g)K9.....	118
5.8. (Devam) Sinterleme işlemi sonrası kaplamalara ait farklı büyütme oranlarında alınan stereo mikroskop görüntüleri (a)K3 (b)K4 (c)K5 (d) K6 (e) K7 (f) K8 (g) K9.....	119
5.9. K1 nolu kaplamaya ait SEM görüntüsü	120
5.10. K3 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası elde edilen SEM görüntüsü.....	121
5.11. K5 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası elde edilen SEM görüntüsü.....	122
5.12. K6 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası elde edilen SEM görüntüsü.....	123
5.13. K6 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası farklı büyütme oranlarında SEM görüntüleri (a) 10000 büyütme (b) 20000 büyütme.....	124
5.14. K8 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası elde edilen SEM görüntüsü.....	125
5.15. K6 nolu kaplamadan EDX analizi için alınan noktalar.....	126
5.16. K7 nolu kaplamadan EDX analizi için alınan noktalar.....	128
5.17. K8 nolu kaplamadan EDX analizi için alınan noktalar.....	129
5.18. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan HA için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemi tane boyut dağılım grafikleri.....	133
5.19. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan ABT için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemi tane boyut dağılım grafikleri.....	134

5.20. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan 6P57ABT için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemi tane boyut dağılım grafikleri.....	135
5.21. HA solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sisteminde zeta potansiyeli dağılım grafikleri	136
5.22. ABT solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemi zeta potansiyeli dağılım grafikleri.	137
5.23. 6P57ABT solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sisteminde zeta potansiyeli dağılım grafikleri	138
5.24. HA solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra.....	139
5.25. ABT solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra.....	139
5.26. 6P57ABT solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra	140
5.27. Kaplanmamış 316L paslanmaz çelik implanta ait SEM görüntüsü	141
5.28. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait SEM görüntüsü	141
5.29. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış implanta ait SEM görüntüsü	142
5.30. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait SEM görüntüsü.....	142
5.31. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait EDX analizi.....	143
5.32. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü	148
5.33. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait dörtlü objektif ile alınarak birleştirilen ışık mikroskobu görüntüsü	148
5.34. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki alanlardan alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.	149
5.35. Grup 2'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.	150

5.36. Grup 1’den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait dörtlü objektif ile alınarak birleştirilen ışık mikroskobu görüntüsü	150
5.37. Grup 3’den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.....	151
5.38. Grup 1’den seçilen implant çevresindeki alanlardan alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.....	151
6.1. Ti6Al4V implantların 1 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	156
6.2. Ti6Al4V implantların 2 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	156
6.3. Ti6Al4V implantların 3 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	157
6.4. Ti6Al4V implantların 4 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	157
6.5. Ti6Al4V implantların 5 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	158
6.6. Ti6Al4V implantların 7 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü.....	158
6.7. HA kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü	159
6.8. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü.....	161
6.9. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü ..	161
6.10. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütmelerde alınan SEM görüntüsü (a) 5000 büyütme (b) 10000 büyütme	162
6.11. HA kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri.....	163
6.12. HA kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları.....	164
6.13. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri	165

6.14. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları	166
6.15. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen (a)Ti6Al4V altlık ile (b) sadece kaplamanın kimyasal kompozisyon değerleri.....	167
6.16. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları	168
6.17. 6P57ABT /ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen (a)Ti6Al4V altlık ile (b) sadece kaplamanın kimyasal kompozisyon değerleri.....	169
6.18. 6P57ABT/ ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları	170
6.19. Kaplamaların XPS analizi spektrumu.	171
6.20. Kaplamaların XPS ve SEM/EDX analizleri sonucunda ağırlıkça %Ag ⁺ miktarı değişim grafiği	172
6.21. HA kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği.....	174
6.22. HA kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği.....	174
6.23. HA kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme	175
6.24. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği.....	177
6.25. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği	177
6.26. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme	178
6.27. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği ...	180
6.28. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği.	180
6.29. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme	181

6.30. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği	183
6.31. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği.....	183
6.32. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alanan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme	184
6.33. ABT ve 6P57ABT/ABT kaplanmış implantların mikrosertlik testi sonuçları (Θ =standart sapma)	186
6.34. (a) ABT ve (b) 6P57ABT/ABT kaplanmış implantların mikrosertlik testi görüntüleri.....	187
6.35. İnkübasyon sonrası kaplanmamış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme alanan SEM görüntüleri (a) 500 büyütme (b) 5000 büyütme.....	191
6.36. İnkübasyon sonrası HA ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme alanan SEM görüntüleri (a)500 büyütme (b)5000 büyütme	192
6.37. İnkübasyon sonrası 6P57ABT/ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme alanan SEM görüntüleri (a) 500 büyütme (b) 5000 büyütme	193
6.38. (a)ABT ile kaplanmış implantın kaplanmış ve kaplanmamış kısımlarının stereo mikroskop görüntüsü (10x) (b) 6P57ABT/ABT kaplanmış implantın kaplanmamış kısmının SEM görüntüsü (c) 6P57ABT/ABT kaplanmış implantın kaplanmış kısmının SEM görüntüsü.....	194
6.39. Grup 1'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.	201
6.40. Grup 2'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü	202
6.41. Grup 3'ten seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü.	202

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. Vücutta kullanılan implant malzemeleri ve özellikleri	18
1.2. HA kaplama için kullanılan tekniklerin avantaj ve dezavantajları	30
3.1. Daldırma yöntemi ile yapılacak tek tabakalı kaplamalar için hazırlanan solüsyonların içerdikleri toz-alkol miktarları	63
3.2. Daldırma yöntemi ile yapılacak çift tabakalı kaplamalar için hazırlanan solüsyonların ağırlıkça yüzde oranları	64
3.3. Solüsyon hazırlama prosesinde kullanılan yöntemler ve kullanım süreleri	65
3.4. Tek tabakalı kaplamalar için kaplama prosesi parametreleri	67
3.5. İnce ve kalın kaplama denemelerinde kullanılacak solüsyonun kaplama prosesi parametreleri	68
3.6. Çift tabakalı kaplamalar için kaplama prosesi parametreleri.	68
3.7. İlk sinterleme denemesine tabi tutulan numuneler	69
3.8. İkinci sinterleme denemesine tabi tutulan numuneler	70
4.1. ABT tozuna ait XRF analizi sonucu	92
4.2. ABT tozunun XPS analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri	96
4.3. 6P57 ve 6P57ABT biyocamlarına ait XRF analizi sonuçları.	100
4.4. HA tozun agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48.saatte antibakteriyel etkinliğinin dağılımı	105
4.5. ABT tozun agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48.saatte antibakteriyel etkinliğinin dağılımı	106
5.1. K6 nolu kaplamadan EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri	127
5.2. K7 nolu kaplamadan EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri	128
5.3. K8 nolu kaplamadan EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri	130
5.4. Daldırma yöntemi ile yapılan farklı kaplamaların avantaj ve dezavantajlarının gösterimi	131

5.5. Kemik sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi	145
5.6. İmplant dilüsyonel kültürlerin mikrobiyolojik incelenmesi	145
5.7. Histolojik örneklerde görülen inflamasyon yoğunluğu.....	147
5.8. Tellerin sıkma ve sökme tork değerleri	153
6.1. Kaplamaların XPS analizi sonucu elde edilen ağırlıkça element yüzdeleri	172
6.2. Kantitatif kültür sayımı sonuçları	189
6.3. Sonikasyon sonrası bakteri sayımı sonuçları.....	190
6.4. Kan Hgb seviyeleri.....	195
6.5. Kan WBC sayımları	196
6.6. Kan trombosit sayımları	196
6.7. 0., 2. ve 10 hafta serum CRP seviyeleri	197
6.8. 6. hafta serum CRP seviyeleri.....	197
6.9. İntramedüller sürüntü kültürü sonuçları	198
6.10. İmplant üzerinden yapılan kantitatif kültür sonuçları	199
6.11. Histolojik örneklerin enflamasyon bulgularına göre incelenmesi	200
6.12. Histolojik örneklerin fibröz doku oluşumuna göre incelenmesi.....	200

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda bazı organların ya da organların bazı kısımlarının fonksiyonlarını yerine getiremez duruma gelmesi, insanlar tarafından yapay olarak geliştirilen malzemelerin kullanımını gündeme getirmiştir. Vücut içersine tedavi ya da onarım (rekonstrüktif) amacı ile geçici ya da kalıcı olarak ,dahili ya da harici bir şekilde yerleştirilen ve vücut dokuları ile uyumluluk gösteren malzemeler “implant malzemeleri” olarak adlandırılmaktadır. Başarısı tartışılmakla birlikte implant kullanımının oldukça eski zamanlara dayandığı bilinmektedir. Ancak malzeme bilimi ve teknolojisindeki gelişmeler, steril koşulların geliştirilmesi gibi yenilikler ile başarılı implant uygulanması geçen asırdan itibaren kendini göstermiştir [1,2]. 2010 yılına kadar Amerika Birleşik Devletleri’nde 4.4 milyon insanda en az bir adet internal fiksasyon cihazı, 1.3 milyon insanda ise eklem protezi bulunduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan 2010 yılı itibari ile biyomalzeme marketi 300 milyon dolar civarındadır ve her yıl % 20 oranında artış göstermektedir[3].

İmplant malzemeleri insan vücuduna yerleştirildikten sonra enfeksiyon riski taşımaktadır. Ortopedik cerrahide özellikle açık kırık ve eklem revizyon ameliyatlarında bu risk daha yüksek oranlara ulaşmaktadır [4,5]. İmplantla bağlı oluşan enfeksiyon oranının total kalça protezi ameliyatları sonrasında %0.5 ile %3 arasında olduğu, bu oranın enfekte olmuş protezin revizyonu sonrasında ise %14’e ulaştığı saptanmıştır [1,6]. Kapalı kırıklarda oluşan enfeksiyon oranı (%1.5), açık kırıklara göre (%3-40) daha düşük olduğu bildirilmektedir [4]. Enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar ameliyathanelerden, cerrahi aletlerden, ameliyat önlüklerinden, hastanın derisinde ya da vücudunda kullanılan bakterilerden kaynaklanmaktadır [7].

İmplantın insan vücuduna yerleştirilmesinden sonra oluşan implant ilişkili enfeksiyon; bakterilerin implant malzemesinin yüzeyine yapışması ve kolonizasyonu ile oluşmaktadır. Sonraki adımda implant malzemesinin yüzeyinde bakteri oluşumu gözlemlenmektedir. Biofilm oluşumu ise implant yüzeyinde hızlı bir şekilde bağlanma ile başlar ve hücre dışı polisakkarit matriste

çok tabakalı hücrel proliferasyon ve hücre içi yapışma ile devam eden iki aşamada meydana gelir [4,8].

Bakteri yapışmasını takiben oluşan film hem bağışıklık sistemi hem de antibiyotiklere karşı direnç gösterdiği için, implant ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için gerekli olan koşul bakterilerin malzemeye yapışmasının engellenmesidir. Antibiyotik direnci biyofilmin genel bir özelliğidir ve biyofilm yapısının kompakt doğası, hücre büyüme hızında meydana gelen düşüş ve biyofilm üzerindeki bakterilerin solunumu gibi birçok faktöre dayanmaktadır. Aynı zamanda biyofilmden ayrılan bakterilerin diğer dokulara ve dolaşım sistemine geçebilmesi de mümkündür [9].

Patojen mikroorganizmalar özellikle gram-pozitif *S.aureus* ve *S.epidermidis*, tüm implantların %90'nının yüzeyinde tespit edilmiştir. Gram-negatif *E.coli*, *P.aeruginosa* ve *Proteus* diğer mikro organizmalar olup, implant ilişkili enfeksiyonlarda etkili olmaktadır [10,11].

Modern tıbbın sahip olduğu bütün olanaklara rağmen, günümüzde hastanede yatan hastalar için en önemli risklerden birisi hastanede yatış süresinin uzunluğu ve bu süre içerisinde kazanılan “hastane enfeksiyonu”(nasocomial enfeksiyon) olarak adlandırılan enfeksiyonlardır. Yapılan araştırmalarda, hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan etken mikroorganizmalar arasında *S.aureus*'un önemli yer tuttuğu tespit edilmiştir. *S.aureus* insanlarda lokal ve yaygın enfeksiyonlar yanında, toksinlerinin sebep olduğu toksik şok sendromuna ve gıda zehirlenmelerine de yol açmaktadır. *S.aureus* ve diğer stafilokoklara oldukça etkili olan penisilinaza dirençli metisilin 1960'lı yılların hemen başında kullanılmaya başlanmıştır. Ancak, birkaç yıl içerisinde önce İngiltere sonra Türkiye'den MRSA suşları bildirilmiştir. Başlangıçta MRSA suşları ile seyrek olarak karşılaşılmasına rağmen, 1968 yılından itibaren MRSA suşları ile hastane enfeksiyonlarının meydana geldiği kaydedilmiştir [12].

MRSA'ların sebep olduğu hastane enfeksiyonlarına dünyanın tüm ülkelerinde sıklıkla rastlanmaktadır. Antibakteriyel tedavi alanındaki hızlı gelişmelere rağmen bu bakterilerin etken olduğu enfeksiyonların tedavisinde karşılaşılan güçlükler, enfeksiyonun önemini artırmaktadır. MRSA suşları

dağılım açısından farklılıklar göstermesine rağmen tüm ülkelerde dirençlilik özellikleri bakımından benzerlikler görülmektedir. Metisiline direnç, stafilokok enfeksiyonlarında β -laktam antibiyotiklerin kullanılabilirliğinin ölçütü olarak kabul edilmekte, metisiline dirençli suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde β -laktam antibiyotiklerin önerilmediği belirtilmektedir. Siprofloksasin, son yıllarda MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir antibakteriyeldir. Ancak bu yaygın kullanım sonucu birçok ülkede dramatik bir şekilde direnç artışı (%49-76) olduğu rapor edilmiştir. Bu sebeple RMP ve siprofloksasin kombinasyonunun gerek daha etkin olması gerekse direnç gelişiminin az görülmesi sebebiyle MRSA enfeksiyonlarının tedavisinde çok uygun olduğu bildirilmektedir [12].

Etken mikroorganizma miktarı belli oranın üzerine çıktığında, kişisel ve çevresel özelliklere bağlı olarak, değişik şiddetler de bulaşıcı hastalıklar hatta salgınlar (epidemi) ortaya çıkabilir. Toplumun sağlıklı olabilmesi, toplumu oluşturan bireylerin sağlıklarının korunması ile olasıdır. Bu nedenle, yaşanan ve çalışılan ortamlarda, kullanılan ürünlerde hijyenin sağlanması, hastalık oluşturabilecek mikroorganizmalardan arındırılması insanların günlük yaşamında giderek önem kazanmaktadır [13].

Metal iyon katkılı antibakteriyel seramik toz katkısı ile hazırlanan uygulamalar sonucunda “hijyenik ortamlar” için başarılı sonuçlar elde edilmiş ve antimikrobiyal tozun insan vücudunda, özellikle enfeksiyon riski taşıyan implant malzemelerine kaplanarak uygulanması gündeme gelmiştir.

1.1. İmplant Malzemeleri

İlk başarılı sentetik implantlar,iskeletteki kırıkların tedavisinde kullanılan kemik plaklarıdır.1937’de kullanılmaya başlayan polimetilmetakrilat ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen kalça kemiği protezi olarak kullanılmıştır.II.Dünya Savaşı’ndan sonra Vinyon N adıyla bilinen poliamid paraşüt bezi, damar protezlerinde kullanılmıştır.Bunu 1950’lerde kan damarlarının değişimi ve yapay kalp kapaklarının geliştirilmesi,1960’lar da ise kalça protezleri izlemiştir. O dönemlerde kalp ile ilgili cihazlarda esnek yapılı sentetik bir polimer olan “poliüretan” kullanılırken, kalça protezlerinde “paslanmaz çelik” kullanılmıştır.Bu gelişmelerin ardından 1970’lerde ilk sentetik, bozunur yapıdaki ameliyat ipliği, poliglikolik asitten üretilmiştir. Son 50 yılda 40’dan fazla metal, polimer ve seramik malzeme,vücudun 40’dan fazla değişik kısmının onarımı ve yenilenmesi için kullanılmıştır [1,2].

İdeal bir implantın; yumuşak dokular tarafından fizik olarak etkilenmemesi, yabancı cisim reaksiyonu ve enflamasyona neden olmaması, allerji ve hipersensitiviteye yol açmaması, kimyasal olarak inert olması, non-karsinojenik olması, yapısını ve devamlılığını koruyabilmesi, istenilen şekli alabilmesi, sterilize edilebilmesi ve yeterli mekanik özelliklere sahip olması gerekmektedir [15,16].

İmplant malzemeleri metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olmak üzere başlıca dört ana grupta toplanmaktadır. Şekil 1.1 ile implant malzemelerinin çeşitleri verilmiştir.



Şekil 1.1. İmplant malzemelerinin çeşitleri

1.1.1. Metaller

Biyomalzeme alanında metal ve metal alaşımlarının oldukça önemli bir yeri vardır. Kristal yapıları ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar nedeniyle üstün mekanik özellikler taşıyan metal malzemelerin implant materyali olarak kullanım oranı yüksektir. Bir yandan ortopedik uygulamalarda eklem protezi ve kemik yenileme malzemesi olarak kullanılırken, diğer yandan yüz ve çene cerrahisinde, örneğin diş implantı gibi ya da kalp ve damar cerrahisinde yapay kalp parçaları, kateter, kalp kapakçığı olarak da kullanılmaktadırlar. Metallerin biyomalzeme pazarındaki en büyük payını ise tanı ve tedavi amaçlı aletlerin metalik aksanları oluşturmaktadır [1].

İnsan vücudunda kullanılmak üzere geliştirilen ilk metal “Sherman-Vanadyum Çeliği”dir. Biyomalzeme üretiminde kullanılan, demir, bakır, krom, kobalt, nikel, titanyum, tantal, molibden ve vanadyum gibi çok sayıda metal, az miktarda kullanılmak koşuluyla canlı vücuduna uygunluk gösterirler. Vücut içerisinde fazla miktarda bulunması zararlı olan bu metaller metabolizma faaliyetleri sırasında da oluşabilirler. Kobaltın B12 vitamininden sentezlenmesi ya da demirin hücre fonksiyonu olarak meydana gelmesi örnek olarak gösterilebilir [1].

Diş hekimliği uygulamalarında dental amalgam alaşımları; kalp kapakçığı, eklem protezleri, vida, plak uygulamalarında kobalt-krom alaşımları; ortopedik uygulamalarda titanyum alaşımları; kırık tedavisi ve vasküler stentlerde ise paslanmaz çelik yaygın olarak kullanılmaktadır.

Metallerin biyolojik ortama uygunluğu vücut içerisinde korozyona uğramaları ile bağlantılıdır. Korozyon, metallerin çevreleri ile istenmeyen bir kimyasal reaksiyona girerek oksijen, hidroksit ve diğer başka bileşikler oluşturarak bozunmasıdır. İnsan vücudundaki akışkan, su, çözülmüş oksijen, klorür ve hidroksit gibi çeşitli iyonlar içerir. Bu nedenle insan vücudu implant olarak kullanılan metaller için oldukça korozif bir ortamdır. Malzeme, korozyon sonucu zayıflar, aynı zamanda korozyon ürünleri doku içerisine girerek hücrelere zarar verirler. Soy metallerin korozyona karşı direnci ise çok yüksektir. Paslanmaz

çelik, demir ve karbon elementleri ile krom, nikel, mangan, molibden, vanadyum içermektedir. Bu elementler çeliğin korozyon dayanımını arttırmaktadır. Kobalt ve titanyum yüksek korozyon dayanımına sahip olduklarından dolayı eklem protezleri uygulamalarında tercih edilmektedirler [17-19].

En yaygın olarak kullanılan metalik malzemeler 316L paslanmaz çelik, CoCr alaşımları ve Ti alaşımlarıdır [1,15]. İmplant malzemesi olarak kullanılan metalik malzemelerde mekanik özellikler kadar, yüksek korozyon direncine sahip olmaları da önemli bir faktördür. En yaygın olarak kullanılan metalik implant malzemesi 316 L paslanmaz çelikte; 316 malzemenin östenit yapıda olduğunu, L ise karbon miktarının düşük olduğunu göstermektedir. Karbon miktarının düşük tutulması ile korozyon direncinin düşmesine sebep olan tane sınırlarında karbit (krom-karbon) birikimi engellenmektedir. 316 L alaşımına Mo ilavesi ile tane sınırlarında korozyon dayanımını arttırmakta, Cr ilavesi ise metal yüzeyinde kromoksit tabakası oluşumuna sebep olmaktadır. Paslanmaz çelik, Ti ve Co-Cr-Mo alaşımları ile karşılaştırıldığında, biyouyumluluk ve korozyon direnci olarak zayıf kalmaktadır. Co-Cr implant alaşımlarını, nikel içeren ve içermeyen olarak iki ana grupta toplamak mümkündür. En yaygın olarak kullanılan alaşımlar ise Co-Ni-Cr-Mo ve Co-Cr-Mo alaşımlarıdır. Co-Ni-Cr-Mo alaşımı ağırlıkça %25-27 oranlarında nikel içerir, yüksek korozyon direncine sahip olmakla birlikte toksik etki ve immunojenik etkilere de sahiptir. Aynı zamanda düşük aşınma dayanımından dolayı eklem protezlerinde tercih edilmezler. Co-Cr-Mo alaşımının kullanımı daha yaygındır [20,21].

Ti6Al4V saf titanyuma oranla çok daha iyi mekanik özelliklere sahip olmasından dolayı kalça protezi olarak yaygın kullanıma sahiptir. Ti6Al4V alaşımı hekzagonal sıkı paket (HSP) ve yüzey hacim merkezli kübik (HMK) yapıda bulunmaktadır. Aluminyum (ağırlıkça %5,5-6,5) HSP yapıyı stabilize ederken, vanadyum (ağırlıkça %3,5-4,5) ise HMK yapıyı stabilize etmektedir. Alaşımın mikroyapısı ve mekanik özellikleri termomekaniksel proses şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Alaşımın yavaşça ısıtılması durumunda, HMK yapı belirgin hale gelmekte ve korozyon direnci ve mukavemeti kötü yönde etkilenmektedir. Ti alaşımları, 316 L paslanmaz çelik ve Co-Cr-Mo alaşımları ile karşılaştırıldığında, yüksek korozyon direncine sahiptir. Ti6Al4V alaşımı ve saf

titanyumu yüzeyde oluşan pasif oksit tabaka korumaktadır. Bu stabil ve yapışık pasif oksit film implantı, çukurlaşma korozyonu, intergranüler korozyon ve çukurlaşma korozyonuna karşı korumakta ve biyouyumluluk kazandırmaktadır. Aynı zamanda Ti alaşımlarının mekanik özellikleri kemiğin mekanik özelliklerine yakın olduğu için yaygın kullanım alanı bulmuştur [22, 23].

1.1.2. Polimerler

Biyomalzeme alanında polimerik malzemeler yumuşak dokulara benzer fiziksel özelliklere sahip olduklarından, yaygın bir kullanım alanına sahiptirler. Polimer; küçük, tekrarlanabilir birimlerin oluşturduğu uzun-zincirli moleküllerdir. Tekrarlanan birimler, “mer” olarak adlandırılır. Senteze başlarken kullanılan küçük molekül ağırlıklı birimler ise “monomer” adı verilir. Polimerizasyon sırasında, monomerler doygun hale gelerek (zincir polimerizasyonu) ya da küçük moleküllerin yapıdan ayrılması ile (H_2O veya HCl) değişir ve “mer” halinde zincire katılırlar. Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık gösterir. Bu nedenle uygulama alanına yönelik olarak uygun polimer seçimi dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Polietilen, poliüretan, politetrafloroetilen, poliasetal, polimetilmetakrilat, polietilenteraftalat, silikon kauçuk, polisülfon, polilaktik asit ve poliglikolik asit gibi çok sayıda polimer, tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır [24].

Polimerik malzemeler tıbbi cihazlarda, vasküler protezlerde, kontakt lenslerde ve kateter uygulamalarında geniş bir kullanıma sahiptirler. Biyomalzeme olarak kullanılan polimerler doğal ve sentetik (yapay) olarak gruplandırılır [19, 25].

1.1.2.1. Doğal polimerler

Doğal polimerler biyolojik olarak üretilen ve benzersiz işlevsel özelliklere sahip olan polimerlerdir. Başlıca doğal polimerler kollajen, jelatin, elastin, aktin

gibi proteinler; selüloz, nişasta, dekstran, kitin gibi polisakkaritler ve DNA ve RNA gibi polinükleotidlerdir. Doğal polimerlerin dezavantajları;yaşayan organizmaların karmaşık yapılarından dolayı üretim maliyetlerinin yüksek olması ve yeterince büyük ölçeklerde üretimin olmamasıdır. Doğal polimerler sahip oldukları işlevsel özellikler nedeniyle değişik kullanım alanlarına sahiptirler. Kalınlaştırıcı, jel yapıcı, bağlayıcı, dağıtma ajanı, kayganlaştırıcı, yapıştırıcı ve implant materyali olarak kullanım alanına sahiptirler.

Doğal polimerler biyomalzeme alanının vazgeçilmez kaynaklarıdır. Biyolojik ortamdaki makromoleküllerin benzeri veya aynısı olduklarından canlı vücudu ile temas ettiklerinde toksik etki ve enfeksiyon gibi istenmeyen reaksiyonlar vermezler. Ancak elde edildikleri kaynağa bağlı olarak bileşimlerinin değişmesi, yüksek sıcaklıklarda bozunmaları ve bundan dolayı şekillendirilmede güçlük ve tüm bunların ötesinde immünojenik olmaları önemli dezavantajlarıdır. Enzim varlığında yapılarının bozunması yani biyobozunur olmaları ise geçici uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler için bir avantajdır [17].

1.1.2.2. Sentetik (Yapay) polimerler

Genellikle monomerler karbon ve hidrojenden oluşurlar ve bu durumda polimer yapısı uzun hidrokarbon zincirine sahip olur. Bu tür monomerlerin en basiti “etilen”dir ($H_2C=CH_2$) ve oluşturduğu polimer “polietilen” olarak adlandırılır. Çok sayıda etilen molekülü yapılarındaki çift bağın açılması sonucu kovalent bağlarla bağlanarak polietilen zincirini oluştururlar. Genellikle polimer denildiği zaman hidrokarbon zincirine sahip organik bilinmektedir. Ancak hidrojen ve karbon atomlarından başka atomlardan oluşan polimerlerde bulunmaktadır. Örneğin; silisyum, azot veya fosfor atomlarından oluşan polimer zincirleri vardır ve “inorganik polimerler” olarak adlandırılır. Polimer zincirleri, doğrusal yapıda olabileceği gibi dallanmış yapıda da olabilir. Bu yapılar, polimer ana zincirine diğer zincirlerin yan dal olarak bağlanması ile oluşur. Bu yan dallar başka bir ana zincirle bağlandığında ise çapraz-bağlı polimerler oluşur. Dallanma,

polimerlerin uygun çözücülerdeki çözünürlüğünü zorlaştırır, çapraz-bağlı yapılar ise çözünmeyip, sadece yapılarına çözücüyü alarak şişerler [17,25].

PMMA (polimetilmetakrilat), hidrofobik ve doğrusal yapıda bir zincir polimeridir. Oda sıcaklığında camsı halde bulunur. Lucite ve Plexiglass ticari isimleri ile tanınır. Işık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle göz içi lensler ve sert kontakt lenslerde kullanımı yaygındır.

Yumuşak kontakt lensler ise farklı bir polimerden hazırlanırlar. Bu polimer, metilmetakrilatametilol (-CH₂OH) grubunun eklenmesiyle oluşan 2hidroksietilmetakrilat (HEMA) monomerinden sentezlenir. Yumuşak kontakt lensler poli(HEMA)'nın az miktarda etilenglikol dimetakrilat (EGDMA) ile çapraz bağlanarak hazırlanırlar. Çapraz bağlanma sulu ortamda polimerin çözünmesini engeller ve bu durumdaki polimer şişmiş hidrojel olarak adlandırılmaktadır [17].

Tıbbi uygulamalarda yüksek yoğunluklu polietilen (PE) kullanılmaktadır. Çünkü düşük yoğunluklu PE sterilizasyon sıcaklığına dayanamaz. PE, tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde, çok yüksek molekül ağırlıklı PE ise yapay kalça protezlerinde kullanılır. Polietilenin sertliği iyidir, yağlara dirençlidir ve ucuzdur. Polipropilen (PP) polietilene benzer fakat daha serttir. Kimyasal direnci yüksek ve çekme dayanımı iyidir. PE'nin yer aldığı uygulamalarda PP'de kullanılabilir. Politetrafloroetilen (PTFE), teflon ticari adıyla bilinmektedir. PE ile benzeri yapıda olup, PE'deki hidrojenlerin flor atomları ile yer değiştirmesi sonucu sentezlenir. PTFE, hem ısıl hem de kimyasal açıdan çok kararludur fakat işlenmesi zor bir polimerdir. Hidrofobiktir ve mükemmel kayganlığa sahiptir. Gore-Tex olarak bilinen formu damar protezlerinde kullanılır [17, 24].

Polivinilklorür (PVC), tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır. Bu uygulamalar; kan nakli, diyaliz ve beslenme amaçlı olabilir. PVC, sert ve kırılğan bir malzeme olmasına karşın plastikleştirici ilavesiyle yumuşak ve esnek hale getirilebilmektedir. PVC, uzun dönemli uygulamalarda plastikleştiricinin yapıdan sızması nedeniyle sorun oluşturabilir. Plastikleştiriciler düşük toksik etkiye sahiptir ve yapıdan sızmaları PVC'nin esnekliğini azaltır [17].

Polimetilsiloksan (PDMS) yaygın olarak kullanılan bir diğer polimerdir. PDMS karbon ana zinciri yerine silisyum-oksijen ana zincirine sahiptir. PDMS'nin en önemli özelliği , diğer kauçuklara nazaran daha az bağımlı olmasıdır. PDMS, drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve yüksek oksijen geçirgenliği nedeniyle membran oksijenatörlerde (solunum cihazları) kullanılır. Mükemmel esneklik ve kararlılığı nedeni ile ise; parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, dış kulak, çene ve burun implantlarında kullanılır [17].

Bisfenol A ve fosgenin polimerizasyonu sonucu sert bir malzeme olan polikarbonat sentezlenir. Yüksek çarpma dayanımından dolayı gözlük ve emniyet camlarında, oksijenatör ve kalp-akciğer makinelerinde kullanılır. Naylon, Du Pont tarafından “poliamid” ailesine verilen isimdir. Naylonlar, diaminlerin dibazik asitlerle reaksiyonu sonucunda oluşur veya laktomların halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanır. Naylonlar ameliyat ipliği olarak kullanılır. Poliüretanlar yumuşak ve sert segmentlerden oluşan blok kopolimerlere denir. Kanla uyuşabilirlikleri çok iyi olduğundan özellikle kalp-damar uygulamalarında tercih edilirler [17,25].

1.1.3. Seramikler

Vücutun zarar gören veya işlevini yitiren parçalarının tamiri, yeniden yapılandırılması veya yerini alması için özel tasarımı seramikler geliştirilmiştir. Bu amaçla kullanılan seramikler “biyoseramikler” olarak adlandırılmaktadır. Biyoseramikler, biyo inert ve biyoaktif olmak üzere iki grupta incelenirler. Biyoaktif seramik doku ve implant arasında kimyasal bağ oluşumuna izin veren seramik malzemedir. Biyoseramikler; polikristalin yapılı seramik (alümina ve hidroksiapatit), biyoaktif cam, biyoaktif cam seramikler veya biyoaktif kompozitler (polietilen-hidroksiapatit) şeklinde hazırlanabilmektedir. İnorganik malzemelerin önemli bir grubunu oluşturan bu malzemeler, sağlık sektöründe çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır [18]. Bu uygulamalardan bazıları; gözlük camları, teşhis cihazları, termometreler, doku kültür kapları ve endoskopide

kullanılan fiber optiklerdir. Çözünmez gözenekli camlar, enzim, antikor ve antijen taşıyıcı olarak da kullanılmaktadır. Mikroorganizmalara, sıcaklığa, çözücülere, pH değişimlerine ve yüksek basınçlara olan dirençleri bu uygulamalar açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Seramikler, diş hekimliğinde dolgu malzemesi, altın-porselen kaplama ve protez parçaları olarak yaygın bir biçimde kullanım alanı bulmuş ve bu alanda kullanılan seramikler “diş seramikleri” olarak adlandırılmıştır. Biyoseramikler diş tedavisi dışında da sert doku implantı olarak da kullanılmaktadırlar [17, 25, 26].

Biyoseramikler, iskeletteki sert bağ dokusunun tamiri veya yenilenmesinde kullanılmaktadır. Bu malzemelere olan gereksinim, özellikle ilerleyen yaşa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Kemik yoğunluğu ve dayanımının 30 yaşından itibaren azalması nedeni ile yaşlılarda kemikler çok kırılabilir olur. Bunun sonucunda kemik üreten hücreler, yani osteoblastların yeni kemik üretiminde ve kemikte oluşan mikro çatlakların kapanmasındaki üretkenliği azalmaktadır. Ortalama insan ömrü 80 yıl olarak düşünülürse, 60 yaş civarında bağ dokusu için yedek malzeme gereksinimi başlamakta ve en azından 20 yıl boyunca biyoseramiklere ihtiyaç duyulmaktadır [15].

Biyoseramiklerin kullanımını sınırlayan nedenlerin en önemlileri, bazı klinik uygulamalardaki yavaş ilerleyen çatlaklar, yorulma ve değişik darbe ve basınçlara dayanımlarının tam olarak bilinmemesidir. Bu olumsuzlukları önlemek için kullanılan iki yeni yaklaşımdan birisi, biyoaktif kompozitler, diğeryse biyoaktif seramiklerle yapılan kaplamalardır [26].

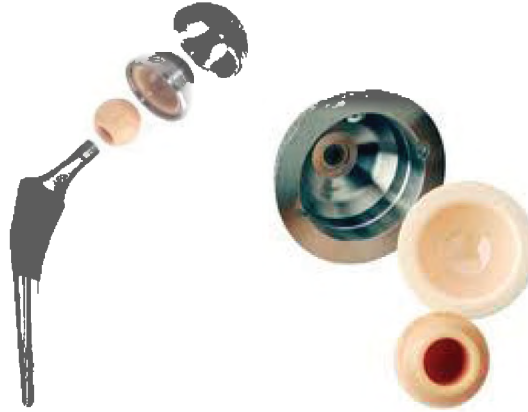
Biyoseramikler oksit seramikleri, kalsiyum fosfat seramikleri ve cam ve cam seramikler olarak üç grupta incelemek mümkündür.

1.1.3.1. Oksit Seramikleri

Bu malzemeler inert yapıda olan ve oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının dağılması ile oluşan polikristalin seramiklerdir. Oksit seramiklerin Alümina (Al_2O_3) ve Zirkonya (ZrO_2) olmak üzere iki önemli çeşidi bulunmaktadır [26].

1.1.3.1.1. Alümina

Yüksek yoğunluk ve yüksek saflığa (>% 99.5) sahip alümina, korozyon direnci, yüksek mukavemeti, yüksek sürtünme dayanımı ve iyi biyouyumluluk özelliğinden dolayı kalça protezlerinde, diz kapağı protezlerinde ve diş implantlarında yaygın kullanıma sahiptir. Alümina kalça kemiği protezi Şekil 1.2’de görülmektedir. Bu uygulamalarda kullanılan alüminanın çoğu iyi tane yapısına sahip polikristalin $\alpha-Al_2O_3$ ’ün 1600-1700°C’de preslenmesi ve sinterlenmesi sonucu elde edilmektedir [26].



Şekil 1.2. Alümina kalça kemiği protezi [27]

Alümina 20 yılı aşkın süredir ortopedik uygulamalarda kullanılmaktadır. Kalça protezlerinde gözlemlenen ana problem birbiri içerisinde hareketlenen parçalardan oluşan yemim kayıplarıdır. Alümina yüksek yemim direncine sahiptir. Bu özellik alüminanın çok düşük yüzey pürüzlüğüne ve yüksek yüzey enerjisine sahip olmasından dolayıdır. Alümina yüksek biyouyumluluğa ve yemim direncine rağmen, orta seviyede tokluk ve bükülme mukavemeti göstermektedir [26].

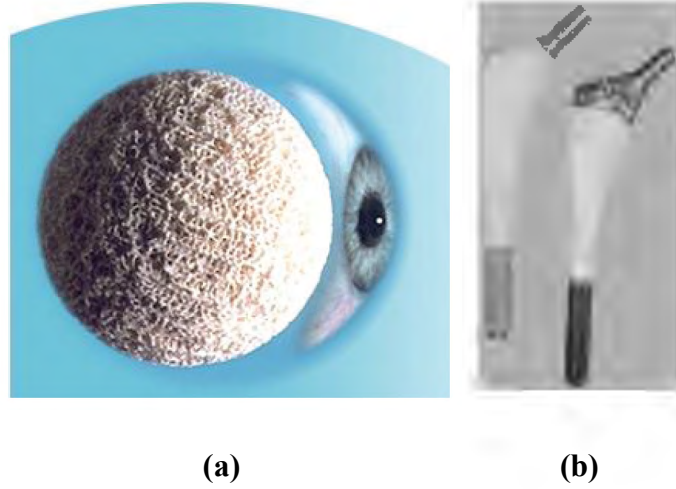
1.1.3.1.2. Zirkonya

Zirkonyada alümina gibi bulunduğu fiziksel ortam üzerinde inert etki göstermektedir. Alümina seramiklere göre avantajı ise çok daha yüksek kırılma tokluğu ve bükülme mukavemetine sahip olmasıdır. Göstermiş olduğu bu üstün özelliklerden dolayı ZrO_2 , uyluk kemiği protezlerinde başarı ile kullanılmaktadır. Ancak uygulamalarında; fizyolojik sıvılar nedeniyle zamanla mukavemetinin azalması, yemim özelliklerinin zayıf olması ve potansiyel radyoaktif malzemeler içermesi olmak üzere üç önemli sorunla karşılaşmaktadır. ZrO_2 'nin yemim direncinin Al_2O_3 'e göre çok düşük olmasından dolayı, ZrO_2 , seramik-seramikten oluşan hareketli yüzeylerde kullanılmamalıdır. Zirkonya içerisinde Uranyum, Toryum gibi yarılanma ömrü çok uzun olan radyoaktif elementler bulunmaktadır. Bu elementleri yapıdan ayırmak çok zor ve pahalı işlemler gerektirmektedir. Zirkonya bazlı seramiklerde 0.5 ppm U^{235} 'e rastlanmıştır. Radyoaktivite α ve γ etkileşimi olarak ortaya çıkmaktadır. α -radyasyonu daha fazladır ve α -parçacıkları, yüksek iyonlaştırma kapasitesine sahip olduklarından yumuşak ve sert doku hücrelerini tahrip edebilmektedirler. Radyoaktivite düzeyi düşük olduğunda da bu etkinin uzun süreli incelenmesi gerekmektedir [26].

1.1.3.2. Kalsiyumfosfat seramikleri

Kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindeki yapılardır. Hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, trikalsiyumfosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ve oktakalsiyumfosfat $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_6$ bu yapılara örnek olarak verilebilir.

Kalsiyumfosfat bazlı biyoseramikler tıbbın çoğu uzmanlık alanında ve diş hekimliğinde son 20 yıldır kullanılmaktadır. Bu malzemeler, ortopedik kaplamalar ve diş implantlarında, yüz kemiklerinde, kulak kemiklerinde, kalça ve diz protezlerinde kemik tozu olarak kullanılmaktadır. Seramik-metal protezlerde kalsiyumfosfat uygulamaları ve yapay göz implantı Şekil 1.3'de görülmektedir. Kalsiyumfosfat seramiklerin şekillendirme işlemini takiben sinterlenmesi genellikle $1000-1500^\circ\text{C}$ 'de gerçekleşmektedir. Tüm kalsiyum fosfat seramikleri değişen hızlarda biyolojik olarak bozunmaktadırlar [25, 26].



Şekil 1.3. HA implant uygulamaları (a) yapay göz implantı (b) metalik implant kaplaması [28,29]

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.

Mercanların mikro yapısı, kontrollü gözenek büyüklüğüne sahip seramiklerin oluşturulması açısından en ideal malzeme olmalarını sağlamaktadır. Gözenekli malzemeler, her zaman için yığın formlarında daha zayıflar ve artan gözenekliliğe bağlı olarak, malzemenin dayanımı daha da azalmaktadır. Kemik kırıklarının doldurmak için gözenekli sentetik kalsiyum fosfat seramikler kullanılırken, diş implantlarında kaplama olarak gözenekli hidroksiapatit kullanılmaktadır. Gözenekli hidroksiapatitte gözenek boyutu 500µm'ye kadar çıkabilirken, yoğun hidroksiapatit için bu değer maksimum 1µm civarında olup, toplam hacmin % 5'ini teşkil etmektedir [26].

Hidroksiapatit kemik dolgu malzemesi ve implant malzemelerine kaplanarak kullanılması oldukça yaygın uygulamalardır. 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 [30].

1.1.3.3. Cam ve cam seramikler

Silika (SiO₂) temelli seramiklerdir. Cam seramikler Lityum/Alüminyum veya Magnezyum/Alüminyum kristalleri içeren camlardır. Cam seramiklerin heterojen yapılarından dolayı uygulama alanları kısıtlıdır. Biyoaktif camlarda ise silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirebilmektedir. Böylece doku ve implant arasında kimyasal bağlanma gerçekleşmektedir. Biyoaktif camlar klasik bir üretim süreci ile üretilmelerine rağmen her bir üretim basamağında titiz davranılması gerekmektedir. Bunun sebebi son ürünün insan vücudunda kullanılacak olmasıdır. Kimyasal kirlenmeler minimuma indirilmeli, oksit malzemeler yüksek saflıkta seçilmeli, silika yüksek saflıkta ve flint kalitesinde olmalıdır. Biyoaktif camların en önemli özelliği çok yüksek reaksiyon hızına sahip olup doku ile hızlı bir şekilde bağlanmayı

sağlamasıdır. En önemli dezavantajları ise düşük mekanik mukavemete ve düşük kırılma tokluğuna sahip olmalarıdır [26, 31-34].

Genel olarak bakıldığında, tek fazlı biyoaktif camlar örneğin biyocam insan kemiği uygulamalarında gerekli mekanik mukavemeti göstermezler. Doğal kemik yapısı bir kompozit olup, hidroksiapatit-hidroksikarbonapatit ana dokusundan oluşan ve organik kalojenler tarafından kuvvetlendirilen bir yapıdır. Bu kemik dokusu örnek alınarak wollastonit ($\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$) ve silika zincirleri ile kuvvetlendirilmiş bir seramik cam kompozisyonu üretilmiştir. A/W camları $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5 - \text{CaO} \cdot \text{SiO}_2 - \text{MgO} \cdot \text{CaO} \cdot 2\text{SiO}_2$ bileşenlerinden oluşan bir faz diyagramında görülmektedir. A/W camları elmas işleme aletleri ile vida dahil birçok değişik şekle getirilebilirler. A/W camları omurlar arası ve kemikler arası dolgu malzemesi olarak kullanılırlar. Diğer bir cam seramik yapısı ise içerisinde mika kristalleri bulunduran ve böylece camın işlenebilirliğini sağlayan işlenebilir ve fosfor içerikli cam seramiklerdir. Bu cam seramikler mikaapatit cam seramikler olarak da adlandırılabilir. Mikaapatit cam seramikleri üç gruba ayrılır; Biyoverit I camları silikofosfat tipi camlardır ve kompozisyonlarında SiO_2 , Al_2O_3 , MgO , Na_2O , K_2O , F , CaO , P_2O_5 bulunmaktadır. Biyoverit II camları silikat cam grubuna girer ve kompozisyonunda $\text{SiO}_2 - \text{Al}_2\text{O}_3 - \text{MgO} - \text{Na}_2\text{O} - \text{K}_2\text{O} - \text{F}$ bulunmaktadır. Biyoverit II cam seramikte ana kristal yapı olarak mika kristalleri, ikinci kristal yapı olarak kordiyerit kristalleri bulunmaktadır. Yüksek mika içerdiklerinden dolayı Biyoverit I ve Biyoverit II camları kolay işlenebilen camlardır. Biyoverit III camları ise fosfat cam olup, silika içermezler. Kompozisyonunda $\text{CaO} - \text{Al}_2\text{O}_3 - \text{P}_2\text{O}_5 - \text{Na}_2\text{O}$, $(\text{ZrO}_2 - \text{FeO} / \text{Fe}_2\text{O}_3)$ bulunmaktadır. Biyoverit III'ün yapısında apatit, AlPO_4 ve kompleks fosfat yapıları oluşturulur. Biyoverit III'ün diğerlerinden farkı faz seperasyonuna uğramamasıdır [26, 34].

1.1.4. Kompozitler

Kompozit, farklı kimyasal yapıdaki iki veya daha fazla sayıda malzemenin sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olur. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından özellikle ortopedik uygulamalarda tercih edilirler. Ayrıca kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir [15]. İnsan vücudunda kullanılan implant malzemelerinin avantaj-dezavantaj ve kullanım alanları ile birlikte Tablo 1.1 de görülmektedir.

Tablo 1.1. Vücutta kullanılan implant malzemeleri ve özellikleri

Malzeme	Avantajları	Dezavantajları	Kullanım alanları
Metaller	Dayanıklı, sağlam Şekillendirilebilir	Korozyona elverişli Yoğunluğu yüksek	Eklem protezleri Kemik plakları, vida Diş implantları
Polimerler	Elastik Üretimi kolay	Güçlü değil Zamanla deformasyona uğraması	Sütürler, kan damarları Kalça protezi soketi
Seramikler	Yüksek biyouyumluluk İnert	Kırılgan, elastik değil Üretim zor	Diş, kalça protezi kafası İmpant kaplaması
Kompozitler	Dayanıklı Özel tasarım	Üretimi zor	Eklem implantları Kalp kapakları

1.2. Ortopedi ve Travmatolojide İmplant Kullanımı

Ortopedi ve travmatoloji alanında implant kullanımına ait ilk çalışma, 1850 yılında Lagenbeck'in femur boyun kırığını bir çivi ile internal olarak tespitidir. 1890'lerin başında Kirschner traksiyon ve intermal fiksasyon amacıyla kullanılan teli geliştirmiş, aynı dönemde Lane ilk plağı, Hey-Grooves ise I.Dünya Savaşı sırasında ilk intramedüller tespit materyalini kullanmıştır [35].

İmplant kullanımı konusundaki ikinci önemli aşama olan eklem artroplastisi ise geçen yüzyılda 1860'da Carnochan ve Vemevil tarafından temporomandibuler eklem ile başlamıştır. 1890'da Gluck tarafından fildişi ve bunu kemiğe tespit için bir tip zambak kullanıldığı ilk kalça protezi denemelerinden sonra bu yüzyılın ilk yarısında Hey-Grooves, Smith Peterson, Judet gibi öncülerin kalça protezi çalışmaları ile gelişmeler devam etmiş, Thompson ve Moore'un femur üst uç protezlerinden sonra yüzyılın ikinci yarısında hızlanmıştır. Chamley 1960'larda, metalik femoral komponent, düşük sürtünmeli ve yüksek molekül ağırlıklı polietilen asetabuler cup ile bunların kemiğe fiksasyonunu sağlayan kemik çimentosundan oluşan sistemi ile modern kalça protezinin temellerini atmıştır. Günümüzde interfalangeal eklemlerden kalçaya, dirsekten ayak bileğine kadar birçok eklem artroplastisi uygulanmakta ve kullanılan protez tipleri giderek çeşitlenmektedir [35,36].

Ortopedik implant olarak kullanılabilen bir malzemenin mekanik özellikleri vücut içerisinde empedansın sağlanması için gerekli fiziksel özellikleri sağlamalı, kullanılacağı bölgedeki kemik ile mekanik özelliklerinin birbirine yakın olmalı ve aynı zamanda vücut içerisindeki kimyasal dayanımı yüksek olmalıdır.

Vücudun iskeletini oluşturan, sert ve yüksek yoğunluğa sahip olan kemik içerisinde bulunduğu mekanik ortama yüksek oranda uyum gösterebilen kompozit bir malzeme olup, insan yaşına ve cinsiyetine bağlı olarak değişik mikroyapısal özellikler göstermektedir. Kemiğin mekanik özelliklerine ilişkin çalışmalar birkaç araştırma dışında makro düzey ile sınırlıdır [37, 38].

1.2.1. Ortopedi ve Travmatolojide Kullanılan İmplant Tipleri

Ortopedi ve travmatolojide en yaygın olarak kullanılan implantlar Steinmann çivileri, serklaj telleri, Kirschner teli, U çivileri, Ligaman protezleri, eksternal fiksator çivileri ve intramedüller çivilerdir. Şekil 1.4 ile en yaygın olarak kullanılan metalik implantlar görülmektedir.



Şekil 1.4. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan çeşitli implantlar [39]

1.2.1.1. Vidalar

Vidalar en sık kullanılan ortopedik implantlardır. Nispeten küçük oldukları için tek başına kullanıldıklarında endosteal ve periostal kanlanmayı bozucu etkileri azdır. Tek başına veya plaklar ile birlikte olanları kemiğe fikse etmek amacı ile kullanılırlar. Bazı dikiş materyalleri gibi vücutta metabolize olabilen vidalar da bulunmaktadır. Polilaktik asitten üretilmiş olan bu vidaların vücuttan çıkarılmaları için ikinci bir ameliyat gerekmemektedir [35]. Vidalar kemiğe yerleştirilme tekniklerine, kullanılacakları kemik tipine, boyutlarına ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılmaktadırlar.

Vidalar bazı durumlarda da ön çapraz bağ tamirinde kullanılan Krusaga vidasında olduğu gibi kemik içine açılmış tünele, hazırlanmış olan kemik–tendon-

kemik greftinin sıkıştırılarak tutturulmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadırlar.

1.2.1.2. Plaklar

Plaklar kemiğin anatomik rekonstrüksiyonunu ve erken eklem hareketini sağlamak amacı ile kullanılırlar. Periostal kanlanmayı bozucu etkilerinin yanında uç kısımları ve son vidaları stres yükselticidir [35]. Şekilleri, uygulanacak bölgenin lokal anatomik özelliklerine göre değişir. Küçük kemikler için “semitübüler”, “1/3 tübüler” ,”1/4 tübüler” plaklar, değişik metafiz bölgelerinde ve omurgada kullanılmak için T, Y, L, H şekilli ve bu adlarla anılan plaklar vardır. Plaklar fonksiyonlarına göre de “nötralizasyon plağı”, “destek plağı”, “kompresyon plağı” gibi isimler alırlar. Şekil 1.5 ile ortopedi ve travmatoloji cerrahisinde kullanılan farklı tipte plaklar, Şekil 1.6 ‘ da ise plağın radyolojik olarak görüntüsü verilmektedir.



Şekil 1.5. Ortopedi ve travmatolojide kullanılan farklı tipteki plaklar [40]



Şekil 1.6. Plağın radyolojik görüntüsü [41]

1.2.1.3. Eklem protezleri

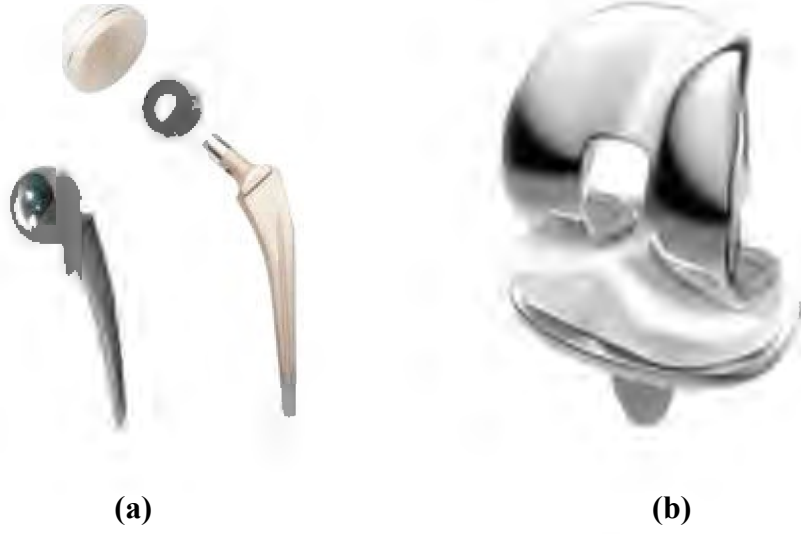
Artroplasti, patolojik değişiklikler oluşmuş olan eklemlerdeki ağrıyı yok etmek ve bozulmuş olan eklem fonksiyonlarını tekrar kazandırmak için eklemi oluşturan yüzeylerin kısmen veya tamamen değiştirilmesidir. Vücuttaki birçok eklem için geliştirilmiş protez çeşitleri mevcuttur. Eğer eklemi oluşturan yüzeylerin tümü değiştiriliyorsa buna “total artroplasti”, kullanılan proteze de “total protez” denir. Bazı durumlarda eklem yüzeylerinden sadece biri (örneğin kalça ekleminde sadece femur başı) veya yüzeylerinin de belli kısımları değiştirilebilir. Bu işlemde kullanılan protezlere de genel olarak “parsiyel protez” denilmektedir [35]. Kalça protezinin radyolojik görüntüsü Şekil 1.7 ile verilmektedir.



Şekil 1.7. Kalça protezinin radyolojik görüntüsü [42]

Total artroplastilerde modern çağ, 1960'larda Chamley tarafından geliştirilen kalça protezi ile başlamıştır. Daha iyi implant materyalleri geliştirmek için sürmekte olan araştırmalara rağmen Chamley'in temellerini attığı UHMWPE ile eklemleşen metal kombinasyonu günümüzde de geniş kullanım alanına sahiptir.

Chamley'in metal olarak kullandığı paslanmaz çelik bugün yerini kobalt ve titanyum alaşımlarına bırakmıştır. Yük binen eklem yüzeyleri için aşınmaya direncinden dolayı kobalt alaşımlarının kullanımı daha uygun iken, femoral stem gibi kemiğe oturan bölgelerde kemiğe daha yakın elastik modülü nedeniyle titanyum alaşımları tercih edilir. Aluminyum oksit gibi seramiklerinde polietilen asetabuler komponentle olan uyumlarına bağlı olarak sürtünme ve aşınma açılarından getirdikleri avantajlardan dolayı, femur başı yerine kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır. Bu farklı özelliklerdeki materyallerin protezlerin değişik bölümlerinde daha avantajlı olmaları, metalik, seramik ve polimerik komponentlerin aynı cihazda bir arada bulunabildikleri modüler tasarımının gelişmesine yol açmıştır. Bu tip protezlerde, hem implant kemik arasında hem de implant parçaları arasındaki hareket aşınma ürünleri oluşumuna neden olacağından, parçaların stabilitesi önemlidir [35]. Çeşitli kalça ve diz protezleri Şekil 1.8 ile verilmektedir.



Şekil 1.8. Eklem protezleri (a) kalça protezi ve (b) diz protezi [43,44]

Protezin kemikle komşuluk yapacak yüzeylerinin metal ya da seramiğe göre daha biyoaktif olan hidroksiapatitle kaplanmasıyla, poroz yüzeyin içine ilerleyen kemiğin buna daha iyi tutunacağı fikrinden hareket edilerek, çimentosuz protezlerin hidroksiapatit kaplı olanları üretilmiş ve kullanıma girmiştir. Ayrıca enerjili ve iyon yayılımlarının kullanılan materyallerde çapraz bağlantılar yaratarak onları kimyasal degradasyona karşı dirençli hale getirdiği, UHMWPE'yi sertleştirerek aşınmasını azalttığı, polimetilmetakrilat ile metalin ortopedik komponentler arasındaki bağı güçlendirdiği gösterilmiştir. Bu nedenlerle iyon implantasyonu bir yüzey modifikasyon teknolojisi olarak ortopedik implantlarda, en sık olarak da protez yüzeylerinde kullanılmaktadır [35].

1.2.1.4. Eksternal fiksatorler

Eksternal fiksatorler 1970'lerden sonra açık uzun kemik kırıklarının acil sağaltımında kırığın stabilizasyonu amacıyla önemli bir seçenek olmuştur. Günümüzde özellikle tip IIIB ve tip IIIC açık kırıklarda kullanılmaktadır. Son zamanlarda sirküler ve hibrid fiksatorlerdeki gelişmeler sayesinde kullanılabilirliği artmıştır [45]. Eksternal fiksatorlerin çeşitli avantajları vardır.

Bunlar; uygulaması göreceli olarak basit ve hızlıdır, ana kemik fragmanları arasında iyi bir stabilite sağlar ve anatomik redüksiyonu olası hale getirir, uygulanması için ek olarak minimal yumuşak doku yaralanması gerektirir bu sayede enfeksiyon ve yara iyileşmesi olumsuzlukları riskleri azalmakta, özellikle multitravmalı hastalarda eklem hareketlerine izin vererek kardiyopulmoner fonksiyonların geri dönüşünü kolaylaştırmakta ve debritleme esnasında kolayca çıkarılarak yaraya ulaşılmasını kolaylaştırmaktadır.

Geniş yaraların bulunduğu kompleks kırıklarda uygulanmasının zaman alması ve tellerin muskulotendinöz yapıları yakalayarak fonksiyonel eklem hareketlerini kısıtlayarak hastada rahatsızlığa yol açabilmesi ise Eksternal fiksatörlerin dezavantajlarıdır. Önlem almadan yerleştirilen teller, yara rekonstrüksiyonu için gerekli olabilecek fleplerin mobilizasyonunu kısıtlayabilmekte, tel yerleştirilmesinde ki uygun olmayan teknik nedeni ile kemik nekrozu veya tellerde erken gevşeme ve çiviye bağlı enfeksiyon oluşabilmektedir. Bu özellikle osteoporotik ve kansellöz kemiklerde karşılaşılan daha büyük sorundur. Özellikle yük verilmesine olanak tanımayan eksternal fiksatörlerde uzamış kullanım gecikmiş kaynama veya kaynamamaya yol açabilmektedir [46].

Eksternal fiksatörler kalıcı tedavi yöntemi olarak kullanılacakları gibi geçici yöntem olarak da kullanılabilir [45,47,48]. Bu yöntemde ilk operasyon esnasında eksternal fiksatör yerleştirilmekte, sonrasında açık yaranın durumuna göre ilerleyen zamanlarda intramedüller çivi yerleştirilerek kalıcı tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Ancak bu yöntem derin enfeksiyon sıklığında artışa neden olabilmektedir [11,38].

Eksternal fiksatörler, perkütan olarak yerleştirilen transosseöz tel veya çivileri vücut dışında birarada fikse eden yapılardır. Bu sistemler kırık fiksasyonunda kullanıldıkları gibi kompresyon, distraksiyon veya angulasyon yapacak bileşenlerin eklenmesiyle çeşitli deformitelerin düzeltilmesi, uzatma veya kemik defektlerinin doldurulması gibi amaçlarla osteotomilere ek olarak kullanılmaktadır [35]. Şekil 1.9 eksternal fiksatörün kullanımı gösterilmektedir.



Şekil 1.9. Eksternal fiksatorün kullanımı [49]

Kırık veya osteotomi bölgesinde herhangi bir yabancı madde bulunmadan bu bölgeden uzaktan geçen teller yardımıyla yeterli bir fiksasyon ve kompresyon sağlayabilmeleri, uygulamaları için majör ameliyatlara gerektirmemeleri eksternal fiksatorlerin avantajlarıdır. Tellerin geçtiği bölgelerde damar, sinir yaralanmasına neden olmamak için bölge anatomisine uygun tel giriş yerleri ve ilerleme yönleri seçilmelidir. Sistemin tümünün vücut içinde olmaması dışarıdan vücut içine mikroorganizma nakli ve enfeksiyon olasılığını da beraberinde getirmektedir [35].

1.2.1.5. İntramedüller çiviler

Günümüzde uzun kemiklerin cisim kırıklarında en önemli tedavi seçeneği olan intramedüller çiviler çok uzun zamandan beri kullanılmaktadır. 19. yüzyılın sonlarında Gluck, kilitlenebilen intramedüller aygıtın ilk tanımını yapmıştır. Bu aygıt fildişi intramedüller çivi olup, uçlarında fildişi vidaların geçtiği delikler bulunmaktadır [50]. Hohlund 1917'de otojen kemiğin intramedüller implant olarak kullanımını ve Hey Groves Birinci Dünya Savaşı sırasında ateşli silah yaralanmalarının tedavisinde metalik rodların kullanımını bildirmişlerdir. Bu

rodlar kırık hattından bir insizyon yoluyla medüller kavite içerisinden geçirilmiştir. Bu teknik yüksek enfeksiyon oranı nedeniyle evrensel olarak kabul görmemiştir.

1931’de Smith-Petersen tarafından kullanılan femur boyun kırığında başarılı saf çelik çiviler ile hızla metalik intramedüller çivi kullanımı artmıştır [50]. Rush tarafından proksimal ulna ve proksimal femur kırık tedavisi için metalik Steinman çivilerin medüller kanal içinden geçirilerek kullanımını gerçekleştirilmiş ve böylelikle “intramedüller fiksasyon ile kırık tedavisi” bu teknikler ile gelişmiştir [51].

Küntscher’in 1940 yılında geliştirdiği V şeklinde saf çelikten üretilmiş medulla çivileri kullanılmış ve bu çivilerin internal bir splint olarak görev aldığı ve iç medüller kavitede elastik bir birleşme sağladığı bildirilmiştir [50]. Küntscher çivilerin doğru yerleştirilmesi durumunda, hastanın erken dönemde işlevsel mobilizasyonunun mümkün olabildiğini bildirmiştir. 1940’ların sonunda V şekilli çivilerin kullanımı bırakılmış ve yine Küntscher tasarımı olan yonca-yaprağı çivisi kullanmaya başlanmıştır. Küntscher tarafından 1940’larda biyomekanik prensipleri ortaya konularak yaygınlaştırılan “intramedüller çivileme”, yük binen kemiklerin özellikle transvers ve kısa oblik kırıklarında idealdir. Fragmanlar arası kompresyon yapmamakta ama stabil kırıklara erken yük vermeye izin vererek iki ana kırık fragmanı arasında aksiyel kompresyon sağlamakta ve erken eklem hareketine izin vermektedir. İmplant çıkarıldıktan sonra vida deliği gibi zayıf noktalar kalmadığı için refraktür olasılığı, küçük bir insizyondan kapalı olarak yapmak da mümkün olduğundan enfeksiyon riski düşüktür. Ayrıca intramedüller cihazlar genellikle diğer internal tespit malzemelerine göre daha ekonomiktir [35].

Küntscher tarafından geliştirilen yonca yaprağı şeklindeki intramedüller çivi kanala sıkıca oturmaktadır ve bükülmeye dayanıklıdır ancak tosiyonel gücü düşüktür. Bunun yanında Rush’ın geliştirdiği gibi daha ince, üç noktada fiksasyon sağlayan, bu nedenle daha gevşek olan ancak endosteal kanlanmayı da daha az bozan tipleri de bulunmaktadır. Ender çivisi gibi fleksibi olan ya da, Zickel çivisinin subtrokanterik femur kırıkları için olduğu gibi özel bölgeler için geliştirilmiş olan intramedüller tespit malzemeleri de mevcuttur [35].

İntramedüller tespit materyallerinin kullanımında dezavantaj olabilen fragmanlar arası rotasyon olasılığı sisteme vidalar ilave edilerek interlocking çivilerinin geliştirilmesiyle önlenmiştir. Grosse-Kemp ve Russell-Taylor çivileri bu özellikleri ile geniş kullanım alanı bulmuştur [50].

1950'ler sırasında iki önemli teknik geliştirilmiş ve sunulmuştur. 1942'de Alman literatüründe Fischer, intramedüller reamerlerin (delik genişleticiler) kullanımını rapor etmiştir [50]. 1950'lerde sunulmuş olan ve halen kullanılan diğer teknik kilitleme vidalarının kullanılması ve kırığın stabilitesinin artırılmasıdır. Modny ve Bambara 1953'te intramedüller transfiksasyon çivilerini keşfetmiştir. Bu çivi haç şeklindeydi ve çivi boyunca birçok delik vardı. Bu deliklere 90 dereceyle vidalar yerleştirilirdi. Modny ve Lewert 261 femur kırığı serisinde bu çiviye kullanarak çok başarılı sonuçlar rapor etmiştir [52]. Sefalomedüller çiviler ilk kez 1960'larda ortaya çıkmış, Zickel çivisinin gelişimi 1967'de ön plana çıkmıştır. Zickel Çivisi'nin özelliği proksimalinde bulunan deliğe geçirilen vidanın, proksimal femurun lateral korteksinden, femur-boynu ve başına doğru yerleştirilmesi esasına dayanmasıdır [53]. Çivi tasarımında ve malzemelerde bazı gelişmeler olurken, asıl ilerleme oymalı veya oymasız çivi endikasyonlarında artışla olmuştur. Açık tibia kırıkları günümüzde intramedüller fiksasyonla çok iyi sonuçlarla tedavi edilmektedirler. Benzer şekilde, daha önceleri oymasız çivilerle tedavi edilen açık femur kırıkları günümüzde oymalı intramedüller çivi kullanılarak başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. İntramedüller tespit yöntemlerinden bir diğeri de elastik çivilerdir. Bu tip çiviler pediatriye uzun kemik kırıkları ile erişkinlerde klavikula, metakarp, önkol ve humerus kırıklarında kullanılmaktadır [54,55].

İntramedüller çiviler yerleştirilirken çaplarının olabildiğince kalın olması sağlamlıkları açısından avantaj getirirken, bunların yerleştirilmesi için medüller kanalın gereğinden fazla oyulması da kemik korteksini incelterek kemiğin sağlamlığını azaltmaktadır. Bir intramedüller çivinin çapındaki 1 mm artışın sağlamlığını %30-40 arttırdığı, çaptaki %25'lik artışın bükülmeye karşı dayanıklılığı %50 arttırdığı gösterilmişken, bunun yanında korteksin 4mm'den fazlasının alınmaması ve orijinal korteks kalınlığının yarıdan aza inmemesi gerekliliği de gösterilmiştir [54,55].

1.3. Metalik İmplantların Kaplanması

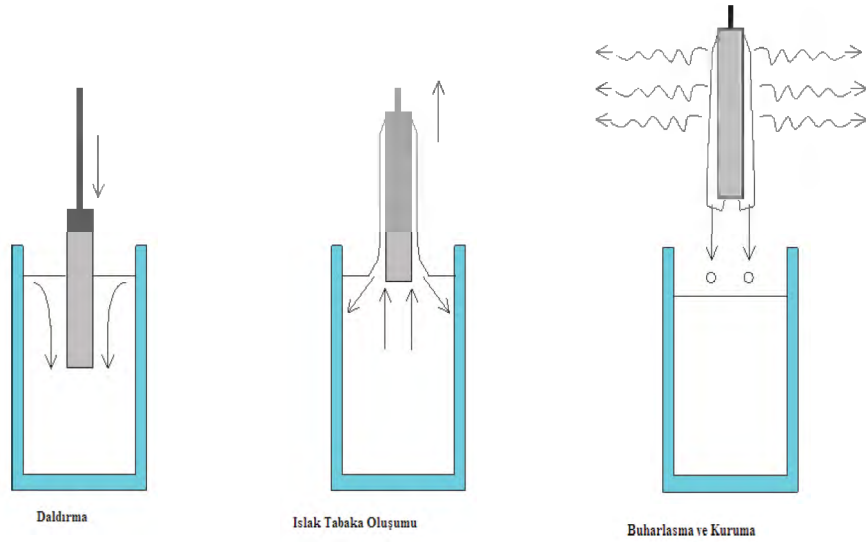
Hidroksiapatit (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), biyouyumlu ve biyoaktif bir malzeme olarak bilinmesine rağmen, zayıf mekanik özelliklerinden dolayı yük taşıyan implant olarak kullanılamamaktadır. Metalik implantların (Ti ve Ti alaşımları (Ti6Al4V), 316L paslanmaz çelikler) HA ile kaplanarak kullanılmasıyla metalik implantların mekanik özellikleri ile HA'nın biyoaktiflik özelliği birleştirilmiş ve daha uygun özellikler kazandırılmış olup, biyomalzeme uygulamalarında oldukça sık karşılaşılmaktadır [56,57]. Metalik implantların HA ile kaplanması için birçok yöntem denenmiştir. Plazma sprej kaplama, sputter yöntemi, daldırma yöntemi, sol-jel yöntemi, elektroforetik çöktürme yöntemi, pulsed lazer çöktürme yöntemi en yaygın kullanılan yöntemlerdir [58]. En yaygın kullanılan HA kaplama teknikleri, avantaj ve dezavantajları ile birlikte Tablo 1.2 ile verilmiştir. Elektrosprej yöntemi ile kaplama ise literatürde nano tozların kaplama teknikleri arasında bulunmakta fakat metalik implantların kaplanmasına yönelik çalışmalar oldukça yenidir.

Tablo 1.2. HA kaplama için kullanılan tekniklerin avantaj ve dezavantajları [59]

Teknik	Kalınlık	Avantajlar	Dezavantajlar
Daldırma yöntemi	0.05-0.5mm	Ekonomik Uygulama hızlı Kompleks altlıklar	Yüksek sinterleme sıcaklıkları Termal genleşme uyumsuzluğu
Sputter yöntemi	0.02-1 μ m	Düz altlıklarda uniform kaplama kalınlığı	Pahalı Kaplama süresi uzun Kompleks altlıklar kaplanamaz Amorf kaplama üretimi
Pulsed Laser çöktürme yöntemi	0.05- 5 μ m	Düz altlıklarda uniform kaplama kalınlığı	Pahalı Kaplama süresi uzun Kompleks altlıklar kaplanamaz Amorf kaplama üretimi
Sıcak presleme ve Sıcak isostatik presleme	0.2-2.0mm	Yoğun kaplama üretimi	Sıcak presleme ile kompleks altlıklar kaplanamaz. Yüksek sıcaklık gereksinimi Termal genleşme uyumsuzluğu Elastik özellik farklılıkları Pahalı
Elektroforetik çöktürme yöntemi	0.1-2.0mm	Uniform kaplama kalınlığı Hızlı çöktürme Kompleks altlıklar	Çatlak olmayan kaplama üretimi zor Yüksek sinterleme sıcaklıkları
Termal sprey yöntemi	30-200 μ m	Hızlı çöktürme	Yüksek sıcaklıkta dekompozisyon Hızlı soğutma ile amorf kaplama oluşumu
Sol-Jel yöntemi	<1 μ m	Kompleks altlıklar Düşük proses sıcaklıkları İnce kaplamalar üretmek açısından oldukça ekonomik	Bazı prosesler için kontrollü atmosfer gereksinimi Kimyasallar pahalı
Elektrosprey yöntemi	<1 μ m	İnce kaplamalar üretmek açısından oldukça ekonomik Kompleks altlıklar Uniform kaplama kalınlığı	

1.3.1. Daldırma Yöntemi

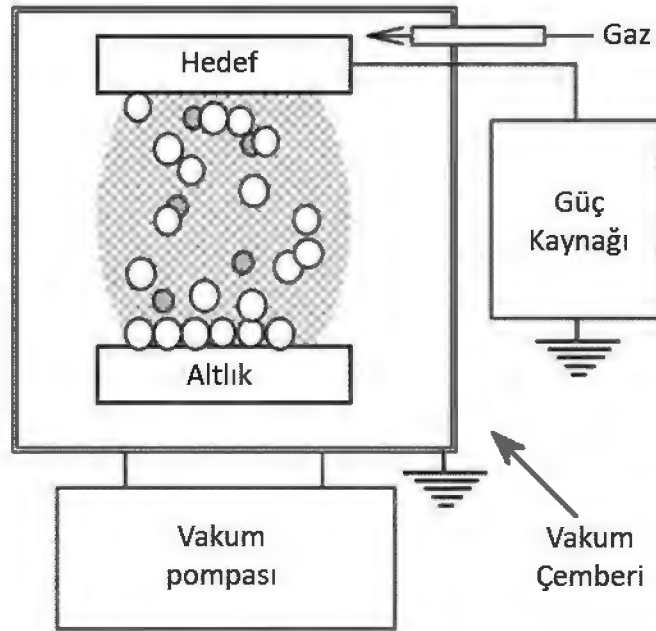
Daldırma yöntemi; kaplanacak olan altlığın hazırlanan çözelti içerisine daldırılarak, altlık yüzeyine belirli kalınlıkta film tabakasının oluşturulmasıdır. Daldırma ile kaplama süreci, Şekil 1.10 ile görüldüğü gibi, daldırma, birikme, akma ve buharlaşma olmak üzere dört aşama da gerçekleşmektedir. Alkol gibi uçucu çözücüler kullanıldığında, buharlaşma başlangıç, birikme ve akma basamaklarına eşlik etmektedir. Çözelti içine giren altlık ile çevrede bulunan akışkan arasında mekanik bir sınır tabakası oluşur. Altlık çekilirken oluşan bu tabakada iki yönlü akış gözlenir. Altlığa yakın mesafelerdeki akışkan altlık ile birlikte yukarı doğru hareket ederken, daha dış kısımlarda bulunan akışkan çözeltiye dönme eğilimi gösterir. Sonuçta elde edilen film tabakasının kalınlığı, yukarı ve aşağı doğru hareket eden tabakalara bağlı olarak değişir. Altlık üzerindeki katmana yukarı yönde viskoz sürüklenme, yerçekimi kuvveti, yüzey gerilimi, atalet kuvveti, yüzey gerilim gradyanı ve kopma basıncı olmak üzere başlıca 6 kuvvet etki etmektedir [60].



Şekil 1.10. Daldırma yöntemi ile kaplama süreci [60]

1.3.2. Sputter Yöntemi

Sputter yöntemi; temelde sıvı ya da katı haldeki kaynak malzemesinin atomlarının iyon bombardımanı yardımıyla koparılıp, altlık malzemesi üzerine aktarılmasıdır. Kaplaması yapılacak olan malzeme yüz volt ile birkaç kilo volt arasında değişen potansiyel altında tutulur. Kritik basınç altında ($1 \cdot 10^{-3}$ ile -1 Torr arası) uygulanan negatif voltaj kaynak üzerinde boşalmaya neden olur. Negatif voltaj altında tutulduğundan kaynak, plasma içinde bulunan iyon bombardımanına tutulur. Gaz iyonlarının yeterince ağır olduğu durumlarda, iyon bombardımanı kaynak yüzeyinden başlayarak malzemenin taşınmasına neden olduğundan, reaktif olmayan ve yüksek atom numarasına sahip argon gazı kullanılmaktadır [61]. Sputter yöntemi yüksek sistem maliyeti ve düşük uygulama hızları nedeniyle büyük ölçekli bir üretim için uygun bir yöntem değildir. Şekil 1.11 ile sputter yönteminin şematik gösterimi verilmiştir [62].

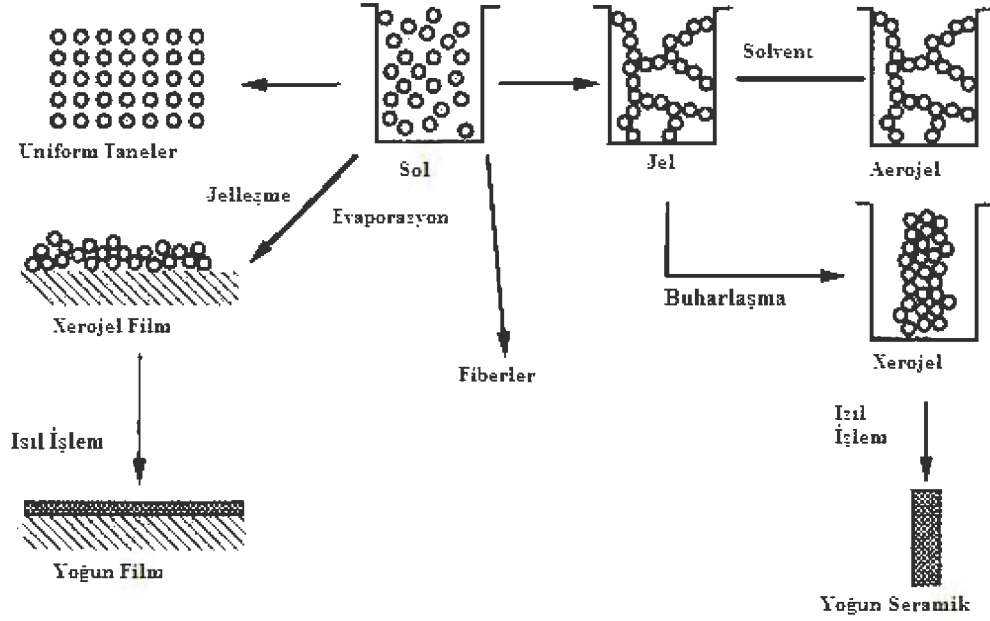


Şekil 1.11. Sputter yönteminin şematik gösterimi [63]

1.3.3. Sol-Jel Yöntemi

Kolloid içinde dağıtılmış olan fazın düşük tane boyutu (1-1000nm) nedeniyle yer çekimi kuvvetlerinin ihmal edilebileceği ve etkileşimlerin sadece zayıf Van Der Waals kuvvetleriyle sağlandığı süspansiyon olarak tanımlanmaktadır. Sol ise bir sıvı içerisindeki katı partiküllerin kolloidal süspansiyon halinde bulunmasıdır. Aerosol gaz fazı içinde partiküllerin kolloidal süspansiyon olarak tutulması iken, emülsiyon sıvı damlacıklarının bir başka sıvı içerisinde süspansiyon halinde tutulması olarak tanımlanmaktadır. Tanımları yapılan tüm kolloidler polimer veya seramik malzemelerin üretilebileceği partiküllerin oluşturulması için kullanılabilir. Sol-jel yönteminde kolloidlerin hazırlanması için kullanılan başlangıç malzemeleri çevreleri çeşitli ligandlarla sarılan metal veya metaloid elementlerdir [60].

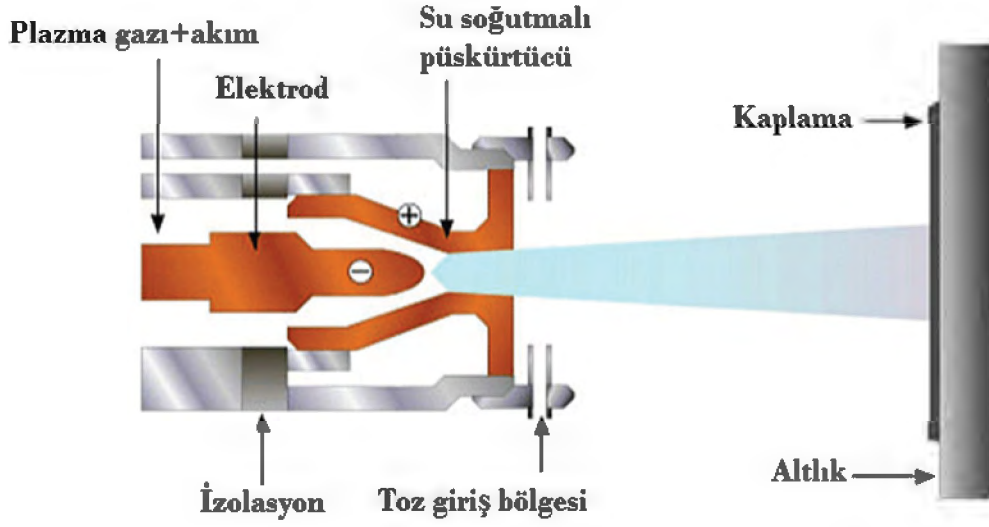
Bir molekül içinde bulunduğu çözeltide genişleyerek makroskopik boyutlara ulaştığında “jel” olarak adlandırılmaktadır. Jelleşme noktası büyük molekülün oluşumunu tamamlaması için gerekli olan son bağın kurulma zamanıdır. Bu nedenle jel sürekli katı bir iskeletin çevrelediği sürekli bir sıvı faz içeren sistemdir. Sürekliliğin anlamı, sıvı fazın katı faz içerisinde hareket edebilme kabiliyetinin olmasıdır. Jele elastik özelliği katı yapının sürekliliği vermektedir. Ayrıca jeller katı partikül içeren sollarından da elde edilebilirler. Genelde polimerik jeller kovalent bağlarla, jelatin jeller zincirlerin bağlanmasıyla, partikül jeller Van Der Waals bağlarıyla oluşturulmasına rağmen, jelin karakteristik özelliği kesinlikle bağ tipi olmamasıdır. Partikül jellerin kolaylıkla bir kayma kuvveti (karıştırma) verilerek dağıtılabılır örneğinde olduğu gibi, bunun nedeni oluşan bağların tersinir olma özelliğidir [60]. Sol-jel prosesi Şekil 1.12 ile verilmiştir.



Şekil 1.12. Sol-jel prosesi [64]

1.3.4. Plazma Sprey Kaplama

Sprey plazma kaplama yöntemi metalik implantların hidroksiapatit ile kaplanmasında en çok tercih edilen yöntemdir. Sprey kaplama yönteminde plazma ya da iyonize gaz kısmi olarak ergir ve kaplanacak tozu altlık yüzeyine taşır. Plazma sprej kaplamada taşıyıcı gaz olarak argon kullanılmaktadır. Çalışma sıcaklığı 10.000°C ye çıkabildiği için plazma tabancasının nozulu su soğutmalıdır. Altlık üzerine kaplanan tozun kısmi olarak erimemesi için plazma ve altlık arasındaki mesafe en önemli faktördür. Plazma sprej yönteminin şematik gösterimi Şekil 1.13 ile verilmektedir. Plazma sprej kaplama yönteminde yüksek sıcaklı faz dönüşümlerine sebep olabilmektedir. Trikalsiyum fosfat dönüşüm sıcaklığı 1200°C, hidroksiapatitin ayrışma sıcaklığı 1300°C dir. Tetrakalsiyum fosfat ve floroapatit ise 1300°C ye kadar stabil kalabilmektedir. Plazma sprej kaplama yöntemi kristallenmeyi de arttırmaktadır [57, 65, 66].



Şekil 1.13. Plasma spray kaplamanın şematik gösterimi [66]

1.3.5. Elektrosprey Yöntemi

Son dönemlerde ve günümüzde özellikle ileri teknoloji seramiklerinin araştırılması ve geliştirilmesinin önemi her geçen gün artmaktadır. İleri teknoloji seramiklerinin ince film ve kaplamaları elektrik, elektronik, elektromekanik gibi birçok alanda başarı ile uygulanmaktadır. Korozyon, kimyasal dayanım, mekaniksel dayanım gibi istenilen bazı özellikleri elde etmek amacıyla kaplama yöntemlerinin geliştirilmesi önemlidir. Özellikle ince film elde etmek amacıyla kullanılan yöntemlerden biride elektrosprey yöntemidir [67].

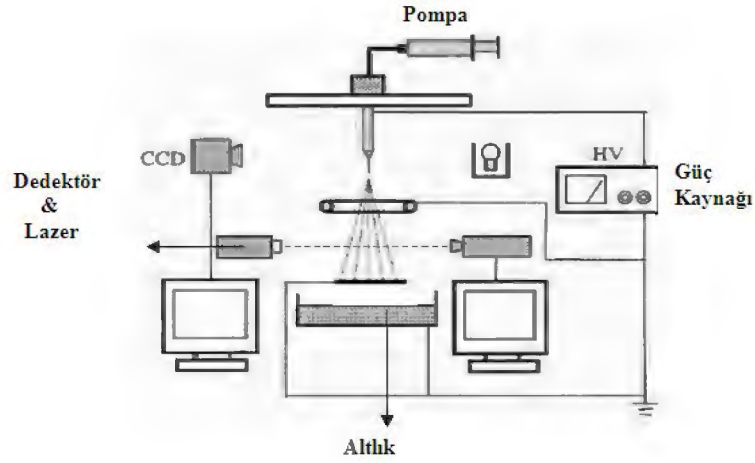
Elektrosprey yöntemi literatürde elektrostatik atomizasyon, elektrohidrokinamik atomizasyon olarak ta bilinmektedir. Elektrosprey yöntemi seramik süspansiyonların mikro ve nano seviyede damla üretilmesi ve bunların altlık üzerine püskürtülerek ince film elde etmek için kullanılan bir kaplama tekniğidir. Bu tekniğin kullanılmasının amacı altlık üzerine uygulanacak olan ince film tabakasının homojen bir şekilde elde edilmesi ve hazırlanan seramik süspansiyonun çok küçük boyutlarda püskürtülmesidir. Günümüzde malzeme biliminde nano yapıya sahip malzemelerin kullanılması ve araştırılması

artmaktadır. Bu teknik sayesinde depolama koşullarına bağlı olarak çok yoğun malzemeden, poroz yapılı nano boyutta farklı yüzey özelliğine sahip malzemeler üretilmektedir. Film kaplama şeklinde elde edilen malzemelerin yüzey özelliği ise hazırlanan başlangıç solüne, kaplama sıcaklığına, boyut ve boyut dağılımına bağlıdır. Yüksek poroziteli nano yapıda ince film üretmek için yüksek sıcaklıkta kaplama ve metal alkoksit, metal asetat solları tercih edilir [68, 69].

Bu yöntem, kimyasal buhar biriktirme (CVD), fiziksel buhar biriktirme (PVD), ve plazma sprey gibi diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında kolay deney düzeneği kurulumu, geniş başlangıç malzemesi seçimi, hızlı film üretimi atmosfer koşullarında çalışabilme, kaplama yapılan tabakanın yüzey özelliğinin ve kompozisyonunun kolay kontrol edilmesi, ekonomik olması, toz sentezi için uygun bir teknik olması, toplanması düşük ve nano boyutta toz elde edilmesi gibi avantajlara sahiptir [69,70].

Elektrosprey tekniği ile kaliteli ince filmler elde etmek için genel olarak, kılcal boru ağızlığının (nozzle) dizaynı, kaplama (altlık) sıcaklığı, uygulanan potansiyel (voltaj), süspansiyonun ya da solün akış hızı, çözücünün kompozisyonu, seramik malzemenin elektriksel ve mekanik özellikleri, tane ve tane boyut dağılımı gibi parametrelerin iyileştirilmesi gerekmektedir [71,72].

Elektrosprey tekniği deney düzeneği hem yatay hem de dikey olarak kurulabilmektedir. Yapılan çalışmalara göre deney düzeneğinin yatay ya da dikey olarak hazırlanmasının deneysel sonuçlarını değiştirmedeği; ancak dikey olarak hazırlandığı zaman deneysel ekipmanlar daha az yer kapladığı bilinmektedir. Şekil 1.14 ile elektrosprey kaplama ünitesi görülmektedir [69].



Şekil 1.14. Dikey elektrosprey kaplama ünitesinin şematik gösterimi [69]

Deneysel düzenek üç kısımdan oluşmaktadır:

- 1) Elektrosprey ünitesi; Bu ünite yüksek DC voltajı sağlayan güç kaynağına, ağızlığına, ve altlık tutucuya sahiptir.
- 2) Sıvı besleme ünitesi; Bu ünite pompa, sıvı kabına, ve esnek tüpe sahiptir.
- 3) Sıcaklık kontrol ünitesi [69].

Şekil 1.14’de görüldüğü gibi hazırlanan çözelti kılcal boru içinden geçerken yüksek potansiyele maruz kalmakta ve elektrik alan etkisiyle yüklü damla elde edilmektedir. Daha sonra basınç ve voltaj azalmakta, böylece bu geçiş esnasında damla boyutu azalmaktadır ve çözücünün buharlaşmasıyla gaz iyonları oluşmaktadır. Kısaca proses damla oluşumu, damlanın küçülmesi ve gaz iyon oluşumu olmak üzere üç aşamadan meydana gelmektedir [73].

Nano yapıdaki seramik ince filmlerin elektrosprey kaplanma yöntemi ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genel olarak göre sol-gel tekniği ile elektrosprey yöntemi birleştirilerek elektrostatik-sol spreyleme tekniği yaratılmıştır. Yapılan çalışmalara göre metal alkoksit ve metal asetat kullanarak ZnO, ZrO₂, SnO₂, BaTiO₃, ve Al₂O₃’ün nano boyutta ince film olarak kaplanması çalışılmıştır [69].

1.4. İmplant İlişkili Enfeksiyonlar

Günümüzde Ortopedi ve Travmatoloji cerrahisinde implantla ilişkili en önemli başarısızlık nedenlerinden birisi, imlantlara bağlı gelişen enfeksiyonlardır. İmplant yüzeyine tutunan bakterilerin biyofilm oluşturması ve implant-doku ara yüzeyinde konak savunmasının yeterli olmaması gibi nedenlerden dolayı implant yüzeyleri enfeksiyonu kolaylaştırmaktadır. Biyouyumlu bir materyal olan titanyum vücut içerisinde fizyolojik koşullar altında protein kılıf ile sarılır. Bu protein kılıf bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm oluşumu için uygun bir ortam oluşturur [74-77].Ortopedi ve travmatolojide önde gelen enfeksiyon etkenlerinden olan stafilokoklar, biyofilm oluşturabilmektedirler [74]. Biyofilm oluşturan bakteriler konağın immun sisteminden korunur [78,79]. Biyofilm içerisinde bulunan bakteriler tedaviye daha dirençlidirler ve rutin antibiyotik tedavisi implant ilişkili enfeksiyonların tedavisinde yetersiz kalmaktadır. Enfeksiyon oluştuktan sonra tedavisi zordur ve sorunun çözümünde çoğu zaman implantın çıkartılması gerekmektedir. Bu durumda da hastanın iyileşme süreci gecikmekte beraberinde ek sorunlar getirmektedir. Uzamış hastane yatış süresi, karmaşık revizyon girişimleri, implant yetmezliği, hastanın çektiği acılar, ekonomik masrafların artması ve ölüme kadar gidebilen medikal durumlar bu sorunlardan bazılarıdır. Tedavideki bu zorluklar nedeniyle implant ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde bakterinin implant yüzeyine yapışmasının önlenmesi en önemli basamak ve çözüm gibi görünmektedir [74].

Metalik implantlar ortopedide yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu materyallerin kullanılması beraberinde enfeksiyon sorununu da getirmektedir. İmplantın yerleştirilmesinden sonraki erken dönemlerde konağın immun sistemi lokal olarak cerrahi travma nedeni ile ciddi şekilde bozulmaktadır. Bu dönem enfeksiyon için en riskli dönemi oluşturmaktadır [74].Ortopedik cerrahide en yaygın olarak kullanılan metalik implant malzemeleri 316L paslanmaz çelik ve Ti ve Ti alaşımlarıdır. Paslanmaz çelik implantlar, titanyuma göre daha yüksek enfeksiyon oranlarına sahiptir [80,81].

Bakterinin implant yüzeyine yapışmasının ve kolonizasyonunun önlenmesi amacıyla birçok yöntem denenmiştir. İmplant yüzeylerinin antibakteriyel özellikteki maddelerle kaplanması bu yöntemlerdendir. Bu amaçla implant yüzeylerinin kaplanmasında çeşitli maddeler kullanılmıştır. Antibiyotikler, çinko, hidroksiapatit, nitrik oksit ve gümüş bunlardan bazılarıdır [82-85].

1.4.1. Antibiyotik Kullanımı ve Lokal İlaç Salınımı

İmplant ilişkili enfeksiyonların tedavisinde sistemik terapiler kullanılabilir. Ancak bu tedavi yöntemi kan dolaşımına zarar vermekle birlikte tam olarak etkin değildir ve yüksek konsantrasyonlarda antibiyotik gereksinimi ortaya çıkmaktadır [1].

Açık kırıkların operasyonları sırasında ve sonrasında enfeksiyon oluşumunun engellenmesi ile tedavinin başarısı önemli ölçüde artmaktadır. Bu sayede kırık iyileşmesi amacı ile daha uygun bir çevre elde edilmiş olur. Bu amaçla birçok yöntem kullanılabilir. Bu hastalarda enfeksiyon oluşumunu azaltmak amacı ile; sistemik ve/veya lokal antibiyotik kullanımı, yara yeri debritleme, yara yerinin yıkanması, yaranın kapatılması, kırığın erken fiksasyonu bu yöntemlerden bazılarıdır [84].

Açık kırıklarda sistemik antibiyotiklerin kullanılması, enfeksiyon sıklığını azaltmaktadır [85,86]. Bu nedenle bu hastalara profilaktik amaçla sistemik antibiyotik başlanmalıdır. Kullanılacak olan antibiyotikler gram pozitif ve gram negatif etkinlikte olmalıdır [84].

Lokal ilaç salınımı ise umut verici ve aynı zamanda efektif bir yöntemdir. İmplant yüzeyine salınan ilaçlar bakteri konsantrasyonunu düşürmekte ve implant yüzeyine bakteri yapışmasını engelleyerek enfeksiyonu önlemektedir. Aynı zamanda bu yöntem ile antibiyotiklerin toksik etki riski ve diğer yan etkileri azalmaktadır [87].

Biyomalzeme yüzeylerine bioaktif molekül yerleştirilmesi antikoagulantlar gibi aktif moleküller, inflamasyona sebep olmayan ilaçlar, antibiyotikler ve hücre

dışı matris proteinleri ile sağlanabilmektedir. İlaç ve biyomoleküllerin yığın halinde karıştırılması ve ilaç ve biyomoleküllerin implant yüzeylerine graflenmesi olacak şekilde iki strateji gelişmiş sistemleri desteklemek için kullanılmaktadır. Yığın halinde ilaç ve biyomoleküllerin kullanımına en tipik örnek kemik çimentosudur. Kullanımı kısıtlı olduğundan dolayı ilaç ve biyomoleküllerin yüzeye yüklenmesi tercih edilen bir alternatif haline gelmiştir [88].

1.4.2. İmplant Yüzeyi Modifikasyonları

Ortopedik implantların yüzey uyumluluğunu desteklemek ve osteoinduktif malzemeler üretmek için yüzey modifikasyonları uygulanmıştır. Günümüze kadar implantların yüzeylerinde bakteri tutunmasını engellemek amacı ile farklı yüzey modifikasyonları araştırılmıştır. Bu modifikasyon yöntemleri arasında istenilen fonksiyonları elde etmek amacı ile yüzeye malzeme ilave edilmesi, yüzeyin kimyasının ve topografyasını değiştirilmesi ve yeni topografya için geçerli yüzeyden malzeme ulaştırılması sayılabilir [5].

Bakteri kolonizasyonunu engellemek amacı ile yüzey modifikasyonlarında hidrofilik poliüretanlar, polietilen glikol ve polietilen oksit gibi polimerlerin kullanımı denenmiştir [3,89]. Bu polimerler pasif kaplamalardır ve implant yüzeyine bakteri yapışmasını fizikokimyasal özellikleri ile düşürmektedirler. Ancak etkileri kısıtlıdır. İlaç ve biyomoleküller daldırma ve kurutma yöntemi ile, kimyasal bağların immobilizasyonu ile ve çeşitli kaplama uygulamaları ile yüklenmektedirler. Kaplama uygulamalarında pasif ve aktif yöntemlerin her ikisi de yer almaktadır [90].

Birkaç yıldır devam eden çalışmalar ile implantların mikrobiyal kontaminasyonunu kontrol etmek ve engellemek amacı ile yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında en etkin olan implant yüzeylerine antimikrobiyal özellik kazandırılmasıdır. Birçok farklı yüzey modifikasyonu ve kaplama teknikleri kullanılabilir. İmplant yüzeylerinin antimikrobiyal etkiye sahip olması için; implant yüzeyine direkt antibiyotik emdirilmesi,

antimikrobiyal ajanların immobilizasyonu, nitrikoksit (NO) içeren malzemeler, TiO₂ filmler ve bakır ve gümüş gibi aktif ve antimikrobiyal etkiye sahip metaller ile kaplanması gibi yöntemler araştırılmıştır [91-93].

1.4.2.1. Antibiyotik emdirilmesi

Kas-iskelet sisteminde enfeksiyon profilaksisinde veya tedavisinde antibiyotikler sistemik olarak kullanılabilceği gibi, lokal olarak ta kullanılabilir. Bu sayede hedef dokuda yüksek konsantrasyon sağlanırken sistemik yan etkiler azaltılmış olur. Antibiyotiklerin lokal uygulanmasında taşıyıcı olarak en sık kemik çimentosu kullanılmaktadır [94-96]. Ancak bunun yanında kollajen, apatit-cam seramikler, fibrin örtüleri, polilaktik/poliglikolik implantlar kullanılabilir. Ancak bu taşıyıcıların elde edilmesi daha zordur, maliyetleri daha yüksektir ve etkileri sınırlıdır [97].

1.4.2.2. İmplantların HA ile kaplanması

Hidroksiapatit ortopedik cerrahide kullanılan metalik implantların biyoaktivitesini artırmak amacı ile implantların yüzeyine kaplanmaktadır. HA ile kaplanan implantlarda metal iyon salınımı azalmakta, implant yüzeyinde hidroksiapatitin indüklediği osteointegrasyon sayesinde hızlı kemik oluşumu ve bu sayede de güçlü bir kemik-implant tutunma yüzeyi elde edilmektedir [98,99]. Ancak bu avantajlarının yanı sıra, hidroksiapatit kaplamanın enfeksiyon açısından olumsuz yönleri de bulunmaktadır. Birçok *in vivo* çalışmada hidroksiapatit kaplamanın enfeksiyon riskini ve şiddetini artırdığı gösterilmiştir. Hidroksiapatit kaplamanın yüzey pürüzlülüğünü artırdığı, hidrofobik bir ortama neden olduğu, yüzeyin elektrik yükünü elektropozitiflediği için enfeksiyon riskini arttırdığı belirtilmiştir [100,101]. Aynı zamanda literatürde kalsiyumfosfat seramiklerin implant yüzeyinde kullanılmasının enfeksiyonu engellediğine ilişkin çalışmalar da mevcuttur. Opalchenova ve arkadaşları [102] yaptıkları *in vitro* ve *in vivo*

çalışmalarda kalsiyum fosfat seramiklerin antibakteriyel etkinlikte olduğunu vurgulamışlardır. Moroni ve arkadaşları [103] hidroksiapatit kaplı eksternal fiksator çivilerinin çivi yolu enfeksiyonunu azalttığını, bu işlemi implant kemik ara yüzeyini azaltarak sağladığını belirtmişlerdir.

1.4.2.3. Nitrik oksit içeren sistemler

Bir implantın etrafında antibakteriyel ortam oluşturmak için kullanılan bir diğer yöntemde nitrik oksitin (NO) implant yüzeyinde serbest bırakılmasıdır. NO yüksek reaktifliğe sahip iki atomlu bir radikaldir ve adhezyonu ve agregasyonu engellemektedir [104]. *In vitro* alışmalar ile NO nun potansiyel bir antimikrobiyal ajan olduğu ve gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı etkin olduğu kanıtlanmıştır. NO geniş bir antibakteriyel etki spektrumuna sahiptir. Bu etkiyi süper oksitlerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitrit (ONOO-) ile göstermektedir. Peroksinitritin sıvı peroksidasyonu sonrasında membran yıkımı, DNA bozulumu ve bakterilerin solunum sistemlerinde bulunan metalloproteinlerin yıkımına yol açmaktadır. Doku implantlarında ve implante edilen sensörlerde biyouyumluluğu arttırmak için NO kaplamalar araştırılmıştır. NO konsantrasyonuna bağlı olarak implant kaynaklı enfeksiyonların engellenmesinde kullanılabilecek bir yöntemdir. Ancak NO nun kan ve doku sisteminde düşük ömre sahip olması ve bakterisidal aktivite mekanizmasından dolayđı bakteri dayanımı gelişiminin kısıtlı olması kullanımını engellemektedir [105-108].

1.4.2.4. TiO₂ filmler

Fotokatalitik etkiye sahip malzemelerin başında anataz fazında TiO₂ gelmektedir. TiO₂ sistemi kendi kendini temizleyen, dezenfekte eden ve kullanıldığı mekanın havasını ve hijyenik koşullarını geliştiren bir sistemdir. Bünye üstünde nanometre kalınlığında anataz fazında TiO₂ oluşturulur. Bu faz

fotokatalitik etkiye sahiptir. Fotokatalitik sistemler, ultraviyole ışığa (UV) ve floresan ışığına maruz kaldığı zaman kimyasal reaksiyona girerek ayrışmaktadır ve aktif oksijen çıkarmaktadır. Aktif oksijen yapı içerisinde organik maddelerin oksitlenmesi, bozundurulması, bakterilerin yok edilmesi, yüzeydeki kirlilik lekelerinin temizlenmesi ve havanın istenmeyen kokulardan arındırılması gibi özelliklere sahiptir [109].

UV ışığı altındaki TiO_2 içeren bir yüzeyde, suyun oluşturduğu temas açısının yavaş yavaş azaldığı ve yeterince UV ışımada 0° ye yaklaştığı belirlenmiştir. Bu olay ıslanma ve bu özelliği gösteren yüzeyde hidrofilik olarak nitelenmektedir. Süper hidrofilik bir yüzey, bütün yüzeye düzgün bir şekilde yayılır. Bu özellik cam ve aynalarda daha açık görüş sağlayacağı gibi su damlalarının neden olduğu lekeleri de önleme özelliğine sahiptir.

Fotokatalitik özellikler; yalnızca güneş ışığı yada floresan ışığı ile aktif hale gelir, mantar ve bakterileri öldürür, çevresel kirlenmeleri (su kirliliği, hava kirliliği, pis kokular, zehirli gazlar, hormonlar, organik atıklar) önler ve su ve yağ direnci sağlar. Çeşitli uygulamalar için farklı uygulamaları bulunmaktadır [110].

Fotokatalitik malzemenin kendi kendini temizleme özelliğinden dolayı kullanımını oldukça yaygındır. Fotokatalitik bazlı antimikrobiyal teknolojiler için ise çalışmalar halen devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda ortopedik cerrahide biyouyumluluğu ve korozyon dayanımından dolayı yaygın olarak kullanılan Ti ve Ti alaşımı implantların UV radyasyonuna tabi tutularak fotoaktif film oluşumu sağlanmıştır. Titanya filmler daldırma veya sol-jel yöntemi, titanyumun direkt oksidasyonu, plazma iyon implantasyonu ve elektroforetik çöktürme yöntemi gibi birçok teknik ile oluşturulabilmektedir [111-114].

Titanyum yüzeylerinde UV radyasyonu sonrasında titanyumun osteoconductif kapasitesine etkileri araştırılmıştır. UV radyasyonundan 48 saat sonrasında hidrofobik yüzeyin süperhidrofobik yüzeye dönüştüğü ve ıslatma açısının düştüğü belirlenmiştir. Albumin ve fibronectin absorpsiyon hızında ve osteoblast hücrelerde artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda protein absorpsiyonu da %100 oranında artmıştır [3].

TiO₂ kaplanmış implantlar ile kaplanmamış ticari olarak kullanılan implantların antimikrobiyal özelliklerinde büyük bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. İki malzeme de antibakteriyel etkiye sahiptir ve sitotoksik etkileri bulunmamaktadır. İmplant yüzeyini kaplayan TiO₂ filmi çok ince olsa bile antimikrobiyal ajan görevi görmektedir [115].

1.4.2.5. Gümüş içeren kaplamalar

İmplant ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için antimikrobiyal ajanların implant yüzeyine kaplanması giderek artan oranda önem kazanmaktadır. Bu amaçla kullanılan ajanlardan birisi de gümüş iyonudur. Gümüşün antimikrobiyal etkisi ilk olarak Yunan tarihinde Herodot'un yazılarında içme suyunun temizlenmesi amacı ile kullanımı ile karşımıza çıkmaktadır. Tıp alanında kullanımı ise VIII. Yüzyıldan itibaren yaygınlaşmış, Hipocrates gümüş preparatlarını ülser tedavisi ve yara iyileşmesini desteklemek amacı ile kullanmıştır. Gümüşün medikal kullanımı eskiden beri bilinmektedir. Oftalmia neonatorum profilaksisinde ve yanıklı hastalarda yara yeri bakımında gümüş uzun zamandan beri kullanılmaktadır [116-117].

Gümüşün tıpta kullanımı uzun yıllardır bilinmesine karşın medikal implantların yüzeylerinin kaplanması için kullanımı son yıllarda önem kazanmış ve birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalarda amaç implant ilişkili enfeksiyonların önüne geçilmesidir. Bu amaca yönelik olarak katater, üriner katater ve özellikle ortopedik implantların yüzey kaplamalarında gümüş içeren sistemlerin kullanılması giderek artan oranlarda ilgi çekmektedir.

Gümüşün implant yüzeyi kaplamasında tercih edilmesinin nedenleri, kullanılan dozlarda lokal ve sistemik toksik etkilerinin görülmeşi, etkisinin uzun süre koruyabilmesi, bakteriyel direnç göstermemesi, birçok yöntem ve birçok madde ile beraber kullanılabilmesinden kaynaklanmaktadır [74,118,119].

Gümüş iyonlarının antimikrobik etki mekanizması onların enzim ve proteinlerindeki tiyol (sülfidril, -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 üzerinde etkili olur. Gümüş, mikroorganizmalardan K^+ salınımına neden olur; sitoplazma ve sitoplazma membranındaki pek çok enzim gümüş etkisinin hedef yeridir. Gümüş iyonları nükleik asitlerle de ilişkiye girmektedir [120]. Gümüşün antibakteriyel etkinliği gümüş konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Yüksek gümüş konsantrasyonlarında antibakteriyel etki artmaktadır. Gümüş birçok bakteriye karşı antibakteriyel etki göstermektedir. Kemik ve cerrahi alan enfeksiyonlarında önemli bir sorun olan *S.aures* bu bakterilerden birisidir.

Son zamanlarda gümüş medikal implantların yüzey kaplaması amacı ile de kullanılmaktadır. Bu yöntemle üretilmiş olan santral venöz katater, üriner katater, metal implantlar gibi araçların enfeksiyon oranlarında *in vitro* ve/veya *in vivo* etkinliği bilinmektedir [121-123].

Ortopedik implantların yüzeyinde antibakteriyel etki elde etmek amacı ile gümüş kullanılması son yıllarda giderek artan bir ilgi alanı olmuştur. İmplant yüzeylerinin gümüş ile kaplanmasındaki amaç özellikle implant ilişkili enfeksiyonların ortadan kaldırılması veya sıklığının azaltılmasıdır. Yapılan birçok çalışmada metal implant yüzeylerinin gümüş ile kaplanması ile antibakteriyel etki elde edilirken toksik etki de görülmemiştir [124-125]. Chen ve arkadaşları [92] tarafından yapılan *in vitro* çalışmada gümüş katkılı hidroksiapatit ile kaplanan titanyum disklerin *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı antibakteriyel etkinlikte olduğu, kullanılan konsantrasyonlarda (%2,05±0,55) insan embriyonik mezenşimal hücrelerine karşı toksik etki göstermediği gözlenmiştir. Yine bir başka *in vitro* çalışmada çeşitli oranlarda gümüş içeren (%1, %3 ve %5) gümüş+hidroksiapatit kaplanan titanyum plakların *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. Aureus* 'a karşı antibakteriyel etkinlikte olduğu, fare fibroblastlarına karşı toksik etki göstermediği tespit edilmiştir [126].

Antimikrobiyal aktiviteyi geliştirmek için alternatif bir diğer yöntem ise Ag/TiO₂ kompozitlerdir. Ag/TiO₂ kompozit filmler sol-jel daldırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Antimikrobiyal etkinlik *S.aureus*, *E.coli* ve *B.cereus* ile test

edilmiş ve Ag/TiO₂ yüzeyin etkinliğinin, Ag içermeyen TiO₂ kaplamaya oranla yüksek olduğu belirlenmiştir. Ag içermeyen yüzeylerde karanlıkta antimikrobiyal etkinlik gözlemlenmemiştir. Ag miktarı arttıkça antimikrobiyal etkinlik artmaktadır [127].

1.4.3. Bakteriler İle İlgili Genel Bilgiler

1.4.3.1. *Escherichia coli*

E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda ve 1.0-1.5 µm enine, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir (Şekil 1.15).

Bazı kültürlerde koka benzer küçük ve kısa bazı kültürlerde de normalden uzun hatta Y harfi şeklinde dallanan filamanlı şekiller bulunabilir. Her iki şeklin birlikte bulunması olasıdır. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığı ile hareketli olmakla beraber hareketleri yavaştır, hatta hareketsiz görünebilirler. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram olumsuzdurlar. Etraflarında kapsül maddeleri bulunmakla beraber organizmada bağırsak dışındaki yerlerden soyutlanan kökenlerin çoğunda kapsül ya da mikrokapsül bulunur [128].

E. coli buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde kolayca ürerler. Değişebilen anaerop olup, optimal üreme ısısı 37 °C dir. 15-45 derecelerde üreyebilirler. Özellikle 45 °C de üreyebilmeleri benzer bazı bakterilerden ayırt edici bir özelliktir. Ortalama pH 7.2 de iyi ürerler. *E.coli* ısıya karşı oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısına uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilir. Soğuğa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir [128].



Şekil 1.15. *E.coli* kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü [129]

1.4.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *pseudomonas aeruginosa* 1.5-3 µm uzunluğunda ve 0.5 µm kadar genişliğinde, bazen çift çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz çomakçık yapısındadırlar (Şekil 1.16). Çoğu kez bir uçlarında bir, nadiren iki-üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanırlar ve gram negatiftirler.

Genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla optimal 30-37 °C lerde ve hafif alkali ortamda bol olarak ürerler. 41°C de üreyebilme yeteneği *pseudomonas aeruginosa* için önemli bir özellik olup arka arkaya üç pasajla 42°C de üreyebilmesi *Pseudomonas fluorescens*'den ayırt edici bir özelliğidir. Aerop olmakla beraber denitrifikasyon özelliğinde olduklarından anaerop üreyebilen türlerine de rastlanır [128].



Şekil 1.16. *P.aeruginosa* kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü [130]

Pseudomonas'lar ısıya dirençsizdirler. 55 °C de 1 saat ve 60°C de 15 dakikada ölürlür. Çevre ısısı koşullarında sularda aylarca canlı kalırlar. Su damlacıklarında iken havada kurutulduklarında büyük bir çoğunluğu ölür, ancak az bir kısmı uzun süre bu kuru ortamda toz ve toprakta canlı kalırlar. Kurutulduktan sonra canlı kalmış bakterilerden üretilen kökenler yeniden kurutulduklarında daha çok sayıda ve daha uzun süre canlılıklarını korurlar [128].

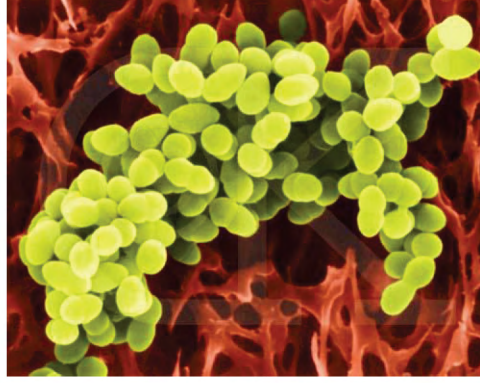
Pseudomonas aeruginosa'lar özellikle hastanelerde daha kolay barınma ortamı bulurlar. Hastanedeki çeşitli çevre örneklerinin % 5 inde pseudomonas izole etmek olasıdır. Bu olasılık hastanede uygulanan temizliğe ve incelenen bölgenin niteliğine göre artabilir. Genel Cerrahi, Kadın -Doğum servisi ve özellikle yanık ünitelerinde bu bakteriye rastlanma olasılığı artmaktadır. Bu ünitelerde zemin, oda, hasta eşyaları ve ortamlarında bakterilerin barınabileceği organik çıktılar (kan, irin, yanık eskarları vb.) bulunması önemli bir faktördür. Bu ortamlarda kuruyan bakteriler uzun süre canlılıklarını korurlar. Hastanelerde kullanılan krem, merhem ve sıvılarda kolayca barınırlar. Steril saf su içinde bile ve oda derecesinde üremeye alıştıkları bilinmektedir. İyi muhafaza edilmeyen ağız açık antiseptiklerin ve hatta pseudomonasların kısmen direnç gösterdikleri dörtlü amonyum bileşikler kökenli dezenfektanların bu bakteriler için bir karbon ve enerji kaynağı olarak kullanıldıkları bildirilmiştir [131].

1.4.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus Aureus adı altında anılan tür özellikte koagüler olumlu, mannitolu aerop ve anaerop koşullarda asit oluşturarak parçalayan alfa toksin yapan, novobiocine duyarlı, insan ve diğer sıcak kanlı hayvanlarda geniş çapta piyogen toksik ve besin zehirlenmesi niteliğinde enfeksiyonlara etken olan stafilokoklar toplanır [128].

Doğada oldukça yaygın olan, tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvan deri, burun mukozası, ağız ve nazofarinks floralarında bulunan *staphylococcus aureus* bakterilerinin, günümüz için en önemli yönleri kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle eskiye oranla enfeksiyonlarına daha sık rastlanmasıdır.

Staphylococcus aureus micrococoaceae ailesi içerisinde yer alır. Mikroskopta genellikle üzüm salkımı şeklinde kümeler yapmış olarak görülür. 0,5-1,5 mikrometre çapında gram pozitif koklardır. Hareketsiz, sporsuz kapsülsüzdürler. Optimal olarak 37 °C de ve pH 7.4 de ürerler. Jeloz besiyerinde bolca ürer ve yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyle, S tipinde ve 1-2 mm çapında koloniler yaparlar. Uygun ortamda koloniler 6-8 mm çapına ulaşabilirler. Kültür besiyerlerinde 1-3 mm çapında düzgün, parlak yüzeyle, çoğu portakal renkli olmak üzere sarı veya krem renkli koloniler oluşturur. Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha çok olmak üzere tam yuvarlağa yakın şekildedir. Ayrıca gerek aynı ve gerekse çeşitli kültürlerden elde edilen stafilokoklar hücre görünümü bakımından birbirinden önemli bir ayırım göstermezler. Stafilokoklar yaklaşık olarak 1 µm çapındadırlar. Üreme esnasında bölünme sonucu meydana gelen hücreler birbirinden ayrılmazlar ve üç boyut yönünce çoğaldıklarından üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar. Şekil 1.17'de *S.aureus* kolonisinin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü verilmektedir. Stafilokoklar çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitifler. Eski kültürlerde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram negatif gibi görünürler [131,132].



Şekil 1.17. *S. aureus* kolonisi taramalı elektron mikroskobu görüntüsü [130]

Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzlerdir. Bazı kökenlerinde belirgin ve polisakkarid yapısında bir kapsül ya da bir mukus katmanı olur.

Stafilokoklar basit besiyerleri dahil birçok besiyerlerinde ürerlerse de kanlı besiyerinde daha iyi çoğalırlar. Fakültatif anaeropturlar. Oksijenli ortamda üremeyi tercih etselerde belli miktarda oksijenli ve hatta tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler [128].

Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer bakterilerin çoğu 60 °C de 30 dakika bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar 1 saat süre sonra bile canlılıklarını saklı tutabilirler. Aynı şekilde sporsuz olmalarına rağmen, kuruluğa karşı dayanıklılıkları da fazladır. İrin içerisinde kurutulurlarsa haftalarca canlı kalırlar [128].

S. aureus'un implant ilişkili enfeksiyonları oluşturmada önemli bir faktör olan biyofilm/slime oluşturma yeteneği bulunmaktadır. Bakteriyel glikokaliks bakteri tarafından oluşturulmuş polisakkarit kaplı tabakadır. Bu materyal yapışma özelliğinden dolayı slime olarak da adlandırılmaktadır. *S. aureus*'un kolonizasyonu ve biyofilm oluşturmada polisakkarit yapıda olan glikozaminglikandan ibaret olan “B/S” olarak adlandırılan ekstrasellüler mukoid bir tabaka oluşturmada yardımcıdır [133].

1.4.3.4. *Staphylosus epidermidis*

Çoğu kez deri ve üst solunum yolları mukozasında bulunabilen koklar olup kültür ve irin içerisinde dörtlü veya ikili yada düzensiz gruplar halinde nadiren tek tek görülürler. Gram olumlu olup jelozda kirli beyaz renkte ve aureus stafilokoklara göre daha küçük, konveks, düz ya da granüllü yüzeyle koloniler yaparlar. Kültürlerinden yapılan preparatlarda dörtlü görünüş ya da düzensiz kümeler görülebilir. Bazıları sarı ya da turuncu pigment yapabilirler [128].

Fakültatif anaeropturlar ancak oksijenli ortamda daha iyi ürerler. Üreme dereceleri 15-45 arası olup en iyi 30-37 °C de ürerler.

İnsanlarda normal mukozada bulunmalarına karşılık en fazla buldukları yer insan derisidir. Daha çok genel düşünlük ve vücut direncinin çok azaldığı hallerde fırsatçı patojen olarak, çeşitli enfeksiyonlara neden olurlar. Ayrıca başka bakterilerle birlikte ortak enfeksiyonlara neden olabilirler. Enfeksiyonlarının çoğunluğu hastane kökenli olup, bulaşma hastanın kendi derisi ve personelin deri ve burun florasındaki stafilokoklardandır.

Yumuşak dokuların abseleri, yara ve konjktiva enfeksiyonları, pnömoni, artrit menenjit, ampiyem, sepsis, endokardit bazen idrar yolları hastalıkları gibi enfeksiyonları görülmüştür [128].



Şekil 1.18. *S. epidermidis* kolonisi taramalı elektron mikroskopu görüntüsü [134]

2. AMAÇ VE ÖNEM

Günümüzde ortopedik implant kullanım oranı giderek artan oranlarda önem kazanmaktadır. Metalik implantların vücuda yerleştirilmesinden sonra, implanta bağlı olarak gelişebilen enfeksiyon çok sık rastlanan bir komplikasyondur ve bu enfeksiyon, ortopedik implant uygulamalarının başarılı ve uzun süreli etkin olmasını kısıtlamaktadır. Diğer taraftan enfeksiyon; hastanın hastanede kalış süresinin ve tedavi masraflarının artması, iyileşme sürecinin uzaması gibi olumsuz sonuçlara yol açmaktadır [135-136].

Kırık tedavisinde kullanılan ortopedik implant malzemesine bağlı olarak gelişen enfeksiyon sık karşılaşılan komplikasyonlardan birisidir. Bu önemli komplikasyonun önlenmesi ya da enfeksiyon riskinin azaltılması için sistemik ve lokal antibiyotiklerin kullanılması, erken cerrahi, uygun yara bakım ve cerrahi tekniklerinin kullanılması ve implant kaplama gibi çeşitli yöntemler denenmiş, ancak uygulanan bu yöntemler ile enfeksiyonun tam olarak önlenmesi mümkün olmamıştır [3,137-140].

Son yıllarda implant kaynaklı enfeksiyon oranlarının azaltılması için metalik implantların antimikrobiyal etkiye sahip ajanlarla kaplanması uygulama alanı bulmuştur. Metalik implantların kaplanması için antibiyotikler, bakteri tutunmasını azaltıcı etkiye sahip proteinler ve antibakteriyel etkiye sahip metal iyonları kullanılmıştır [137-140].

İmplant kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi amacı ile antibakteriyel etkiye sahip lokal olarak antibiyotik uygulaması, 20 yılı aşkın bir süredir klinik olarak kullanılmaktadır. Bir taşıyıcı bünye varlığında vücuda yerleştirilen antibiyotikler ile başarılı sonuçlar alınmıştır [141]. Antibiyotikler ve antibakteriyel malzemeler için polimetilmetakrilat (PMMA) en yaygın kullanılan taşıyıcıdır. Antibiyotiklerin lokal olarak uygulanmasında PMMA'nın yanı sıra, kolajenler, kalsiyum sülfat, kalsiyum fosfat ve poliüretan implant kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi için yaygın olarak kullanılmışlardır [142].

İmplant malzemelerine çeşitli yüzey işlemleri ile antibakteriyel etkinin kazandırılması, enfeksiyonların önlenmesi için yeni bir çözüm olmuş, farklı

antibakteriyel malzemeler ve farklı taşıyıcı bünyeler için birçok araştırma yapılmıştır. Kovalent olarak bağlanan polikationik gruplar, antimikrobiyal ajanların chitosan nanopartiküllere yüklenmesi ve implant yüzeylerinin quaternary amonyum bileşiklerle (iyodin ve gümüş) kaplanması gibi yüzey özellik kazandırma teknikleri araştırılmıştır ve birçok kaplama tekniği denenmiştir [135,143-145].

Ortopedik implantların, implant-kemik arasındaki bağlanma mukavemetinin artması ve biyouyumluluk kazandırılması için plazma sprey yöntemi kullanılarak hidroksiapatit ile kaplandığı bilinmektedir. Bu kaplamalar yaygın kullanım alanı bulmasına karşın, antibakteriyel etkiye sahip değildir. Aynı zamanda düşük kaplama–metal yapışma mukavemetine sahip olup, kaplama kalınlığının uniform olmaması gibi sorunlar mevcuttur. Çok yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen kaplama prosesi sonrasında hidroksiapatitin kimyasal kompozisyonunda değişiklikler olabilmektedir. Bu olumsuz özelliklerin önüne geçebilmek için elektroforetik çöktürme, magnetron sputter, sol-jel, daldırma yöntemi ve elektrosprey yöntemi gibi kaplama yöntemleri araştırılmıştır.

Hidroksiapatit (HA) ile kaplanmış implantların enfeksiyonu engelleyici bir özelliğinin olmaması ile farklı kaplama ajanlarının katkısı ile denenmiştir. Antiseptik malzemeler içeren HA ile yapılan çalışmada chlorhexidine kullanılmıştır. Ancak chlorhexidine sahip olduğu toksik etki nedeni ile insan vücudunda kullanılması uygun olmamıştır. Emilebilir polimerik malzemeler ile yapılan çalışmalarda polilaktik asit kullanılmış ve enfeksiyonu engellemesi açısından başarılı sonuçlar alınmıştır. Gümüş kaplanmış implantlar antibakteriyel yüzeyler oluşturmak için bir diğer yöntemdir. Ancak belirli bir düzey sonrasında toksik etki yaratması nedeniyle kullanımı kısıtlanmaktadır.

“İmplant Malzemelerine Antimikrobiyal Özellik Kazandırılması” başlıklı doktora tezinde; metalik implant malzemelerinden 316L paslanmaz çelik ve Ti ve Ti alaşımlarının, metal iyonu katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz ile kaplanması ve tavşanlar üzerinde deneysel çalışmaların yapılması planlanmıştır. Bu tez çalışması ile “uniform bir kaplama ve kaplama kalınlığına sahip implant malzemelerinin *in vivo* deneyleri sonrasında implant kaynaklı enfeksiyonların önüne geçilebilmesinin sağlanması” amaçlanmıştır.

Bu amaca yönelik olarak yürütülecek çalışmalar; antimikrobiyal özelliğe sahip metal iyon katkılı hidroksiapatit esaslı seramik toz, hidroksiapatit ve biyocam üretimi, üretilen tozların karakterizasyonu ve metalik implantların kaplanmasında kullanılmak üzere solüsyon hazırlanması, metalik implantlar olarak kullanılan Ti6Al4V ve 316L paslanmaz çelik implantların kaplanması, sinterlenmesi ve karakterizasyonu ve *in vitro* ve *in vivo* testler ile antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesi konularını kapsamaktadır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu doktora tezinin deneysel çalışmaları; metalik implantların kaplanması için kullanılacak toz üretimi, 316L paslanmaz çelik implantların kaplanması ve *in vivo* deneyleri ve Ti6Al4V implantların kaplanması, *in vitro* ve *in vivo* deneyleri olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır.

3.1. Kaplama İçin Kullanılacak Toz Üretimi

Çalışmanın ilk bölümü metalik implantların kaplanması için kullanılacak hidroksiapatit üretimi, antimikrobiyal özelliğe sahip toz üretimi, ara yüzey kaplaması olarak kullanılacak biyocam üretimini kapsamaktadır. Kaplama için kullanılacak hidroksiapatit, antimikrobiyal toz ve biyocam üretimini takiben tozların karakterizasyonu ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda antimikrobiyal ajan olarak antimikrobiyal toz bünyesine katılan Ag^+ iyonunun salınımı incelenmiştir.

3.1.1. Hidroksiapatit Üretimi

Hidroksiapatit (HA) tozunun sentezi yaş kimyasal yöntem kullanılarak son pH 5.5 ve Ca/P oranı 1.67 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kuru olarak öğütülen tozların elek analizleri yapılmış ve toz -38 μm , -38 μm + 75 μm , +75 μm aralıklarında tane boyutlarına ayrılmıştır. Üretilen tozların faz analizi X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku-Rint 2200) kullanılarak 5-70° açıları arasında 2 °/dk ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Antimikrobiyal Toz Üretimi

Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun (ABT) hazırlanmasında yaş kimyasal yöntem kullanılmıştır. Antimikrobiyal ajan olarak Ag^+ iyonu kullanılmıştır. Bu süreçte ilk önce, metal iyonları aynı miktardaki saf suda tamamen çözündürülmüş ve kalsiyum hidroksite eklenerek süspansiyon hazırlanmıştır. Daha sonra ortofosforik asit, yavaşça ilave edilerek kimyasal reaksiyona sokulmuş ve bu esnada çözelti manyetik çubuk yardımıyla karıştırılmıştır. Stokiyometrik hidroksiapatit yapısına yakın bir yapı oluşturabilmek için pH sürekli kontrol edilmiştir. Reaksiyon esnasında oluşan çökelti filtreden geçirilip $80^{\circ}C$ 'de kurutulmuştur. Toz üretimi son pH 5.5, metal iyonu katkısı ağırlıkça %5.5 olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kuru olarak öğütülen tozların elek analizleri yapılmış ve toz $-38 \mu m$, $-38 \mu m + 75 \mu m$, $+75 \mu m$ aralıklarında tane boyutlarına ayrılmıştır. Üretilen tozların faz analizi X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku-Rint 2200) kullanılarak $5-70^{\circ}$ açıları arasında $2^{\circ}/dk$ ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.1. Üretilen Tozun Karakterizasyonu

3.1.2.1.1. XRD analizi

X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku-Rint 2200) kullanılarak üretilen tozların faz analizi gerçekleştirilmiştir. XRD analizleri $10-80^{\circ}$ açıları arasında $2^{\circ}/dk$ hız ve $10-50^{\circ}$ açıları arasında $0,1^{\circ}/dk$ hız ile yapılmıştır.

3.1.2.1.2. SEM ve EDX analizleri

Üretilen tozların morfolojisi görüntülemek amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss Supra V50) ve ağırlıkça metal katyonu miktarlarını ve metal katyon salınımlarını belirlemek üzere enerji saçımını X-ışınları spektrometresi (EDX, Oxford Instruments INCA Energy) kullanılmıştır. EDX ile elde edilen değerler toz üretiminde hesaplanan değerlerle karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda tozların tane boyut dağılımı lazer difraksiyon metodu (Malvern NanoZS 2000) ile ölçülmüştür.

3.1.2.1.3. XRF analizi

Sentezlenen ABT kodlu tozun kantitatif analizleri X-ışınları floresans (XRF, Rigaku ZSX PrimusI) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve hesaplanan metal iyonu katkısı ile XRF sonuçları karşılaştırılmıştır.

3.1.2.1.4. XPS analizi

ABT tozunun X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS, SPECS GmbH) analizi yapılmıştır. X-ışını kaynağı olarak Al K α 1-1486.61eV kullanılmıştır. Örnek yüzeyinden yayımlanan fotoelektronların kinetik enerjileri SPECS GmbH PHOIBOS 150 yarıküresel elektron enerji analizörü kullanılarak analiz edilmiştir. Pelet haline getirilen ABT tozu XPS spektrumu alınmadan önce hidrokarbonlardan arındırılmak üzere Ar iyonları ile kazınmıştır.

3.1.2.2. Ag⁺ iyonu salınım miktarının belirlenmesi

ABT tozunun biyomalzeme uygulamaları düşünülerek katı sistemden sıvı sisteme iyon geçiş miktarını belirlemek üzere salınım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal toz, her 100 ml'lik solüsyonda, Sodyum Laktat (%100'lük) 0.31 g. Sodyum Klorür 0.60 g. Potasyum Klorür 0.03 g. Kalsiyum Klorür 0.02 g içeren laktatlı ringer solüsyonuna %1 oranında katılmış ve 36.5 C sıcaklıkta denemeler süresince karıştırılarak bekletilmiştir. Belirli günlerde alınan tozlar kurutulmuş ve EDX analizleri ile metal iyon katkı kalsiyum fosfat esaslı antimikrobiyal seramik tozdan suya Ag⁺ iyonu salınım miktarları belirlenmiştir. Aynı zamanda alınan Laktatlı Ringer solüsyonu örnekleri atomik absorpsiyon Spektrometresi (AAS, Varian AA Plus) ve indüktif olarak eşleştirilmiş plazma / optik emisyon spektroskopisi (ICP, Varian 720 ES) analizleri ile ABT tozundan sıvıya geçen Ag⁺ iyonu miktarı belirlenmiştir.

3.1.3. Biyocam Üretimi

Cam, seramik ve cam seramiklerin birçok kompozisyonunun kemik ile bağlanma özelliğine sahip olduğu bilinmektedir. Kemiğe bağlanma özelliği ile ilk karşımıza çıkan biyocam 45S5 adı ile bilinen SiO₂-Na₂O-CaO-P₂O₅ içeren cam kompozisyonudur. 45S5 cam kompozisyonu ağırlıkça %45 SiO₂, %24.5 Na₂O, %24.4 CaO ve %6 P₂O₅ içermektedir [146-148]. Termal genişmesi farklı modeller ile yapılan çalışmalarda farklılık göstermekte ve 13.5x10⁻⁶ °C⁻¹ ile 15.1x10⁻⁶ °C⁻¹ değerleri arasında değişmektedir [149]. Sinterleme sıcaklığı diğer cam kompozisyonlarına oranla yüksektir. Belirtilen kompozisyon ile hazırlanmış, karıştırılmış ve 1300 °C de 1 saat bekletildikten sonra frit halinde dökülmüştür. Toz haline getirmek için haçlı öğütücü ile öğütme işlemini takiben sinterleme davranışı ısı mikroskobu ile incelenmiştir.

Ticari olarak bilinen 6P57 biyocam kompozisyonu ağırlıkça %56.5 SiO₂, %11.0 Na₂O, %15.0 CaO, %8.5 MgO, %6.0 P₂O₅ ve %3.0 K₂O içermektedir.

Termal genişmesi $10.8 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ olup, sinterlenme sıcaklığı düşüktür [150]. 6P57 biyocamı belirtilen kompozisyon ile hazırlanmış, karıştırılmış ve $1300 \text{ } ^\circ\text{C}$ 1 saat bekletildikten sonra frit halinde dökülmüştür. Toz haline getirmek için haçlı öğütücü ile öğütme işlemini takiben sinterlenme davranışı ısı mikroskobu ile incelenmiştir. 6P57 biyocama antibakteriyel özellik kazandırmak ve kaplamalarda sinterleme sonrası kalan Ag^+ miktarını arttırmak amacı ile cam kompozisyonuna ek olarak üretim esnasında ağırlıkça %30 oranında ABT katılmış ve $1400 \text{ } ^\circ\text{C}$ de 1 saat bekletildikten sonra frit halinde dökülmüştür. Toz haline getirmek için haçlı öğütücü ile öğütülmüştür. Üretilen cam kompozisyonu 6P57ABT olarak kodlandırılmıştır. Sinterleme sıcaklığı ısı mikroskobu ile belirlenmiştir.

3.1.3.1. Üretilen biyocamların karakterizasyonu

3.1.3.1.1. XRD analizi

Kaplamalarda ara katman olarak kullanılacak biyocam kompozisyonlarının faz analizi X-ışınları difraktometresi kullanılarak $10\text{-}70^\circ$ açıları arasında $2 \text{ } ^\circ/\text{dk}$ ile gerçekleştirilmiştir.

3.1.3.1.2. XRF analizi

Biyocam kompozisyonlarının kimyasal kompozisyonu XRF ile analiz edilmiştir.

3.1.4. Üretilen Tozların Mikrobiyolojik Analizleri

ABT tozunun antimikrobiyal etkinliğini belirlemek amacı ile halo test metodu ve agar dilüsyon test metodu olmak üzere iki farklı test yöntemi kullanılmıştır.

İçerdiği gümüş ile antimikrobiyal etkinlik sağlayacağı düşünülen 6P57ABT kompozisyonu antimikrobiyal etkinlik açısından halo test metodu kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.1.4.1. Halo Test Metodu

Halo test metodunda; petri kapları ve toz numuneler 200 °C'de 2 saat süre ile steril edilmiştir. Katı besiyerinde bulunan saf *E. Coli* kültüründen öze ucu ile bir miktar alınarak sıvı besiyerine (nutrient broth) aktarılmış ve sıvı besiyeri 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek kültür hazırlanmıştır. Öze ucunun ve deney tüpünün ağız kısmı ateşten geçirilerek steril edilmiştir. Bu bakteri kültüründen 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} oranlarında dilüsyon hazırlanmıştır. Her bir deney tüpünden diğerine aktarım yapılırken vorteks tüp karıştırıcı kullanılarak sıvı besiyerinin homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Besiyerleri (nutrient agar) malzemeler üzerinde ince bir film tabakası oluşturacak şekilde dökülüp, hazırlanan dilüsyonlardan 200 µl lik bakteri ekimi yapılmıştır. Ekim steril dragalski özesi kullanılarak yüzeye yayma yöntemi ile yapılmıştır. Petriler ters çevrilerek 37 °C'de 24 saat süre ile inkübe edilmiş, petriler sıcak hava sirkülasyonu engellenmeyecek şekilde yerleştirilmiştir.

3.1.4.2. Agar Dilüsyon Test Metodu

Agar dilüsyon metodunda Müller Hinton Agar'ın içinde tozun son konsantrasyonu % 10, % 5, % 2.5, % 1.25, % 0.625, % 0.313 olacak şekilde karışım hazırlanmıştır. Ayrıca testin kontrolü(şahit) için toz bulunmaksızın

hazırlanmış Müller Hinton Agar hazırlanmıştır. Bu karışım sıcaklığı 40-42 °C'ye ulaştığında besiyeri miktarının 1/100'ü oranında McFarland 0.5 bulanıklığına sahip bakteri süspansiyonundan eklenmiş, bakteri ve etkin maddenin homojen dağılımının sağlanması için köpük oluşmayacak hızda çalkalanmış ve petri kutusuna dökülmüştür. Petri içindeki besiyerleri oda ısısında soğumaya bırakılmış, besiyeri katılaştıktan sonra 37 °C'de etüvde inkübe edilmiş ve 24. ve 48. saatte besiyerinde koloni oluşup oluşurmadıkları araştırılmıştır. Ayrıca Gram boyası ile sonuç teyit edilmiştir.

3.2. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların Kaplanması

Bu bölümde metalik implant olarak yaygın olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik implantların antimikrobiyal özelliğe sahip ABT tozu ile kaplanması ve optimum kaplamanın elde edilmesi için farklı yöntemler araştırılmıştır.

3.2.1. Plazma Sprey Yöntemi İle Kaplama Prosesi

Metalik implantların HA ile kaplanmasında plazma sprej yöntemi ile kaplama yaygın olarak kullanılmaktadır. Kaplama işlemi önceki kaplama için kullanılacak tozun akıcı olması gerektiği için ABT tozu püskürtmeli kurutucu kullanılarak granül haline getirilmiştir. 20 cm uzunluğunda 2 mm çapında hazırlanan 316L paslanmaz çelik çivilerin plazma sprej ile kaplama işlemi öncesinde mekanik bağlanmanın sağlanması için kumlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Argon ve hidrojen gazları kullanılarak kaplama yapılmıştır. Plazma sprej kaplama cihazı parametreleri 60 V ve 450 amperdir. Sprej mesafesi 10-12 cm arasında olup, tabanca çıkış sıcaklığı 4000 °C dir. Plazma sprej kaplama ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik çivilerin kaplama yüzeyleri SEM ile incelenmiş ve EDX ile kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır.

3.2.2. Daldırma Yöntemi İle Kaplama Prosesi

Daldırma yöntemi ekonomik ve hızlı bir yöntem olduğu için sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem ile kaplama için 12.5x12.5 mm boyutlarında 316L paslanmaz çelik altlıklar hazırlanmıştır. Bu altlıkların kaplama yapılacak yüzeyleri parlatıldıktan sonra daldırma işlemi öncesi etanol ile temizlenmiştir. Daldırma yöntemi ile kaplama için ilk aşama kaplama için kullanılacak solüsyonlarının hazırlanmasıdır.

3.2.2.1. Solüsyon hazırlanması

Bu yöntemde kullanılmak üzere hazırlanacak solüsyonlarda ağırlıkça farklı toz yüzdeleri kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonlarda alkollü sistem tercih edilmiş ve etanol kullanılmıştır. Solüsyonların içerdikleri ağırlıkça yüzdeler Tablo 3.1 ile verilmektedir.

Tablo 3.1. Daldırma yöntemi ile yapılacak tek tabakalı kaplamalar için hazırlanan solüsyonların içerdikleri toz-alkol miktarları.

Solüsyon No.	Tek tabaka kaplama için solüsyonlar		
	Etanol hacim [ml]	ABT ağırlık [g]	6P57 ağırlık [g]
S1	40	4	---
S2	40	4	---
S3	80	8	---
S4	80	8	2
S5	100	8	2
S6	120	8	4
S7	120	8	4
S8	140	8	6
S9	80	---	3

Çift tabakalı kaplama işlemi için kullanılacak solüsyonların ağırlıkça % oranları Tablo 3.2 ile verilmektedir.

Tablo3.2. Daldırma yöntemi ile yapılacak çift tabakalı kaplamalar için hazırlanan solüsyonların ağırlıkça yüzde oranları

Çift tabaka kaplama için solüsyonlar			
Solüsyon No.	etanol hacim [ml]	ABT ağırlık [g]	6P57 ağırlık [g]
T1	80	---	3
T2	80	8	---

Solüsyon hazırlanma aşamasında solüsyonlar öncelikle manyetik karıştırıcı ile karıştırılmış daha sonra ultrasonik olarak homojen hale getirilmiştir. Ultrasonik olarak homojen hale gelen solüsyonlar atritör değirmende farklı süreler ile öğütme işlemine tabi tutulmuşlardır. Solüsyon hazırlama prosesinde kullanılan yöntemler ve uygulama süreleri Tablo 3.3 ile verilmektedir.

Tablo 3.3. Solüsyon hazırlama prosesinde kullanılan yöntemler ve kullanım süreleri.

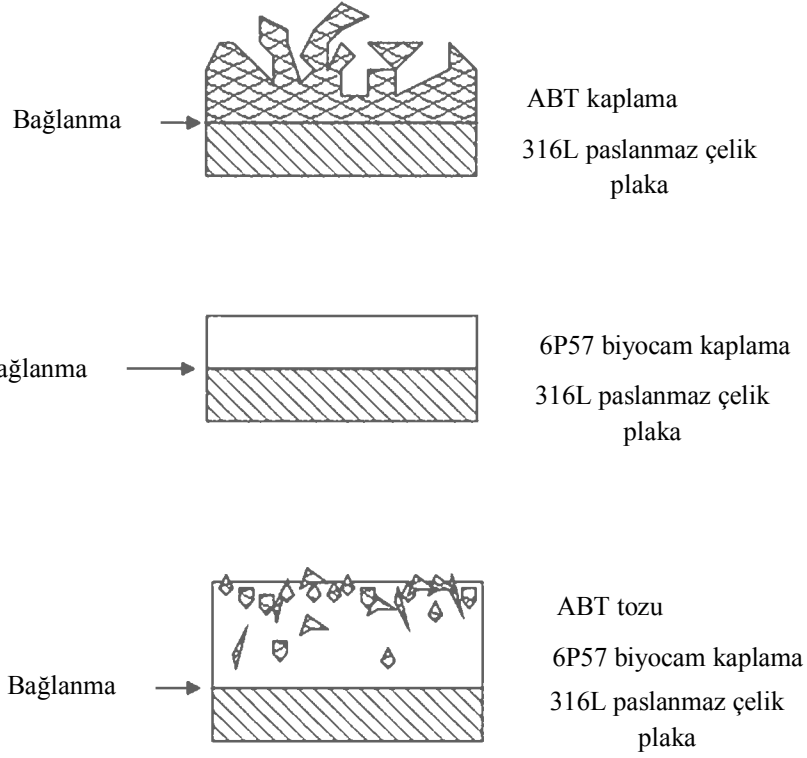
Solüsyon No.	Manyetik karıştırıcı	Ultrasonik homojenleştirici		Atritör değirmen
	zaman[dak]	zaman[dak]	şiddet[%]	Zaman[dak]
S1	20	3	40	---
S2*	20	3	40	---
S3	20	3	40	30
S4	20	3	40	20
S5	20	3	40	20
S6	20	3	40	40
S7	20	3	40	40
S8	20	3	40	60
S9	60	2	40	15

* Manyetik karıştırıcı sonrasında 1 saat bekletilmiştir.

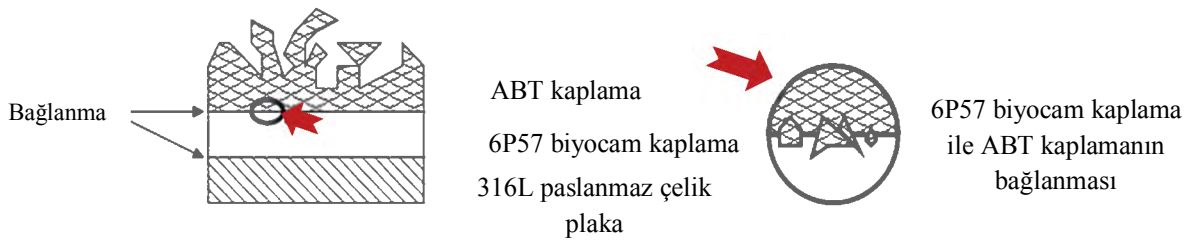
3.2.2.2. Kaplama prosesi

Daldırma yöntemi ile kaplama, altlığın hazırlanan çözelti içerisine daldırılarak, altlık yüzeyine belirli kalınlıkta film tabakasının oluşturulması işlemidir. Daldırma ile kaplama süreci; daldırma, birikme, akma ve buharlaşma olmak üzere dört kısımda oluşmaktadır.

Daldırma yöntemi ile kaplama denemelerinde tek ve çift tabakalı kaplama uygulaması yapılmıştır. Tek tabakalı kaplama, ABT toz ile kaplama, farklı 6P57 biyocam yüzdeleri ile ABT toz ile kaplama, 6P57 biyocamı ile kaplama ve karşılaştırma için ince ve kalın kaplamaları içermektedir (Şekil 3.1). Çift tabakalı kaplamada ise 6P57 biyocamı üzerine ABT tozu ile kaplama daldırma yöntemi kullanılarak uygulanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Tek tabakalı kaplamaların şematik olarak gösterimi.



Şekil 3.2. Çift tabakalı kaplamanın şematik olarak gösterimi.

Altlıklar etanol ile temizlendikten sonra daldırma işlemine tabi tutulmuşlardır. Homojen ve uniform kaplama elde edilmesi için tüm numuneler birçok kez solüsyona daldırılmış ve 15 ila 60 sn. arasında değişen sürelerde solüsyon içerisinde bekletilmiştir. Tek tabakalı kaplamalar için daldırma ile

kaplama prosesi parametreleri Tablo 3.4 ile, ince ve kalın kaplamalar için kaplama prosesi parametreleri ise Tablo 3.5 ile verilmiştir.

Çift tabakalı kaplamalar için öncelikle 6P57 biyocam ile hazırlanan solüsyonun daldırma yöntemi ile kaplanması ve sonrasında üzerine ABT tozu ile hazırlanan solüsyonun kaplama işlemi yapılmıştır. Çift tabaka kaplama için hazırlanan solüsyonların kaplama parametreleri Tablo 3.6 ile verilmiştir.

Tablo 3.4. Tek tabakalı kaplamalar için kaplama prosesi parametreleri.

Solüsyon No.	Bekleme süresi [sn]	Daldırma Miktarı
S1	20	4
S2	20	4
S3	15	6
S4	15	7
S5	15	7
S6	15	8
S7	15	8
S8	15	6
S9	15	7

Tablo 3.5. İnce ve kalın kaplama denemelerinde kullanılacak solüsyonun kaplama prosesi parametreleri.

Solüsyon No.	6P57 biyocam solüsyonu : 80 ml etanol + 3 g 6P57				
	ince	kalın	Bekleme Süresi [sn]	Daldırma miktarı	Kaplama sonrası Kurutma süresi [sn]
S9	x		15	5	30
S9*		x	120	1	60

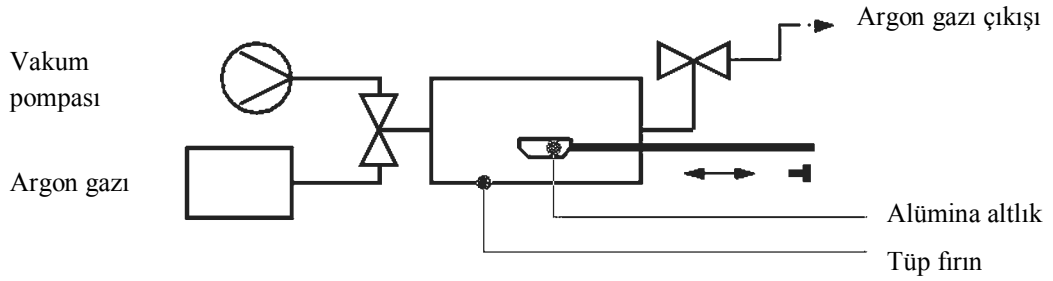
Tablo 3.6. Çift tabakalı kaplamalar için kaplama prosesi parametreleri

Solüsyon No.	1.tabaka:80ml etanol+ 3 g 6P57					2.tabaka:80 ml etanol+ 8 g ABT		
	ince	kalın	Bekleme süresi [sn]	Daldırma miktarı	Kurutma süresi [sn]	Bekleme süresi [sn]	Daldırma miktarı	Kurutma süresi [sn]
T1	X		15	6	30	5	3	180
T1*	X		15	5	30	5	4	180
T2		X	120	1	60	5	3	180
T2*		X	120	1	40	5	3	120

Sinterleme işlemi öncesi kaplanmış tüm numuneler etüvde 100°C de kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi sonrasında tüm numunelerin stereo mikroskop ile görüntüleri incelenmiştir.

3.2.2.3. Sinterleme prosesi

Uniform kaplamalar elde edebilmek açısından sinterleme prosesi önemli bir aşamadır. Bu proseste kaplanmış numunelerden kaplama sonrasında en iyi sonucun alındığı 9 farklı kaplama sinterleme işlemine alınmıştır. Sinterleme işlemi için tüp fırın kullanılmış, altlığın korozyona uğramasını engellemek amacıyla vakum altında gerçekleştirilmiş ve yüksek saflıkta Argon gazı kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Sinterleme prosesisin gerçekleştirildiği tüp fırının şematik gösterimi.

İlk sinterleme denemesi için 10 °C/dak. ile 800 °C ye çıkılmış ve bu sıcaklıkta alumina altlık üzerindeki kaplanmış numuneler fırına yerleştirilmiştir. Bekleme süresi 30 dak. olarak belirlenmiştir. İlk sinterleme denemesine tabi tutulan kaplamalar ve özellikleri Tablo 3.7 ile verilmiştir.

Tablo 3.7. İlk sinterleme denemesine tabi tutulan numuneler

Kaplama No.	Solüsyon No.	ince	kalm	Solüsyon
K1	S9	x		80ml etanol + 3g 6P57
K2	S9		x	80ml etanol + 3g 6P57

İkinci sinterleme denemesi için numuneler fırına yerleştirildikten sonra hızlı bir şekilde 800 °C ye çıkılmış ve 10 dak. bekleme süresini takiben numuneler fırından alınmıştır. İkinci sinterleme denemesine tabi tutulan kaplamalar ve özellikleri Tablo 3.8 ile verilmiştir.

Tablo 3.8. İkinci sinterleme denemesine tabi tutulan numuneler

Kaplama No.	Solüsyon No.	İnce	Kalın	Solüsyon
K3	S3	x		80ml etanol + 8g ABT
K4	S9	x		80ml etanol + 3g 6P57
K5	S5	x		100ml etanol + 8g ABT + 2g 6P57
K6	S7	x		120ml etanol + 8g ABT + 4g 6P57
K7	S8	x		140ml etanol + 8g ABT + 6g 6P57
K8	T1	x		1.tabaka: 80ml etanol + 8g ABT 2.tabaka: 80ml etanol + 3g 6P57
K9	T2		X	1.tabaka: 80ml etanol + 8g ABT 2.tabaka: 80ml etanol + 3g 6P57

3.2.2.4. Sinterlenmiş implantların karakterizasyonu

İki farklı sinterleme işlemi sonrasında numunelerin farklı büyütmelelerde stereo mikroskop görüntüleri incelenmiştir. Sinterlenmiş 316L paslanmaz çelik implantların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Zeiss Evo V50) ile yüzey morfolojileri incelenmiş ve Enerji Saçınımlı X-ışınları Difraksiyonu (EDX) ile kimyasal kompozisyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Elektrosprey Yöntemi ile Kaplama Prosesi

3.2.3.1. Solüsyonların hazırlanması

Kaplamalar için kullanılmak üzere HA (şahit olarak), ABT ve 6P57ABT (ara katman) tozlarından solüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonların tane boyut ölçümleri ve zeta potansiyeli ölçümleri (Malvern NanoZS 2000) gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan tüm solüsyonlar için yapılan sedimentasyon testleri zeta potansiyeli sonuçlarını karşılaştırılmıştır.

3.2.3.2. Kaplama prosesi

Eksternal fiksator çivisi olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik metalik implantlara HA ve ABT tozun kaplanması için elektrosprey yöntemi kullanılmıştır. *In vivo* deneylerde kullanılmak üzere 316L paslanmaz çelikten 30 mm uzunluğunda 2 mm kalınlığında ve uçları 10 mm yivli 96 adet tel hazırlanmıştır. 6P57ABT, ABT ile metalik implant arasında ara katman olarak uygulanmıştır. Ancak 6P57ABT tozu ile hazırlanan solüsyonun stabil olmaması ve çok hızlı bir şekilde çökmesinden dolayı daldırma yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Tüm implantlar kaplama işlemi öncesi metanol ile temizlenmiştir.

Elektrosprey ile kaplama için yapılan çalışmalarda için en iyi kaplama süresi 4 dakika, voltaj 8.0 kV ve akım 20 mA olarak belirlenmiştir. Mesafe 4 cm dir.

3.2.3.3. Sinterleme prosesi

Radyo frekansı (RF) ile düşük frekanslarda seramik tozların sinterleme işleminde yüksek elektrik alanı ve daha geniş penetrasyon derinliği sağlanmaktadır [151]. Sinterleme işlemi RF kullanılarak, 2×10^{-5} torr vakum altında yapılmıştır. T=56-57 değerine hızlı bir şekilde getirilmiş ve L=60-72 değerindeyken metalik implant kor halini almıştır. Kor halini aldıktan sonra 20-30 sn arasında tutulmuş ve hızlı bir şekilde soğutulmuştur.

3.2.3.4. Sinterlenmiş implantların karakterizasyonu

Sinterlenmiş 316L eksternal fiksator çivilerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Zeiss Evo V50) ile yüzey morfolojileri incelenmiş ve Enerji Saçınımlı X-ışınları Difraksiyonu (EDX) ile kimyasal kompozisyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.5. 316L paslanmaz çelik implantların *in vivo* deneyleri

In vivo deneyler için 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 kullanılmıştır. Tavşanlar TİCAM hayvan evinde standart yem ve su ile beslenmiştir. Çalışma öncesinde 26.03.2008 tarihli 49 kayıt numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu kararı alınmıştır.

3.2.3.5.1. *In vivo* deneylerde kullanılmak üzere kaplamaların hazırlanması

In vivo deneylerde kullanılmak üzere; kontrol grubu olarak kaplanmamış 32 adet 316 L paslanmaz çelik implant ve HA kaplanmış 32 adet 316 L paslanmaz çelik implant, 6P57ABT/ABT kaplanmış 32 adet 316L paslanmaz çelik implant hazırlanmıştır.

3.2.3.5.2. *In vivo* deneyler

Deneyel infeksiyon oluşturmak için *S.epidermidis* klinik izolatu kullanılmıştır. Bu izolatin %15 gliserol içeren triptik soya buyyonda -70°C 'de saklanan stok kültüründen %5 koyun kanlı agara ve Kongo kırmızılı agar plaklarına pasaj yapılmıştır. Plaklar, 35°C 'de bir gece inkübe edilmiş ve sonrasında Kongo kırmızılı agarda slime faktörü ürettiği saptanan *S. epidermidis* süşunun kanlı agardaki kolonilerinden steril triptik soya buyyon içerisinde 0.5 McFarland standart bulanıklığı hazırlanmıştır (10^8 CFU/ml). Hazırlanan bu bakteri süspansiyonundan steril cam tüplere birer ml dağıtıldıktan sonra her bir tüpe bir adet implant steril şartlarda yerleştirilmiştir. Tüpler, parafilm ile kapatıldıktan sonra çalkalamalı etüvde 35°C 'de 80 rpm'de 3 saat süreyle inkübe edilerek bakterilerin implantlara tutunması sağlanmıştır. İnkübasyon sonrası steril şartlarda tüplerden çıkartılan implantlar steril serum fizyolojikle 3 kez yıkanarak implantlara tutunmamış bakterilerin uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra implantlar deney hayvanlarına uygulanmak üzere ayrı ayrı vida kapaklı steril polistren tüplere konulmuştur.

Bakterilerin implantlara tutunduğunun gösterilmesi amacıyla kaplamasız, HA kaplı ve 6P57ABT/ABT kaplı implantlardan birer tanesi yıkama sonrası bir ml SF içeren tüplere yerleştirilmiş ve tüpler 30 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra her bir sıvıdan 50 μl alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edildi. 35°C 'de bir gece inkübasyon sonrası üremenin varlığı araştırılmıştır.

Tavşanlar Grup1 (Kaplanmamış implant uygulanan tavşanlar), Grup2 (HA kaplanmış implant uygulana tavşanlar) ve Grup3 (ABT kaplanmış implant uygulanan tavşanlar) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Her grupta sekizer olmak üzere toplam 24 tavşan çalışmaya alınmıştır.

İntramusküler ksilazin hidroklorid(Ronpun® 0.2 mg/kg) ve subkutan ketamin hidroklorür(Ketalar® 10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra tavşanların her iki tibia üzeri traşlanmış ve yıkanmıştır. Betadin ile boyandıktan sonra delikli kompres ile örtülerek drape yapıştirilmiştir. Patellanın 1 cm distalinden anteromedialden yaklaşık 1.5 cm lik insizyonla girilmiş ve cilt ciltaltı geçildikten sonra kas yapılar klemp yardımı ile ayrılarak kemik dokuya ulaştırılmıştır. Bir mm kalınlığında kılavuz tel yardımı ile her iki korteks delinmiştir (Şekil 3.4). Yumuşak dokular ekarte edildikten sonra koagulaz negatif stafilokok aureus (KNS) inoküle edilmiş çiviler el ile kılavuz tel yardımı ile açılan deliklerden gönderilmiştir (Şekil 3.5). Tellerin sıkma tork değerleri torkmetre (Torqueleader Quickset Minor 5-120 cNm) ile ölçülerek kayıt altına alınmıştır. İlk açılan deliklerden 1 cm distale kılavuz tel ile 2. delik açılarak 2. KNS inoküle edilmiş tel gönderilmiş ve sıkma torku ölçülmüştür. Cilt 3/0 ipek ile kapatılmış, çiviler tel kesici yardımı ile tavşanın yumuşak dokularına zarar vermeyecek uzunlukta kesilmiştir (Şekil 3.6). Tel dibi pansumanı yapılmış ve teller kesik spançlar yardımı ile kapatılmıştır. Aynı işlemler sırası ile tavşanın karşı tibiasına da uygulanmıştır. Bu şekilde bir tavşana aynı gruptan 4 adet tel implante edilmiştir.



Şekil 3.4. Kılavuz tel ile giriş deliğinin açılması

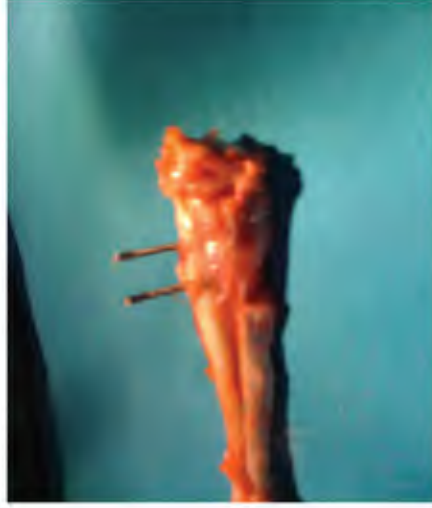


Şekil 3.5. Çivinin tork metre yardımı ile yerleştirilmesi



Şekil 3.6. Çivilerin yerleştirilip uygun boyda kısaltılması sonrası

Postoperatif dönemde tavşanlar günlük olarak izlenmiştir. Tavşanlara gün aşırı çivi dibi pansumanları yapılmış ve altıncı haftada intrakardiyak 3 cc tiopental sodyum verilerek tavşanlar öldürülmüştür. Bacaklar kalçadan dezartiküle edilmiştir. Steril şartlarda tibia üzerindeki yumuşak dokular temizlenmiştir (Şekil 3.7). Çivilerin ortaya koyulması sonrası torkmetre ile gevşeme torkları ölçülmüştür.



Şekil 3.7. Çivilerin yumuşak dokudan temizlenmiş hali.

Çiviler çıkartıldıktan sonra steril cam tüplere yerleştirilmiştir. Giriş delikleri üzerinden steril kıl testere ile kemik kesisi yapılmıştır. Korteks ve medulladan sürüntü kültürleri alınmıştır. İmplantlar cam tüpler ile sürüntü örnekleri ise eküvyonlu transport sistemi (Copan/İtalya) ile bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır. Mikrobiyoloji laboratuvarına gelen örneklerden sürüntü örnekleri, %5 koyun kanlı agara ekilmiştir. İmplantlar 1 ml steril SF içerisinde üç dakika süreyle vortekslenerek tutunmuş bakterilerin serbestleşmesi sağlanmıştır. 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 hazırlanmış ve bu işleme seri halde devam edilerek 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ve 10^{-4} dilüsyonları yapılmıştır. Her bir dilüsyondan (10^0 'dan 10^{-5} 'e kadar) 50 µl alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edilmiştir. İnoküle edilen tüm %5 koyun kanlı agar plakları aerop ortamda 35 °C'de 48 saate kadar inkübe edilmiştir. *S. epidermidis*'in tanımlanmasında Gram boyama, koloni özellikleri (hemoliz, pigmentasyon vb) ve hızlı biyokimyasal testler (katalaz, koagulaz) gibi geleneksel yöntemlerden ve Otomatize İdentifikasyon Sisteminden (Phoenix, BD, Amerika) yararlanılmıştır.

Işık mikroskopunda histolojik çalışma yapmak için her gruptan 7 adet, çivi giriş deliklerini içine alan kemik bloğu çıkartılarak %10'luk formalin fiksatif

içerisine koyulmuştur. Işık mikroskopisi için histoloji laboratuvarına getirilen örneklerle gerekli küçültme işlemlerinin ardından kemik dokusu örnekleri %10'luk formalinde fiksatif günlük olarak değiştirilmek suretiyle 5 gün boyunca tespit edilmiş ve sonrasında kemik dokusunun dekalsifikasyon işlemine geçilmiştir. Bu aşama için 5cc formik asit ve 95cc distile su içeren dekalsifikasyon solüsyonu hazırlanmıştır. Solüsyon sıvısı tazelenerek kemiğin 10 gün döndürülerek yumuşaması sağlanmıştır. Yumuşayan kemikler 24 saat çeşme suyunda yıkanmış ve ardından 80° alkolde 12 saat bekletilmiştir. 96° alkolde ise kurumamasına dikkat edilerek kemik dokusunun takibine devam edilmiştir. Alkol takibinin ardından ksilol aşamasına alınan kemiğin şeffaflaşp şeffaflaşmadığı kontrol edilmiştir. Şeffaflaşan kemik dokusu örnekleri ksilol aşamasının ardından parafine alınmıştır. Parafinde 1 saat bekletilen örnekler 4 kez parafin değiştirilmesinin ardından parafine gömülerek bloklanmıştır. Gömme işleminin ardından ışık mikroskobik incelemeleri için kemik dokusu örneklerinden 5 µ luk kesitler alınmış ve Hematoksilin-Eozin boyası ve masson trikrom boyası ile boyanmıştır. Kesitlerin ışık mikroskobu (Olympus BH-2) ile değerlendirmeleri yapılmış preperatların digital kamera (Olympus DP-70) ile fotoğrafları çekilmiştir. Görüntülerde inflamasyon olup olmadığına araştırılmıştır. İnfeksiyon olan bölgelerde kantitatif değerlendirme yapılmış ve havers kanallarının ve osteonların yapıları değerlendirilmiştir.

3.3. Ti6Al4V İmplantların Kaplanması

Çalışmanın bu bölümünde intramedüller çivi olarak kullanılan Ti6Al4V alaşımlarının *in vitro* ve *in vivo* deneyler ile antimikrobiyal etkinliğini saptamak üzere referans olarak hidroksiapatit ve biyocam üzerine antimikrobiyal toz ile kaplanması gerçekleştirilmiştir. Kaplama yöntemi olarak elektrosprey yöntemi kullanılmıştır. Kaplamanın optimizasyonunun ardından sinterleme işlemine geçilmiş, sinterlenen implantların karakterizasyonu, mekanik özellikleri ve içerdikleri Ag⁺ iyonu miktarı belirlenmiştir. Kaplanmış implantların *in vitro* olarak antimikrobiyal etkinliği belirlendikten sonra *in vivo* olarak etkinlikleri araştırılmıştır.

3.3.1. Ti6Al4V İmplantların HA İle Kaplanması

Intramedüller çivi olarak kullanılan Ti6Al4V üzerine *in vitro* ve *in vivo* deneylerde referans olarak kullanılmak üzere HA ile kaplama yapılmıştır. HA ile kaplama için hazırlanan solüsyonlarda stabil olan sistem belirlenmiş ve toz atritör değirmende 1 saat metanol ile öğütülerek solüsyon hazırlanmıştır. Kaplama öncesi 2,5 cm boyutlarında 2 mm çapında hazırlanan Ti6Al4V intramedüller çiviler metanol ile temizlenmiştir. Kaplama için dikey elektrosprey ünitesi kullanılmıştır. Elektrosprey parametreleri ise voltaj 8.0 kV ve akım 20 mA olarak belirlenmiştir. Mesafe 4 cm dir.

3.3.2. Ti6Al4V İmplantların Biyocam İle Kaplanması

Ti6Al4V intramedüller çivilerin kaplanmasında ara katman olarak kullanılacak olan %30 ABT katkısı ile hazırlanmış 6P57ABT biyocamı için elektrosprey yöntemi hazırlanan solüsyonların çok hızlı çökmesinden dolayı

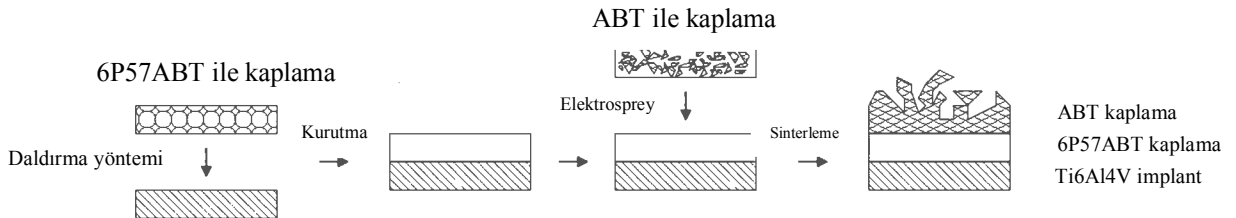
uygun olmadığı için daldırma yöntemi kullanılarak kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.3.3. Ti6Al4V İmplantların ABT İle Kaplanması

Ti6Al4V intramedüller çivi üzerinde ABT ile kaplama gerçekleştirilmiştir. ABT tozu atritör değirmende 1 saat metanol ile öğütülerek solüsyon hazırlanmış ve kaplama için dikey elektrosprey ünitesi kullanılmıştır. Elektrosprey parametreleri ise voltaj 8.0 kV ve akım 20 mA olarak belirlenmiştir. Mesafe 4 cm dir.

3.3.4. Ti6Al4V İmplantların Biyocam üzerine ABT İle Kaplanması

Ti6Al4V intramedüller çivilerin kaplanması için 6P57ABT, ABT ile metalik implant arasında ara katman olarak uygulanmıştır (Şekil 3.8). Ancak 6P57ABT tozu ile hazırlanan solüsyonun stabil olmaması ve çok hızlı bir şekilde çökmesinden dolayı daldırma yöntemi kullanılarak kaplanmıştır. Elektrosprey ile kaplama için yapılan çalışmalarda için en iyi kaplama süresinin belirlenmesi için 1, 2, 3, 4, 5 ve 7 dakika kaplama yapılmış ve kaplamaların yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiştir. Elektrosprey parametreleri voltaj 8.0 kV ve akım 20 mA olarak belirlenmiştir. Mesafe 4 cm dir.



Şekil 3.8. 6P57ABT üzerine ABT kaplamasının şematik olarak gösterimi.

3.3.5. Sinterleme Prosesi

Kaplanmış numunelerin sinterleme işlemi RF (radyo frekansı) kullanılarak, 2×10^{-5} torr vakum altında yapılmıştır. T=56-57 değerine hızlı bir şekilde getirilmiş ve L=60-72 değerindeyken metalik implant kor halini almıştır. Kor halini aldıktan sonra 15-20 sn arasında tutulmuş ve hızlı soğutulmuştur.

3.3.6. Sinterlenmiş İmplantların Karakterizasyonu

3.3.6.1. SEM analizi

Sinterlenmiş Ti6Al4V intramedüller çivilerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss Supra VP50) ile yüzey morfolojileri incelenmiştir.

3.3.6.2. EDX analizi

Kaplama yapılmış tüm implantların kimyasal kompozisyonun belirlenmesi amacıyla EDX analizi yapılmıştır. Haritalama tekniği kullanılarak yapılan analizlerde kimyasal kompozisyon belirlenirken aynı zamanda Ag^+ içeren kaplamalarda Ag dağılımı incelenmiştir.

3.3.6.3. XPS analizi

HA, 6P57ABT, ABT ve 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantların X-ışını kaynağı olarak Al K α -1486.61eV kullanılarak X-ışını fotoelektron spektroskopisi analizi yapılmıştır. Örnek yüzeyinden yayımlanan fotoelektronların kinetik enerjileri SPECS GmbH PHOIBOS 150 yarıküresel elektron enerji analizörü kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm kaplamalar

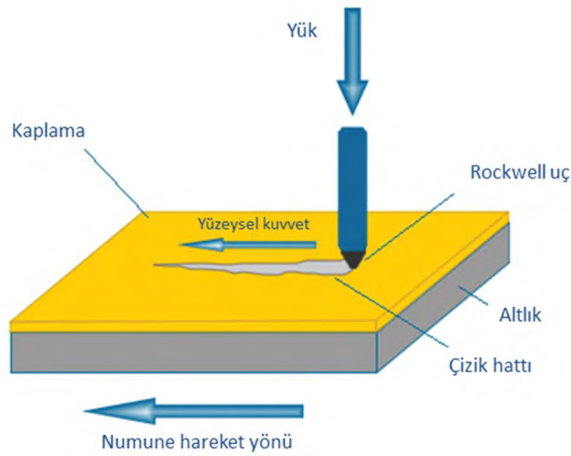
spektrumu alınmadan önce hidrokarbonlardan arındırılmak üzere Ar iyonları ile plazma temizleme işlemine tabi tutulmuştur.

3.3.7. Ti6Al4V İmplantlara Uygulanan Mekanik Testler

3.3.7.1. Yüzey çizilme dayanımlarının incelenmesi

Kaplanmış numunelerin yüzey çizilme dayanımlarının incelenmesi için 8mmx15mmx2mm boyutlarında hazırlanmış Ti6Al4V implantlara elektrosprey yöntemi kullanılarak yüzey çizilme davranışlarını karşılaştırmak amacı ile hidroksiapatit (HA), 6P57ABT, ABT ve 6P57ABT üzerine ABT kaplama yapılmıştır.

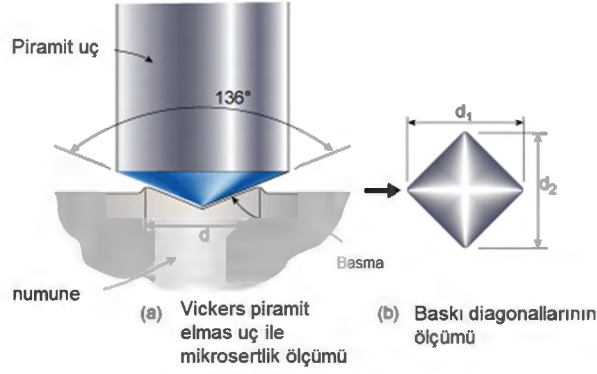
Yüzey çizilme dayanımı deneyleri Rockwell Q-227 uç ile; 0.2N başlangıç yükü ve 40.2N bitiş yükü uygulanarak, 10 mm/dak hızla 8 mm yüzey çizdiği olacak şekilde “CSM Mikro Scratch Tester” cihazı ile yapılmıştır. Rockwell C standardında (TS ISO 3738-1) 200 µm radyüslü elmas piramit uç ile yüzey, uygulanan kuvvetle birlikte yüzeyi aşındırılmış ve uygulanan yük artışı süresince sürtünme ve penetrasyon derinliği grafikleri belirlenmiştir. Aynı zamanda oluşan çiziklerin kalınlıkları tüm kaplamalar için SEM ile incelenmiştir.



Şekil 3.9. Yüzey çizilme dayanımı testinin şematik gösterim

3.3.7.2. Mikrosertlik testi

ABT kaplanmış ve 6P57ABT üzerine ABT kaplanmış Ti6Al4V numunelerin mikrosertlik değerleri Vickers piramit elmas uç ile 9,8 N yük uygulanarak mikrosertlik cihazı (Emcotest, Almanya) ile ölçülmüştür. Sertlik değeri $Hv=1854.4 \times F/d^2$ ile hesaplanmıştır (F; gram olarak uygulanan yük, d; μm olarak ucun çapı). Her bir kaplama için beş noktadan analiz yapılmış, değerlerin ortalaması alınmış ve standart sapma hesaplanmıştır.



Şekil 3.10. Mikrosertlik testinin gösterimi

3.3.8. Ti6Al4V İmplantların *In vitro* Deneyleri

Antimikrobiyal etkinliği olan implantların kullanımı ile implant kaynaklı enfeksiyonların önlenmesi amaçlanmış ve bu bölümde 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implantların antibakteriyel etkinliğini *in vitro* olarak çalışılmıştır.

3.3.8.1. Kaplanmış numunelerin mikrobiyolojik analizleri

Antibakteriyel etkinin saptanması 2.5 cm uzunluğunda 0.2 cm çapında 66 adet Ti6Al4V implant kullanılmıştır. Bu çivilerden 14 adeti 6P57ABT/ABT ile,

14 adeti kontrol grubu olarak hidroksiapatit ile ve 14 adeti de kaplama uygulanmadan antibakteriyel teste tabi tutulmuştur. Çalışmada kullanılacak her bir implant steril edilmiştir. 6P57ABT/ABT kaplanmış implantlar ve HA ile kaplanmış implantlara etilen oksit, titanyum implantlara ise buhar otoklav sterilizasyonu uygulanmıştır. İmplantların her biri içinde 1 mL Triptik Soy Broth bulunan 0.4 cm çaplı steril cam tüplere steril bir penset yardımı ile konulmuştur. Bakteriyel kontaminasyon için klinik izolat olan slime özelliği (+) *S.epidermidis* suşu kullanılmıştır. Bakteriyel süspansiyon triptik soy broth da 1×10^4 cfu/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu süspansiyondan her bir tüpe 100 μ L eklenmiş ve tüplerin ağzları kapatılarak 35°C de çalkalamalı inkübatöre konulmuştur. İnkübasyondan sonra 24. saatte implantlar tüplerden alınmış, besiyerinde kantitatif kültür sayımı gerçekleştirilmiş, besiyerinde Ag^+ iyonu miktarını atomik absorpsiyon cihazı ile belirlenmiş ve taramalı elektron mikroskobu (SEM, Zeiss Supra VP50) ile yüzeylerindeki bakteri miktarı incelenmiştir. Aynı zamanda 8 hafta boyunca her hafta aseptik koşullarda distile su ile yıkanan implantlarda antibakteriyel etkinlik araştırılmıştır.

İstatiksel analiz

Gruplar içinde yüksek miktarda data kullanıldığından dolayı öncelikle normal dağılım testi uygulanmıştır. Sonrasında grupların karşılaştırılması için One-way ANOVA testi ve gruplar arasındaki farkın belirlenmesi için Çoklu Karşılaştırma (Tukey HSD) testi kullanılmıştır.

3.3.8.2. Besiyerinde kantitatif kültür sayımı

Besiyerinden kantitatif kültür sayımı için tüm besiyerleri 10^{-1} den 10^{-6} ya seyreltilmiş ve tüm dilüsyonlardan %5 alınarak koyun kanlı agarına inokule edilmiştir. Aerobik ortamda 35°C de 24 saat inkübe edildikten sonra koloni sayımı yapılmış ve sıvı besiyerindeki bakteri sayısı hesaplanmıştır.

3.3.8.3. İmplant yüzeyinde kantitatif kültür sayımı

İmplant yüzeyinde kantitatif kültür sayımında ise 1 ml Ringer Laktat içeren tüplere yerleştirilen implantlar 60 sn süre ile sonikatöre (Sonics, Vibra-Cell VCX 750V ultrasonic homojenleştirici, %20 şiddet, 3-4 W, 200-230 J, 20 kHz) tabi tutulmuş ve bakterilerin tutunması engellenmiştir. İmplantların içinde bulunduğu sıvı seyreltilmiş ve inkübasyon sonrasında koloni sayımı gerçekleştirilmiştir.

3.3.8.4. İmplant yüzeylerinin SEM ile incelenmesi

İnkübasyon sonrasında 24. saatte tüplerden alınan Ti6Al4V implantların SEM ile yüzeylerindeki bakteri tutunması incelenmiştir.

3.3.9. Ti6Al4V İmplantların *In vivo* Deneyleri

In vivo deneyler için 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 kullanılmıştır. Tavşanlar TİCAM hayvan evinde standart yem ve su ile beslenmiştir. Çalışma öncesinde 26.03.2008 tarihli 49 kayıt numaralı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu kararı alınmıştır.

3.3.9.1. *In vivo* deneylerde kullanılmak üzere kaplamaların hazırlanması

In vivo deneylerde kullanılacak Ti6Al4V intramedüller çiviler 2.5 cm boyunda ve 2 mm çapında kesilmiştir. Kaplama öncesi yüzeyleri metanol ile temizlenen intramedüller çivilere HA ve antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu *in vitro* deneyler ile belirlenen 6P57ABT/ABT toz elektrosprey yöntemi ile

kaplanmış ve RF ile sinterlenmiştir. Aynı zamanda kaplanmamış Ti6Al4V implantlarda kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler için kaplanan tüm implantlar etilen oksit gazı ile steril edilmiştir.

3.3.9.2. *In vivo* deneyler

In vivo deneyler için kullanılan 24 adet tavşan; Grup 1 (Kaplanmamış Ti6Al4V implant kullanılan tavşanlar), Grup 2 (HA kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) ve Grup 3 (6P57ABT/ABT kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır.

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

İntramusküler ksilazin hidroklorid(Ronpun® 0,2 mg/kg) ve subkutan ketamin hidroklorür(Ketalar® 10 mg/kg) ile anestezi sağlandıktan sonra deneklerden intrakardiak olarak ~6ml kan aspire edilmiştir. Tavşanların sol alt ekstremiteleri kalçadan itibaren traşlanmış ve yıkanmıştır. Delikli steril örtü ile operasyon sahası izole edilecek şekilde ekstremitte örtülmüş ve bu bölgeye steril drape yapıştırılmıştır. Standart cerrahilerde olduğu gibi yıkanma işlemi gerçekleştirildikten sonra cerrahiye geçilmiştir. Deneklerin sol dizlerine anterior orta hat insizyonu ile girilmiştir. Medial parapatellar insizyon ile kapsülotomi yapılarak patella laterale devirilmiş ve femur interkondiler bölgeden 2,5 mm'lik matkap ucu ile interkondiler çentikten femur medullasına giriş deliği açılmıştır

(Şekil 3.9). Femur medullasında oluşan kanama enjektör yardımı ile aspire edilmiştir. Bakteri inokulasyonu amacı ile hazırlanan solüsyondan 50µl intramedüller bölgeye enjekte edilmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.11. Femur interkondiler bölgeden 2,5mm lik dril ucu yardımı ile giriş deliğinin açılması.



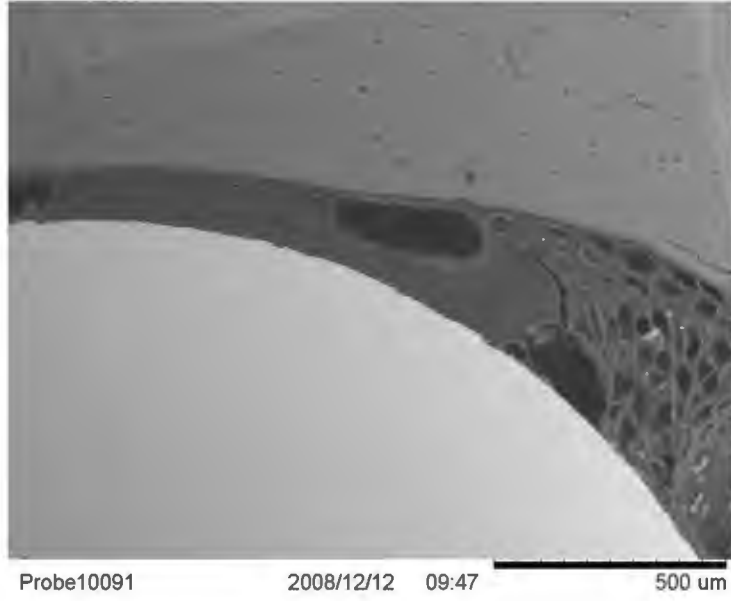
Şekil 3.12. Bakteri inokulasyonu.

Hazırlanmış olan implant femur medullasına yerleştirilmiştir (Şekil 3.11). Medulladan taşan sıvı steril spanç yardımı ile temizlenip interkondiler bölgede var olan giriş deliği ekleme ilişkisinin kesilmesi amacı ile steril kemik mumu yardımı ile kapatılmıştır.

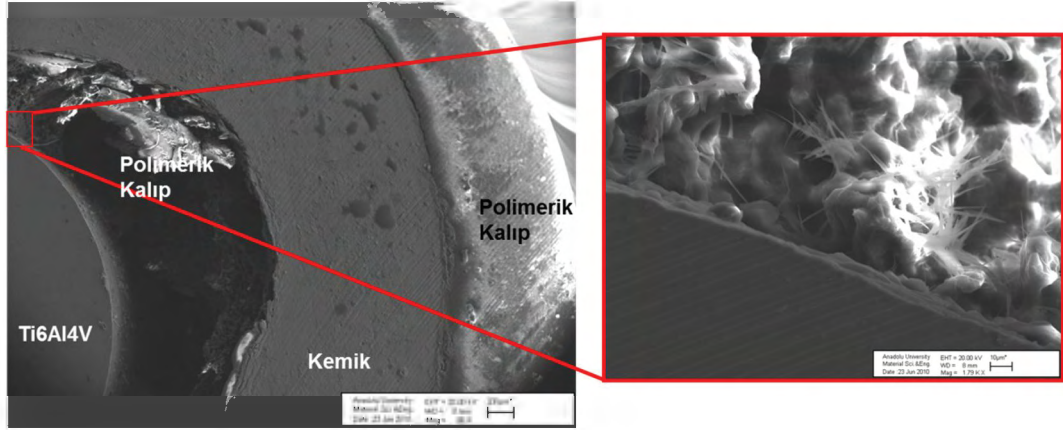


Şekil 3.13. İmplantın femur medullasına yerleştirilmesi.

İmplant kemiğe yerleştirildikten sonra bir örnek mikroskopta incelenmek üzere alınmıştır. Polimer kalıp içerisine alınan kemik ve implant kesiti önce ışık mikroskobu ile sonrasında taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir (Şekil 3.12.(a),(b)). Kesit görüntüsünde kaplama kalınlığının düşük olması nedeniyle direk kaplama görüntüsüne ulaşamamıştır.



(a)



(b)

Şekil 3.14. İmplant yerleştirilmiş kemik kesitinden alınan (a) ışık mikroskobu (b) SEM görüntüsü.

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

Tavşanlardan kan alma işlemi 2., 6. ve 10. haftalarda tekrarlanmış ve alınan kanlardan; tam kan sayımı, C-reaktif protein (CRP), kandaki gümüş düzeyi

oranı ve kan biyokimyası parametreleri çalışılmıştır. Kan biyokimyasında; Total protein (TP), Kan Üre Azotu (BUN), Kreatinin (Cr), Alanin Transaminaz (ALT), Aspartat Transaminaz (AST), Gama Glutamil Transferaz (GGT), Alkalen Fosfataz (ALP), Laktat Dehidrogeanaz (LDH), Kreatin Kinaz(CK) parametreleri incelenmiştir.

Tavşanlar 10. hafta sonunda intrakardiyak 3cc tiopental sodyum verilerek öldürülmüş ve implant uygulanmış olan sol alt ekstremiteleri kalçadan dezartiküle edilmiştir. Deneklerin implant bulunan femurları steriliteye dikkat edilerek disseke edilmiştir. İmplantlar steril şartlarda çıkartıldıktan sonra steril burgu kapaklı tüplere yerleştirilmiştir. Dokudaki enfeksiyonu göstermek amacıyla implantların çıkartıldığı bölgelerden alınan sürüntü örnekleri eküvyonlu transport sistemine (Copan/İtalya) alınmış ve alınan örnekler kültürü yapılmak üzere mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır.

Işık mikroskopunda histolojik çalışma yapmak için her gruptan 7'şer adet femur kemik bloğu çıkartılarak %10'luk formalin fiksatifi içerisine koyulmuştur. Ekstremiteye ilgili işlemler tamamlandıktan sonra tüm tavşanların karaciğer, dalak, sol böbrek, kalp ve beyin dokuları organlarda gümüş tespiti amacıyla ayrı ayrı kaplara yerleştirilerek -20°C derin donduruculu buzdolabında beklemeye alınmıştır.

İstatiksel Analiz

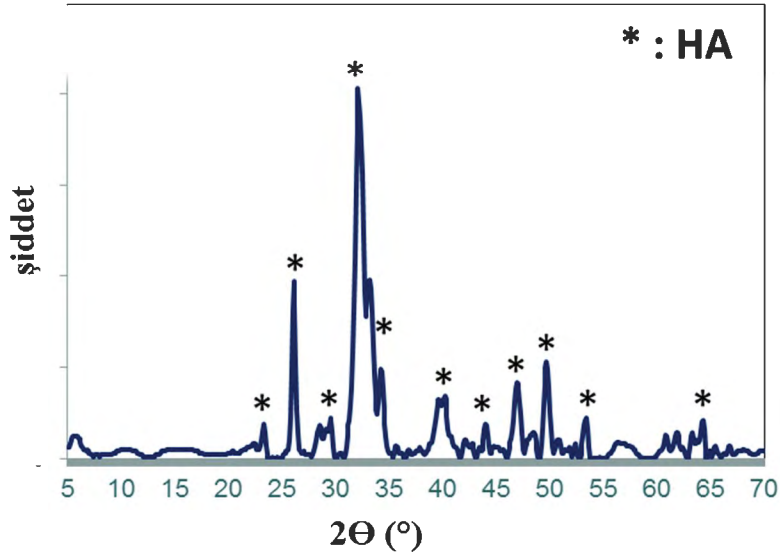
Tüm veri analizleri SPSS 15.0 ve SigmaStat 3.1 paket programları ile yapılmıştır. Sürekli nicel veriler; n, ortalama \pm standart sapma yada medyan (Q₁, Q₃) olarak, nitel veriler ise n ve oran olarak ifade edilmiştir. Normal dağılım gösteren bağımsız yapıdaki verilere One Way Anova ile analiz edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen bağımsız yapıdaki verilere Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks ile analiz edilmiştir. Kategorik yapıdaki veri setlerine ise Ki-kare testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ olasılık değerleri istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. TOZ ÜRETİMİ – SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Bu çalışmanın temel amacı uniform bir kaplama ve kaplama kalınlığına sahip implant malzemelerinin *in vivo* deneyleri sonrasında implant kaynaklı enfeksiyonların önüne geçilebilmesidir. Bu amaçla çalışmalar öncelikle metalik implant malzemelerinin kaplanması için kontrol grubu olarak kullanılacak hidroksiapatit üretimi, antimikrobiyal etkinliğe sahip antimikrobiyal toz üretimi ve kaplamalarda ara katman olarak kullanılacak biyocam üretimi ile başlamıştır. Tez çalışmasının bu bölümünde üretilen tozların karakterizasyonu ve mikrobiyolojik analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

4.1. Hidroksiapatit Tozunun Karakterizasyonu

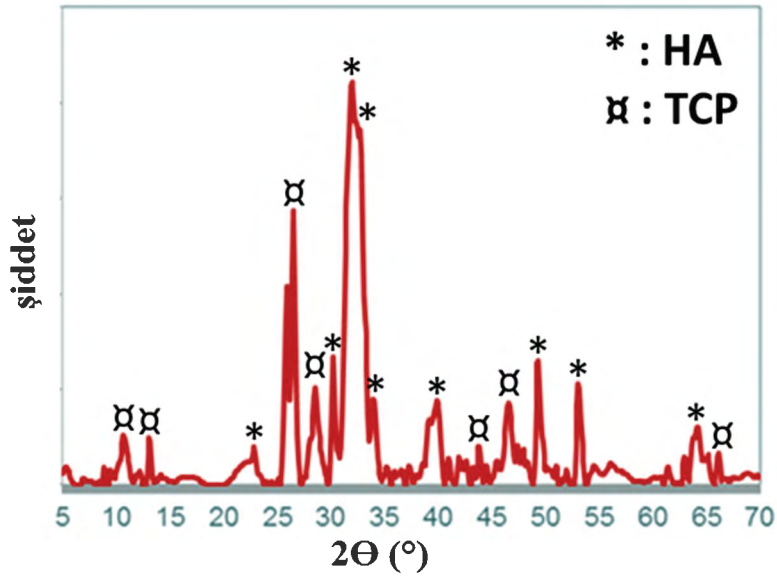
Hidroksiapatit için 5-70° açları arasında 2 °/dk ile çekilen XRD analizi sonucu elde edilen paternler JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapının hidroksiapatit (HA) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. HA tozuna ait XRD analizi sonucu

4.2. Antimikrobiyal Tozun Karakterizasyonu

Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun 5-70° açıları arasında 2 °/dk ile çekilen XRD analizi sonucu elde edilen paternler JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapının trikalsiyum fosfat (TCP) ve hidroksiapatit (HA) karışımından oluşan kalsiyum fosfat yapısında olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. ABT tozuna ait XRD analizi sonucu

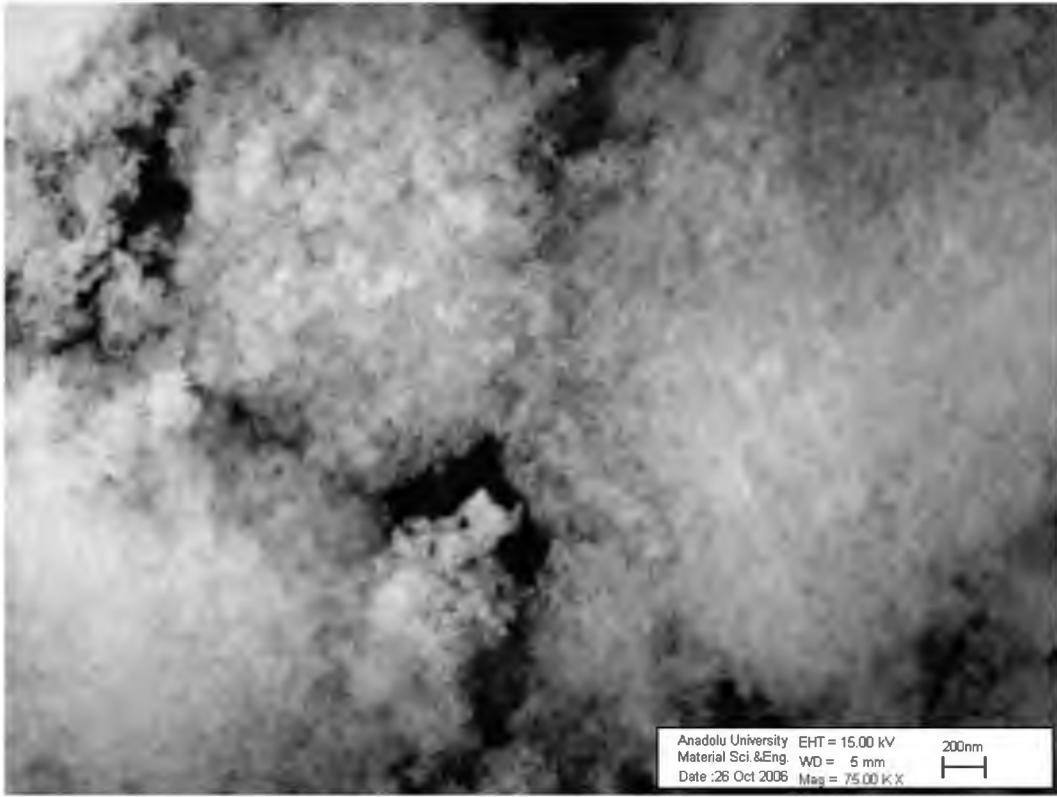
Sentezlenen ABT kodlu tozun kantitatif analizi XRF cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve hesaplanan metal iyonu katkısı ile XRF analizi sonrası elde edilen değerler karşılaştırılmıştır. ABT tozunun XRF analizleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Analiz sonucunda da görüleceği üzere ağırlıkça % 5,5 Ag⁺ iyonu içeren tozun %4,0525 gümüş miktarına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu oranın hesaplanan değerden düşük olmasının nedeni XRF analizi için eritme metodu ile numune hazırlanması sırasında uygulanan yüksek sıcaklıktan dolayı Ag⁺ iyonlarının bir kısmının ortamdaki uzaklaşmasıdır. XRF analizi neticesinde Ca/P oranı 1.44 olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.1. ABT tozuna ait XRF analizi sonucu

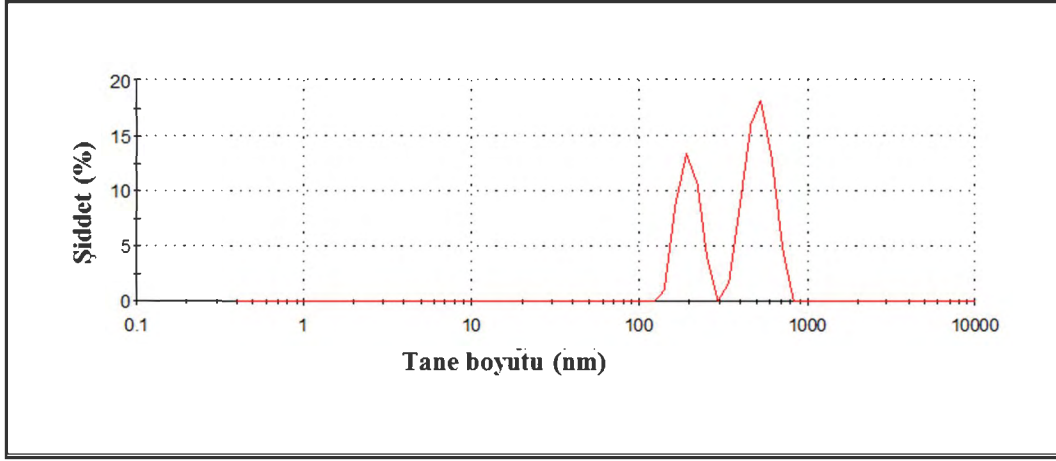
	CaO	P ₂ O ₅	Ag ₂ O	Ateş zaiyatı
ABT	51.8083	36.0072	4.0525	8.1320

Sentezlenen antimikrobiyal toza, kimyasal destekli öğütme işlemi sonrası tane boyut analizi ve SEM analizi yapılmıştır. Tane boyut dağılımı, lazer difraksiyon metodu (Malvern NanoZS 2000) ile ölçülmüştür. 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.

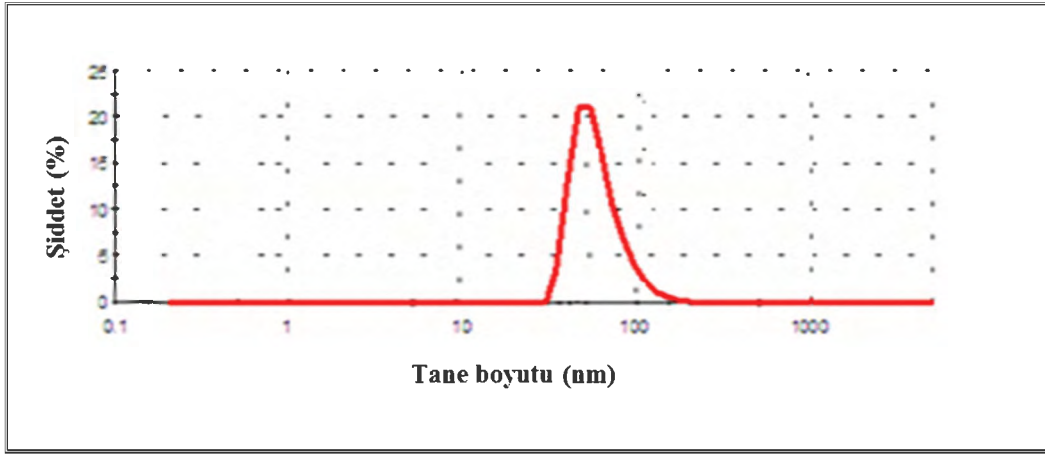
Metal iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı tozun taramalı elektron mikroskobunda ikincil elektron görüntü alma tekniği ile elde edilen görüntülerde tozun morfolojik olarak yumuşak hatlara sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda tozların nanometre boyutunda olduğu ve aglomerasyon eğilimi bulunduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.4). SEM analizleri tane boyut analizleri ile desteklenmiştir. Tane boyut analizlerinde ultrasonik homojenleştirme işlemi öncesi tozlarda aglomerasyon gözlemlenirken (Şekil 4.4.a), homojenleştirme sonrası tozların tane boyutunun 100 nm olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4.b).



Şekil 4.3. ABT tozuna ait SEM görüntüsü



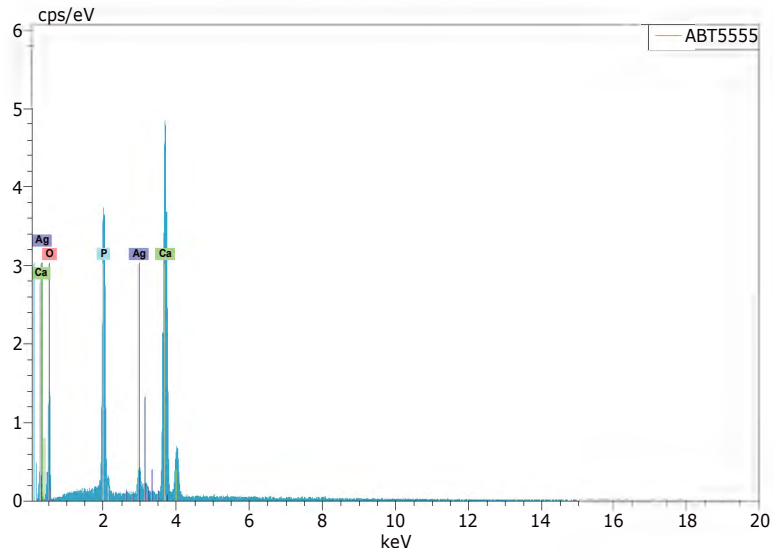
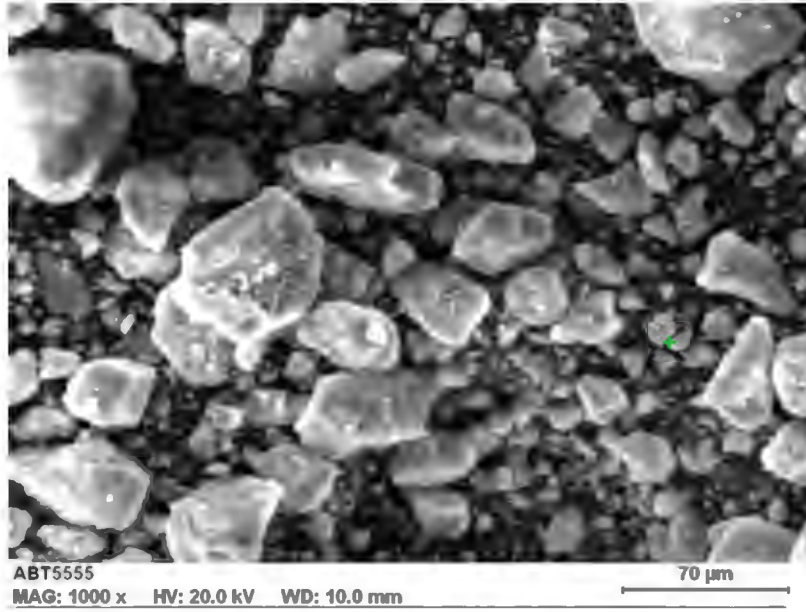
(a)



(b)

Şekil 4.4. ABT tozuna ait tane boyut dağılım analiz sonuçları (a) ultrasonik homojenizasyon öncesi (b) ultrasonik homojenizasyon sonrası

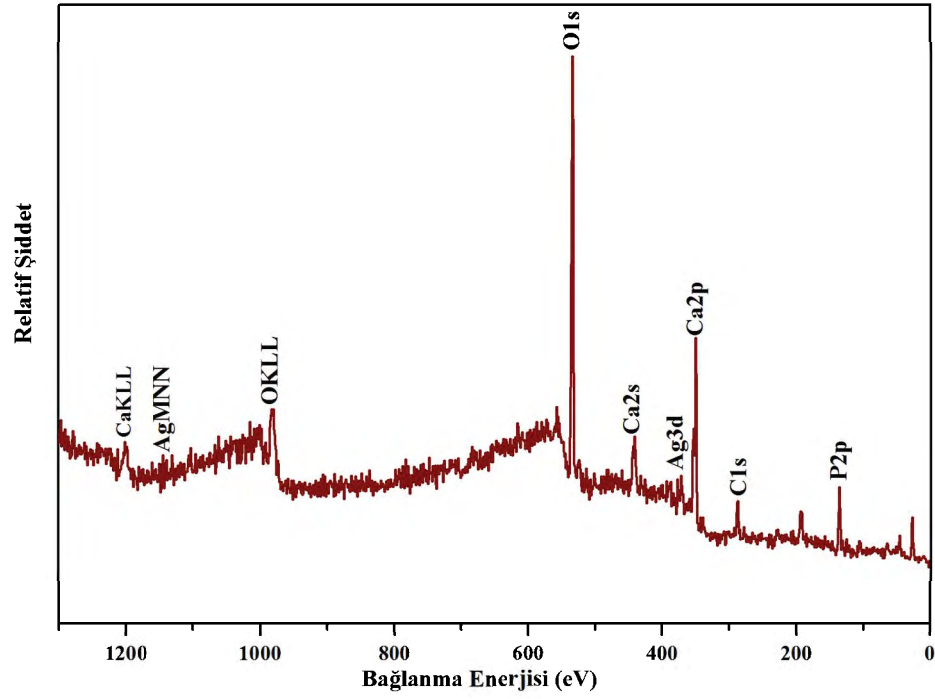
Üretilen tozların kristal yapısı içerisinde hapsedilen etkin antimikrobiyal ajanların, diğer bir deyişle metal katyonların miktarlarını belirlemek üzere enerji saçınımlı X-ışınları spektrofotometresi (EDX) kullanılmıştır. EDX ile elde edilen değerler toz üretiminde sırasında yapılan sitokiyometrik olarak hesaplanan değerlerle karşılaştırılmıştır.



	Ca (ağ.%)	P (ağ.%)	Ag (ağ.%)
ABT	56.50	38.37	5.13

Şekil 4.5. ABT tozuna ait EDX analizi sonucu

ABT tozun XPS analiz sonucu ve hesaplanan ağırlıkça % değerleri sırasıyla Şekil 4.6 ve Tablo 4.2’de verilmiştir. Ag3d için bağlanma enerjisi 368.2 eV tur. Gümüşün yapı içerisinde metalik veya iyonik olduğunu Auger parametresinin hesaplanması ile bulunabilmektedir. Auger parametresi; Ag3d’nin bağlanma enerjisi ve Auger kinetik enerjisinin toplamına eşittir. Standart Auger parametreleri metalik gümüş için 726.0 eV, iyonik gümüş için 724.0 eV olarak verilmektedir [152]. ABT tozun içerisindeki gümüşün Auger kinetik enerjisi 355.8 eV olarak hesaplanmıştır. Auger parametresi ise 724.0 eV tur ve gümüş toz içerisinde iyonik olarak bulunmaktadır.



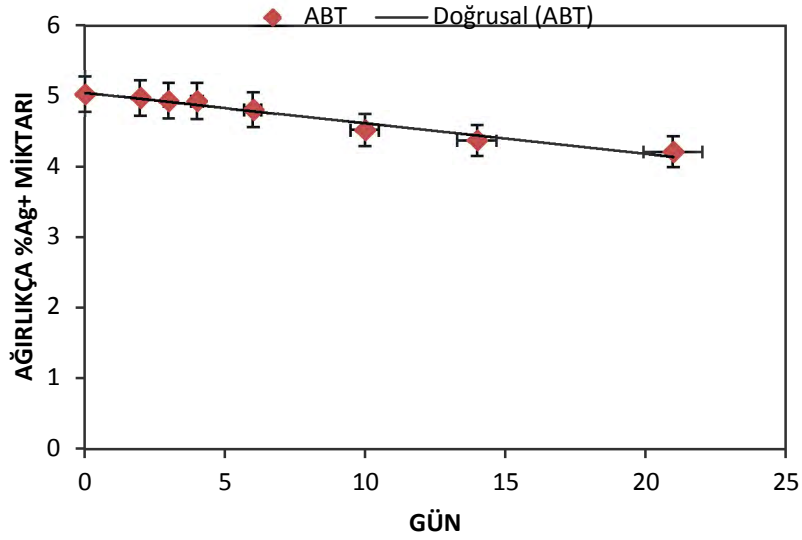
Şekil 4.6. ABT tozuna ait XPS analizi spektrumu

Tablo 4.2. ABT tozunun XPS analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri

	Ag (%)	C (%)	Ca(%)	O(%)	P2p(%)
ABT	0.72	10.11	15.64	59.54	13.97

4.2.1. Ag⁺ İyonu Salınım Miktarının Belirlenmesi

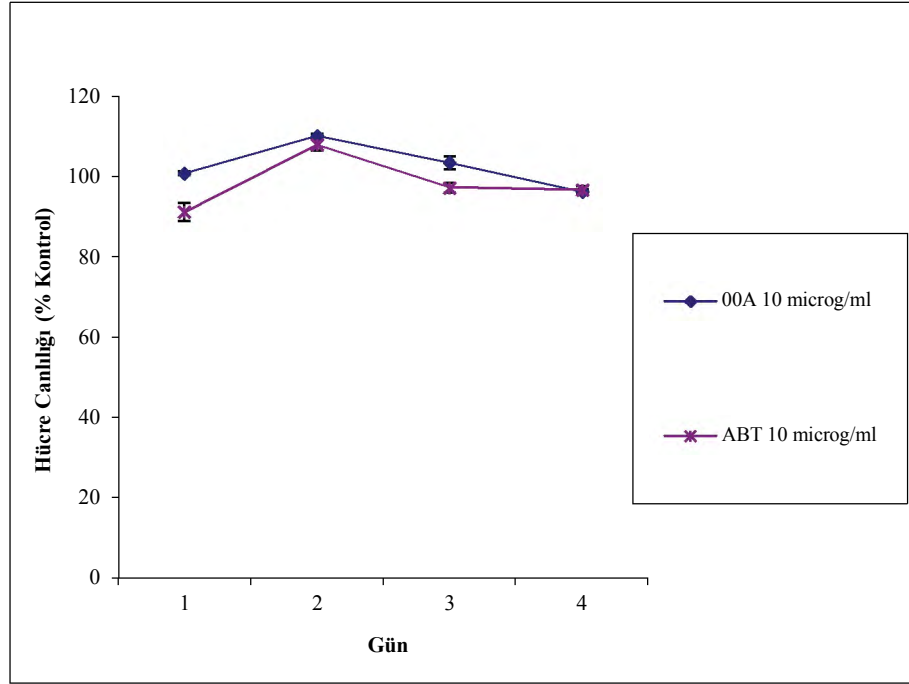
Sulu sisteme Ag⁺ iyonu salınım miktarını belirlemek amacıyla ağırlıkça % 5.5 Ag⁺ içeren ABT tozu kullanılmıştır. Laktatlı Ringer solüsyonu su ile karıştırılarak bekletilmiş tozlardan 2., 3., 4., 6., 10., 14. ve 21. gün için alınan ve kurutulan toz örneklerinin içerdiği Ag⁺ miktarı 7 noktadan alınan EDX nokta analizi sonucunda belirlenmiştir. Ag⁺ iyonunun sistemden kontrollü olarak salınımı söz konusudur. 21 günlük çalışma periyodunda Ag⁺ başlangıç değeri olan %5.03'den % 4.21 değerine düşmüş ve çalışma periyodunda doğrusal bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. 21 gün süre ile Ag⁺ için sistemden kaybolma miktarları Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. ABT tozunun içerdiği Ag⁺ iyonunun Laktatlı Ringer solüsyonunda salınım miktarı grafiği

Salınım değerlerinin çok düşük olması nedeniyle vücut içerisinde kan ve diğer vücut sıvıları ile taşınarak ve organlarda birikme yaparak toksik etkiye neden olmayacağı düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda ABT tozunun sitotoksikolojisi MIT test methodu ile araştırılmış ve 10 µg/ml kontrol grubu ve ABT kompozisyonların V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin doza bağlı

sitotoksosite eğrilerinin 1, 2, 3 ve 4 günlük değerlendirilmeleri Şekil 4.8'de verilmiştir. Ag^+ içeren şahit kompozisyon ve diğer kompozisyonların 10 $\mu g/ml$ 'lik dozları hücre sayısında çok düşük sayıda azalmaya neden olmuştur. Bu dozda sitotoksik etki gözlenmemiştir [153].



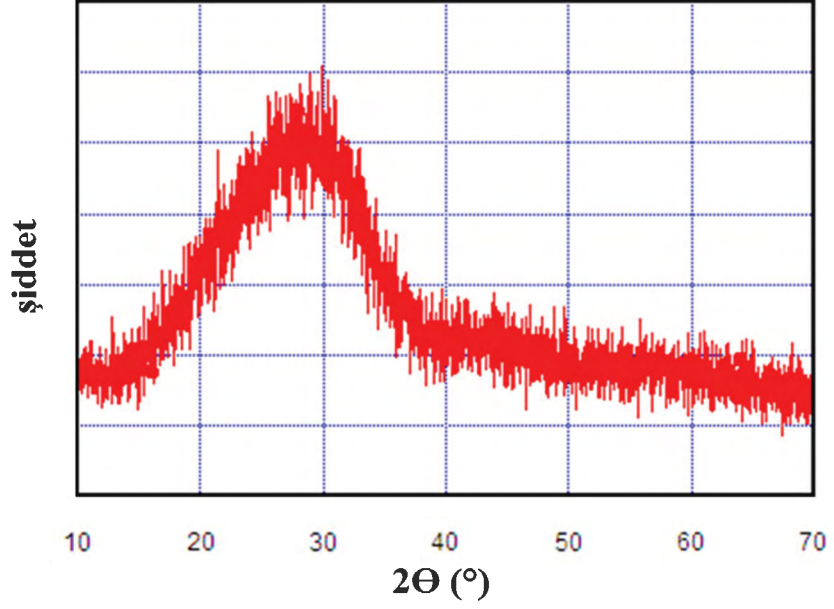
Şekil 4.8. 10 $\mu g/ml$ kontrol grubu ve ABT tozunun V79 hücreleri üzerindeki etkilerinin MIT testi ile değerlendirilmeleri

(* Kontrol grubundan anlamlı farklılığı göstermektedir.)

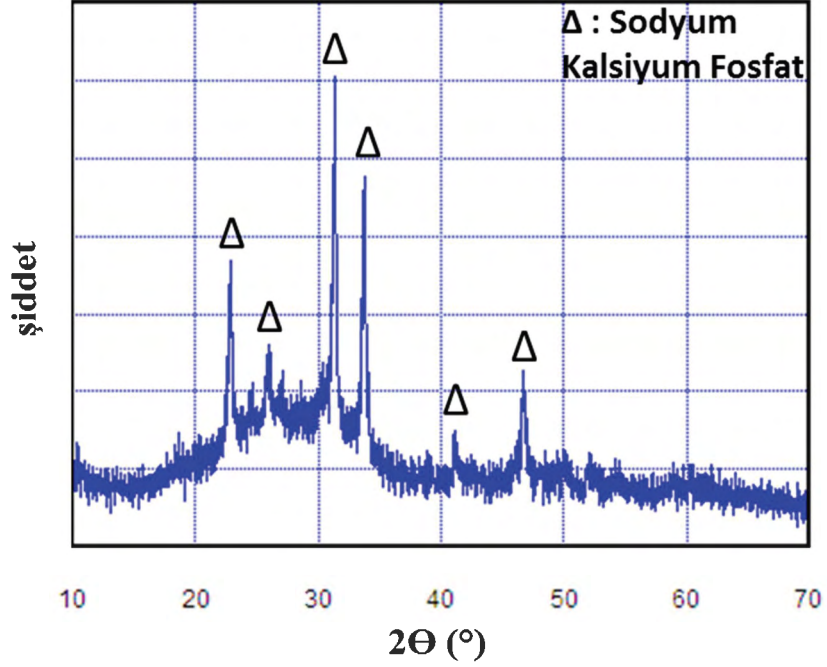
4.3. Üretilen Biyocam Kompozisyonlarının Karakterizasyonu

Kaplamalarda ara katman olarak kullanılacak biyocam kompozisyonlarının faz analizi XRD ile 10-70° açıları arasında 2 %/dk ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8'de verilen 6P57 biyocamına ait XRD paterni yapının amorf olduğunu göstermektedir. 6P57ABT kompozisyonunun XRD analizi sonucunda elde edilen grafiklerdeki piklerin JCPDS kataloğundaki verilerle karşılaştırılmış ve yapıda

sodyum kalsiyum fosfat, $\text{Na}_3\text{Ca}_6(\text{PO}_4)_5$, fazının oluştuğu belirlenmiştir (şekil 4.9). Bu fazın biyocam kompozisyonuna katılan HA ile oluştuğu bilinmektedir [154].



(a)



(b)

şekil 4.9. (a) 6P57 ve (b) 6P57ABT biyocamlarına ait XRD analizi sonuçları

Biyocam kompozisyonlarının kimyasal kompozisyonu XRF ile analiz edilmiştir. XRF analizi sonuçları kimyasal kompozisyon değerleri Tablo 4.3’de verilmiştir. XRF analizi sonuçlarına göre 6P57 biyocam kompozisyondaki Ca ve P miktarları 6P57ABT kompozisyonuna oranla düşüktür. Aynı zamanda 6P57ABT kompozisyonunda %0,9748 gümüş olduğu görülmüştür. Bu miktardaki gümüş ile antimikrobiyal etkinliğin sağlanabileceği düşünülmektedir.

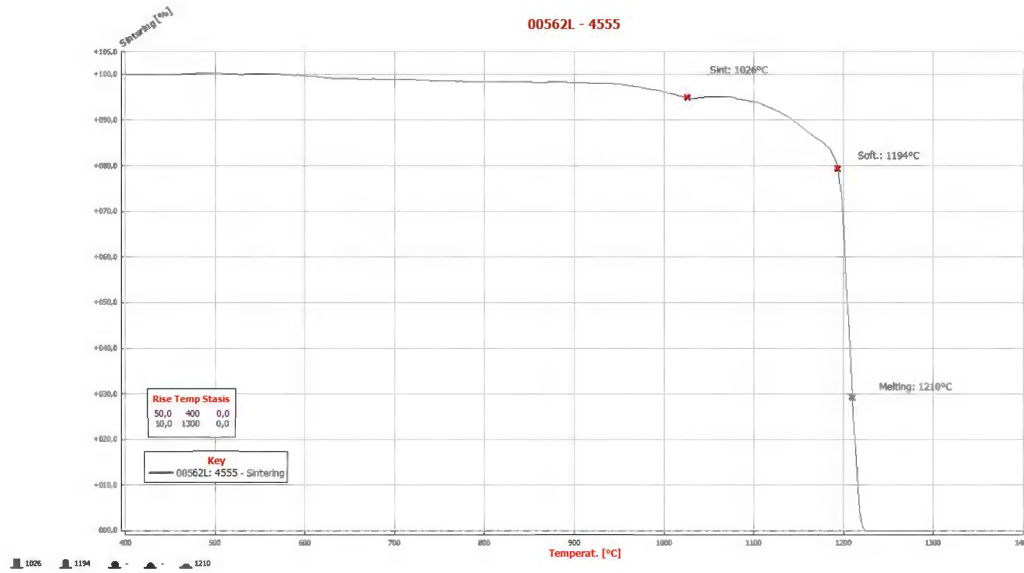
Tablo 4.3. 6P57 ve 6P57ABT biyocamlarına ait XRF analizi sonuçları

	6P57	6P57ABT
Na ₂ O	11.0230	7.9970
MgO	8.6308	6.6137
SiO ₂	55.6742	40.5869
P ₂ O ₅	5.6122	15.6043
K ₂ O	2.8014	2.2546
CaO	16.2584	25.9687
Ag ₂ O	-	0.9748

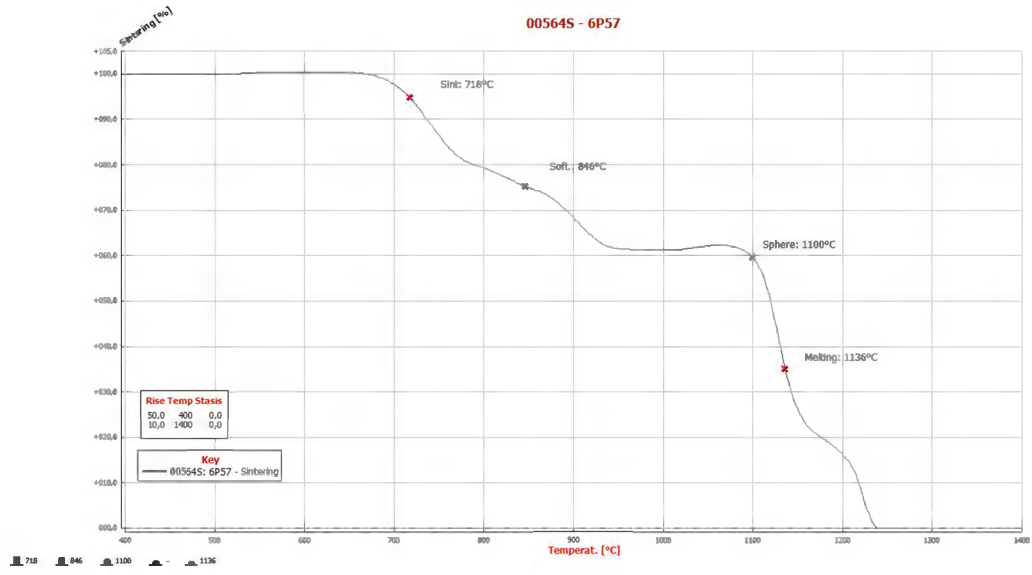
45S5 cam kompozisyonunun termal genişmesi farklı modeller ile yapılan çalışmalarda farklılık göstermekte ve $13.5 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ ila $15.1 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ değerleri arasında değişmektedir [149]. Sinterleme sıcaklığı diğer cam kompozisyonlarına oranla yüksektir. Sinterleme davranışı ısı mikroskobu ile incelenmiş ve 1100 °C olarak bulunmuştur (Şekil 4.10). Bu sıcaklığın kaplamada altlık olarak kullanılacak Ti metalinin $\alpha \rightarrow \beta$ transformasyon sıcaklığından yüksek olması nedeni ile sinterleme sıcaklığı daha düşük olan başka bir biyocam kompozisyonuna geçilmiştir.

Ticari olarak bilinen 6P57 biyocam kompozisyonunun termal genişmesi $10.8 \times 10^{-6} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ olup, sinterlenme sıcaklığı düşüktür [150]. Sinterleme sıcaklığı ısı mikroskobu ile belirlenmiş ve 800-850 °C arasındadır (Şekil 4.11). 6P57

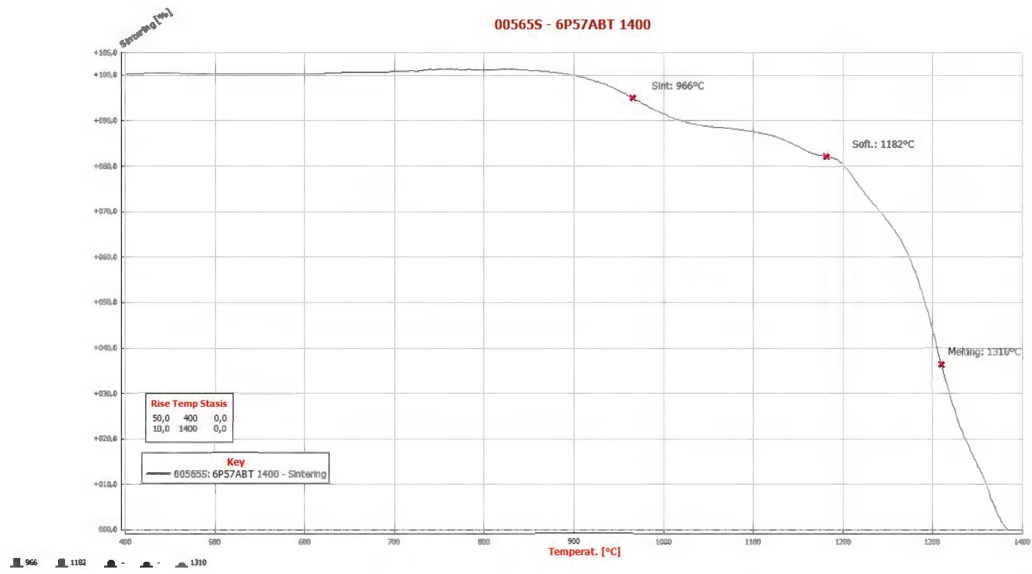
biyocama antibakteriyel özellik kazandırmak ve kaplamalarda sinterleme sonrası kalan Ag^+ miktarını arttırmak amacı ile cam kompozisyonuna ek olarak üretim esnasında ağırlıkça %30 oranında ABT katılan 6P57ABT kompozisyonun sinterleme sıcaklığı ısı mikroskobu ile belirlenmiş ve 950 °C civarındadır. (Şekil 4.12). Isı mikroskobu sonuçlarına göre sinterleme davranışları incelendiğinde 45S5 biyocamın diğer cam kompozisyonlarına oranla daha yüksek sinterleme sıcaklığına sahip olduğu ve diğer iki kompozisyona oranla daha yüksek sıcaklıkta ergidiği gözlemlenmiştir. 6P57 biyocamı ve 6P57ABT kompozisyonunu karşılaştırsak içerdiği ABT tozu sebebi ile 6P57ABT kompozisyonunun sinterleme sıcaklığı ve yumuşama sıcaklığında artış gözlemlenmektedir. 6P57 biyocamın ve 6P57ABT kompozisyonunun sinterleme sıcaklıklarının 45S5 biyocamına göre düşük olması aynı zamanda termal genişleme katsayılarının da altlık olarak kullanılacak metalik implantlara daha yakın olması nedenleri ile kaplamalarda ara katman olarak kullanılmaları uygun olarak görülmüştür.



Şekil 4.10. 45S5 biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analizi sonucu



Şekil 4.11. 6P57 biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analiz sonucu



Şekil 4.12. 6P57ABT biyocamına ait yumuşama noktasını gösteren ısı mikroskobu analiz sonucu

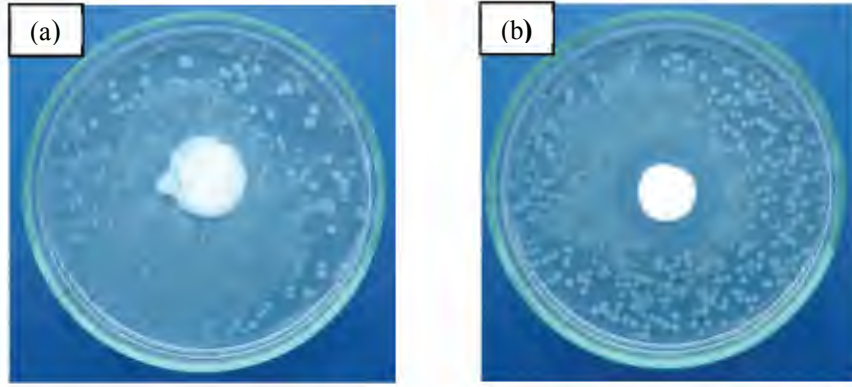
4.4. Üretilen Tozların Antimikrobiyal Etkinliği

Üretilen tozların toz formunda yapılan mikrobiyolojik analizlerde Halo Test Metodu ve Agar Dilüsyon Test Metodu kullanılmıştır.

4.4.1. Halo Test Metodu

Halo Test Metodunda *E.coli* (ATCC 25922) kullanılmış ve 24. saat için etkinlik değerlendirilmiştir. Agar Dilüsyon Metodu ile standart bakteri (*P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 43300) ve mayalar (*Candida Albicans* ATCC 10231) ile 24. ve 48. saatlerdeki etkinlik araştırılmıştır.

Ag^+ iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz sentezi sonrasında toz formunda yapılan mikrobiyolojik analizlerinde antimikrobiyal etki saptanmıştır. ABT için Halo Test Metodu sonucu Şekil 4.13'de verilmiştir. 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.



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

Şekil 4.13. (a)HA ve (b)ABT tozlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları

İçerdiği gümüş ile antimikrobiyal etkinlik sağlayacağı düşünülen 6P57ABT kompozisyonu antimikrobiyal etkinlik açısından Halo Test Metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Halo Test Metodunda *E.coli* (ATCC 25922) kullanılmış ve 24. saat için etkinlik değerlendirilmiştir. Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre toz haline getirilmiş 6P57ABT kompozisyonun petri kabında bulunduğu bölüm hariç diğer kısımlarda yüksek yoğunlukta bakteri gözlemlenmiştir. Şekil 4.14'de görüldüğü üzere bakteri büyümeyen alan ve genel bakteri yoğunluğu görsel açıdan antimikrobiyal etkiyi göstermektedir.



Şekil 4.14. 6P57ABT kompozisyonuna ait mikrobiyolojik analiz sonucu

4.4.2. Agar Dilüsyon Test Metodu

Agar Dilüsyon Metodu 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 HA için Tablo 4.4 ve ABT için Tablo 4.5’de verilmiştir.

Tablo 4.4. HA tozun agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48. saatte 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 4.5. ABT tozun agar dilüsyon metodu ile 24. ve 48. saat de antibakteriyel etkinliğinin dağılımı

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

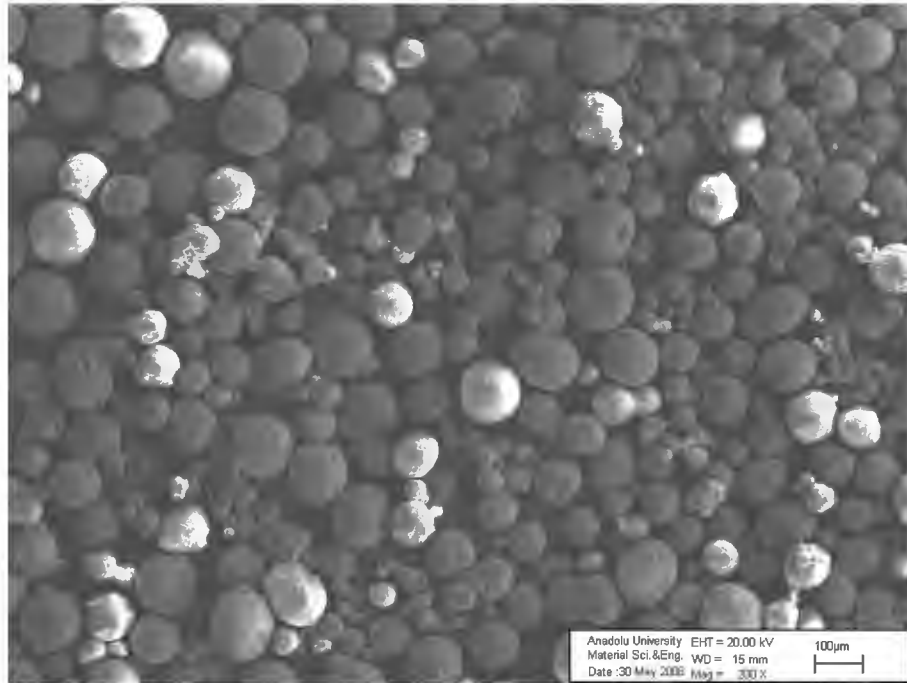
	% 2,5	% 1,25	% 0,625	%0,3125
<i>P. aeruginosa – 24. saat</i>	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa – 48. saat</i>	-	-	-	-
<i>E. coli - 24. saat</i>	-	-	-	-
<i>E. coli - 48. saat</i>	-	-	-	-
<i>S.aureus -24. saat</i>	-	-	-	-
<i>S.aureus -48. saat</i>	-	-	-	-
<i>Candida – 24. saat</i>	-	-	-	-
<i>Candida – 48. saat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

5. 316L PASLANMAZ ÇELİK İMPLANTLARIN KAPLANMASI ve *In Vivo* DENEYLER – SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

Çalışmanın bu bölümü; eksternal fiksator çivisi olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik implantlara antimikrobiyal etkinlik kazandırılması için antimikrobiyal toz ile en uygun kaplama yönteminin belirlenmesi için denenmiş farklı kaplama yöntemlerinin sonuç ve değerlendirmelerini kapsamaktadır. Kaplama yönteminin belirlenmesinin ardından *in vivo* deneylere geçilmiş ve mikrobiyolojik ve histopatolojik analiz sonuçları değerlendirilmiştir.

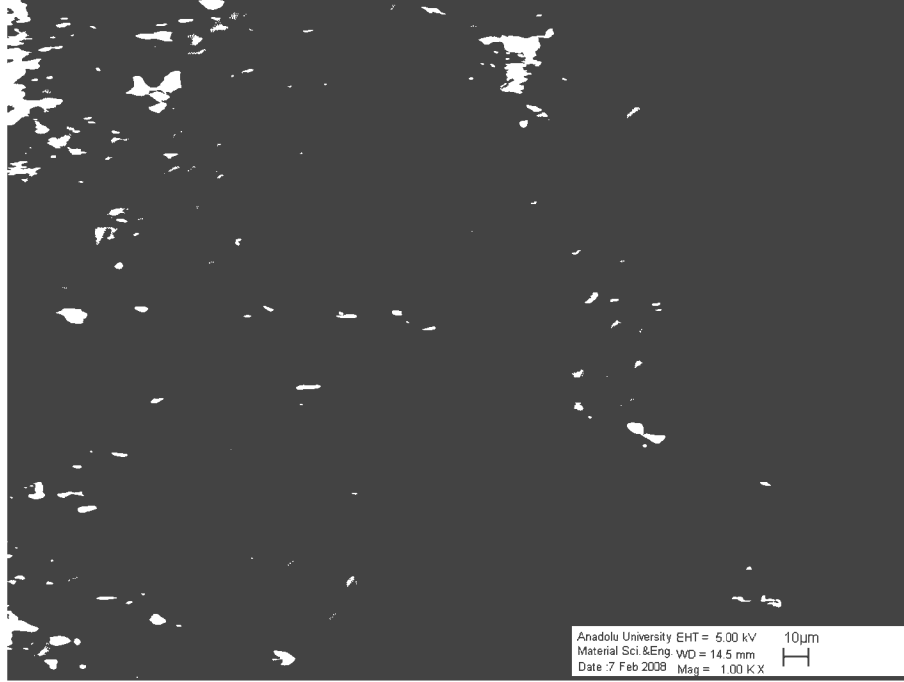
5.1. Plazma Sprey Kaplama Yöntemi

316L paslanmaz çelik çivilerin plazma sprej yöntemi ile kaplanması esnasında kullanılan ABT granüllerin SEM görüntüsü Şekil 5.1’de verilmiştir.



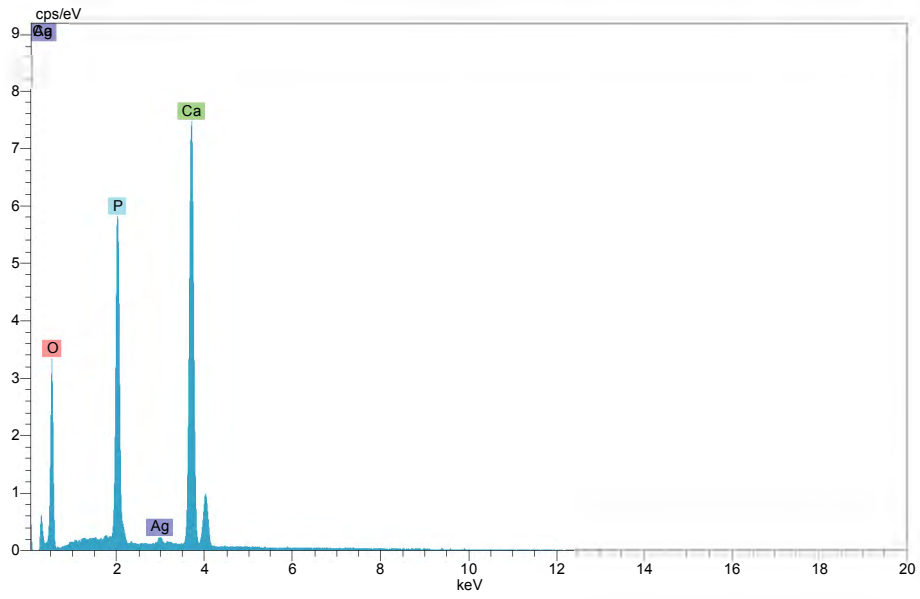
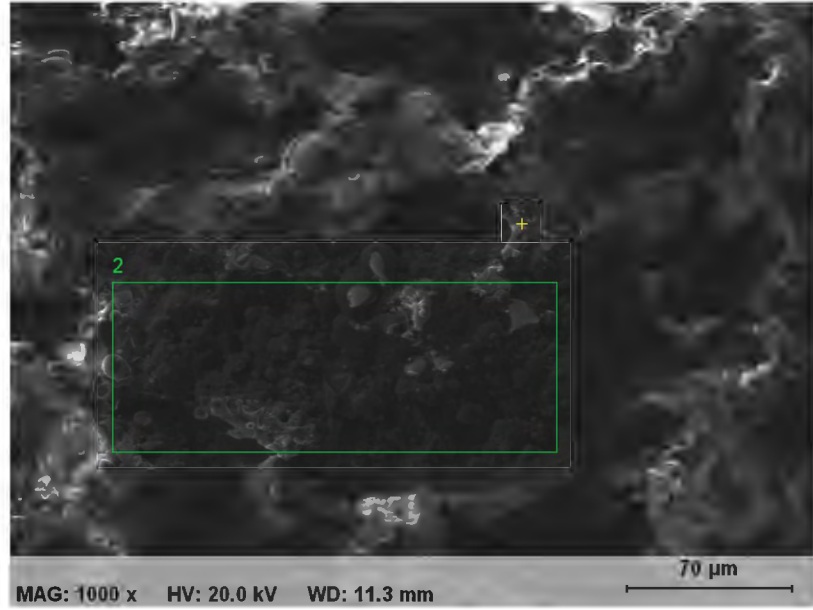
Şekil 5.1. ABT granüllerine ait SEM görüntüsü

Kaplanmış 316L paslanmaz çelik çivilerin kaplama yüzeyleri SEM ile incelenmiş ve EDX ile kimyasal kompozisyonu araştırılmıştır (Şekil 5.2, Şekil 5.3). Kaplama kalınlığı mikrometre ile 45 µm olarak ölçülmüştür.



Şekil 5.2. ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü

SEM görüntüsünde ABT tozunun homojen olarak dağıldığı görülmektedir. Fakat kaplama yoğunluğunun ve kalınlığının istenilenden fazla olduğu tespit edilmiştir. Kaplamanın kalın olması tutunmanın tam sağlanamamasına ve kopmaların meydana gelmesine neden olmuştur. EDX analizi sonucu başlangıçta %5,5 olan Ag^+ miktarı kaplama sonrası %0,89 değerine kadar düşmüştür. Bu düşüşün nedeninin tabanca sıcaklığının çok yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu Ag^+ miktarı antimikrobiyal etkinin sağlanabilmesi için yeterli değildir. Bu nedenle farklı kaplama teknikleri denenmiştir.



	P	Ca	Ag
Plazma sprej kaplama	28,95	70,16	0,89

Şekil 5.3. 316L paslanmaz çelik üzerine plazma sprej yöntemi ile kaplanmış ABT tozuna ait EDX analizi

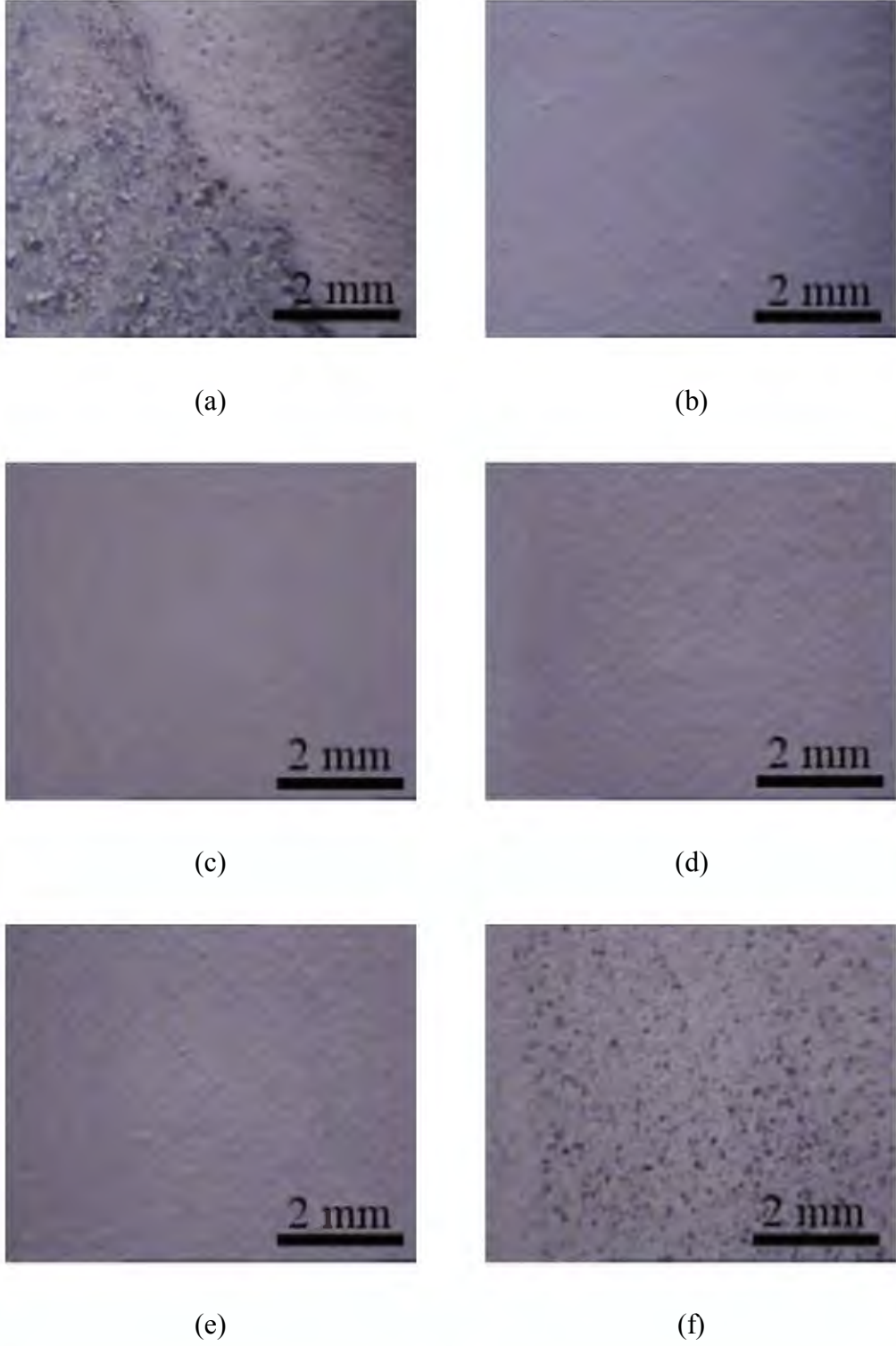
5.2. Daldırma yöntemi

Daldırma yöntemi ile kaplama işleminde kullanılmak üzere hazırlanacak solüsyonlarda ağırlıkça farklı toz yüzdeleri kullanılmıştır. Hazırlanan solüsyonlarda alkollü sistem tercih edilmiş ve etanol kullanılmıştır.

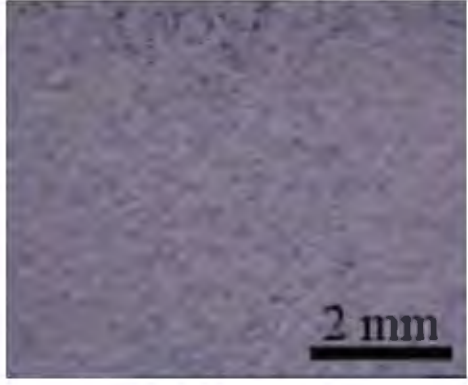
Kaplama denemelerinde tek ve çift tabakalı kaplama yapılmıştır. Tek tabakalı kaplama, ABT toz ile kaplama, farklı oranlarda 6P57 biyocam yüzdeleri ile ABT toz ile kaplama, 6P57 biyocamı ile kaplama ve karşılaştırma için ince ve kalın kaplamaları içermektedir. Çift tabakalı kaplamada ise 6P57 biyocamı üzerine ABT tozu ile kaplama daldırma yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Tek ve çift tabakalı kaplamalar için farklı kaplama parametreleri kullanılmıştır.

5.2.1. Kaplanmış Numunelerin Stereo Mikroskop Görüntüleri

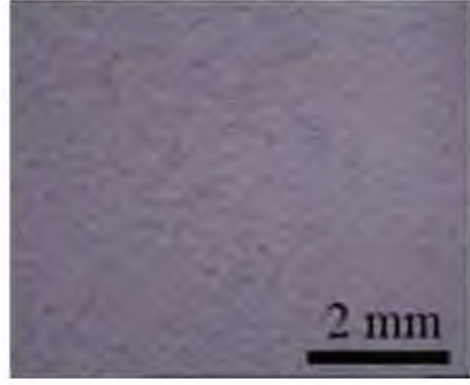
Sinterleme işlemi öncesi kaplanmış tüm numuneler etüvde 100°C’de kurutulmuştur. Kurutma sonrasında tüm numunelerin yüzeyleri stereo mikroskop ile incelenmiştir. Elde edilen görüntüler Şekil 5.4’de verilmiştir. Görüntülerde S1 ile hazırlanan kaplamanın homojen olmadığı ve kaplama yüzeyinde porların olduğu görülmektedir. S2, S3, S4 ve S5 ile hazırlanan kaplamalarda homojen kaplamalar elde edilmiştir. S6 ile hazırlanan kaplamadaki por miktarı diğer kaplamalara nazaran daha yüksektir. S7 ve S8 ile hazırlanan kaplamalarda da homojenlik gözlemlenmekte ancak kaplamanın daha kalın olduğu görülmektedir. S9 ile hazırlanan kaplama da benzer şekilde kalın ve homojen olarak dağılmamıştır.



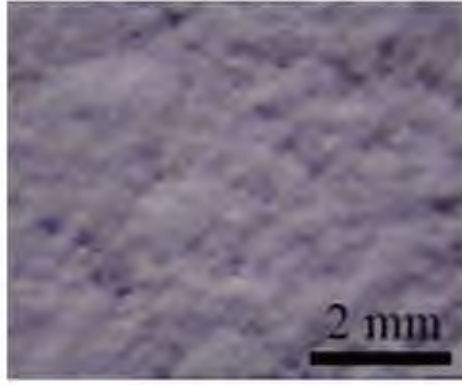
Şekil 5.4. Kaplama sonrası tek tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) S1 (b) S2 (c) S3 (d) S4 (e) S5 (f) S6 (g) S7 (h) S8 (i) S9 solüsyonları ile hazırlanan kaplamalar



(g)



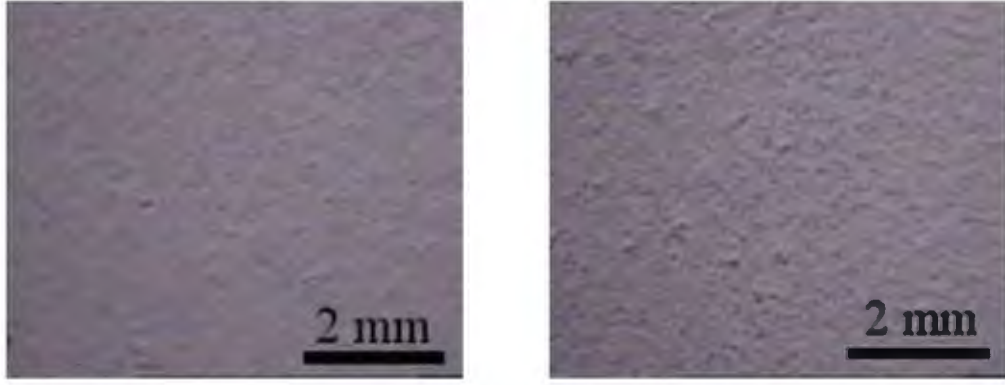
(h)



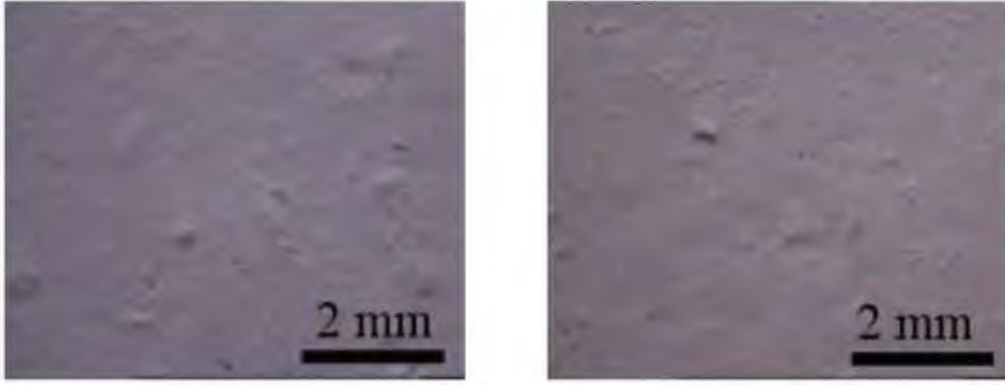
(i)

Şekil 5.4. (Devam) Kaplama sonrası tek tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) S1 (b) S2 (c) S3 (d) S4 (e) S5 (f) S6 (g) S7 (h) S8 (i) S9 solüsyonları ile hazırlanan kaplamalar

Sinterleme işlemi öncesi ince ve kalın olarak kaplanmış numunelerin stereo mikroskop görüntüleri Şekil 5.5’de verilmiştir. S9 solüsyonu ile hazırlanmış kaplamalarda ince kaplanmış numunelerde daha homojen kaplamalar ve düşük aglomerasyon gözlemlenirken, kalın kaplanmış numunelerde geniş tane boyut aralığından kaynaklanan daha yüksek oranlarda aglomerasyon gözlemlenmiştir.



(a)

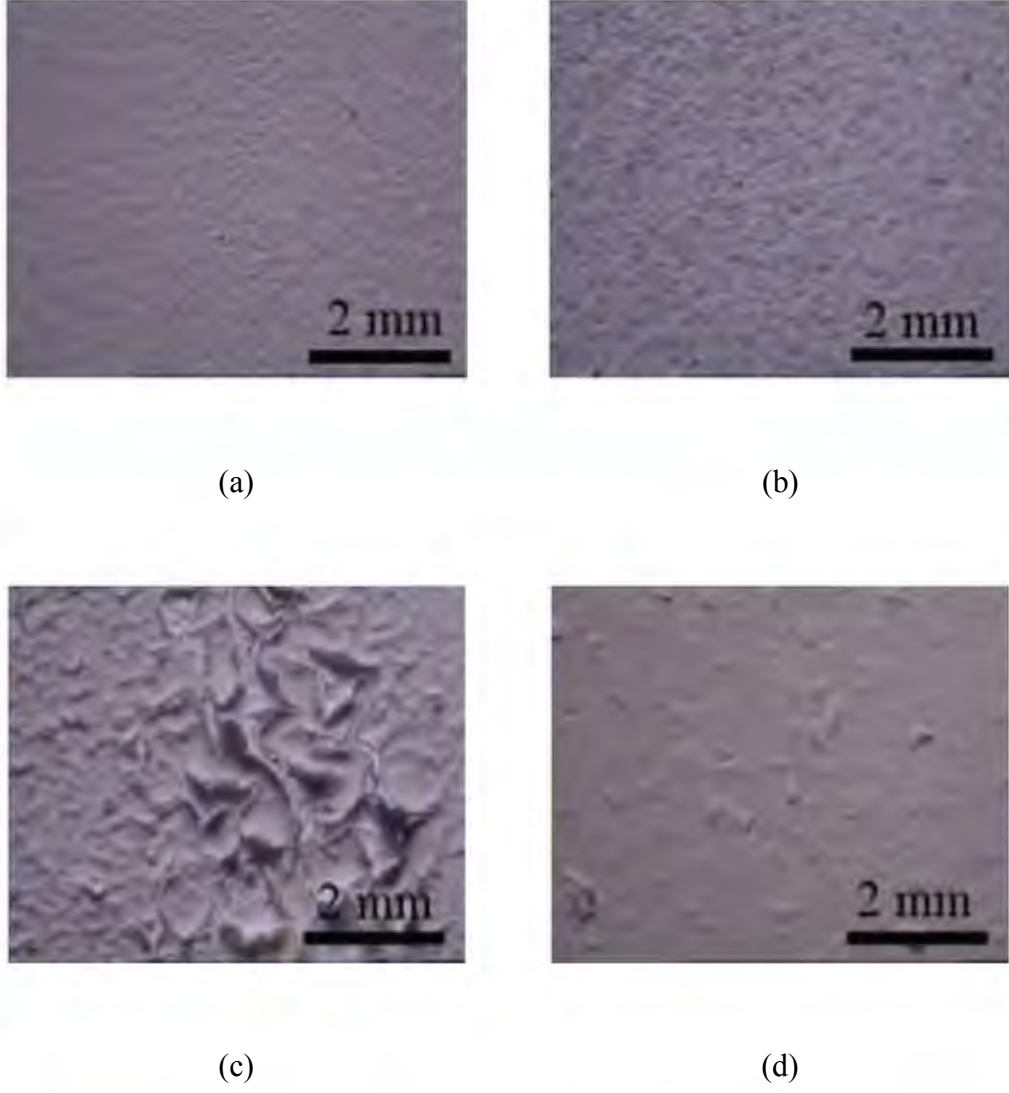


(b)

Şekil 5.5. Kaplama sonrası (a) ince ve (b) kalın olarak kaplanmış numunelere ait stereo mikroskop görüntüleri

Sinterleme işlemi öncesi çift tabaka kaplama işlemi uygulanmış numunelerin stereo mikroskop görüntüleri Şekil 5.6'da verilmiştir. Çift tabaka kaplama uygulamasında öncelikle 6P57 biyocamı üzerine ABT tozu ile kaplama yapılmıştır. T1 solüsyonu kullanılarak yapılan ince kaplamalarda kaplamaların homojen olarak dağıldığı ve ABT tozunun 6P57 biyocamı kapladığı görülmektedir. T2 solüsyonu ile hazırlanmış kalın kaplamalarda ise kuruma

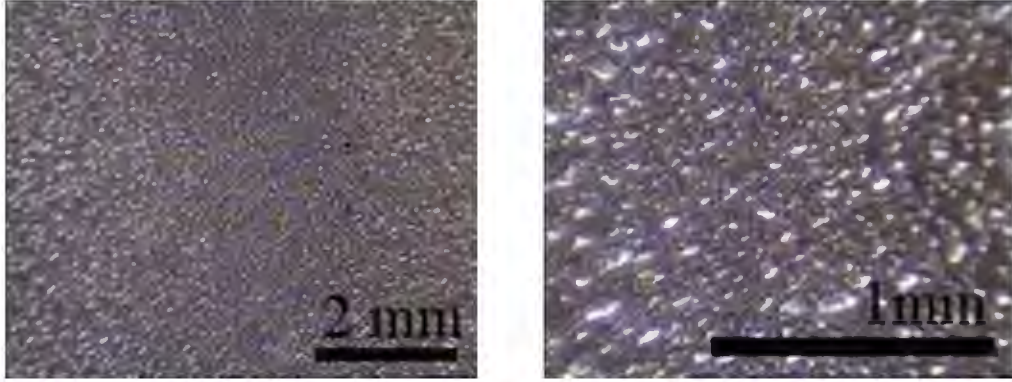
sonrası çatlaklara rastlanmıştır. Kaplama kalınlığından dolayı kopmalar mevcuttur. Kopmaların olduğu bölgelerde 6P57 biyocamı açıkça görülmektedir.



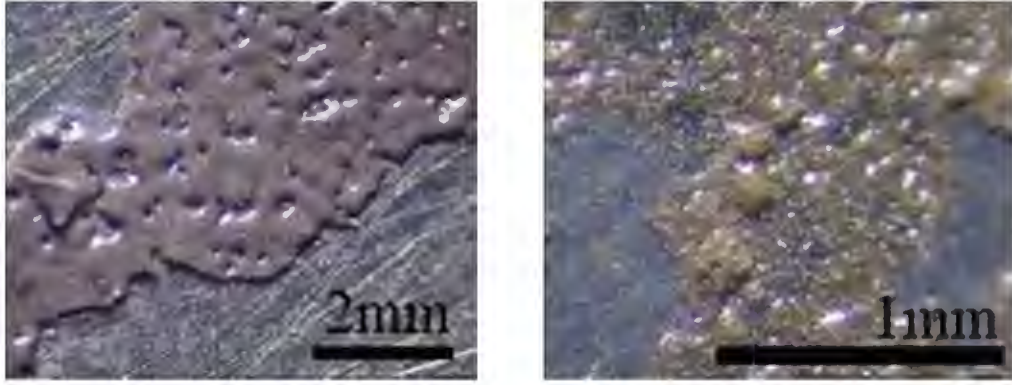
Şekil 5.6. Kaplama sonrası çift tabaka kaplamalara ait stereo mikroskop görüntüleri (a) T1 (b) T1*(c) T2 (d) T2*

5.2.2. Sinterlenmiş Numunelerin Stereo Mikroskop Görüntüleri

Daldırma yöntemi ile kaplanmış numuneler için iki farklı sinterleme işlemi uygulanmıştır. İlk sinterleme işlemi sonrasında numunelerin farklı büyütme oranlarında stereo mikroskop görüntüleri Şekil 5.7’de verilmiştir. K1 no’lu kaplama ince 6P57 biyocam kaplamadır ve bu kaplamada cam ergimiş ve damlacıklar halinde altlık üzerinde kalmıştır. Altlığı tam olarak kaplamadığı görülmektedir. K2 nolu kaplama ise kalın 6P57 biyocam kaplamadır ve bu kaplamada cam altlığa tutunamamıştır. Bu nedenle sinterleme işleminin hemen ardından kaplama kolaylıkla çizilmiş ve hatta kopmalar meydana gelmiştir.



(a)

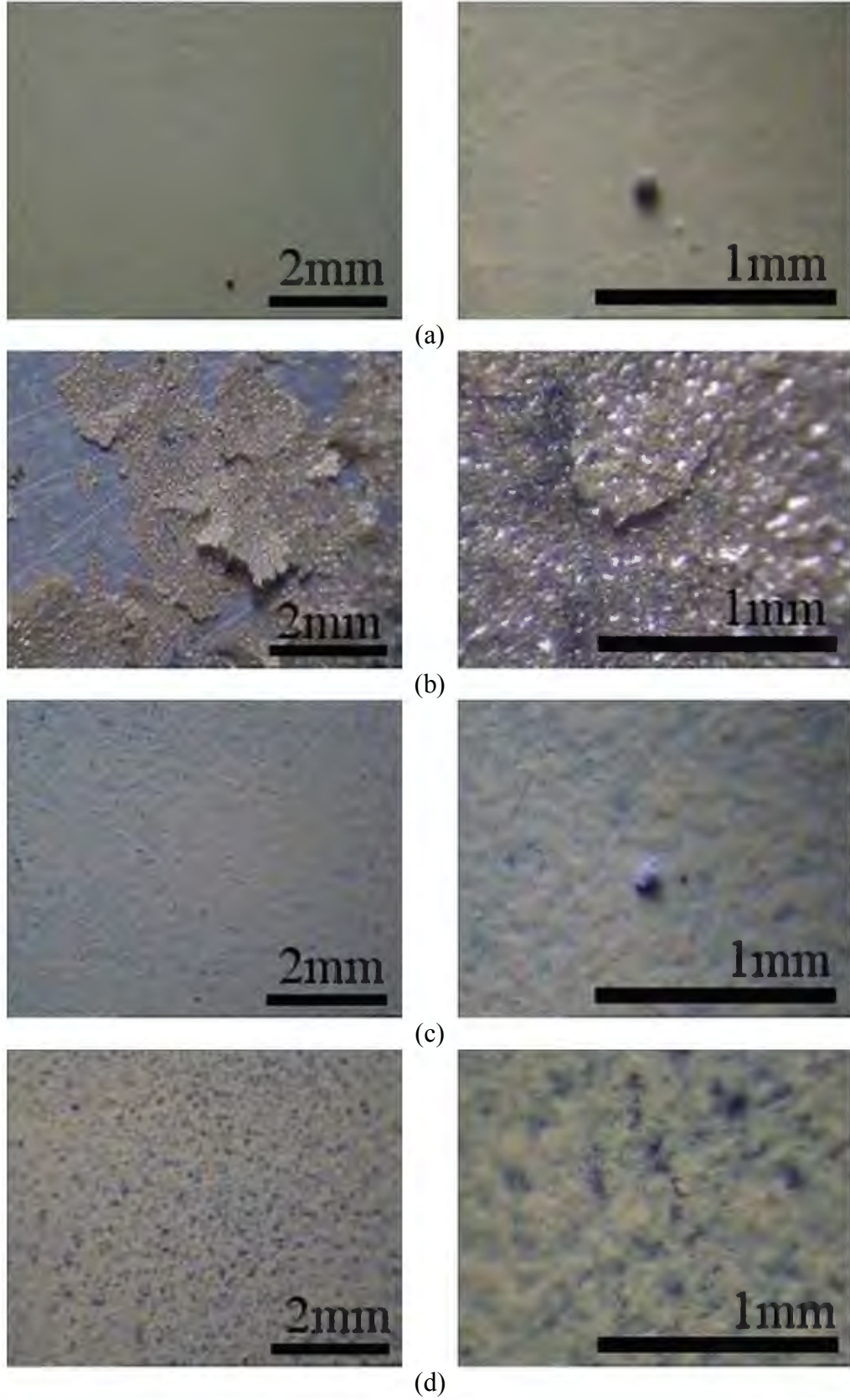


(b)

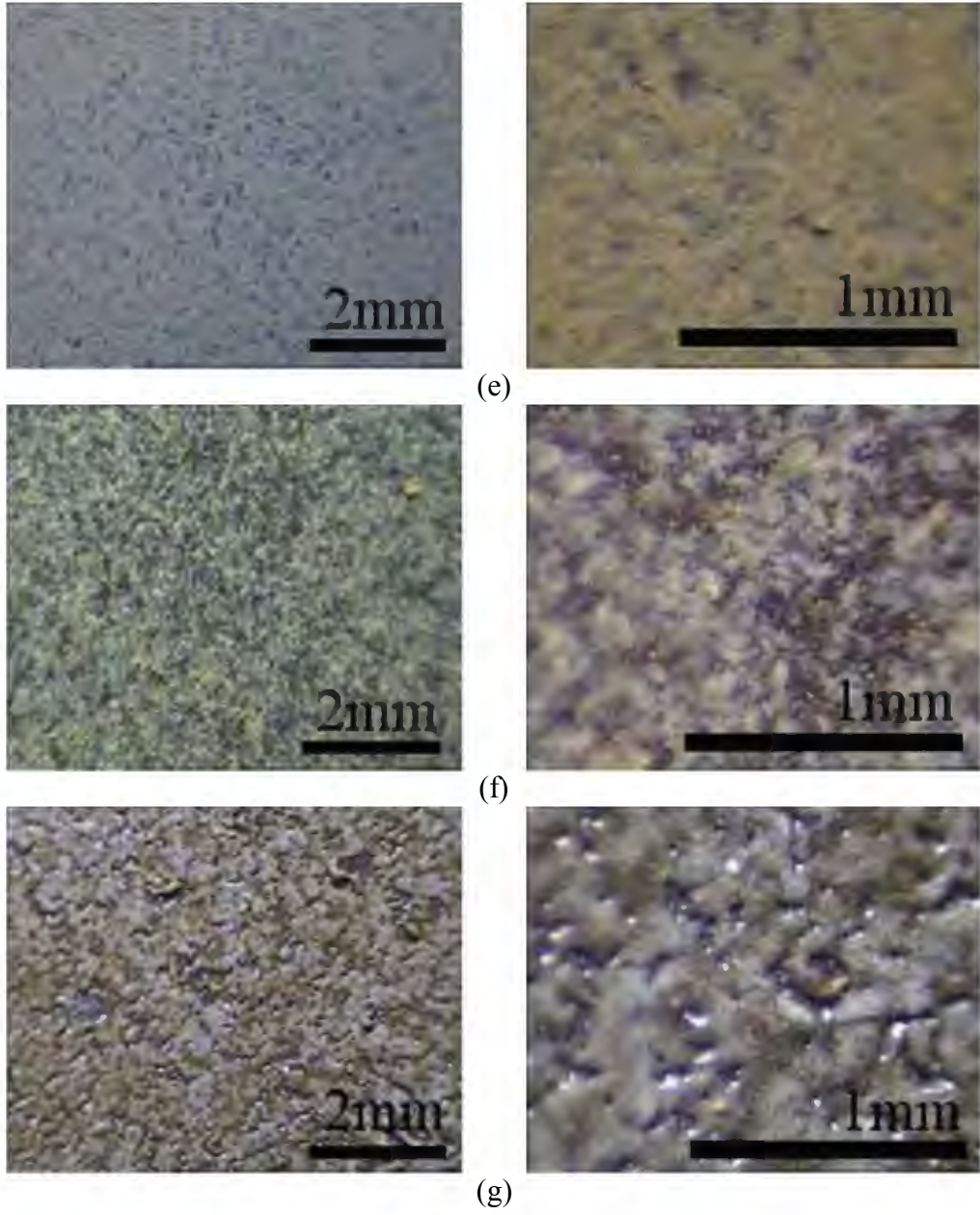
Şekil 5.7. Sinterleme işlemi sonrası (a) K1 ve (b) K2 nolu kaplamalara ait farklı büyütmelelerde alınmış stereo mikroskop görüntüleri

İkinci sinterleme işlemi sonrası çekilen stereo mikroskop görüntüleri Şekil 5.8’de verilmiştir. K3 nolu kaplama sadece ABT tozu içeren solüsyon ile yapılmıştır. Homojen bir kaplama elde edilmiş fakat yüzeyde aglomerasyonların olduğu belirlenmiştir. Sinterleme sonrası kaplama rengi sarıya dönmüştür. K4 no’lu kaplama ise 6P57 biyocam içeren solüsyon ile hazırlanmış kaplamadır. K2 no’lu kaplama gibi bu kaplamada da kaplamanın altlık yüzeyinden kopma eğilimi çok yüksektir. Aynı zamanda altlık yüzeyi tam olarak kaplanamamıştır. K5, K6 ve K7 no’lu kaplamalar farklı miktarlarda 6P57 biyocamı içeren ABT tozu karışımı ile hazırlanan solüsyonlardan elde edilen kaplamalardır. Bu kaplamalarda cam içeriği artışı ile renkte sararma gözlenmiştir. Aynı zamanda kaplama yüzeylerinde

aglomerasyonlar ve açık porlar bulunmaktadır. K8 ve K9 nolu kaplamalar çift tabakalı kaplamalardır. Altlık üzerine önce 6P57 biyocamı üzerine ABT tozu kullanılarak, daldırma yöntemi ile kaplama yapılmıştır. Sinterleme sonrası kaplamalarda rengin sarıya doğru değiştiği görülmüştür. 6P57 biyocam ABT tozun alt kısmında kalmıştır fakat toz tamamen camsı tabakayı kapatamadığı için camsı tabaka ergimiş halde görülmektedir. K8 ve K9 nolu kaplamaların tek farkı kaplama kalınlıklarıdır. K8 nolu kaplama K9 nolu kaplamaya oranla daha homojen bir kaplamadır.



Şekil 5.8. Sinterleme işlemi sonrası kaplamaların farklı büyütme stereo mikroskop görüntüleri (a) K3(b)K4(c)K5(d)K6(e)K7(f)K8(g)K9.



Şekil 5.8. (Devam) Sinterleme işlemi sonrası kaplamaların farklı büyütme stereo mikroskop görüntüleri(a)K3(b)K4(c)K5(d)K6(e)K7(f)K8(g)K

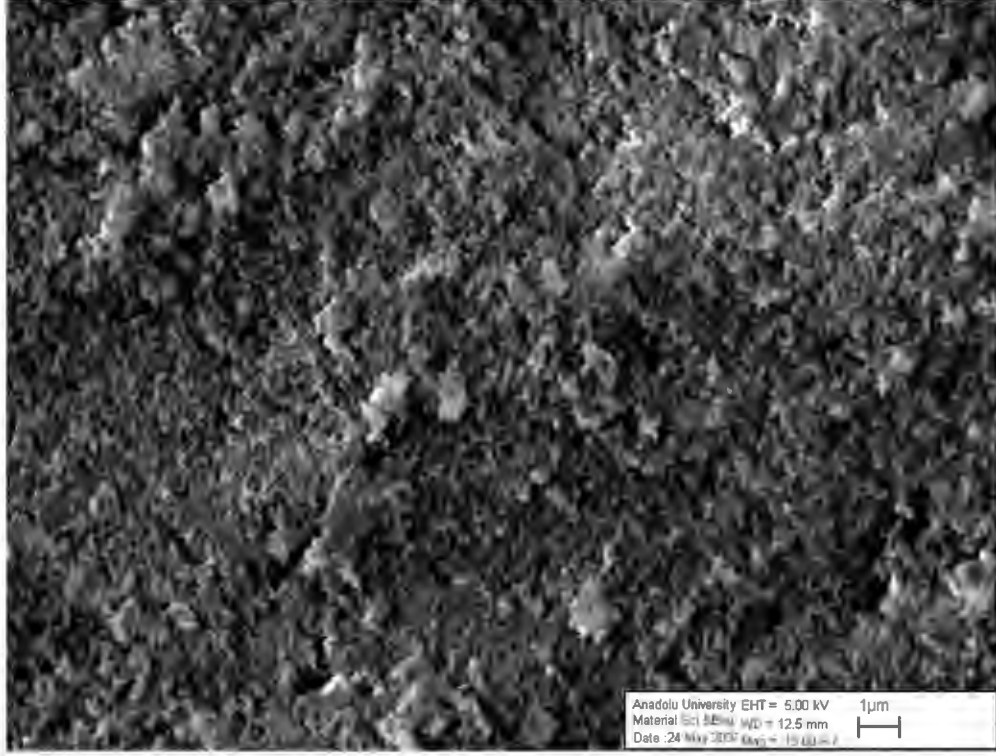
5.2.3. SEM ve EDX Analizleri

Sinterlenmiş numunelerin SEM ile morfolojileri, EDX ile kimyasal kompozisyonları incelenmiştir. Sadece 6P57 biyocam solüsyonu ile kaplanan ve sinterlenen K1 nolu kaplamanın SEM görüntülerinde kaplamanın 800 °C de ergidiği ve bir ağ yapısı oluşturduğu Şekil 5.9’ da görülmektedir. Ancak altlık tam olarak kaplanmamıştır.



Şekil 5.9. K1 nolu kaplamaya ait SEM görüntüsü

ABT tozu ile hazırlanan solüsyon ve daldırma yöntemi kullanılarak kaplanan K3 nolu kaplamanın SEM görüntüsü Şekil 5.10’da verilmiştir. Kaplamanın homojen olarak dağılmadığı, açık porların varlığı ve oluşan aglomerasyonlar dikkat çekmektedir. Kaplama kalınlığında da bölgesel olarak değişiklikler bulunmaktadır.



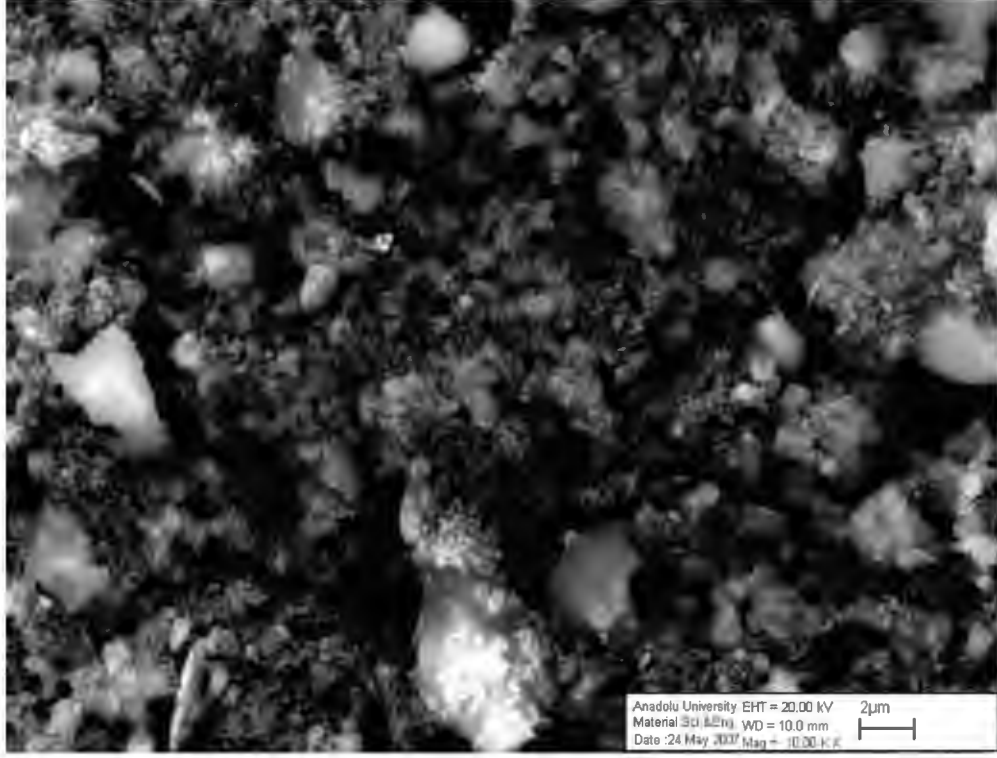
Şekil 5.10. K3 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası alınan SEM görüntüsü

ABT toz miktarının ağırlıkça %25 i kadar 6P57 biyocam içeren solüsyon ile kaplanan ve sinterlenen K5 no'lu kaplamada cam ve toz partikülleri Şekil 5.11'de de görüldüğü üzere açıkça ayırt edilebilmektedir. ABT tozu altlık yüzeyinde yer almış, ara yerler ise cam ile dolmuştur. Daha yüksek oranda cam ilavesi ile daha iyi bağlanma ve daha homojen kaplamalar elde edilebileceği sonucu ortaya çıkmıştır.



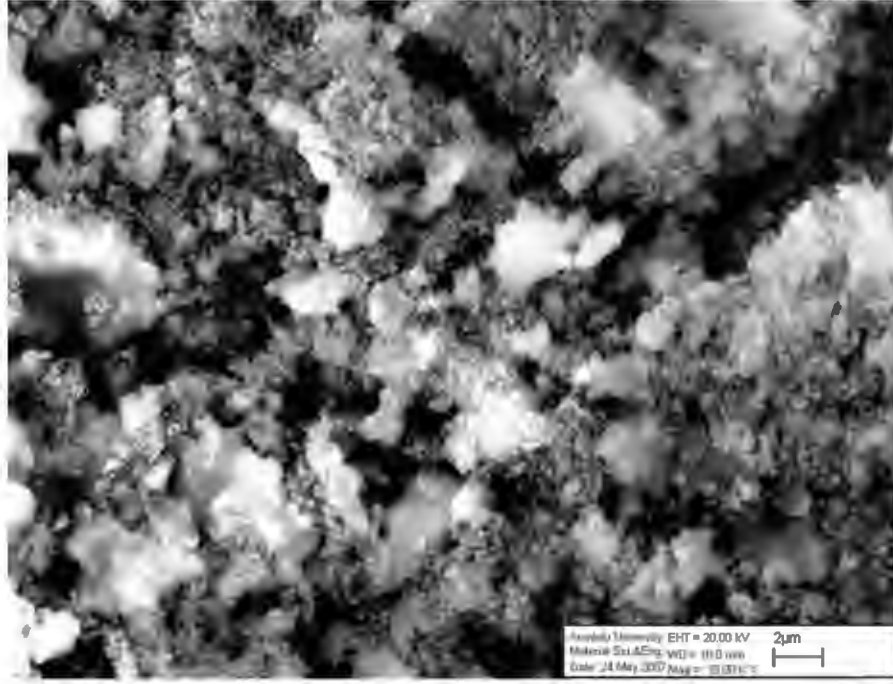
Şekil 5.11. K5 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası alınan SEM görüntüsü

ABT toz miktarının ağırlıkça %50 si kadar 6P57 biyocam içeren solüsyon ile daldırma yöntemi ile kaplanan ve sinterlenen K6 nolu kaplamanın SEM görüntüsü Şekil 5.12 ile verilmiştir. ABT tozu camsı fazı çevrelemiş ve kaplamanın altlık yüzeyine artan cam miktarı ile daha fazla tutunduğu gözlemlenmektedir.

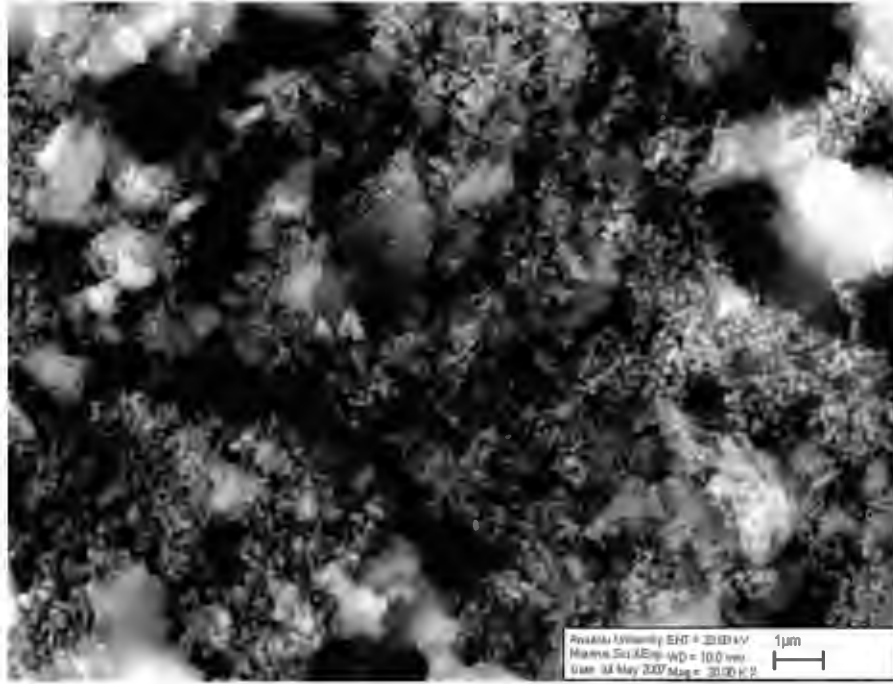


Şekil 5.12. K6 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası alınan SEM görüntüsü

ABT toz miktarının ağırlıkça %75'i kadar 6P57 biyocam içeren solüsyon ile daldırma yöntemi ile kaplanan ve sinterlenen K7 nolu kaplamanın SEM görüntüsü Şekil 5.13 ile verilmiştir. Cam fazın içi boş olan alanları doldurduğu ve bir bağlantı oluşturduğu görülmektedir. ABT tozu camsı faza tutunmuştur. Cam içeren diğer kaplamalara oranla daha homojen bir kaplama elde edilmiş ve 9 camsı kürelerin oluşmadığı tespit edilmiştir.



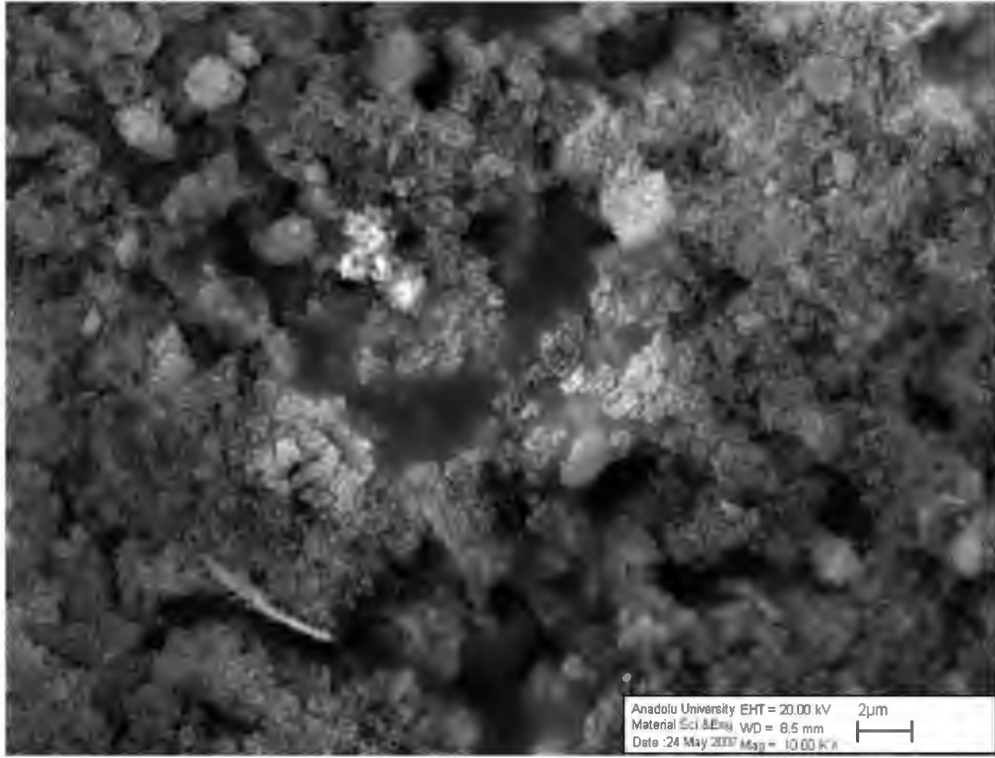
(a)



(b)

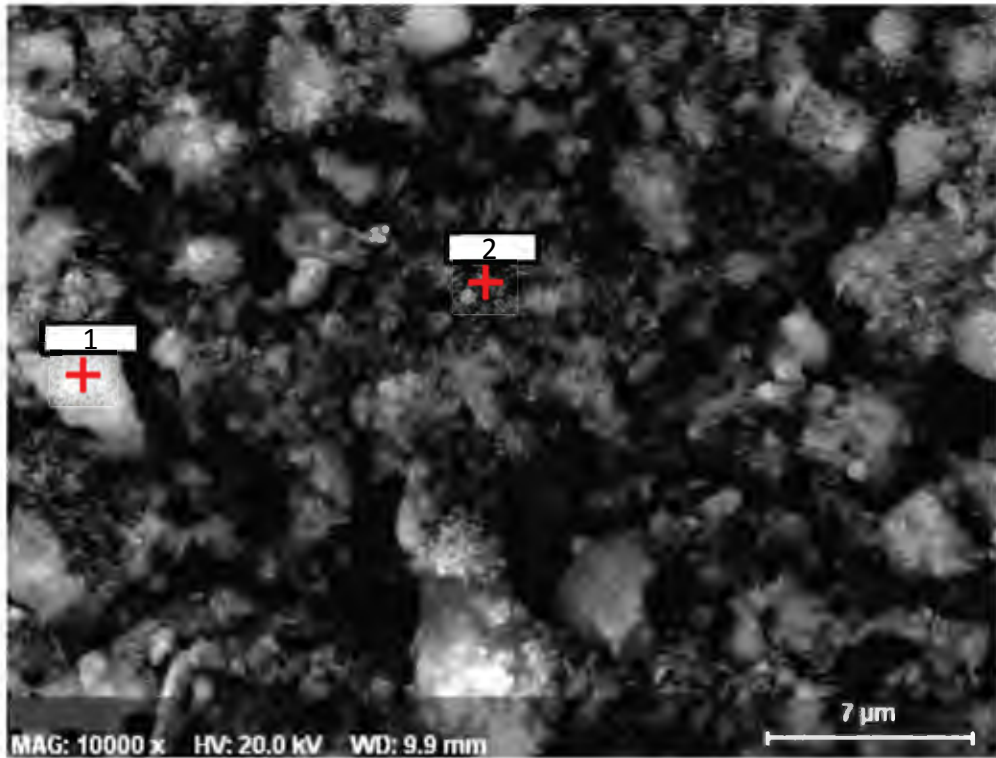
Şekil 5.13. K6 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası farklı büyütmelerde alınan SEM görüntüleri (a) 10000 büyütme (b) 20000 büyütme

Çift tabaka kaplama uygulanan K8 nolu kaplamanın SEM görüntüsü Şekil 5.14'de verilmiştir. İlk tabaka olarak 6P57 biyocamı, ikinci tabaka olarak ABT tozu kaplanmış numunede camın jel halinde altlık yüzeyini kapladığı ve ABT tozunun camı çevrelediği gözlemlenmektedir. Kaplama kalınlığı diğer kaplanan numunelere göre yüksektir ve tozun camı tamamen çevreleyemediği görülmektedir.



Şekil 5.14. K8 nolu kaplamaya ait sinterleme sonrası elde edilen SEM görüntüsü

Daldırma yöntemi kullanılarak kaplanan ve vakum altında sinterleme işlemine tabi tutulan numunelerden SEM görüntüleri sonucunda en homojen yapıya sahip olan örneklerin kimyasal kompozisyonlarını belirlemek amacı ile EDX analizi yapılmıştır. EDX analizi ile kimyasal kompozisyon değerleri cam içeriği ile daha iyi tutunmanın sağlandığı K6 ve K7 nolu kaplama numuneleri ile çift tabaka kaplama olan K8 nolu kaplama için araştırılmıştır. K6 nolu kaplamanın kaplama yüzeyinden iki farklı noktadan nokta analizi yapılmıştır (Şekil 5.15). K6 nolu kaplamanın EDX analizi sonucu Tablo 5.1’de verilmiştir. EDX analizi sonucu kaplamanın ve altlığın kompozisyon değerleri elde edilmiştir. Tablolarda altlık değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamaların kimyasal kompozisyon değerleri de verilmektedir. K6 nolu kaplamada Ag^+ miktarı 1.noktada %1,31 iken, 2. noktada bu değer %2,14 çıkmıştır. Bu durum Ag^+ homojen dağılmadığını göstermektedir. Aynı zamanda bu miktarlarda Ag^+ ile antimikrobiyal etkinliğin tam etkin ve uzun süreli olmayacağı düşünülmektedir.



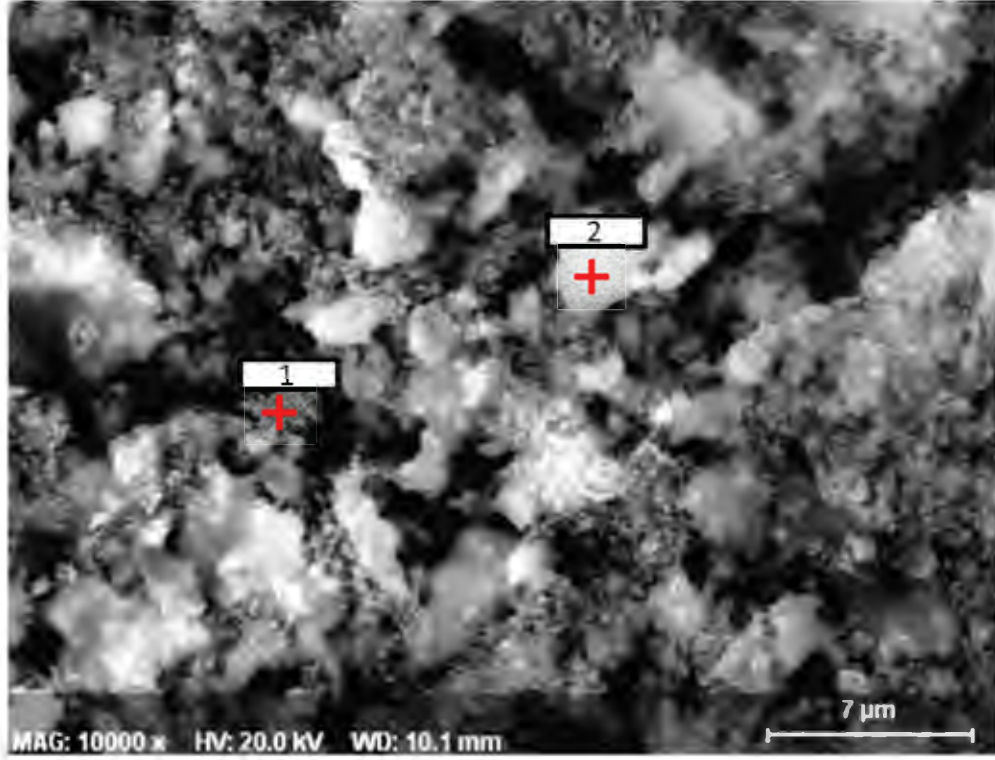
Şekil 5.15. K6 nolu kaplamadan EDX analizi için alınan noktalar

Tablo 5.1. K6 nolu kaplamadan EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri

	1	2	2*
Na	7,01	3,17	3,71
Mg	4,16	1,67	1,96
Si	19,58	6,53	7,65
P	6,87	10,73	12,57
K	1,49	0,39	0,46
Ca	15,75	19,73	23,11
Cr	-	6,55	-
Fe	-	8,07	-
Ni	-	-	-
Ag	1,29	1,40	1,64
O	43,85	41,76	48,91

**Altığın kimyasal kompozisyon değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamanın kimyasal kompozisyonu*

K7'nolu kaplamanın kaplama yüzeyinden iki farklı noktadan nokta analizi yapılmış ve Şekil 5.16'da verilmiştir. K7'nolu kaplamanın EDX analizi sonucu Tablo 5.2 ile verilmiştir. EDX analizi sonucu kaplamanın ve altığın kompozisyon değerleri elde edilmiştir. Tablolarda altlık değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamaların kimyasal kompozisyon değerleri de verilmektedir. K7'nolu kaplamada Ag^+ miktarı 1.noktada %1,80 iken, 2. noktada bu değer %2,07 çıkmıştır. Bu durum Ag^+ homojen dağılmadığını göstermektedir. Aynı zamanda K6'nolu kaplamada olduğu gibi bu miktarlarda Ag^+ ile antimikrobiyal etkinliğin tam etkin ve uzun süreli olmayacağı düşünülmektedir.



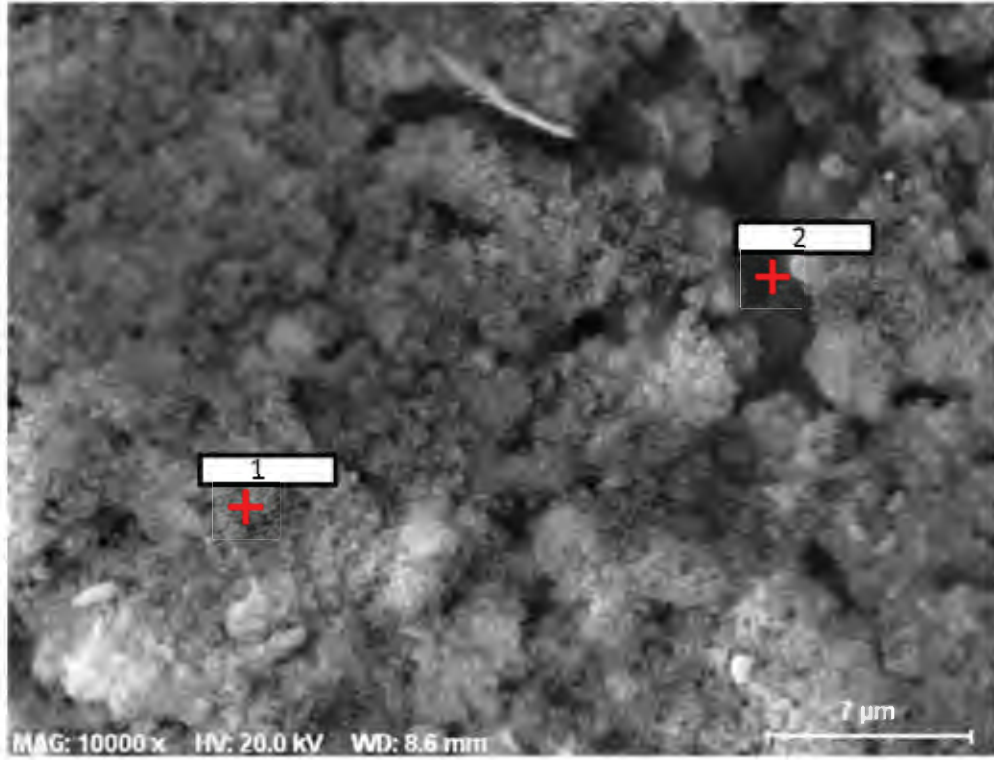
Şekil 5.16. K7 nolu kaplamadan EDX analizi alınan noktalar.

Tablo 5.2. K7 nolu kaplamanın EDX analizi sonucu kimyasal kompozisyon değerleri.

	1	1*	2	2*
Na	7,29	7,34	7,02	7,07
Mg	4,97	5,01	4,80	4,84
Si	20,93	21,08	20,71	20,86
P	7,50	7,55	7,27	7,32
K	1,50	1,51	1,29	1,30
Ca	15,86	15,98	14,95	15,06
Cr	-	-	-	-
Fe	0,72	-	0,74	-
Ni	-	-	-	-
Ag	1,90	1,91	2,13	2,15
O	39,33	39,62	41,08	41,39

*Altığın kimyasal kompozisyon değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamanın kimyasal kompozisyonu

K8 nolu kaplamanın kaplama yüzeyinden iki farklı noktadan nokta analizi yapılmıştır (Şekil 5.17). K7 nolu kaplamanın EDX analizi sonucu Tablo 5.3’de verilmiştir. EDX analizi sonucu kaplamanın ve altlığın kompozisyon değerleri elde edilmiştir. Tablolarda altlık değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamaların kimyasal kompozisyon değerleri de verilmektedir. K8’olu kaplama da Ag^+ miktarı 1.noktada %1,03 iken, 2. noktada gümüşe rastlanmamıştır. Bu kaplama çift tabaka bir kaplamadır ve alt yüzeyde gümüş içeriği olmayan 6P57 biyocamı bulunmaktadır. 2. nokta ile biyocamın EDX analizi yapıldığı için gümüşe rastlanmamıştır. Ancak 1. noktada analiz edilen gümüşün ağırlıkça % miktarı antimikrobiyal etkinliğin sağlanabilmesi açısından oldukça düşüktür.



Şekil 5.17. K8 nolu kaplamadan EDX analizi için alınan noktalar

Tablo 5.3. K8 nolu kaplamanın EDX analizi sonucu kimyasal kompozisyon değerleri.

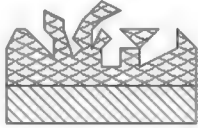


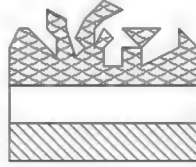
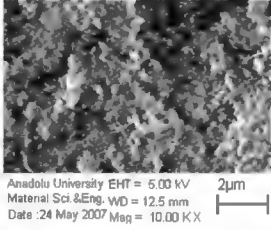
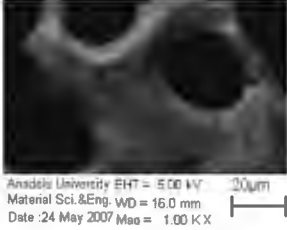
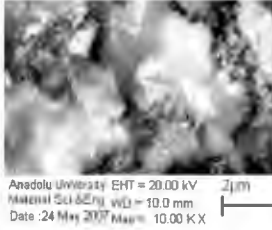
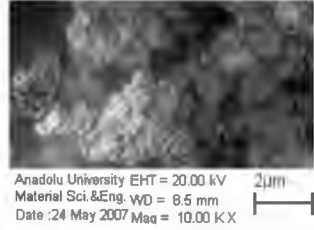
	1	1*	2	2*
Na	3,33	3,92	4,78	7,10
Mg	1,92	2,26	2,96	4,40
Si	7,44	8,76	13,55	20,13
P	13,65	16,07	1,50	2,23
K	0,61	0,72	0,72	1,07
Ca	24,08	28,35	3,86	5,74
Cr	4,05	-	8,14	-
Fe	9,03	-	20,94	-
Ni	1,97	-	3,62	-
Ag	0,92	1,08	-	-
O	32,99	38,83	39,94	59,35

**Altığın kimyasal kompozisyon değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamanın kimyasal kompozisyonu*

Daldırma yöntemi kullanılarak yapılan kaplama denemeleri için uygulanan kaplamaların avantaj ve dezavantajları Tablo 5.4 ile verilmektedir. ABT tozu ile kaplama denemelerinde 316L paslanmaz çelik ile direk bağlanma sağlanmazken kemik iyileşmesi için önerilen por boyutuna oranla çok düşük por boyutları elde edilmiştir. 6P57 kaplama ile altlık ve toz arasında iyi ıslatma sağlanmış ve termal genişleme katsayıları yakın olduğu için altık ile bağlanma sağlanmıştır. Ancak homojen kaplama elde edilememiş olup, aynı zamanda kompozisyon içerisinde Ag^+ olmadığı için antimikrobiyal etkinlik söz konusu olmamıştır. Farklı yüzdelerde biyocam içeren ABT solüsyonları ile yapılan kaplamalarda %25 biyocam içeriğinin düşük olduğu ve cam yüzdesinin artırılması ile daha homojen kaplamalar elde edilebileceği görülmüştür. Biyocam altlık ve ABT tozu arasında altlık görevi görmektedir ve ABT tozun biyocamı çevrelediği gözlemlenmiştir. Çift tabaka kaplamalarda ABT tozu 6P57 biyocam kaplamanın üzerinde gözlemlenirken, solüsyon içerisindeki toz miktarları çok düşük olduğu için homojen kaplamalar elde edilememiştir.

Daldırma ile kaplama yöntemi hızlı ve ekonomik bir yöntemdir ancak kaplama kalınlıklarının ve özellikle çift tabakalı kaplamalarda kaplamanın homojenliğinin ayarlanması oldukça güçtür. Bu gibi zorluklar neticesinde farklı bir kaplama yöntemi olan Elektrosprey ile kaplama yöntemine geçilmiş

Tablo 5.4. Daldırma yöntemi ile yapılan farklı kaplamaların avantaj ve dezavantajları

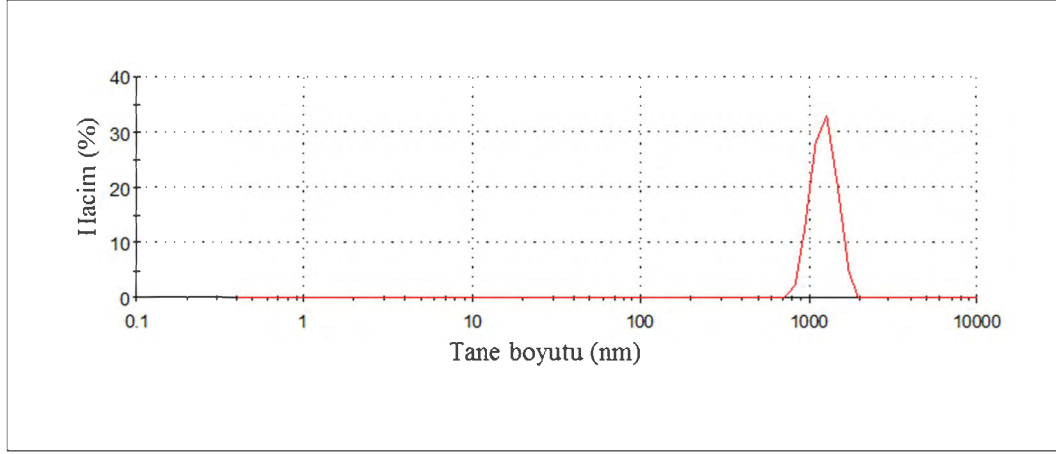
	ABT kaplama	6P57 kaplama	Farklı yüzdelerde cam içeren ABT ile kaplama	Çift tabaka kaplama 1: 6P57 2: ABT
İdeal kaplama				
SEM				
+	- Metal ile bağlanma sinterleme prosesinin sonucu olan yeni bir Cr bileşimi ile olmaktadır	- ıslatma iyi $\theta < 90^\circ$ → altlığa yapışma ve bağlanma özellikleri iyi. - metal altlık ve biyocamın termal genleşme katsayıları yakın olduğu için yapışma ve bağlanma özellikleri iyi.	- ABT, 6P57 kaplamanın üzerinde ve içerisinde gözlemlendi.	- ABT, 6P57 kaplamanın üzerinde gözlemlenmiştir.
-	- metal ve ABT arasında direk bağlanma olmamıştır. - por boyutları ~1-2µm Kemik iyileşmesi için önerilen por boyutu : 50-100µm	- homojen kaplama solüsyondaki biyocam miktarının düşük olması nedeniyle elde edilemedi.	- solüsyon içerisindeki toz miktarları çok düşük olduğu için homojen bir kaplama elde edilememiştir.	- por boyutları ~5-10µm Kemik iyileşmesi için önerilen por boyutu : 50-100µm



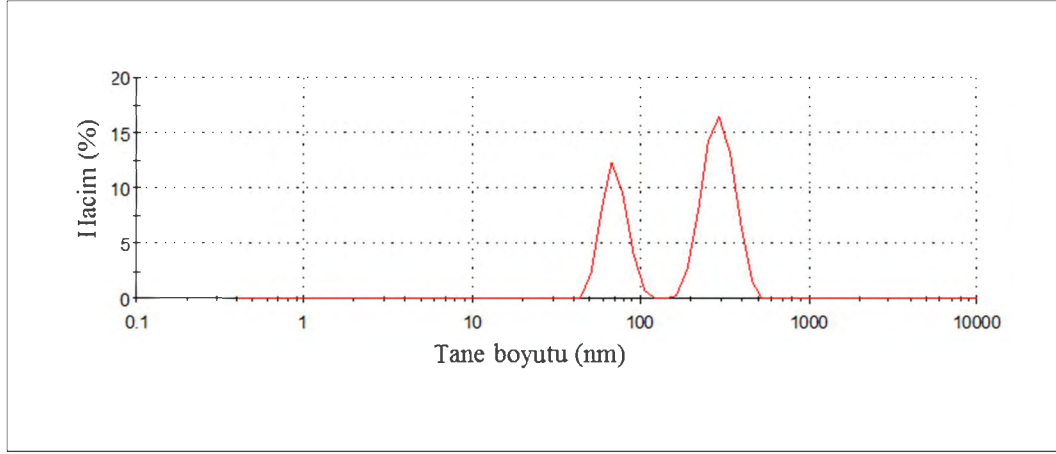
5.3. Elektrosprey Kaplama Yöntemi

5.3.1. Kaplama İçin Kullanılacak Solüsyonların Hazırlanması

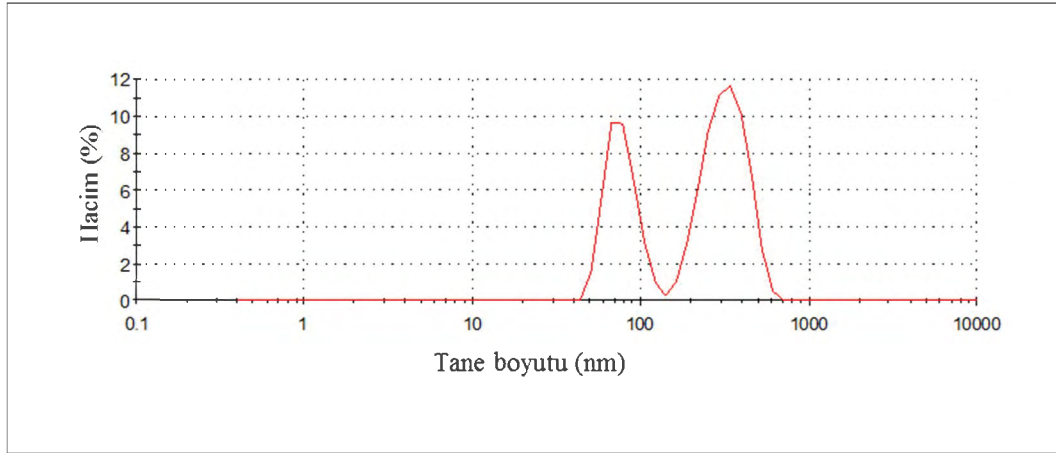
Kaplamalar için kullanılmak üzere HA (şahit olarak), ABT ve 6P57ABT (ara katman) tozlarından solüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonların tane boyut analizleri sonucunda su, etanol ve metanol ile öğütülerek hazırlanan solüsyonlarda HA, ABT ve 6P57ABT tozları için en düşük değerler metanol sisteminde gözlemlenmiştir (Şekil 5.18, Şekil 5.19, Şekil 5.20). Zeta potansiyel ölçümlerinde ise HA ve ABT tozlarında en iyi değerler yine metanol sisteminde elde edilmiştir. 6P57ABT ile hazırlanan solüsyonda ise zeta potansiyeli etanol sisteminde gözlemlenmiştir ancak elektrosprey yöntemi ile kaplamaya uygun değer elde edilemediği için daldırma yöntemi ile kaplama yöntemi tercih edilmiştir (Şekil 5.21, Şekil 5.22, Şekil 5.23). Hazırlanan tüm solüsyonlar için yapılan sedimentasyon testleri zeta potansiyeli sonuçlarını desteklemektedir (Şekil 5.24, Şekil 5.25, Şekil 5.26).



(a)

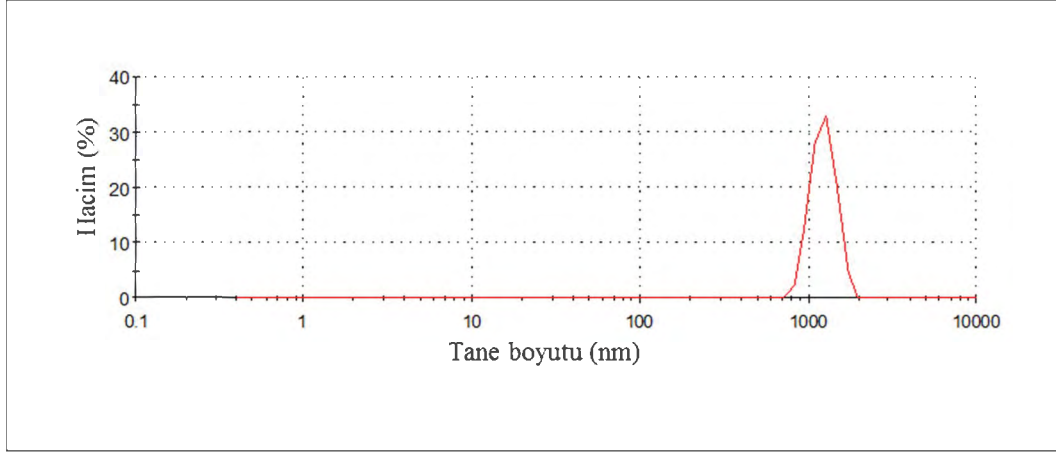


(b)

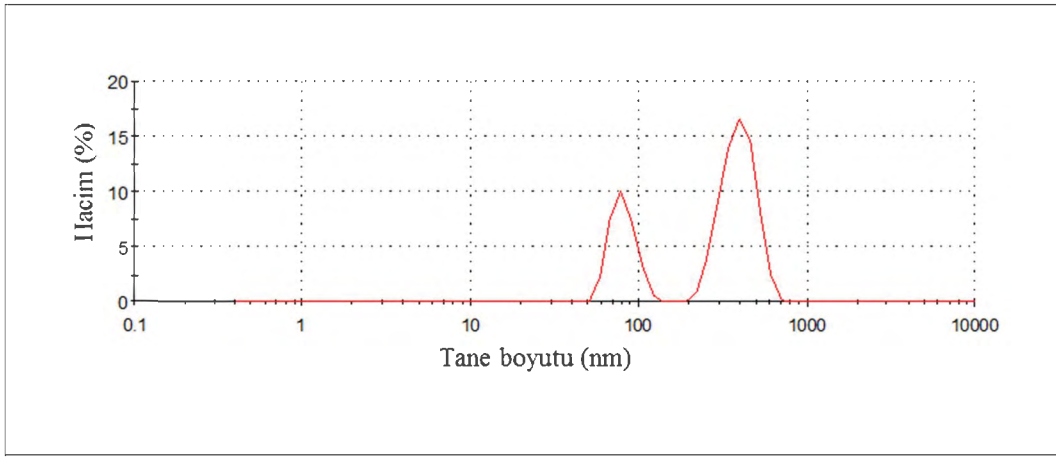


(c)

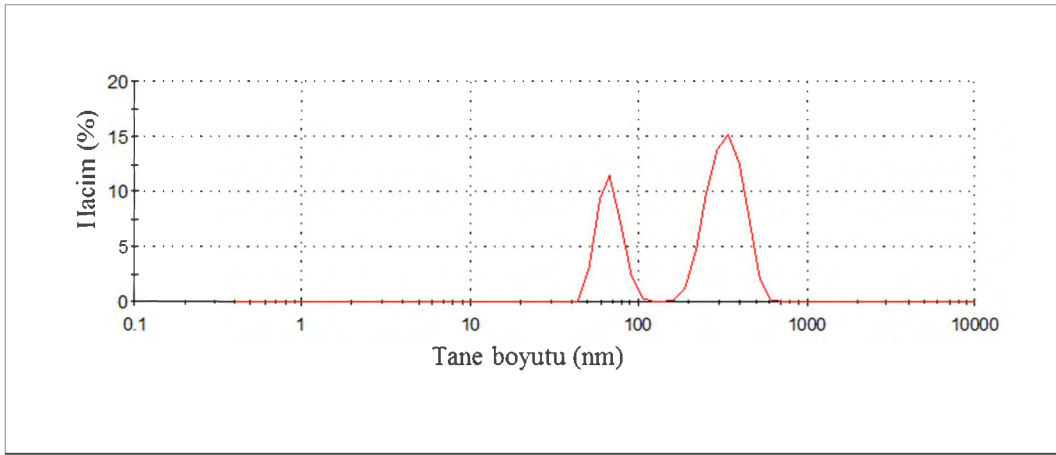
Şekil 5.18. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan HA için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemlerine ait tane boyut dağılım grafikleri



(a)

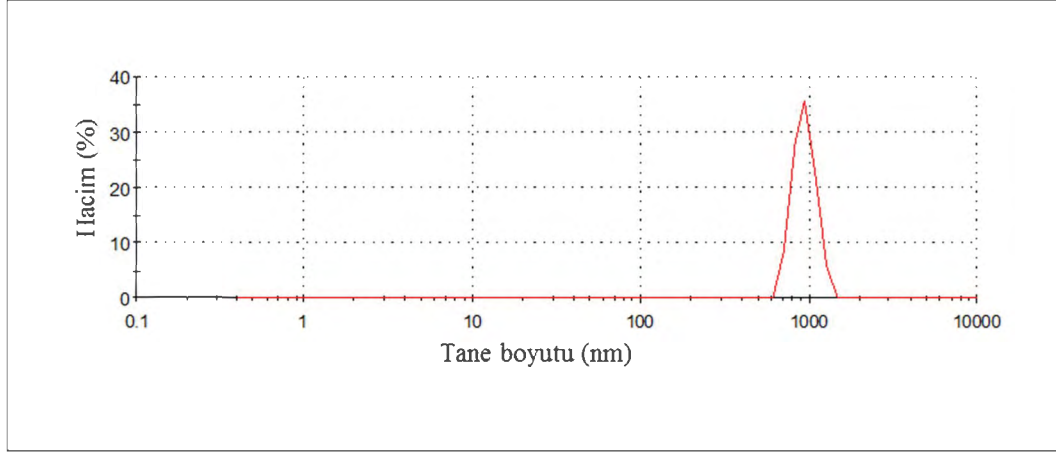


(b)

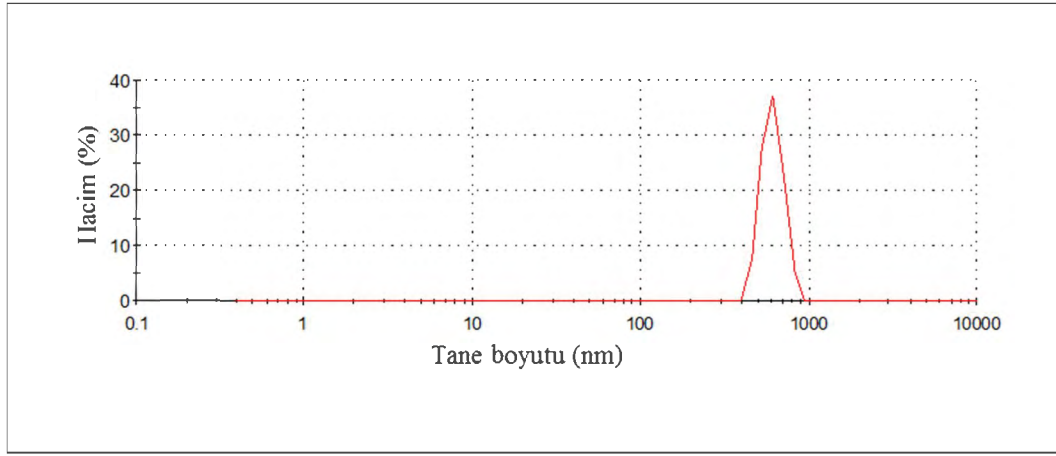


(c)

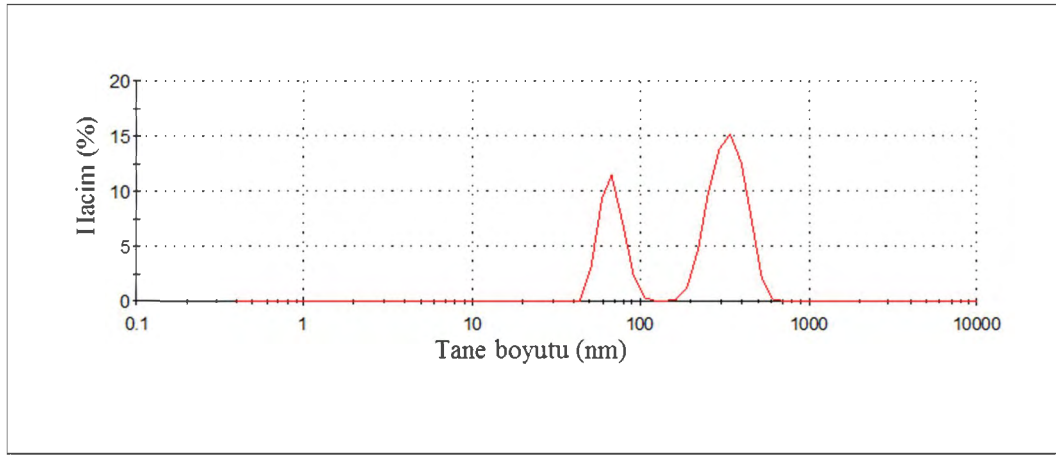
Şekil 5.19. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan ABT için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemlerine ait tane boyutu dağılım grafikleri



(a)

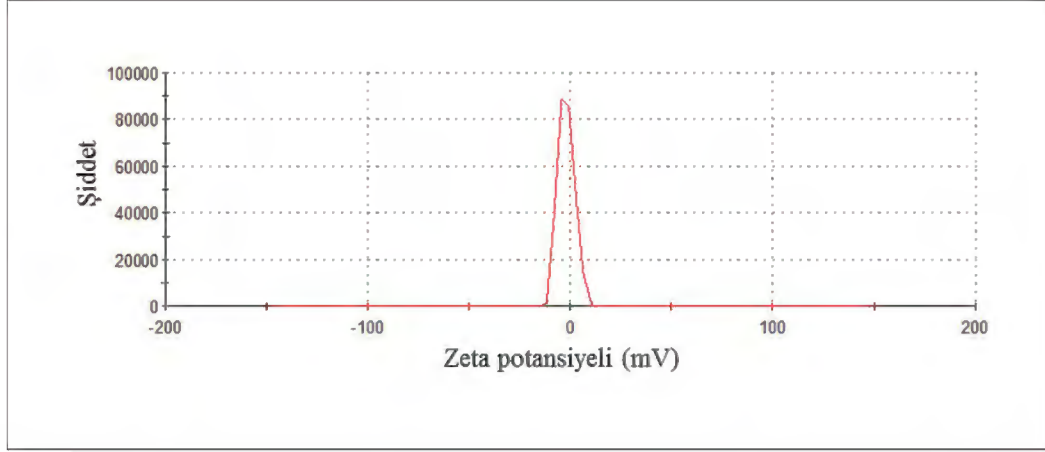


(b)

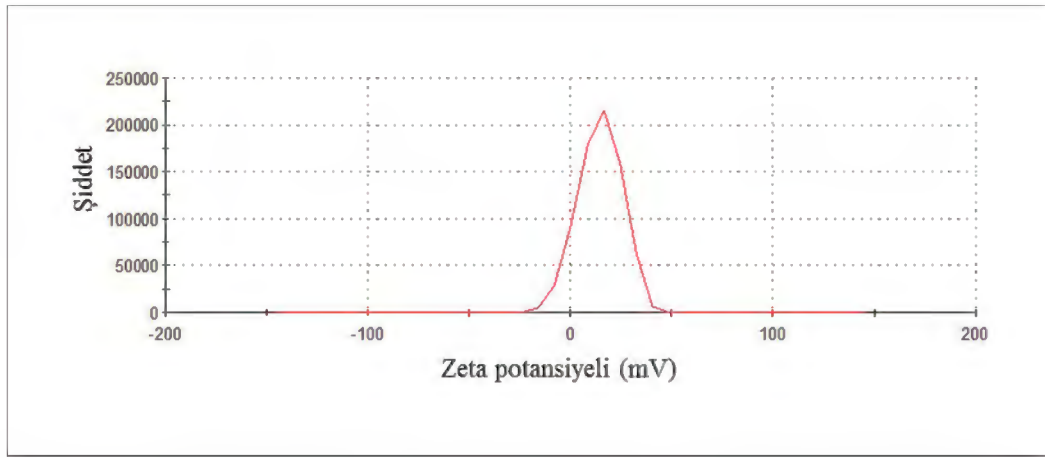


(c)

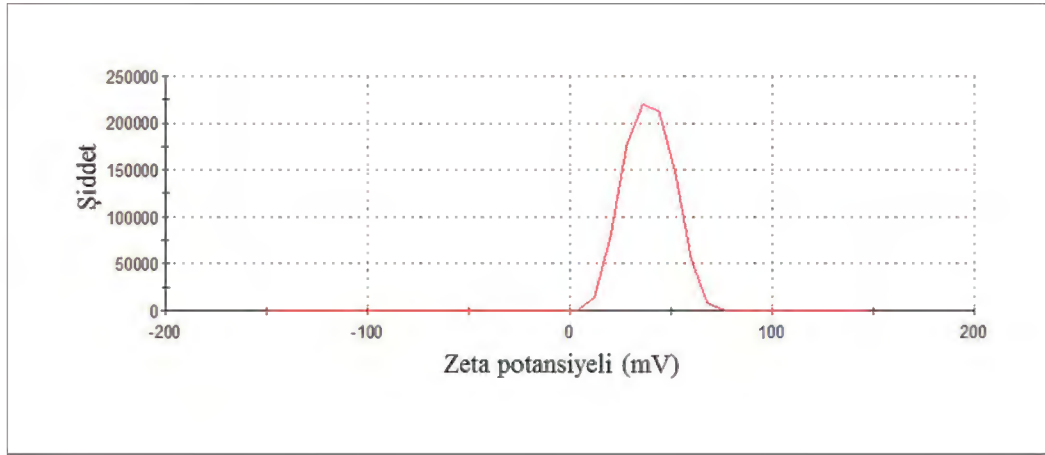
Şekil 5.20. Ağırlıkça %1 oranında hazırlanan 6P57ABT için (a) su (b) etanol (c) metanol sistemi tane boyut dağılım grafikleri



(a)

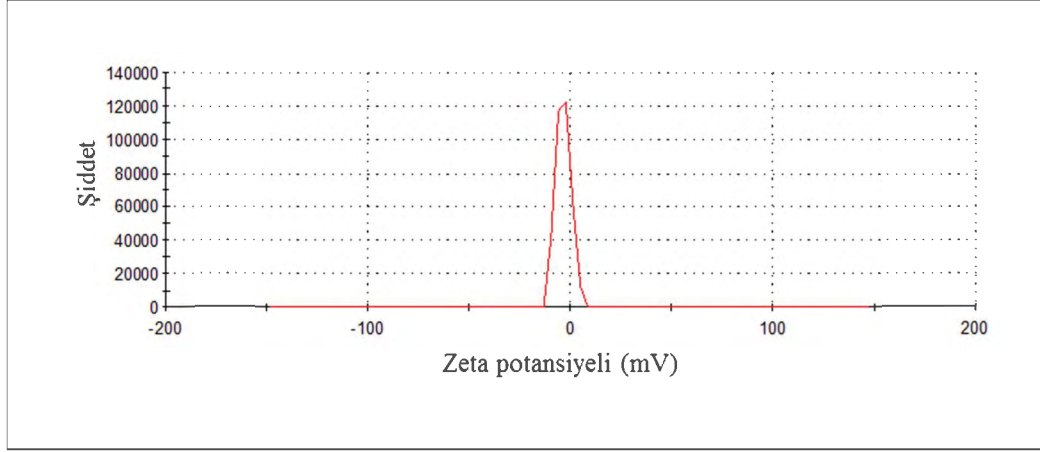


(b)

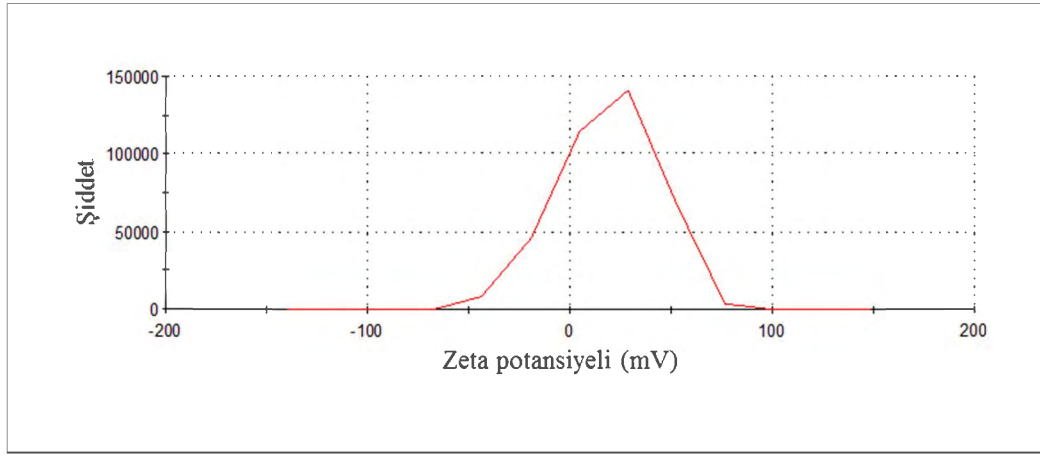


(c)

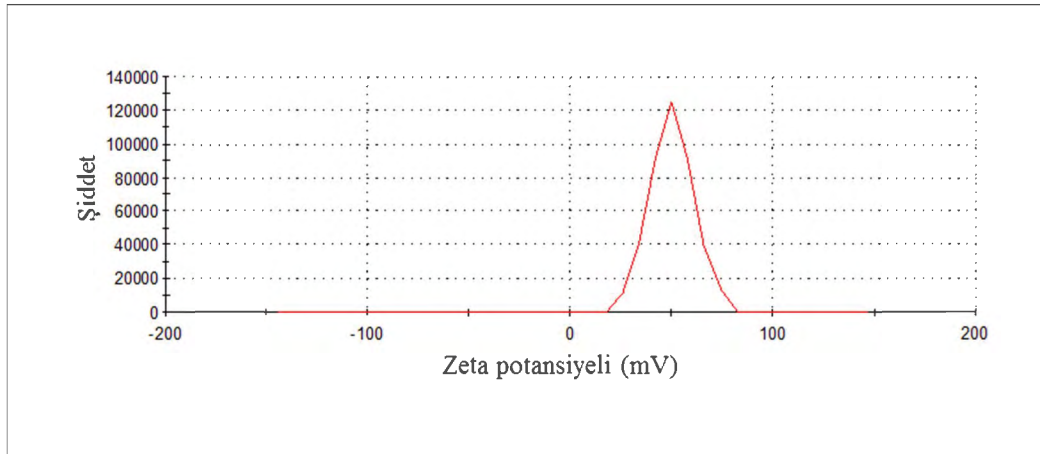
Şekil 5.21. HA solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sisteminde zeta potansiyeli dağılım grafikleri



(a)

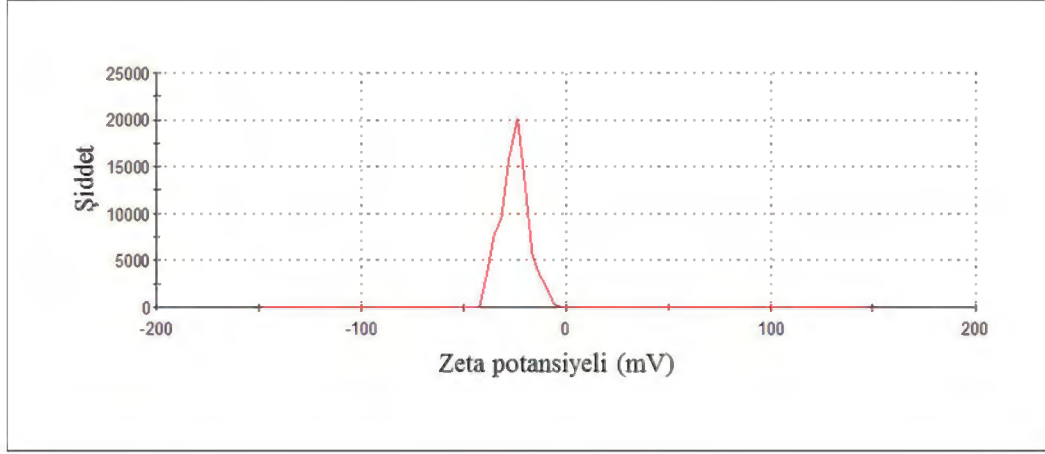


(b)

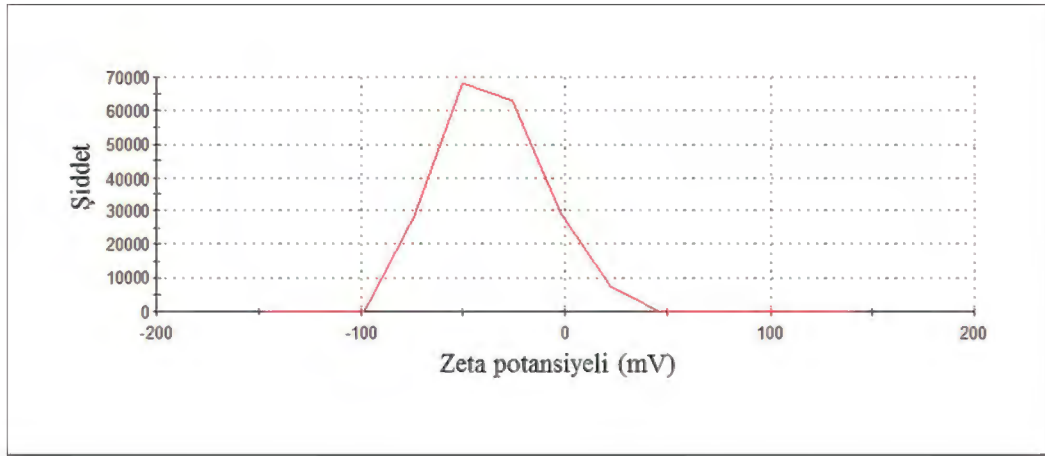


(c)

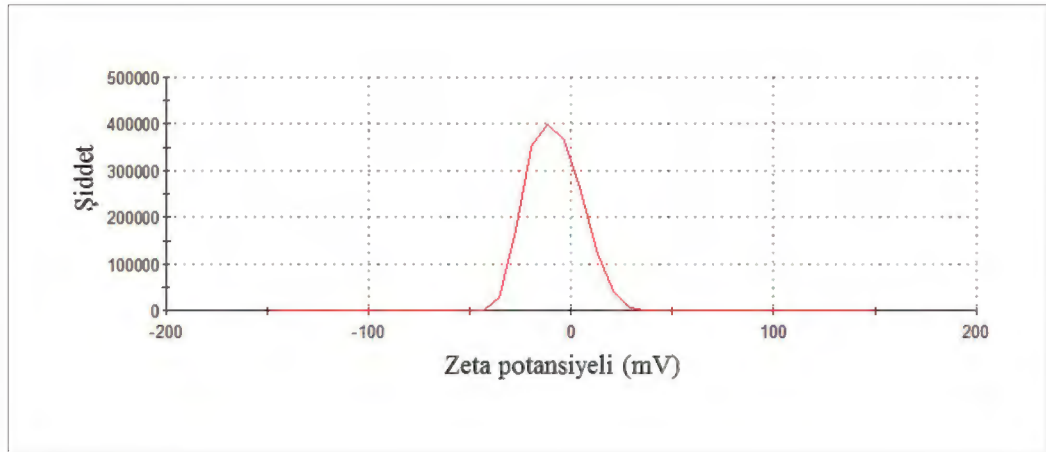
Şekil 5.22. ABT solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sisteminde zeta potansiyeli dağılım grafikleri



(a)

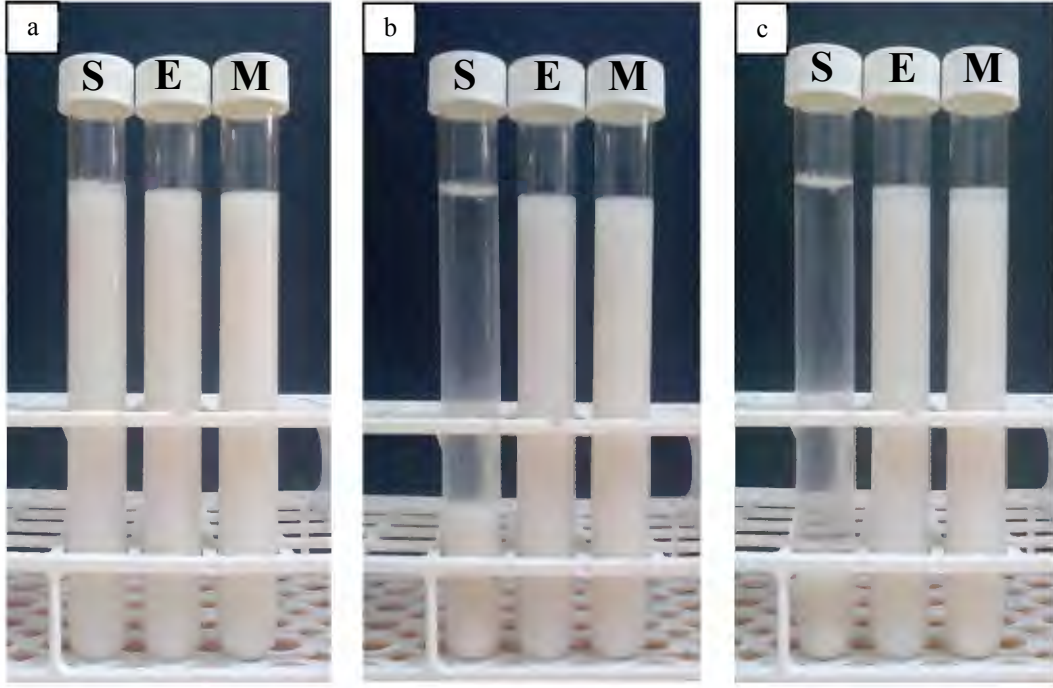


(b)

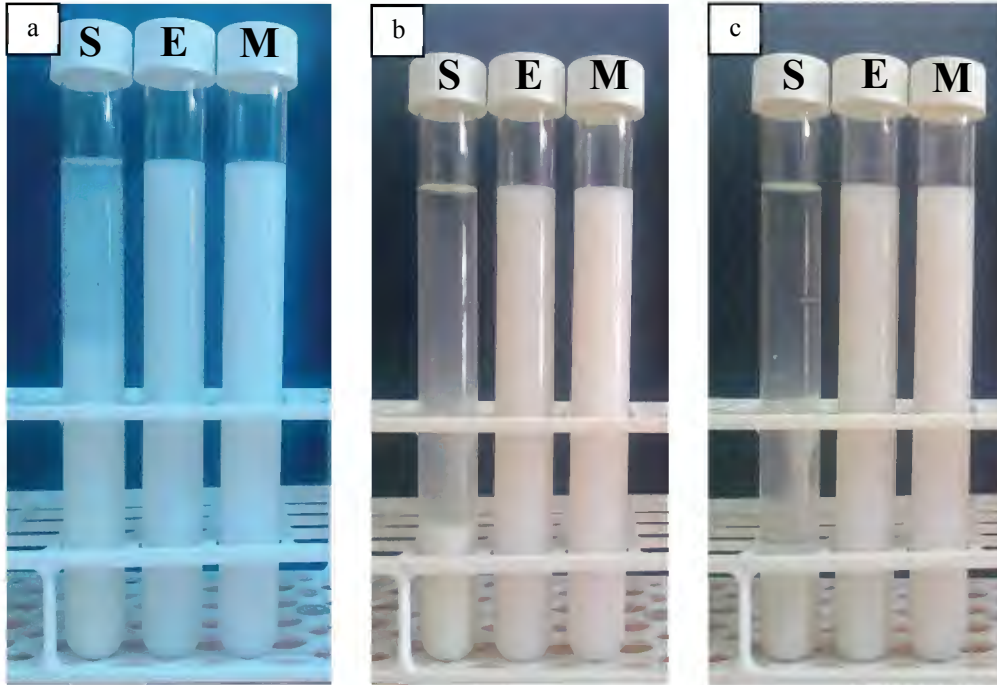


(c)

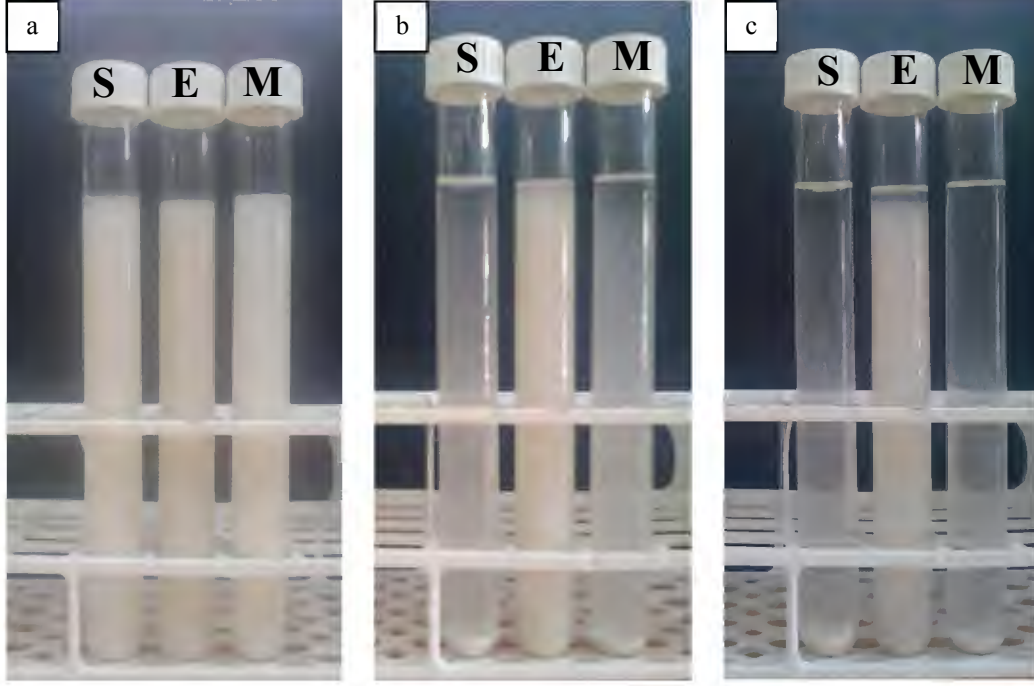
Şekil 5.23. 6P57ABT solüsyonu için (a) su (b) etanol (c) metanol sisteminde zeta potansiyeli dağılımı



Şekil 5.24. HA solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra (*S: Su, E: Etanol, M: Metanol*)



Şekil 5.25. ABT solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra (*S: Su, E: Etanol, M: Metanol*)



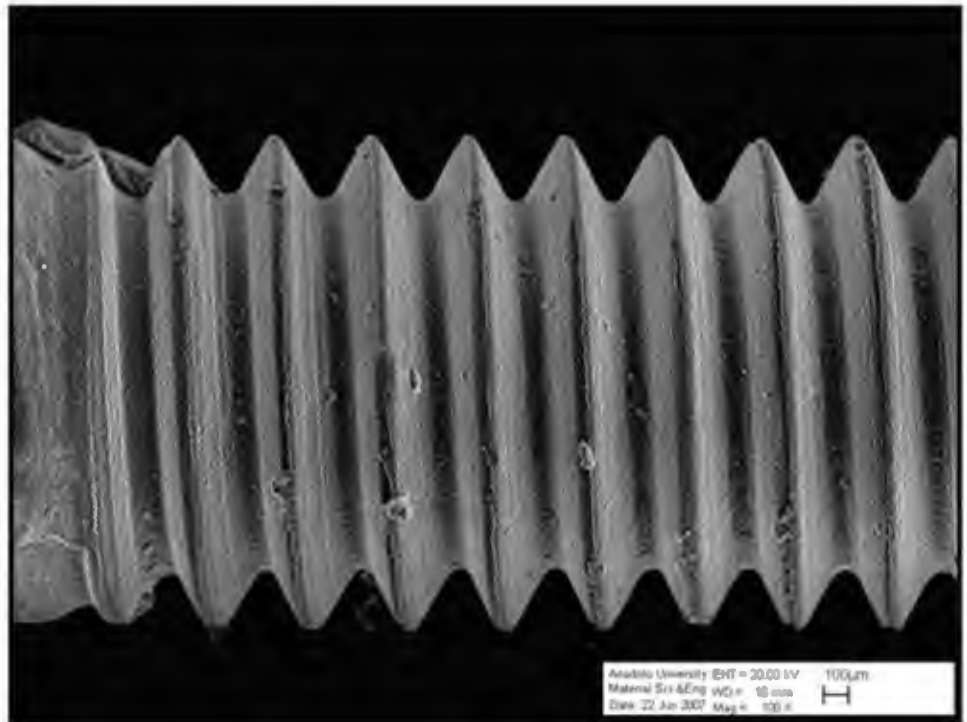
Şekil 5.26. 6P57ABT solüsyonu için sedimentasyon testi görüntüleri (a) başlangıç (b) 15 dakika sonra (c) 60 dakika sonra (*S: Su, E: Etanol, M: Metanol*)

5.3.2. Elektrospey ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik implantların karakterizasyonu

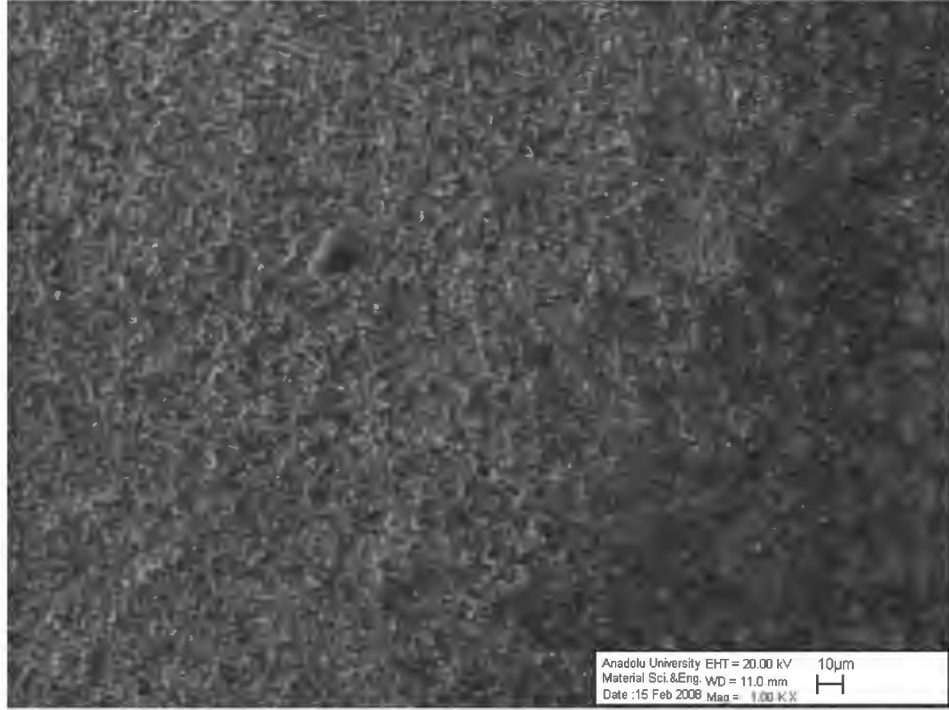
Sinterlenmiş 316L eksternal fiksatör çivilerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Zeiss Evo V50) ile yüzey morfolojileri incelenmiş ve Enerji Saçınımlı X-ışınları Difraksiyonu (EDX) ile kimyasal analizleri yapılmıştır. SEM görüntülerinde implantların üzerinde uniform kaplamalar gözlemlenirken (Şekil 5.27-5.30), kimyasal analizlerde antibakteriyel kaplamanın % 2,91 Ag⁺ içerdiği saptanmıştır (Şekil 5.31).



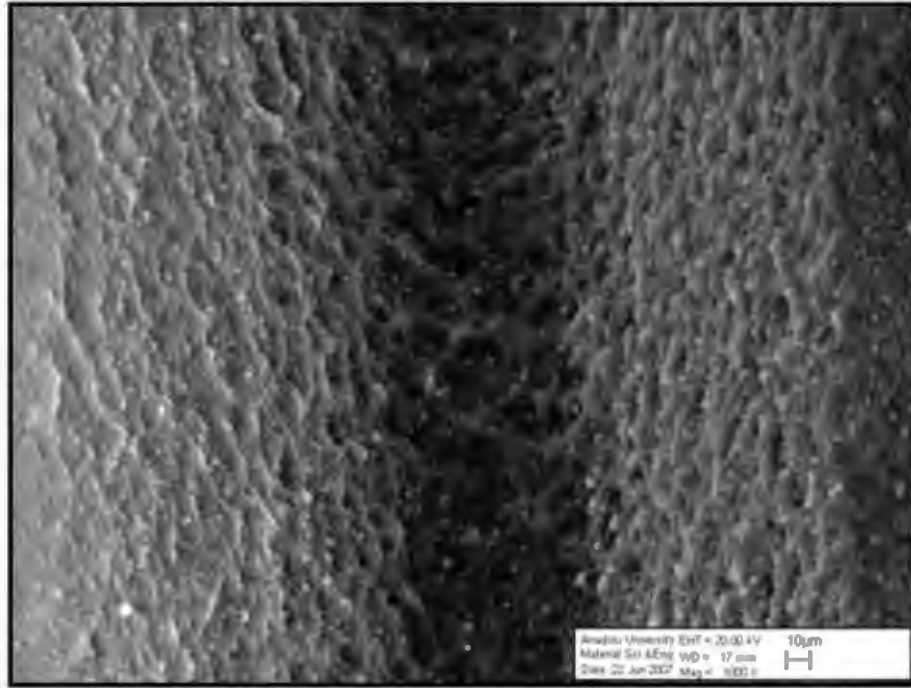
Şekil 5.27. Kaplanmamış 316L paslanmaz çelik implanta ait SEM görüntüsü



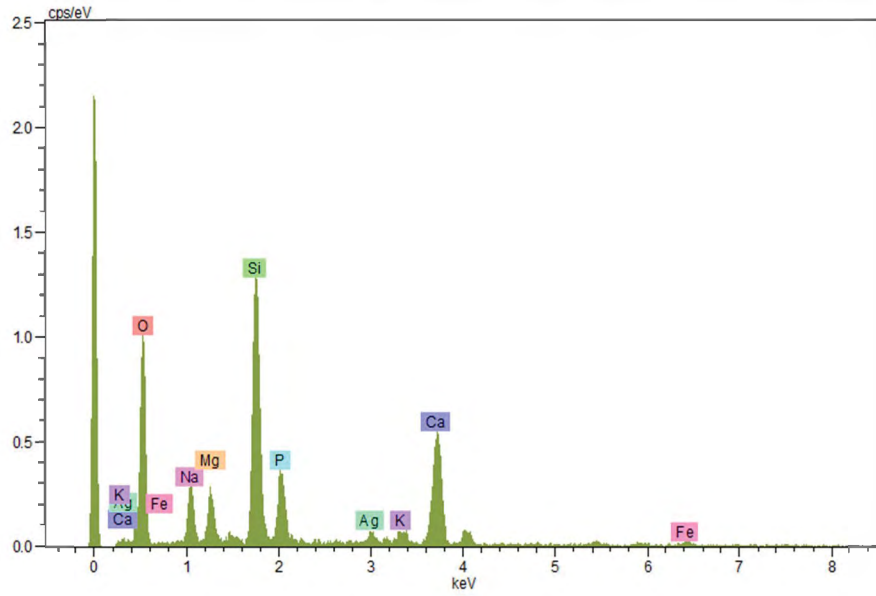
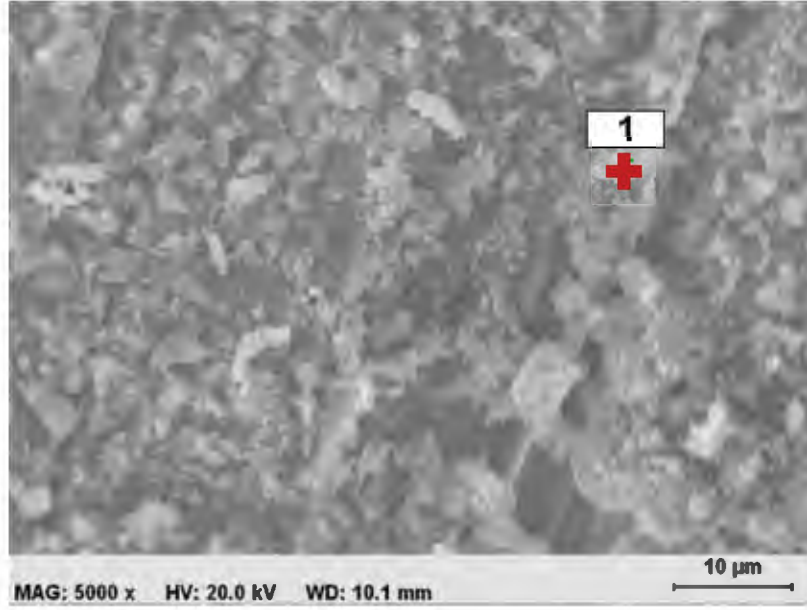
Şekil 5.28. 6P57ABT/ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait SEM görüntüsü



Şekil 5.29. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış implanta ait SEM görüntüsü



Şekil 5.30. 6P57ABT/ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait SEM görüntüsü



Elektrosprey kaplama	Na	Mg	K	Si	P	Ca	Fe	Ag
1	4,32	3,97	1,09	38,89	20,60	27,05	1,26	2,87
1*	4,38	4,02	1,10	39,37	20,85	27,38	-	2,91

*Altın kimyasal kompozisyon değerleri çıkartıldıktan sonra kaplamanın kimyasal kompozisyonu

Şekil 5.31. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivisine ait EDX analizi

5.4. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların *In Vivo* Deneyleri

In vivo deneyler için 24 adet tavşan; Grup 1 (Kaplanmamış implant kullanılan tavşanlar), Grup 2 (HA kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) ve Grup 3 (6P57ABT/ABT kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) olmak üzere üç gruba ayrılmış ve 3 grup için mikrobiyolojik ve histopatolojik analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Ayrıca eksternal fiksator çivisi olarak kullanılan 316L paslanmaz çelik implantların sıkma ve sökme tork değerleri karşılaştırılmıştır.

5.4.1. Mikrobiyolojik Sonuçlar

İmplant örneklerinin kantitatif kültürleri yapıldığından implantlardaki bakteri sayıları belirlenmiştir. Buna göre sayılabilecek kadar üremenin olduğu kültür plakları alınarak koloniler tek tek sayılmıştır. İmplantın bulunduğu sıvı miktarı (1 ml) ve dilüsyon kat sayısı dikkate alınarak orijinal (dilüsyon yapılmamış) sıvıdaki bakteri sayısı belirlenmiş ve her bir implantın milimetre karesi başına düşen koloni sayısı, silindir yüzey alanı formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Alınan kemik sürüntü örneklerinde 1. grupta 24 telin 20'sinde üreme olurken 2. grupta 24 telin 14'ünde üreme olduğu belirlenmiştir. Grup 3'te ise 24 telin sadece 2'sinde üreme olmuştur. Grup 3'te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede az olduğu ve aynı zamanda Grup 2'de enfeksiyonun Grup 1'e oranla az olduğu saptanmıştır (Tablo 5.5).

Tablo 5.5. Kemik sürüntü örneklerinin mikrobiyolojik incelenmesi (p<0,001)

Enfeksiyon	Grup			Toplam
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	
Yok	4	10	22	36
Var	20 (%83)	14 (%58)	2 (%8)	36
Toplam	24	24	24	72

Yapılan implant dilüsyonel kültür örneklerinde, 1. grupta 31 telin 27'inde üreme olurken 2. grupta 31 telin 13'ünde üreme olduğu gözlemlenmiştir. Grup 3' te ise 31 telin sadece 2'sinde üreme olmuştur. Grup 3'te diğer iki gruba oranla enfeksiyon önemli derecede az olduğu ve Grup 1 e oranla Grup 2 deki enfeksiyonun anlamlı derecede az olduğu belirlenmiştir (Tablo 5.6).

Tablo 5.6. İmplant dilüsyonel kültürlerin mikrobiyolojik incelenmesi (p<0,001)

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

İmplantların üzerinde mm² de bulunan koloni sayıları değerlendirildiğinde Grup 1 ve 2 arasında fark bulunamamıştır (p>0.05). Grup 3 teki bakteri sayısı Grup 1 ve Grup 2 deki bakteri sayısına göre önemli derecede az olduğu saptanmıştır (p<0,05).

5.4.2. Histopatolojik Sonuçlar

Kesitlerin ışık mikroskobu ile yapılan değerlendirmeleri sonucunda alınan görüntülerde enflamasyon araştırılmıştır. Enfeksiyon olan bölgelerde kantitatif değerlendirme yapılmış ve havers kanallarının ve osteonların yapıları değerlendirilmiştir.

Histolojik çalışmada kantitatif olarak yapılan değerlendirmede görülen enflamasyon bulguları; enflamasyon yok, az, orta, yoğun olarak sınıflandırılmıştır. İstatiksel anlamlı sonuç verecek sayıda değişken olmaması nedeni ile karşılaştırma yapılamamıştır. Gruplara genel olarak bakıldığında kaplamasız grupta enflamasyon bulgularının çoğunlukla yoğun olduğu diğer iki grupta ise genellikle az yoğunlukla enflamasyon bulguları gözlenmektedir (Tablo 5.7).

Tablo 5.7 . Histolojik örneklerde görülen enflamasyon yoğunluğu.

Tel no	Grup 1	Grup 2	Grup 3
1	+++	-	-
2	+	+	+
3	++	+	+
4	+++	-	-
5	++	-	+
6	+++	+	+
7	+++	-	+

=enflamasyon yok

(+)=az yoğunlukta enflamasyon

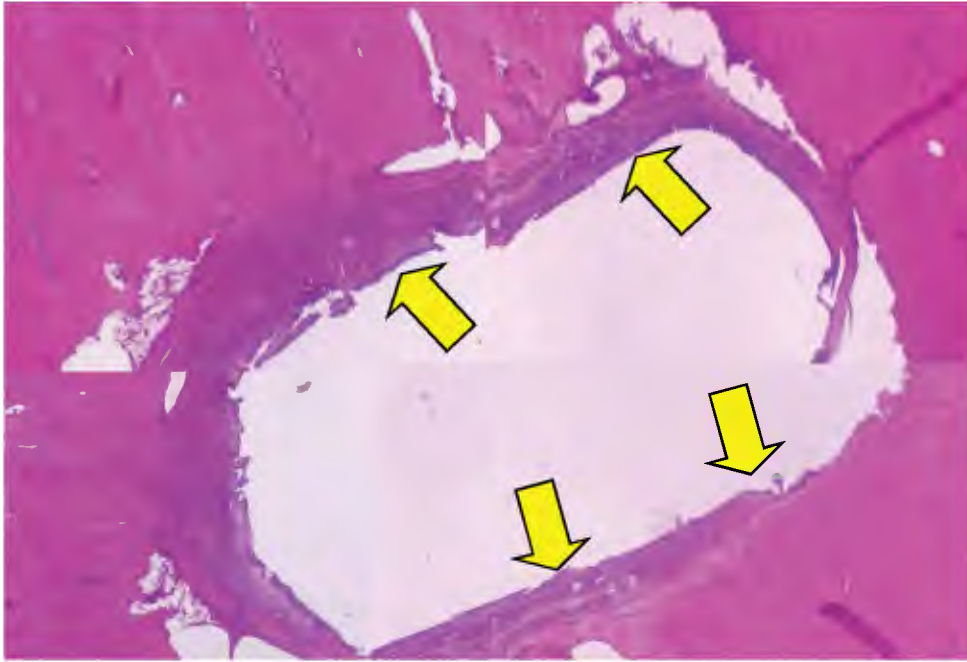
(++)=orta yoğunlukta enflamasyon

(+++)=yoğun enflamasyon

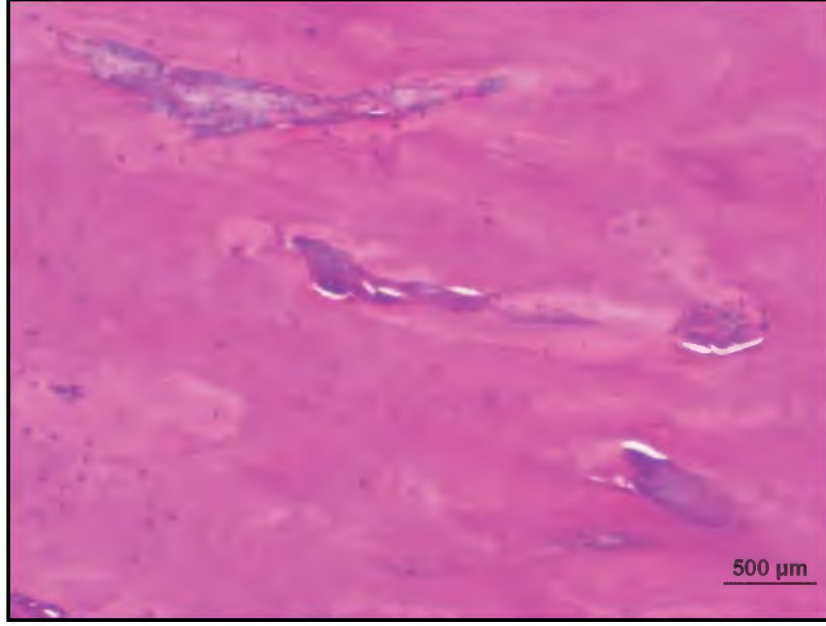
Grup 1 ışık mikroskobu görüntüsünde implant çevresinde yoğun enflamasyon bulguları gözlemlenmiş ve Şekil 5.32 ile verilmiştir. İmplantın bulunduğu bölgeden dörtlü objektif ile alınarak birleştirilen görüntüde de implantın bulunduğu yerdeki enflamasyon açıkça görülmektedir (Şekil 5.33). Aynı zamanda Grup 1 kaplamasız implantın çevresindeki alanlardaki Havers kanallarının içinin enflamatik hücrelerle dolu olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.34).



Şekil 5.32. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü

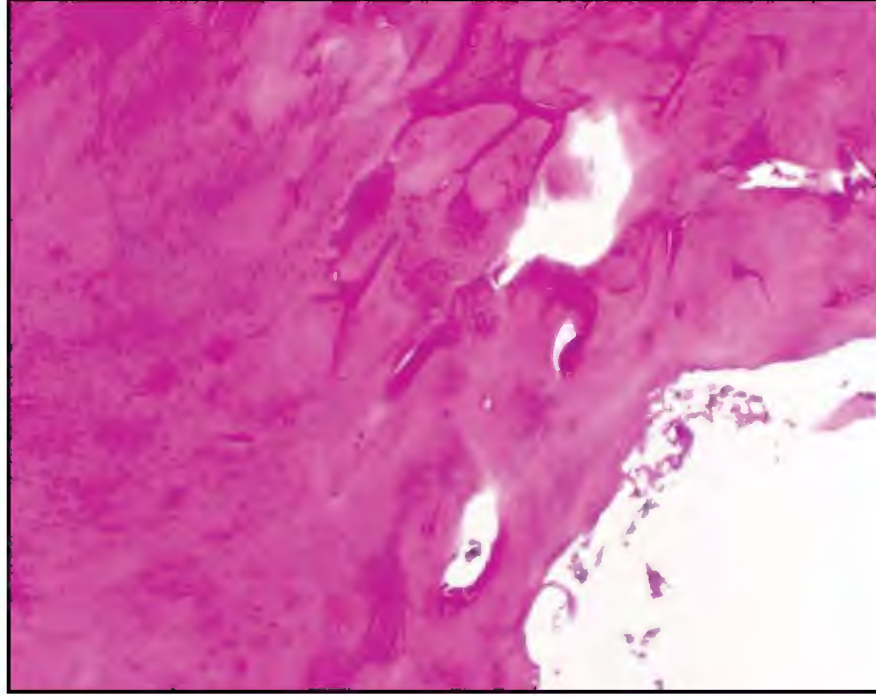


Şekil 5.33. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait dörtlü objektif ile alınarak birleştirilen ışık mikroskobu görüntüsü

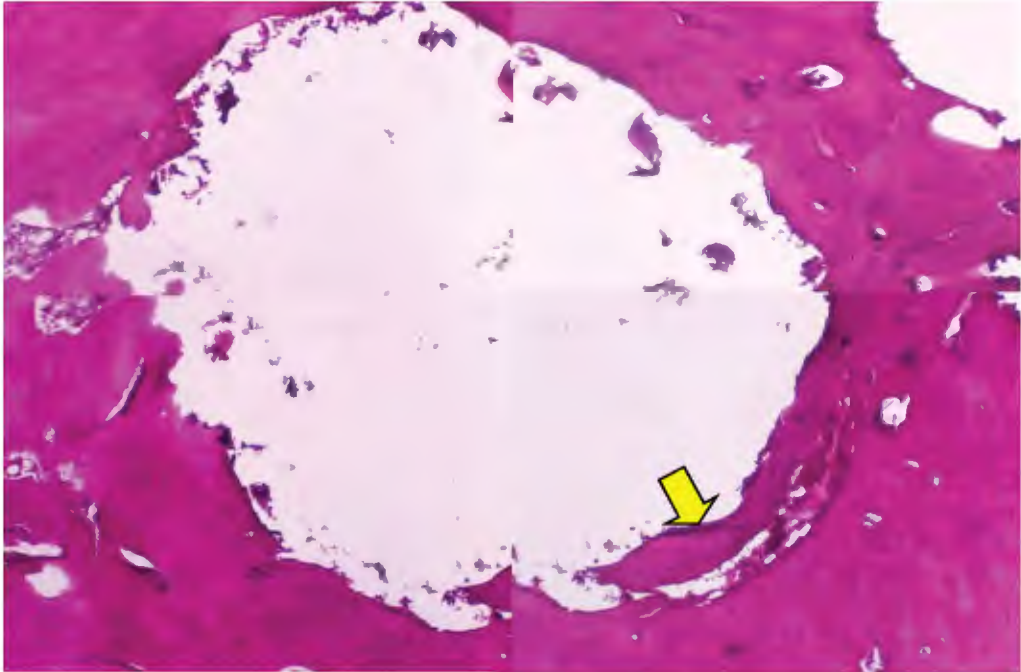


Şekil 5.34. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki alanlardan alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü

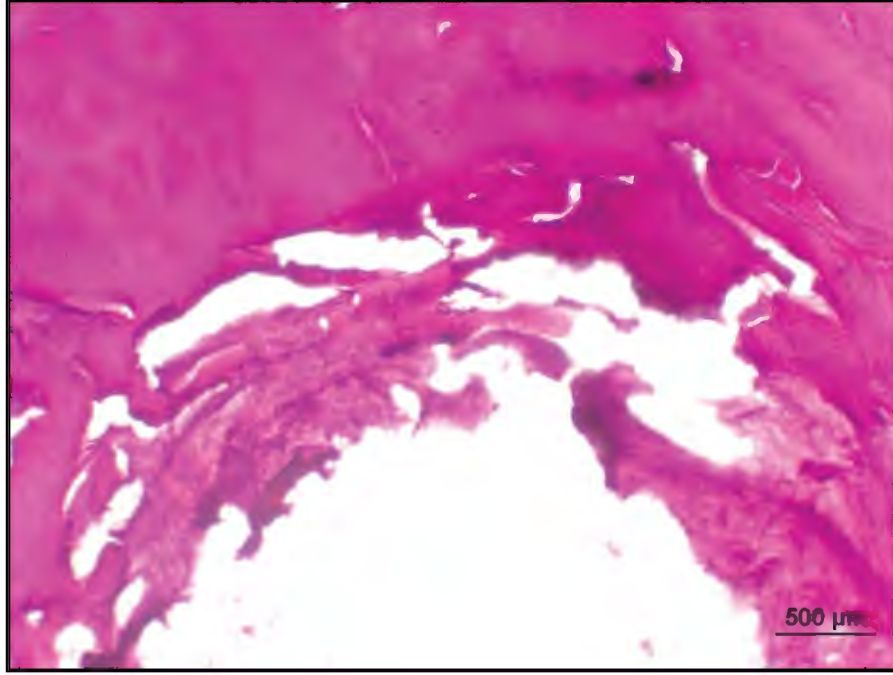
Grup 2 ve Grup 3 te implant çevresinde genelde az yoğunlukta enflamasyon bulgusu gözlemlenirken havers kanalları ve kemik hücreleri normal olarak izlenmiştir (Şekil 5.35, 5.36, 5.37). Grup 3 te implantın etrafından alınan kesitte ise havers kanalları ve kemik lameller sistemiyle normal görünümlü kemik yapısı gözlemlenirken, enflamasyona rastlanmamıştır (Şekil 5.38).



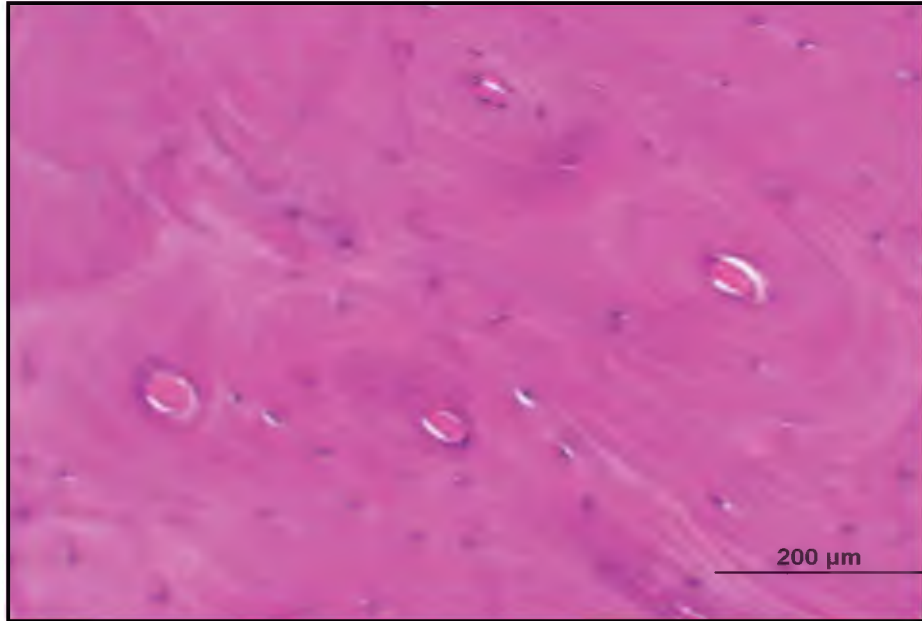
Şekil 5.35. Grup 2'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 5.36. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait dörtlü objektif ile alınarak birleştirilen ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 5.37. Grup 3'den seçilen implant çevresindeki kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 5.38. Grup 1'den seçilen implant çevresindeki alanlardan alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü

5.4.3. Çivilerin Tork Değerlenin Belirlenmesi

Eksternal fiksator çivilerinin sıkma ve sökme tork değerleri Tablo 5.8'de verilmiştir. Tork değerleri karşılaştırıldığında Grup 1'in sıkma değerleri diğer iki Gruba göre yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Grupların sıkma ve sökme tork değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldığında Grup 2 deki tork farkı Grup 1 ve Grup 3'e göre yüksektir ($P<0,05$). Ayrıca Grup 3'n tork farkı Grup 1'e göre yüksektir ($P<0,05$)

Çivilerin sıkma ve sökme değerleri, mm^2 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. Tork değerleri karşılaştırıldığında Grup 1'in sıkma değerleri diğer iki gruba göre yüksektir ($P<0,05$). Grupların sıkma ve sökme tork değerleri arasındaki farklar karşılaştırıldığında Grup 2 deki tork farkı Grup1 ve 3'e göre yüksek olduğu ve aynı zamanda Grup 3'n tork farkının Grup 1'e göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Tablo 5.8 . Tellerin sıkma ve sökme tork değerleri

Tel No	Grup 1			Grup 2			Grup 3		
	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

Ortalama:7.28

Ortalama: 2.69

SD: 2,92

SD: 6,42

SD: 4,04

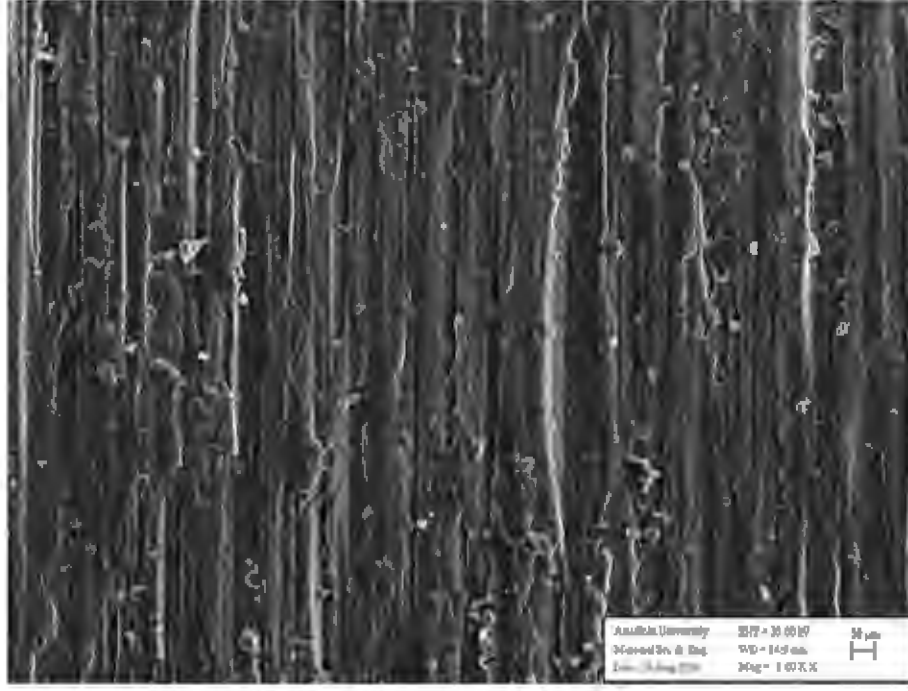
Yapılan alışmalar neticesinde; mikrobiyolojik çalışmalarda kaplamasız 31 ivin 27'sinde, HA kaplı 31 ivin 13'ünde, ABT kaplı 31 ivin 2'sinde enfeksiyon görülmüştür. Kemik sürüntü kültürlerinde her gruptan 24 örnek alınmış ve bunların kaplamasız grupta 20'sinde, HA'li grubun 14'nde ve ABT'li grubun 2'sinde üreme olmuştur. Ayrıca iviler üzerindeki bakteri sayımı yapıldığında ABT ile kaplanmış grupta üreme olan 2 ivideki bakteri sayısının diğer iki gruba göre oldukça az olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla gümüşün antibakteriyel etkinliği net olarak gözlenmektedir. HA kaplı grupta enfeksiyon oranının az olmasının nedeni olarak HA'in mükemmel biyo-uyumluluğu nedeni ile çivi-kemik ara yüzünde fibröz doku oluşmaması bunun sonucu olarak mikroorganizmaların uygun üreme koşullarını elde edememesi olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar ışığında antibakteriyel tozun eksternal fiksasyonda kullanılması ile yöntemin komplikasyonlarının azalacağı, başarı ve güvenirliğinin artacağı düşünülmektedir.

6. Ti6Al4V İMPLANTLARIN KAPLANMASI, *In vitro* ve *In vivo* DENEYLERİ – SONUÇLAR VE DEĞERLENDİRME

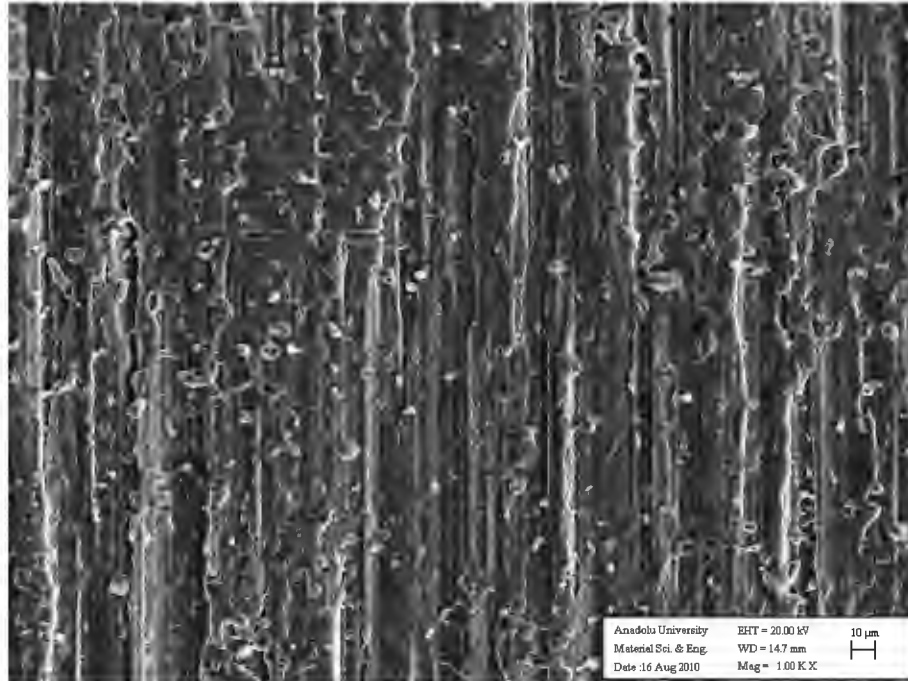
Çalışmanın bu bölümünde; elektrosprey yöntemi ile hidroksiapatit (HA), biyocam (6P57ABT), antimikrobiyal toz (ABT) ve biyocam üzerine antimikrobiyal toz (6P57ABT/ABT) ile kaplanan intramedüller çivi olarak kullanılan Ti6Al4V implantların karakterizasyonu ve mekanik özellikleri incelenmiştir. Kontrol grubu olarak HA ve 6P57ABT/ABT ile kaplanan implantların antimikrobiyal etkinliğini saptamak üzere gerçekleştirilen *in vitro* ve *in vivo* deneyleri sonucunda hematolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik analiz sonuçları değerlendirilmiş, kan ve organlara salınan Ag^+ iyonu miktarı belirlenmiştir.

6.1. Elektrosprey Kaplama Süresinin Belirlenmesi

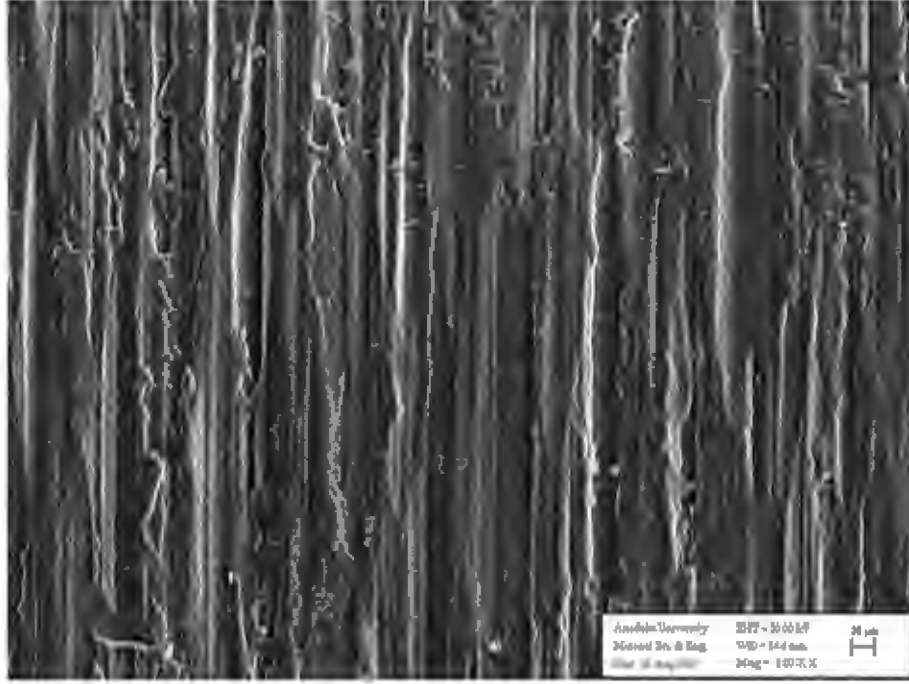
Elektrosprey ile kaplama için yapılan çalışmalarda en iyi kaplama süresinin belirlenmesi için 1, 2, 3, 4, 5 ve 7 dakika kaplama yapılmış ve kaplamaların yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiştir. SEM görüntüleri Şekil 6.1- Şekil 6.6’ da verilmiştir. Görüntüler incelendiği zaman optimum kaplama kalınlığı ve homojen kaplama için en iyi kaplama süresi 4 dakika olarak belirlenmiştir. Elektrosprey parametreleri ise voltaj 8.0 kV, akım 20 mA ve mesafe 4 cm dir.



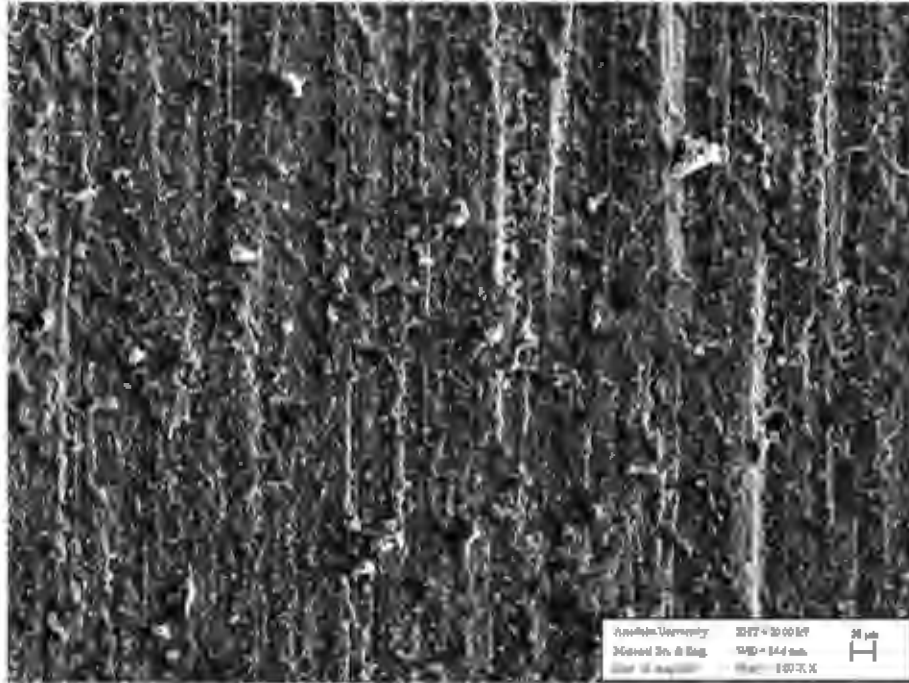
Şekil 6.1. Ti6Al4V implantların 1 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü



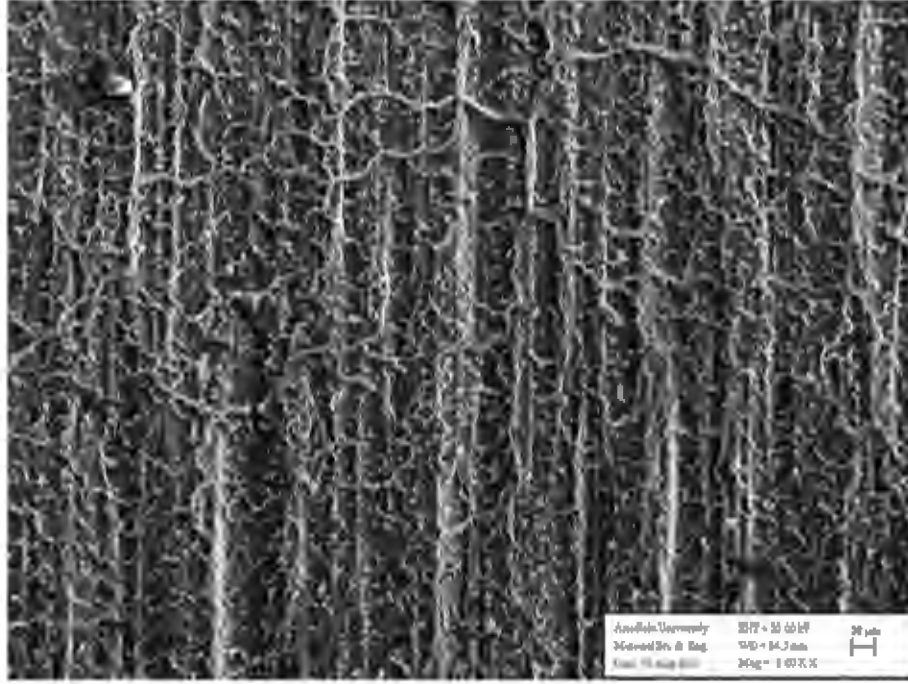
Şekil 6.2. Ti6Al4V implantların 2 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü



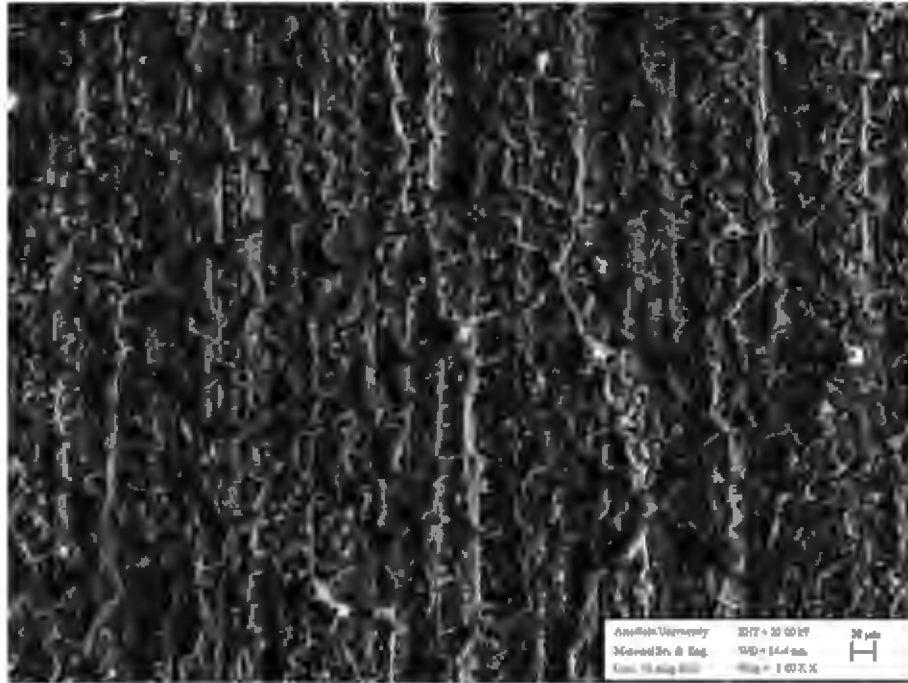
Şekil 6.3. Ti6Al4V implantların 3 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü



Şekil 6.4. Ti6Al4V implantların 4 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü



Şekil 6.5. Ti6Al4V implantların 5 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü

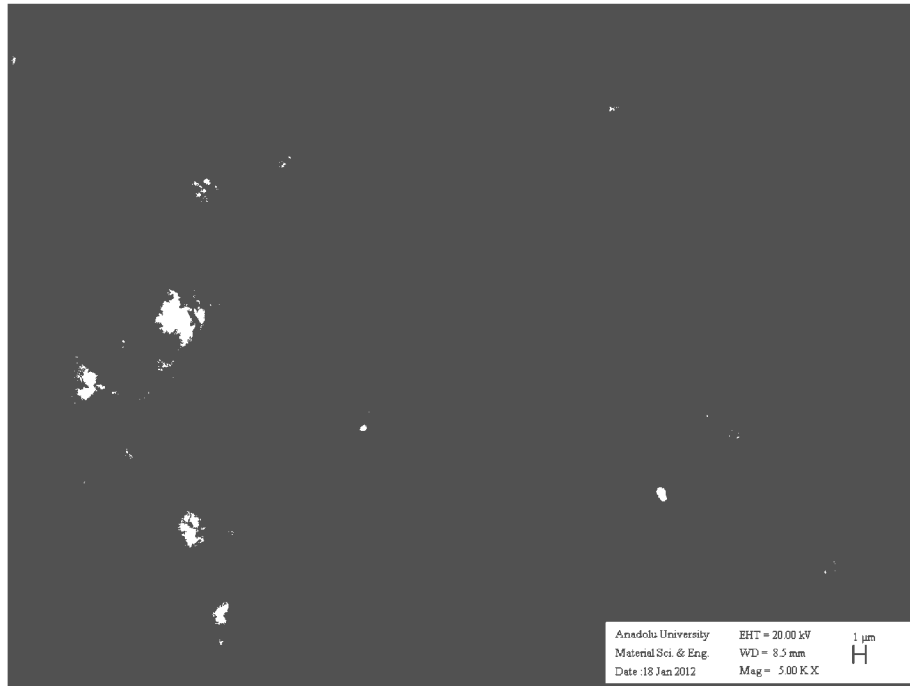


Şekil 6.6. Ti6Al4V implantların 7 dakika ABT tozu ile kaplandıktan sonra alınan SEM görüntüsü

6.2. Ti6Al4V İmplantların Karakterizasyonu

6.2.1. SEM Analizi

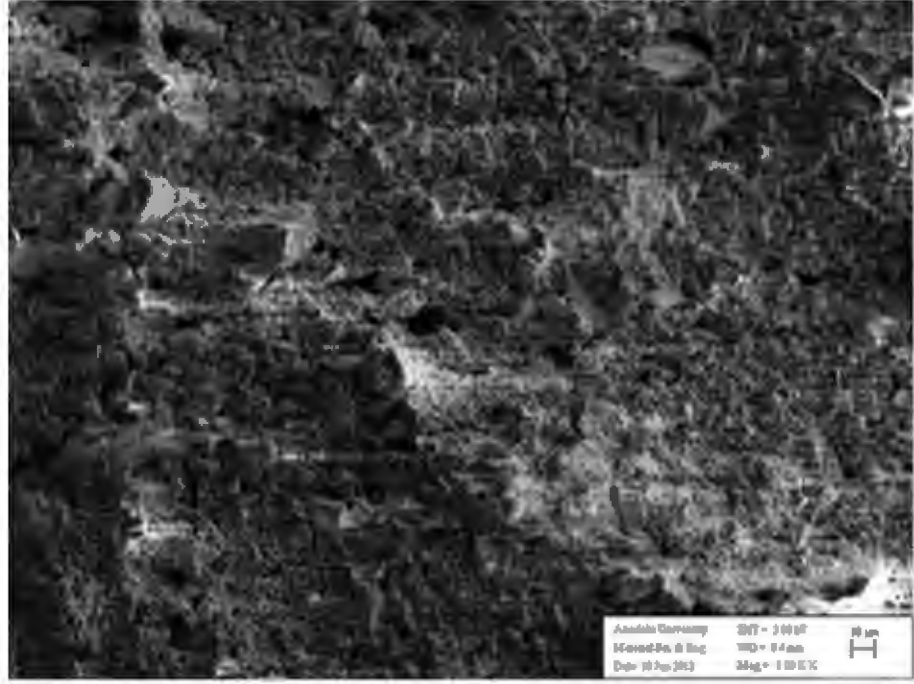
Sinterlenmiş Ti6Al4V intramedüller çivilerinin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, Zeiss Supra VP50) ile yüzey morfolojileri incelenmiştir. HA kaplanmış Ti6Al4V intramedüller çivide kaplamanın HA tozunun yüzeyde uniform bir kaplama oluşturduğu görülmektedir (Şekil 6.7).



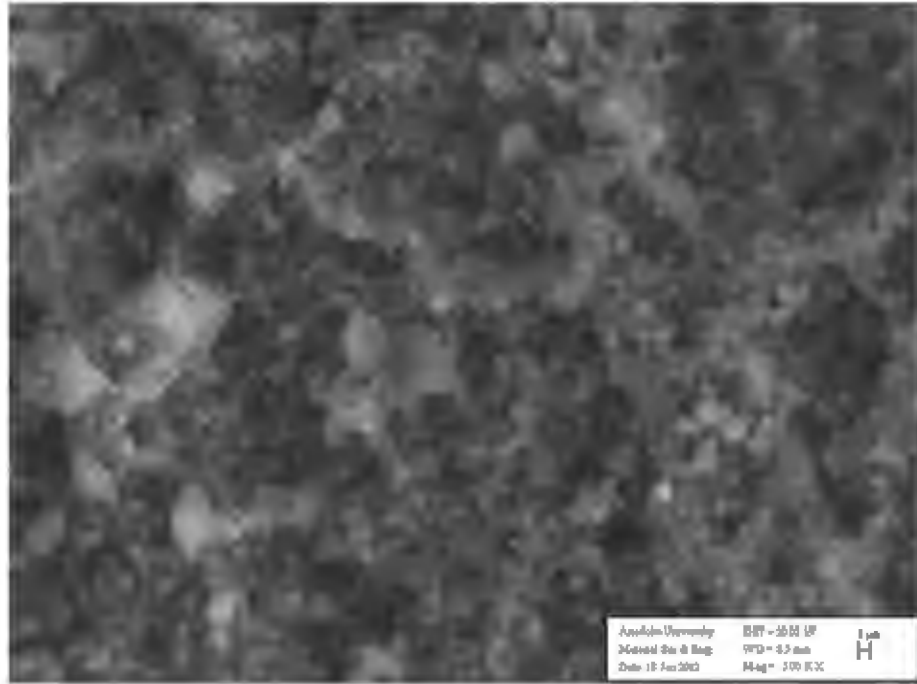
Şekil 6.7. HA kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü

6P57ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın SEM görüntüsü Şekil 6.8’de verilmiştir. Kaplamanın morfolojisi incelendiğinde HA gibi homojen bir dağılım olmadığı, 6P57 biyocamı ile yapılan kaplamalara oranla da camsı yapının daha az gözlemlendiği görülmektedir. ABT tozu ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzey morfoloji görüntüsünde ise HA kaplamaya benzer bir uniformluk söz konusudur (Şekil 6.9). Ancak sinterlenmeden kalan toz partiküllerine rastlanmıştır. Sinterlemenin tam olarak gerçekleşmesi için daha yüksek frekans değerleri gerekmektedir.

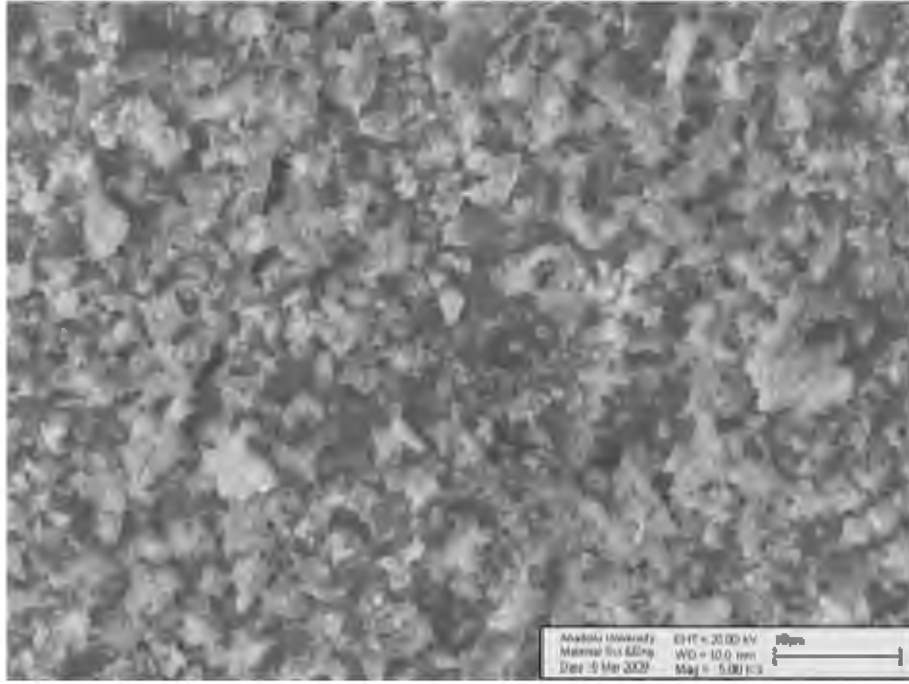
6P57ABT üzerine ABT tozu ile kaplanmış Ti6Al4V implantın görüntülerinde ise kaplamanın uniform olarak dağıldığı ve biyocam ile ABT tozunun homojen olarak karıştığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.10.a). Yüksek büyütmelerde cam kompozisyonuna tutunan ABT partikülleri görülmektedir (Şekil 6.10.b)



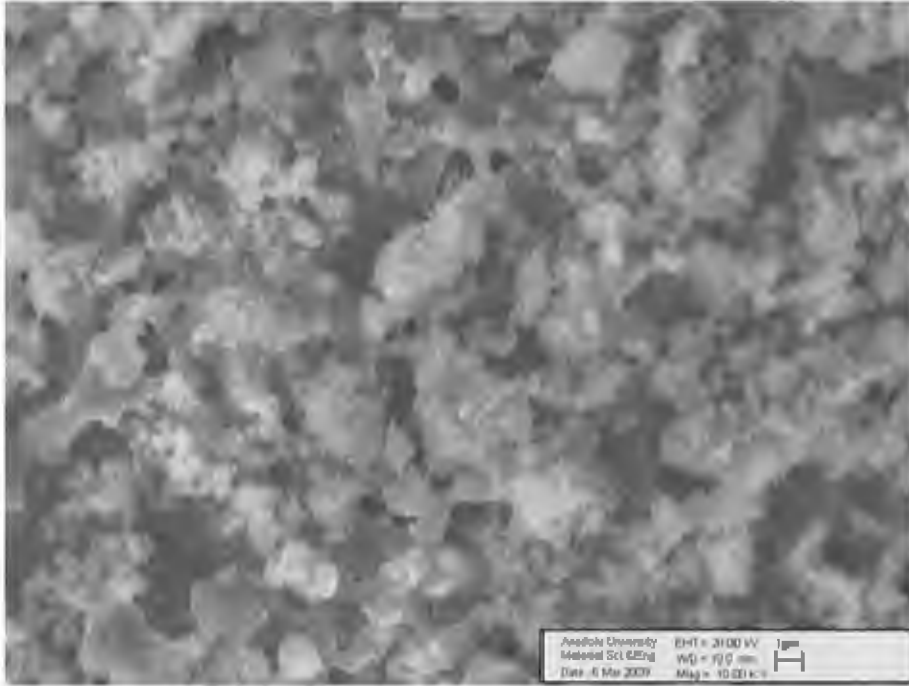
Şekil 6.8. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü



Şekil 6.9. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden alınan SEM görüntüsü



(a)



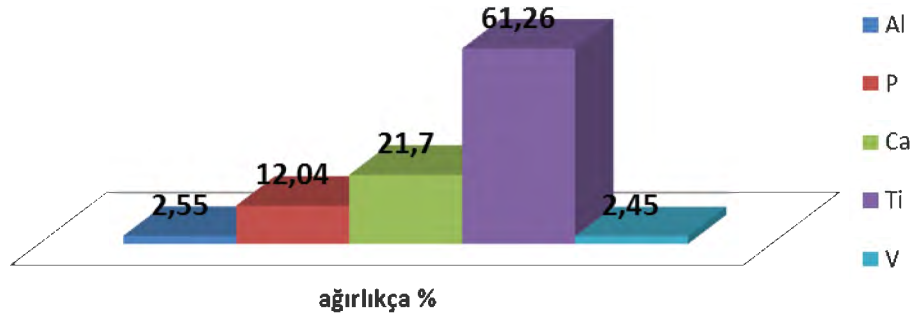
(b)

Şekil 6.10. 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüsü (a) 5000 büyütme (b) 10000 büyütme

6.2.2. EDX Analizi

Kaplama yapılmış tüm implantların kimyasal kompozisyonun belirlenmesi amacıyla EDX analizi yapılmıştır. Haritalama tekniği kullanılarak yapılan analizlerde kimyasal kompozisyon belirlenirken aynı zamanda Ag^+ içeren kaplamalarda Ag^+ dağılım incelenmiştir.

HA kaplanmış Ti6Al4V implant için EDX analizi haritalama tekniği sonucunda alınan kimyasal kompozisyon değerleri Şekil 6.11’de verilmiştir. HA kaplanmış numuneye ait element haritaları Şekil 6.12’de verilmiştir.



Şekil 6.11. HA kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen kimyasal kompozisyon değerleri



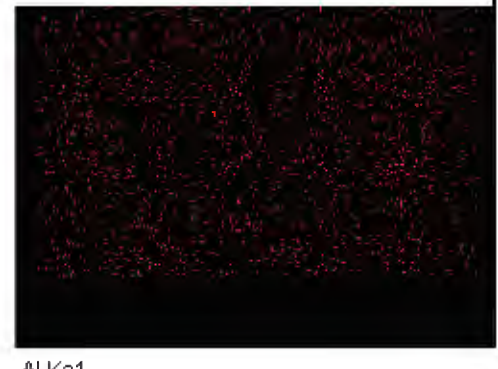
Electron Image 1



Ca Ka1



P Ka1



Al Ka1



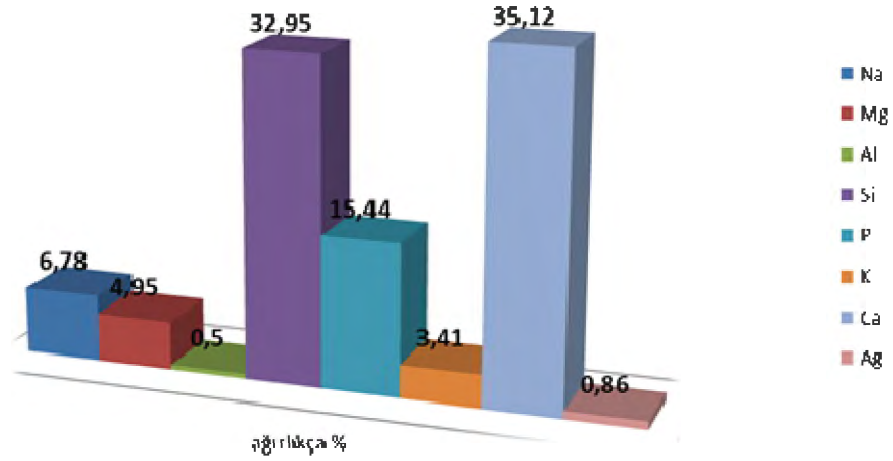
Ti Ka1



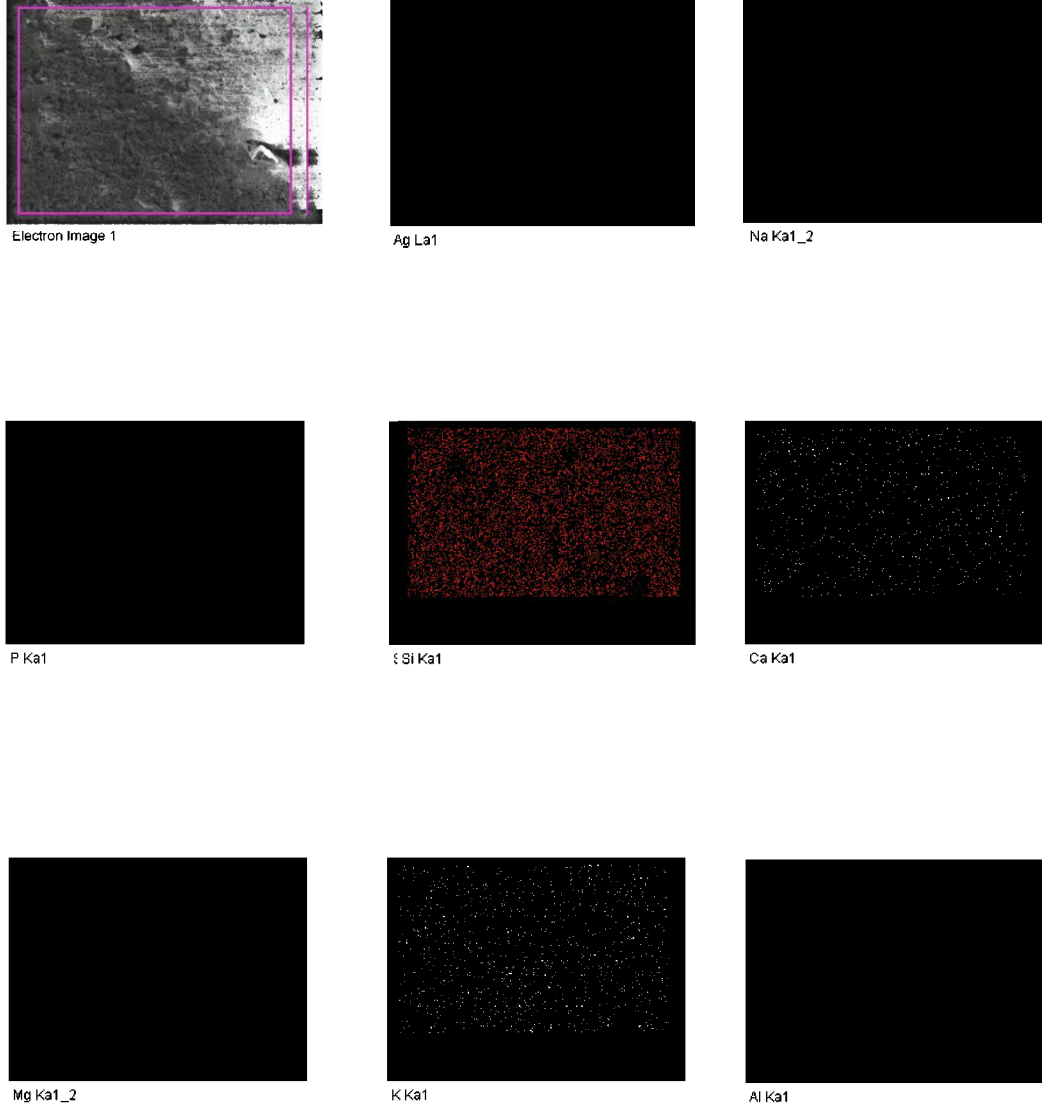
V Ka1

Şekil 6.12. HA kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları

6P57ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucunda kimyasal kompozisyon değerleri Şekil 6.13’de verilmiştir. Kimyasal kompozisyon sonuçlarında ağırlıkça %0,86 Ag⁺ içerdiği belirlenmiştir. Bu değer 6P57ABT kompozisyonuna üretimi esnasında ilave edilen değer ile benzerdir. Sinterleme sıcaklığı düşük olduğu için Ag⁺ miktarında belirgin bir farklılık görülmemiştir. EDX analizi haritalama tekniği sonucu oluşan haritalarda gümüşün kaplamada homojen olarak dağıldığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.14).

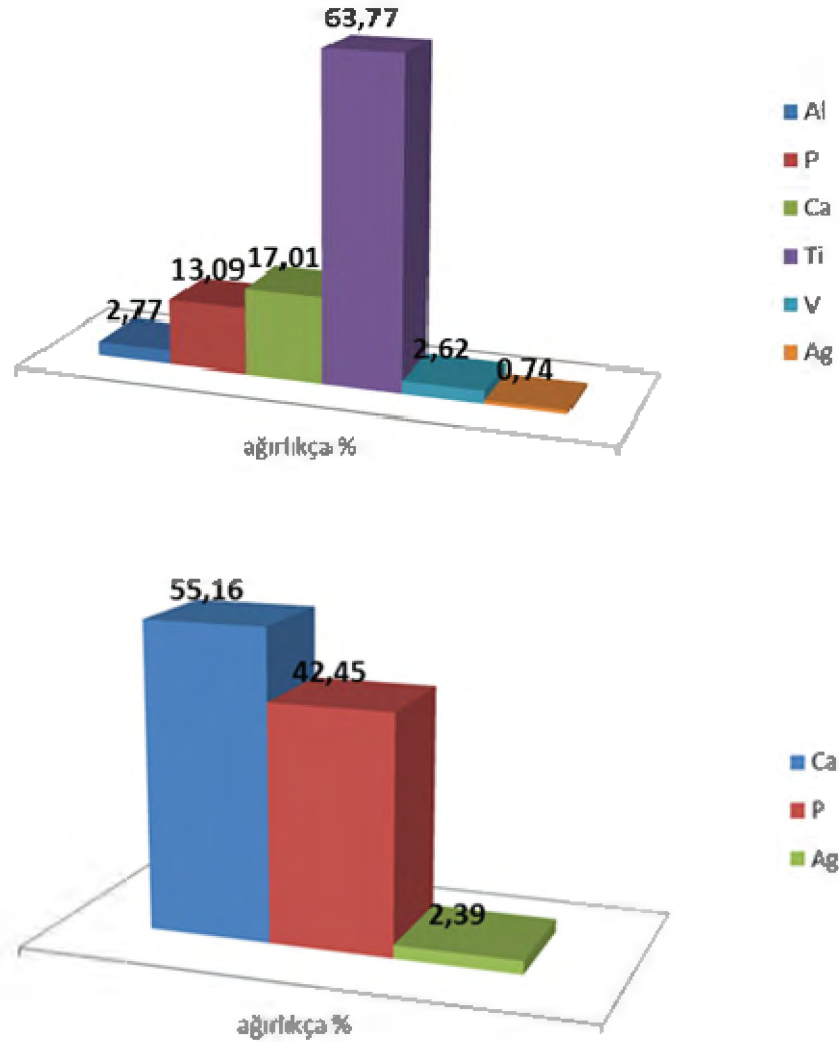


Şekil 6.13. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu kimyasal kompozisyon değerleri

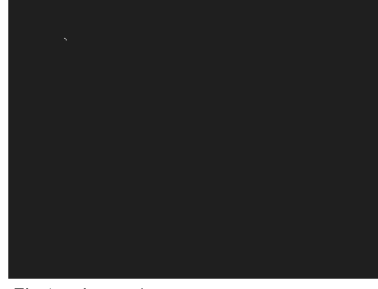


Şekil 6.14. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları

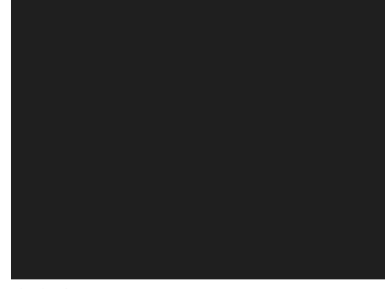
ABT toz ile kaplanmış Ti6Al4V implantların EDX analizi kimyasal kompozisyon değerleri Şekil 6.16 ile verilmektedir. Şekil 6.15.(a) grafiğinde ağırlıkça % Ag⁺ miktarı 0,74 iken, altlık olarak kullanılan implantın değerleri çıkartıldığında bu değer % 2,39 değerine ulaşmaktadır (Şekil 6.15.(b)). Kaplama diğer kaplamalara nazaran daha ince olduğu için implanttan daha yoğun sinyal alındığı ve Ti, Al ve V elementlerinin analiz sonucuna yansıdığı görülmüştür. EDX analizi haritalama tekniği sonucunda alınan haritalarda gümüşün homojen olarak dağılmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.16).



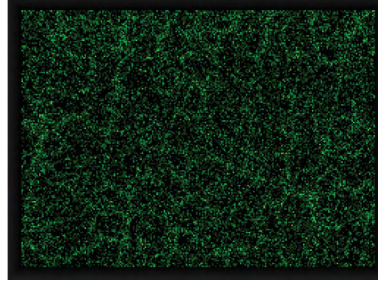
Şekil 6.15. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analizi sonucu elde edilen (a)Ti6Al4V altlık ile (b) sadece kaplamanın kimyasal kompozisyon değerleri



Electron Image 1



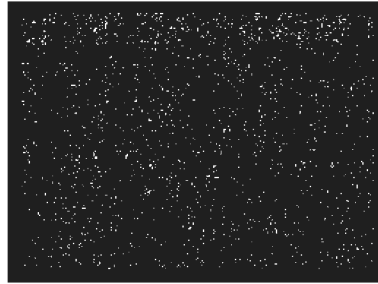
Ag La1



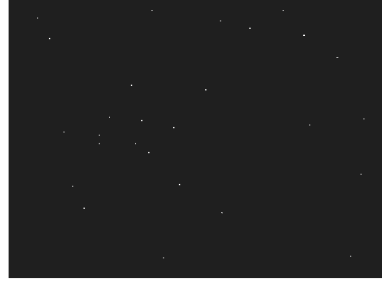
Ca Ka1



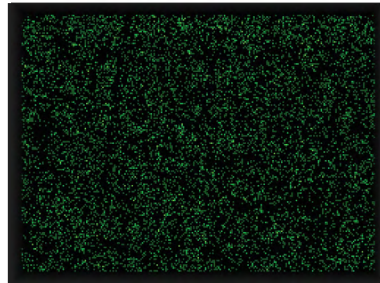
P Ka1



Ti Ka1



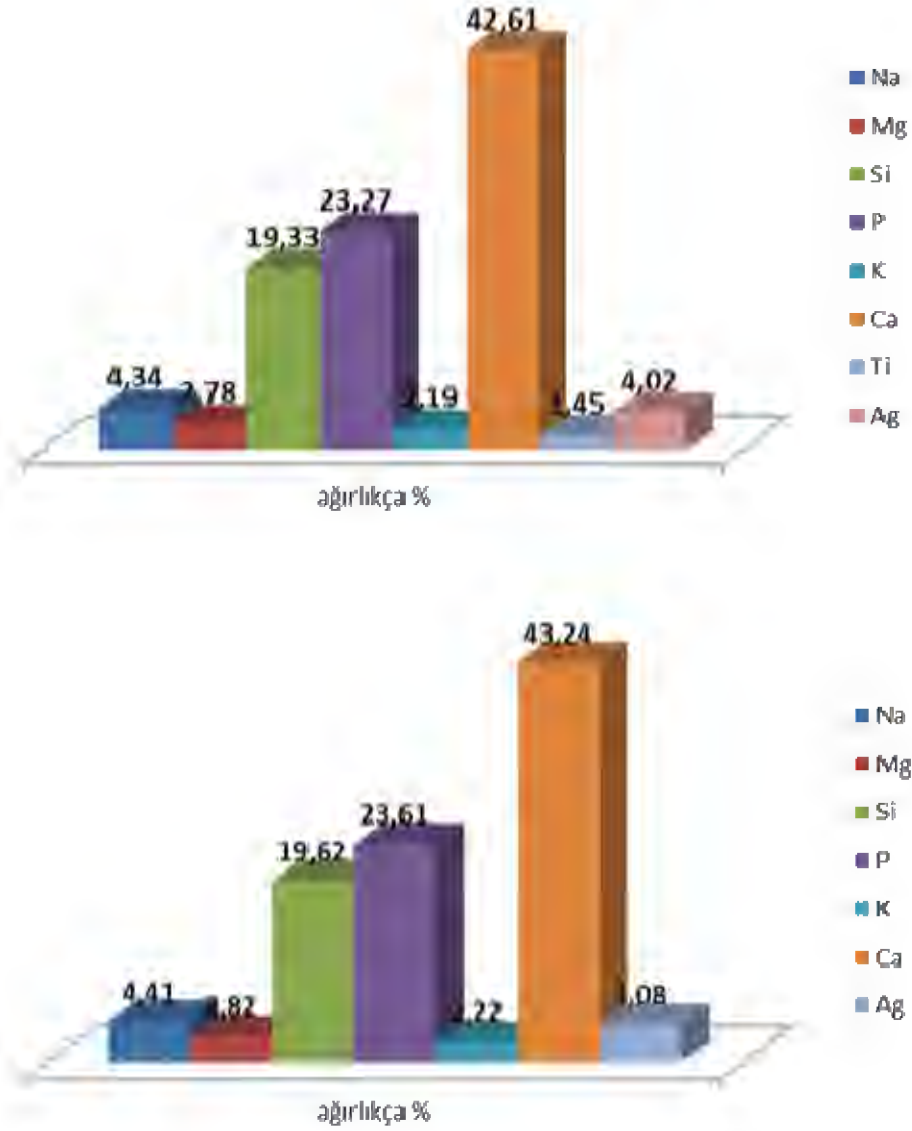
Al Ka1



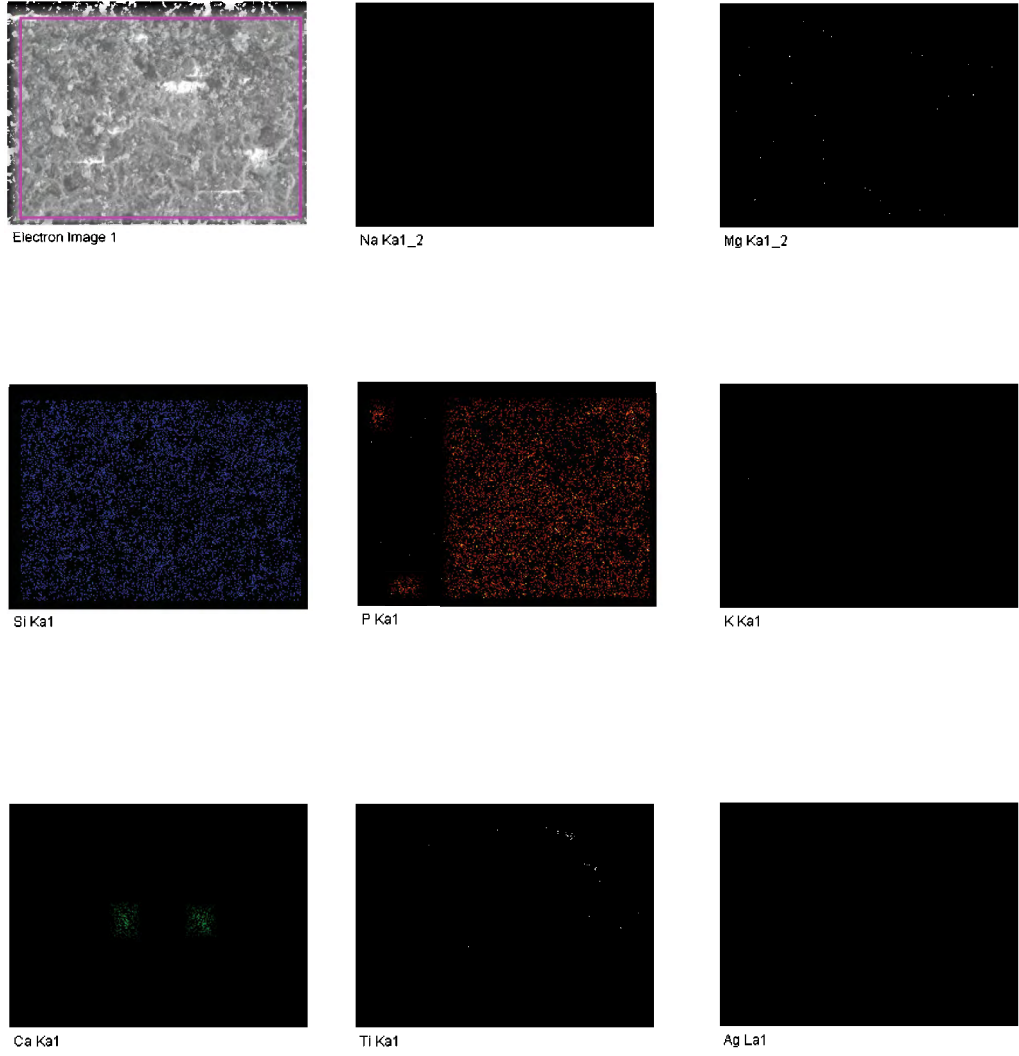
V Ka1

Şekil 6.16. ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları

6P57ABT/ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantların EDX analizi kimyasal kompozisyon değerleri Şekil 6.17’de verilmiştir. Şekil 6.17a’da ağırlıkça % Ag⁺ miktarı 4.02 iken, altlık olarak kullanılan implantın değerleri çıkartıldığında bu değer % 4,08 değerine ulaşmıştır (Şekil 6.17.(b)). EDX analizi haritalama tekniği sonucunda gümüşün homojen olarak dağılmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 6.18).



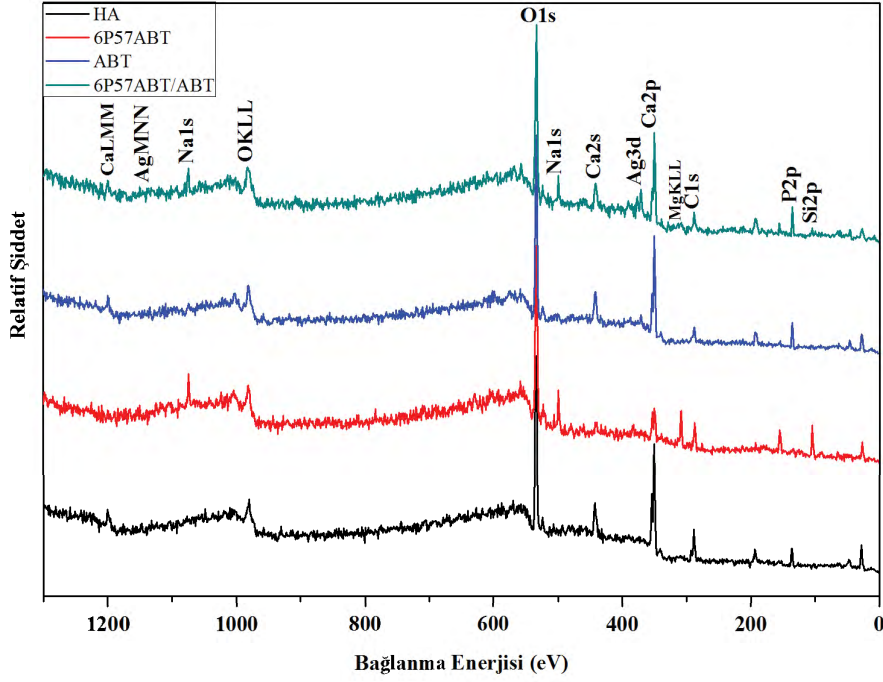
Şekil 6.17. 6P57ABT /ABT kaplanmış Ti6Al4V implantın EDX analiz sonucu elde edilen (a)Ti6Al4V altlık ile (b) sadece kaplamanın kimyasal kompozisyon değerleri



Şekil 6.18. 6P57ABT/ ABT kaplanmış Ti6Al4V implantına ait EDX analizi sonucu oluşan element haritaları

6.2.3. XPS Analizi

HA, 6P57ABT, ABT ve 6P57ABT/ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantların XPS analizi sonucu alınan spektrumu Şekil 6.19’da verilmiştir.

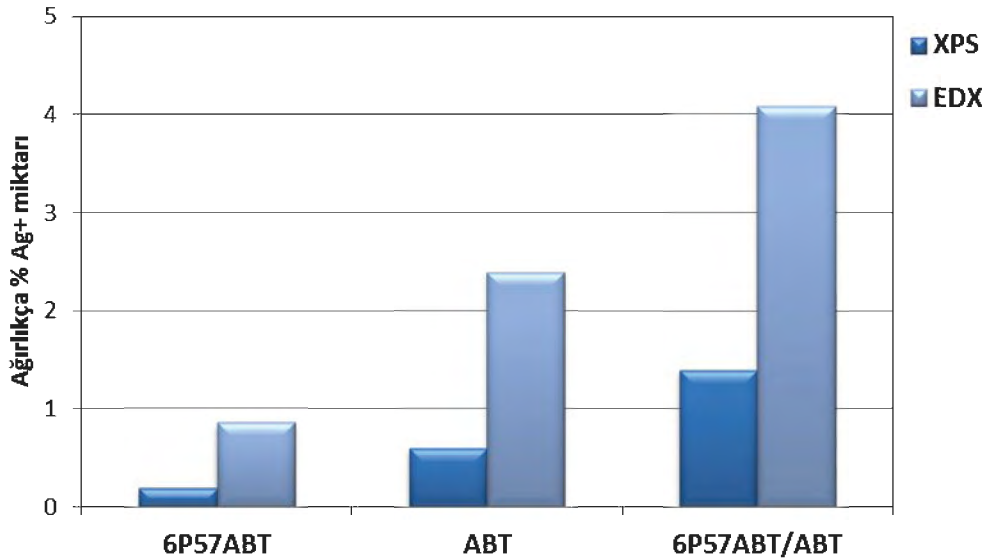


Şekil 6.19. Kaplamaların XPS analizi spektrumu

XPS analizi sonucu elde edilen ağırlıkça % element oranları Tablo 6.1’de verilmiştir. EDX analizi ile ölçülen ağırlıkça Ag^+ miktarları 6P57ABT için %0.86, ABT için %2.39, 6P57ABT için %4.08 iken, XPS analizi ile kaplamaların yüzeyinden alınan sonuçların yaklaşık 3 kat daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 6.20). Bunun sebebinin gümüşün homojen dağılmaması ve kaplamanın iç kısımlarında yüzeyine oranla daha yüksek miktarda bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bai ve ark. tarafından [155] yapılan çalışmada da XPS ve EDX analizleri sonucundaki farklılık da bu şekilde değerlendirilmiştir.

Tablo 6.1. Kaplamaların XPS analizi sonucu elde edilen ağırlıkça element yüzdeleri

Element Kaplama	HA	6P57ABT	ABT	6P57ABT/ABT
Ag	-	0,2	0,60	1,4
C	15,7	6,3	10	7,5
Ca	18,7	6,4	18,7	13,5
O	54,8	55,7	56,8	55
Mg	-	5,6	-	2
Na	-	2,3	-	2,2
P2p	10,8	3,2	13,9	13,2
Si(2p)	-	19,1	-	5,2
K2p	-	1,4	-	-



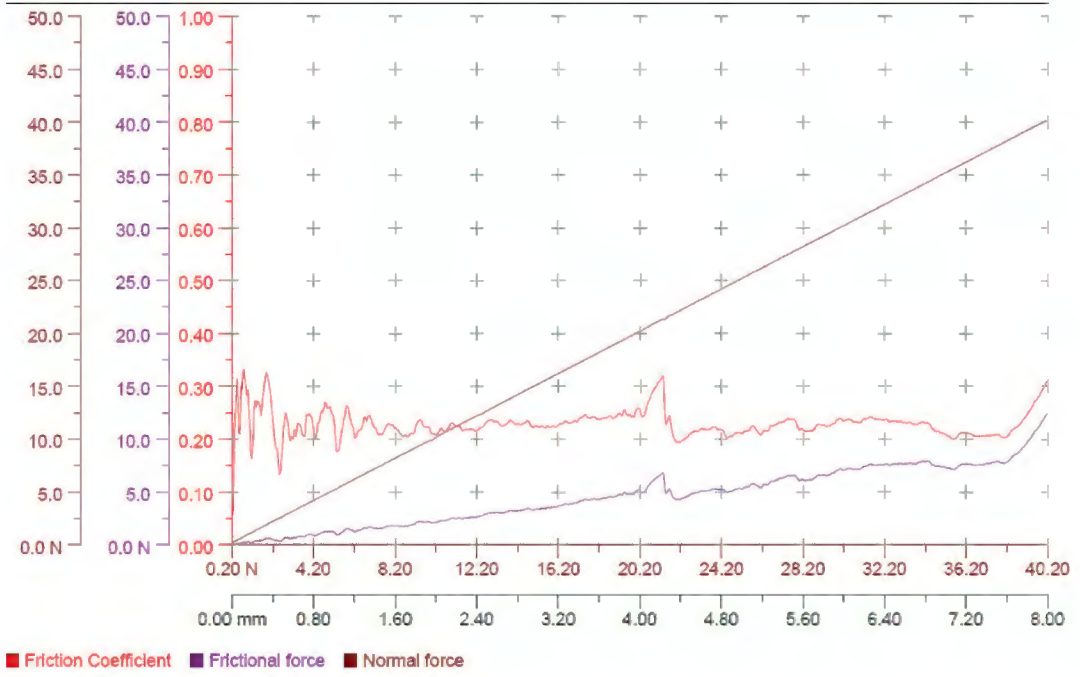
Şekil 6.20. Kaplamaların XPS ve EDX analizleri sonucunda ağırlıkça %Ag⁺ miktarı değişim grafiği

6.3. Ti6Al4V İmplantlara Uygulanan Mekanik Testler

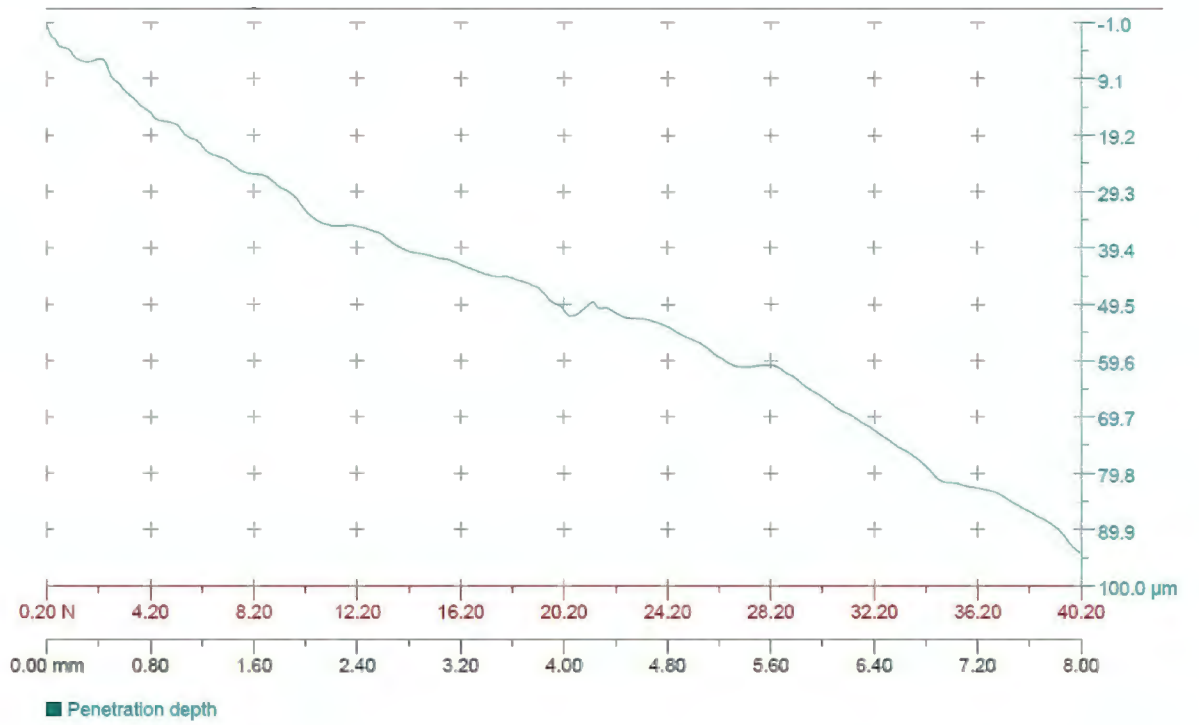
6.3.1. Yüzey Çizilme Dayanımlarının İncelenmesi

Kaplanmış numunelerin yüzey çizilme dayanımlarının incelenmesi için 8mmx15mmx2mm boyutlarında hazırlanmış Ti6Al4V implantlara yüzey çizilme davranışlarını karşılaştırmak amacı ile elektrosprey yöntemi kullanılarak HA, 6P57ABT, ABT ve 6P57ABT/ABT kaplama yapılmıştır.

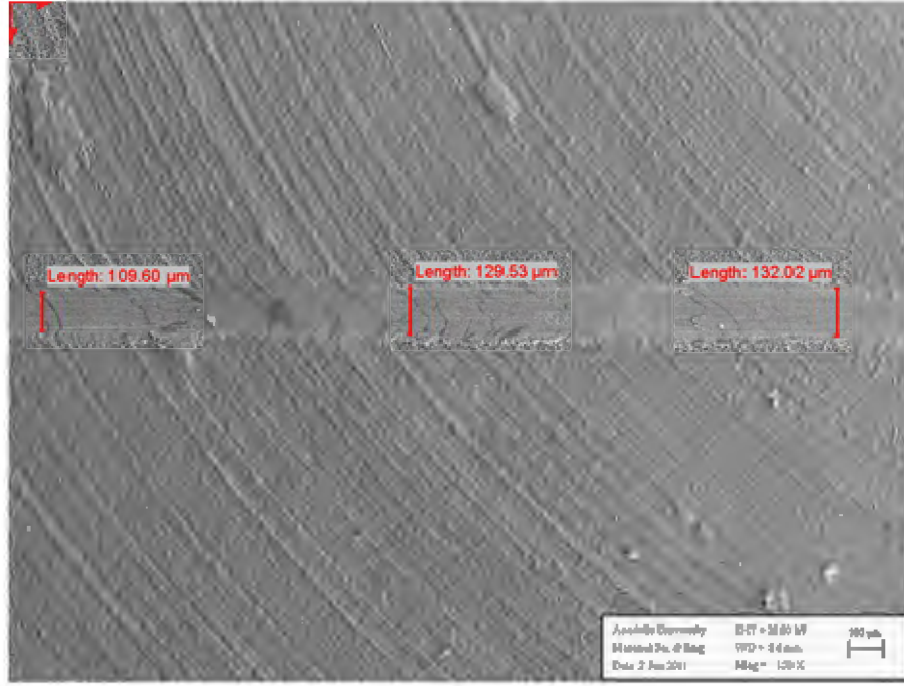
HA kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzey çizilme dayanım testi sonucu sürtünme kuvvet grafiği ve penetrasyon derinliği grafiği sırasıyla Şekil 6.21 ve Şekil 6.22'de verilmiştir. HA kaplanmış numunede sürtünme katsayısı ortalama 0.30, sürtünme kuvvet değeri 10N ve penetrasyon derinliği 93.9 µm olarak belirlenmiştir. Yüzey çizilme testi sonrasında alınan SEM görüntülerinde çizilen çizginin kalınlığı ise 123.71 µm olarak ölçülmüştür (Şekil 6.23).



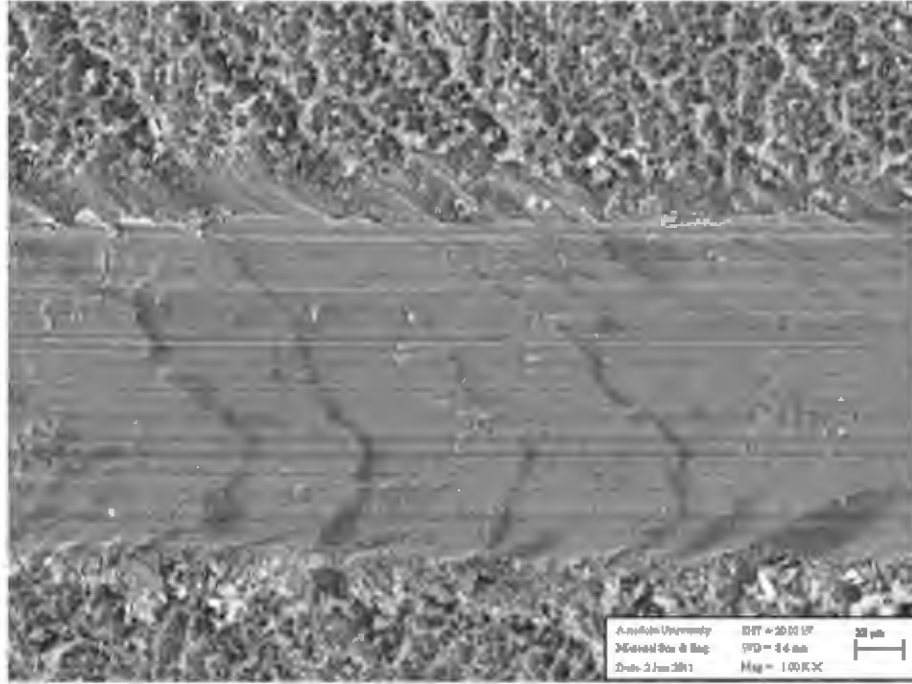
Şekil 6.21. HA kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği



Şekil 6.22. HA kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği



(a)

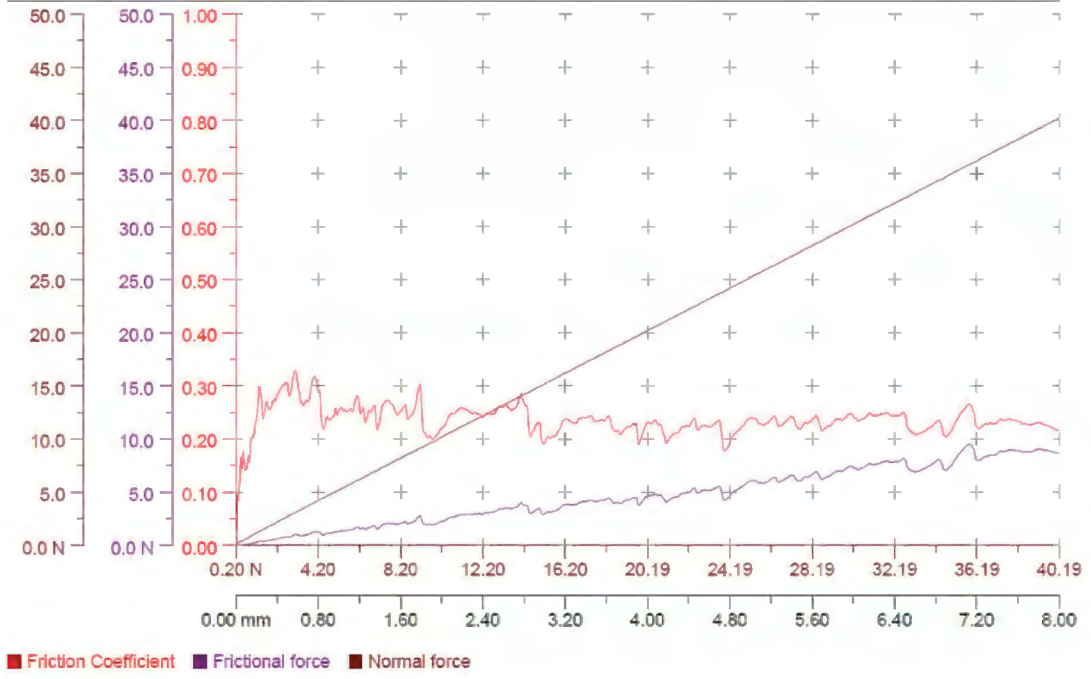


(b)

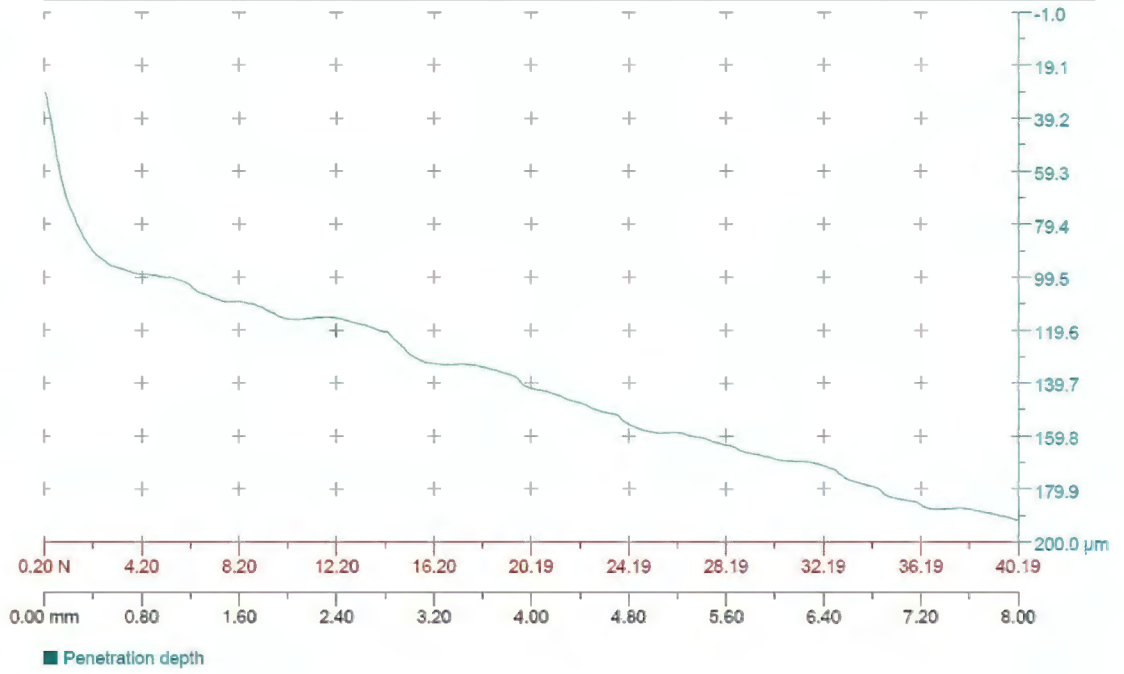
Şekil 6.23. HA kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alınan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme

6P57ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzey çizilme dayanım testi sonucu sürtünme kuvvet grafiği ve penetrasyon derinliği grafiği sırasıyla Şekil 6.24 ve Şekil 6.25’de verilmiştir.

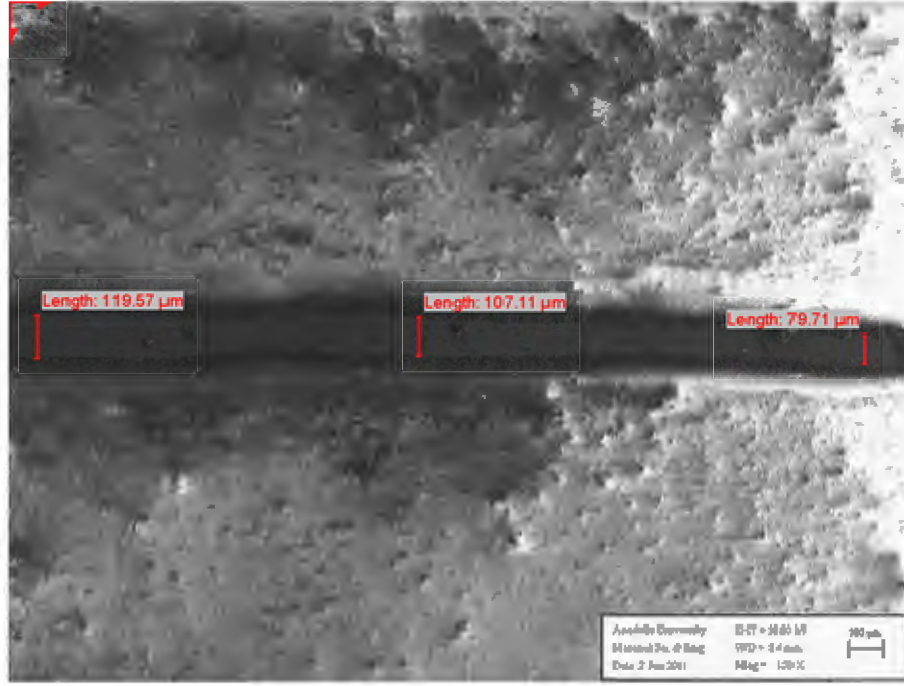
6P57ABT ile kaplanmış implantta sürtünme katsayısı ortalama 0.30, sürtünme kuvvet değeri 7 N ve penetrasyon derinliği 189,9 μm olarak görülmektedir. Yüzey çizilme testi sonrasında alınan SEM görüntülerinde çizilen çizginin kalınlığı ise 102.13 μm olarak ölçülmüştür (Şekil 6.26).



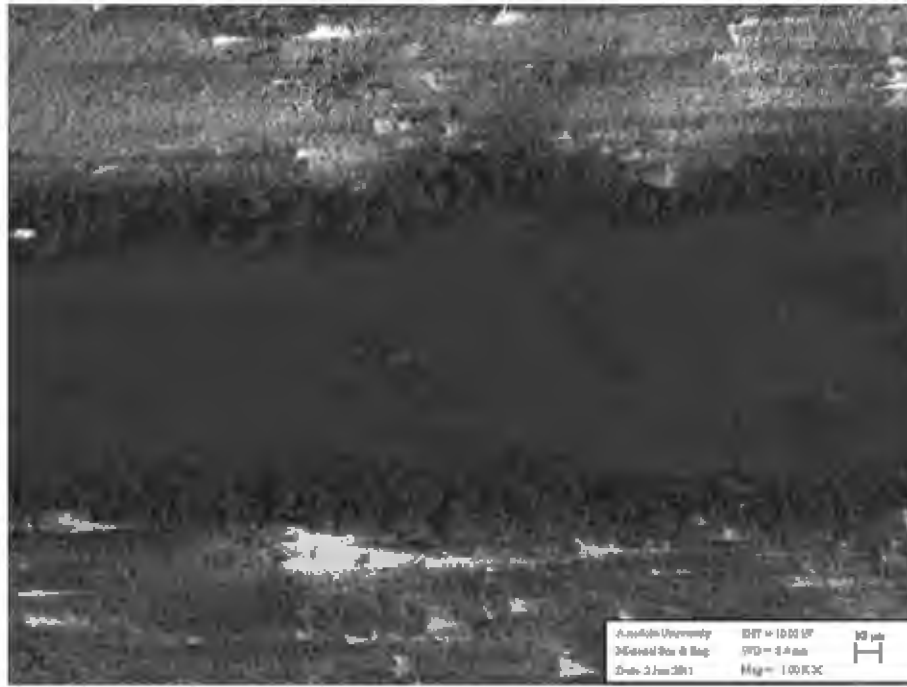
Şekil 6.24. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait için normal yük ve sürtünme grafiği



Şekil 6.25. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği



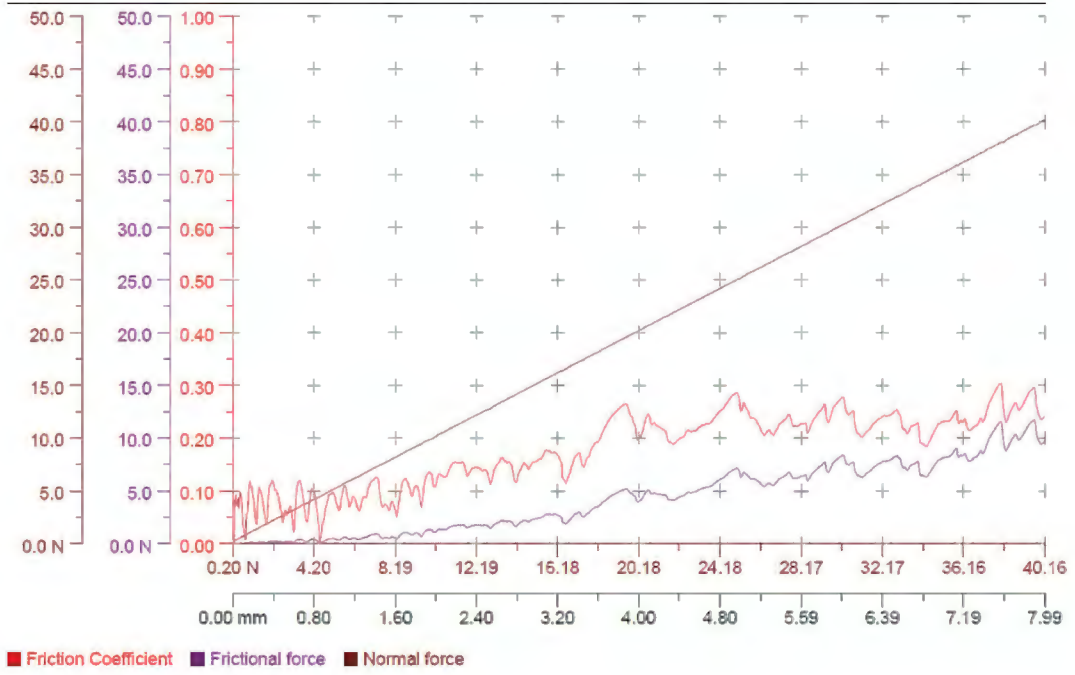
(a)



(b)

Şekil 6.26. 6P57ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütmelerde alınan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme

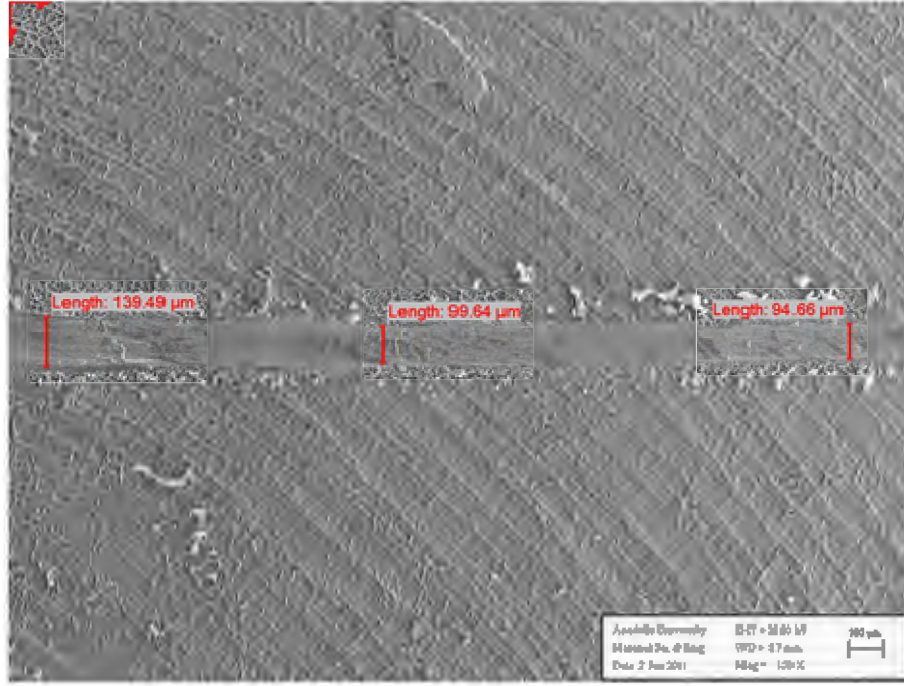
ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzey çizilme dayanım testi sonucu sürtünme kuvvet grafiği ve penetrasyon derinliği grafiği Şekil 6.27-28 ile verilmiştir. ABT ile kaplanmış numunede sürtünme katsayısı ortalama 0.20, sürtünme kuvvet değeri 7 N ve penetrasyon derinliği 89,9 µm olarak görülmektedir. Yüzey çizilme testi sonrasında alınan SEM görüntülerinde çizilen çizginin kalınlığı ise 111.26 µm olarak ölçülmüştür (Şekil 6.29).



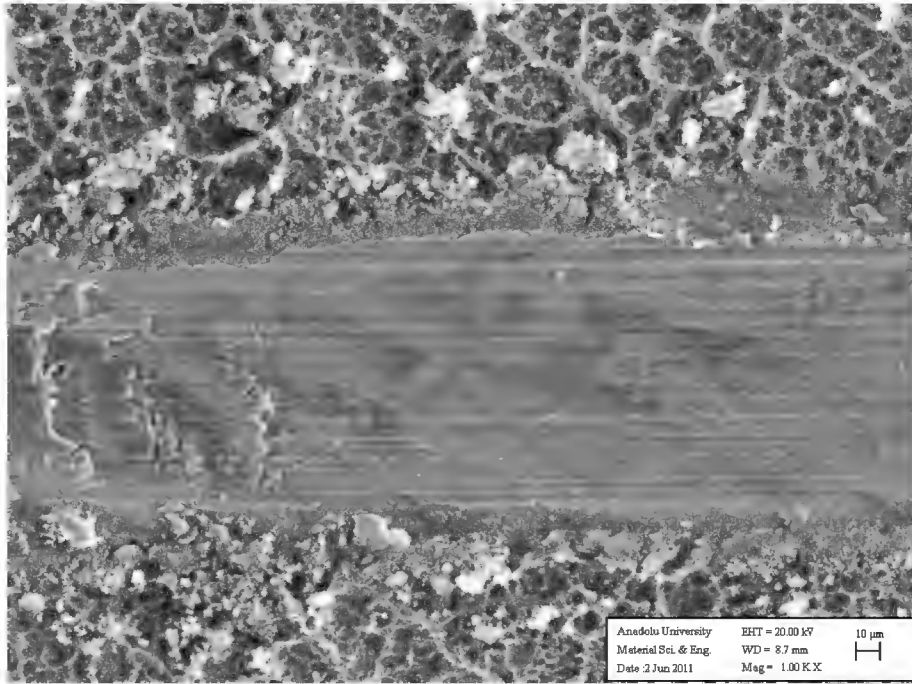
Şekil 6.27. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği



Şekil 6.28. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği



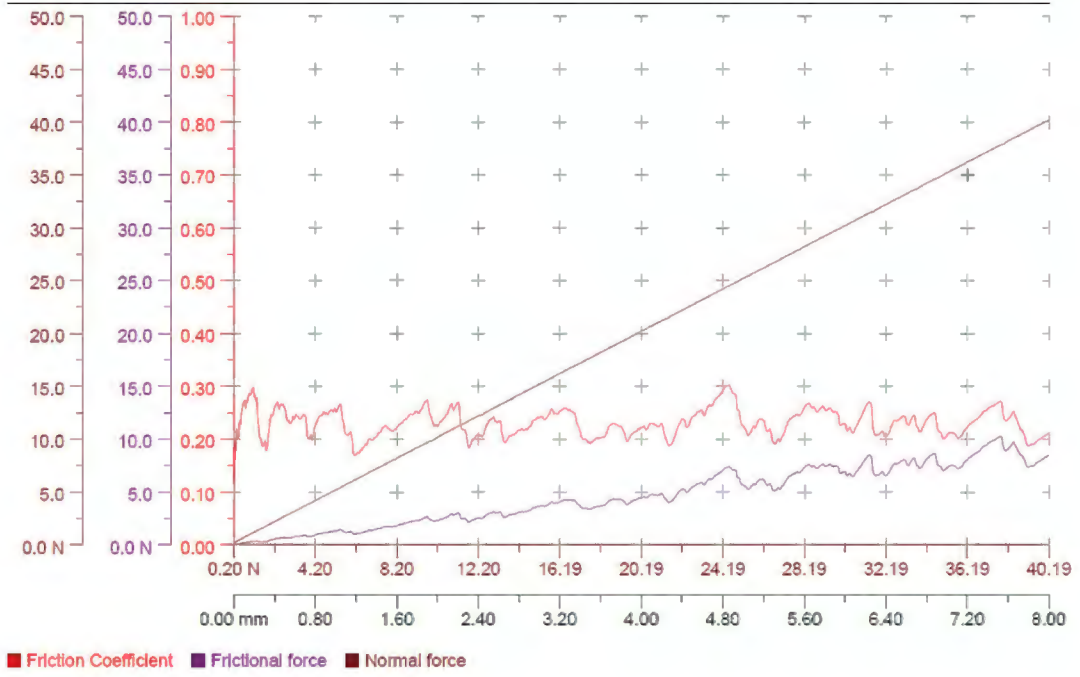
(a)



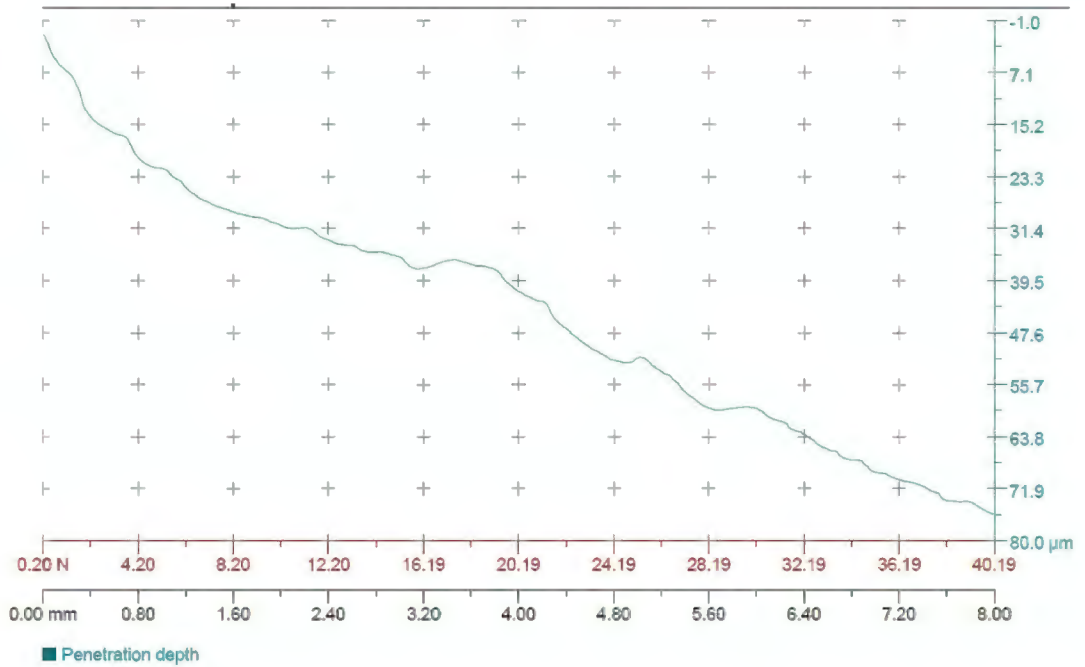
(b)

Şekil 6.29. ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme alman SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme

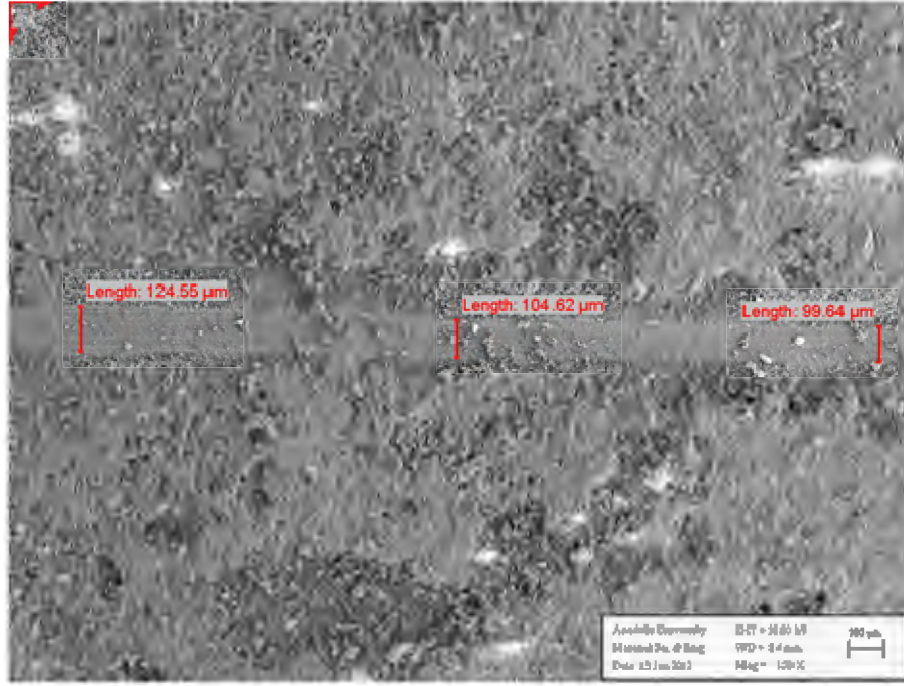
6P57ABT üzerine ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzey çizilme dayanım testi sonucu sürtünme kuvvet grafiği ve penetrasyon derinliği grafiği Şekil 6.30-31'de verilmiştir. Biyocam üzerine ABT ile kaplanmış numunede sürtünme katsayısı ortalama 0.30, sürtünme kuvvet değeri 10 N ve penetrasyon derinliği 75,9 μm olarak görülmektedir. Yüzey çizilme testi sonrasında alınan SEM görüntülerinde çizilen çizginin kalınlığı ise 109.60 μm olarak ölçülmüştür (Şekil 6.32).



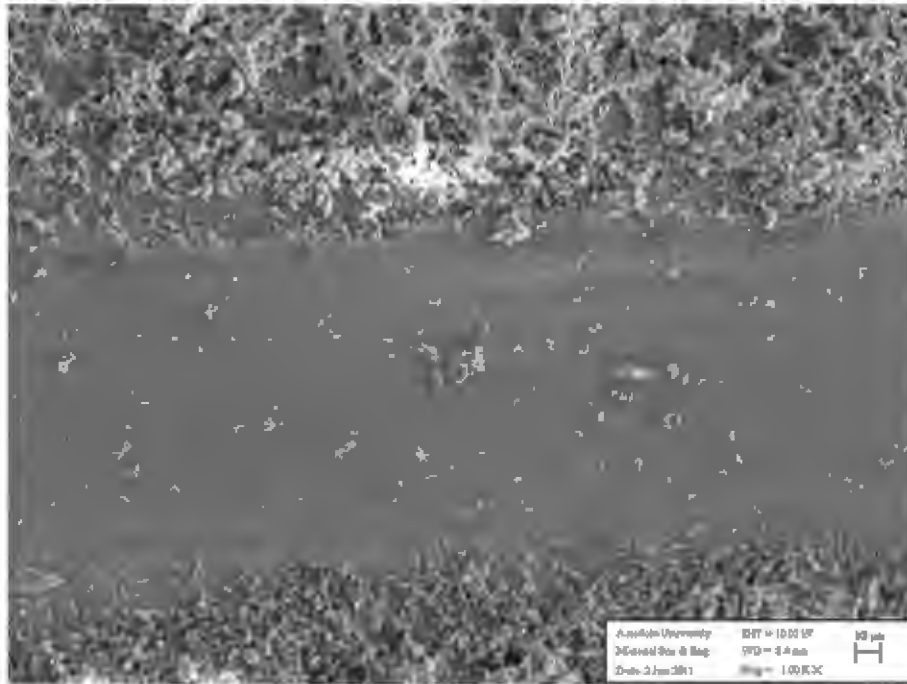
Şekil 6.30. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait normal yük ve sürtünme grafiği



Şekil 6.31. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanta ait penetrasyon derinliği grafiği



(a)



(b)

Şekil 6.32. 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V implanttan yüzey çizilme testi sonrası farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüleri (a) 150 büyütme (b) 1000 büyütme

Bir kaplamanın uygulanacağı alanın gerektirdiği özellikleri sağlayabilmesi için öncelikle mekanik özelliklerinin uygun olması gerekmektedir. En önemli mekanik özellikler sertlik, adhezyon mukavemeti ve kırılma katsayısıdır. Literatürde bu özelliklerin belirlenmesi için 250 den fazla metodun kullanıldığı bildirilmiştir. Birçok çalışma göstermiştir ki indentasyon ve yüzey çizilme dayanımı testi bu metotlar arasında en çok kullanılan yöntemlerdir. Kaplamalar için mekanik özelliklerin değerlendirilmesi için en basit yöntemlerden bir tanesi adhezyon mukavemet ölçümlerinin yapılmasıdır. Kaplamalar kaplandıkları altlık ile başarılı bir adhezyon sağlamalıdır. Bir medikal implant üzerine zayıf yapışmış bir kaplama implantasyon sonrasında delaminasyon gösterebilmektedir. Bu durum implantın etkinliğini sınırlandırmaktadır. Adhezyon mukavemeti başarılı implantasyon ve uzun süreli stabilite için kritik faktördür [156-158].

Adhezyon mukavemetinin belirlenmesi için en yaygın kullanılan metotlar çekme testi ve yüzey çizilme dayanımı testidir. HA ile kaplanan medikal kaplamaların poroz ve yüksek yüzey pürüzlülüğüne sahip olmalarından dolayı yüzey çizilme dayanımı testi daha iyi sonuç alınabilecek bir uygulama olarak görülmektedir. Birçok çalışmada çekme testi kullanılmıştır ancak bu teknik kaplama kalınlığı 0.38 mm'den kalın olan kaplamalar için daha uygun bir yöntemdir [156].

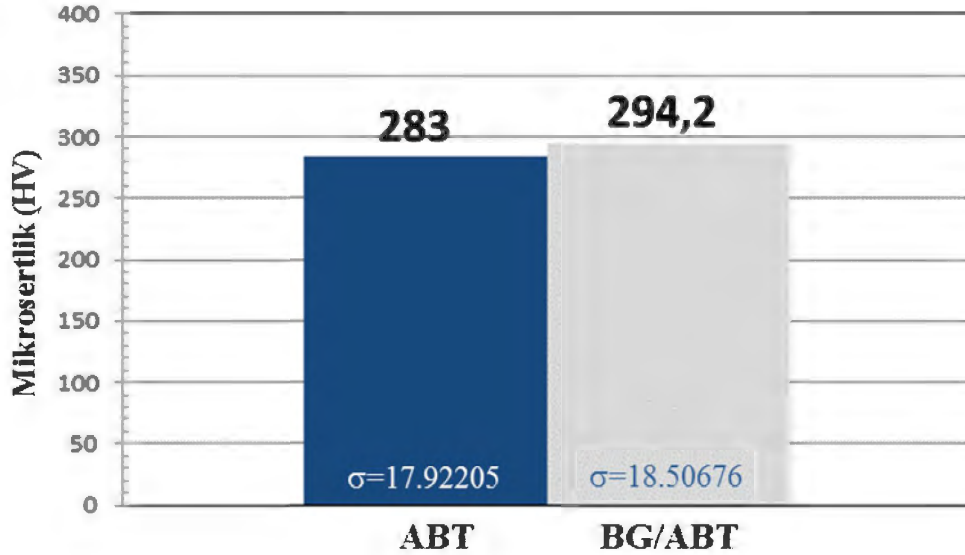
Yüzey çizilme dayanımı testi, kalitatif bilgi almak için iyi bir karşılaştırmalı test metodudur [159]. Bu test metodunun avantajları; ortopedik implantların kullanılacak stres şartlarında diğer gerilme adhezyon test yöntemlerine oranla daha yakın değerlerle simule etmesi ve ince kaplamalarda da kaplamanın içine işleyen bağlayıcı ajanları riske atmadan adhezyon mukavemetini belirleyebilmesidir [156].

Yüzey çizilme dayanımı testi sonuçlarındaki sürtünme kuvveti-kuvvet grafiklerindeki lineer ya da dalgalı grafik oluşumu mikro yapıda oluşan çizilin şekline göre değişmektedir. İç yüzeylerde süreksizlik olan çizgilerde daha fazla dalgalanma olduğu gözlemlenmiştir. Artan kaplama sertliği ile birlikte yüzey çizilmesinde sürekli değil daha kesik kaplama kaldırdığı ve böylelikle kaplamanın sertliğine bağlı olarak oluşan izden numune koptuğu ve kopma sırasında piklerin oluştuğu belirlenmiştir. Tüm kaplamaların sürtünme katsayıları arasında belirgin

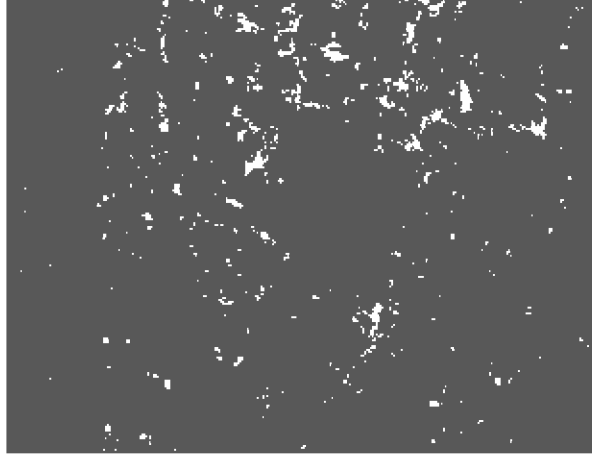
bir fark olmamasına rağmen biyocam üzerine ABT kaplanmış numunede en yüksek sürtünme katsayısı ve sürtünme kuvveti gözlemlenmiştir. Aynı zamanda numune sertlikleri ile yüzey çizik kalınlığı arasında bulunan ters orantıyı da dikkate aldığımızda yüzey çizilme testi sonuçlarına göre 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V numunenin yüzeyinin diğer numunelere oranla daha yüksek dayanıma sahip olduğu belirlenmiştir.

6.3.2. Mikrosertlik Ölçümleri

ABT kaplanmış ve 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V numunelerin mikrosertlik değerleri Vickers piramit elmas uç ile 9,8 N yük uygulanarak mikrosertlik cihazı (Emcotest, Almanya) ile ölçülmüştür. Sertlik değeri $Hv=1854.4 \times F/d^2$ formülasyonu kullanılarak hesaplanmıştır (F; gram olarak uygulanan yük, d; μm olarak ucun çapı). Her bir kaplama için beş noktadan analiz yapılmış, değerlerin ortalaması alınmış ve standart sapma hesaplanmıştır (Şekil 6.33, 6.34).



Şekil 6.33. ABT ve 6P57ABT üzerine ABT kaplanmış implantların mikrosertlik testi sonuçları (σ =standart sapma)



(a)



(b)

Şekil 6.34. (a) ABT ve (b) 6P57ABT /ABT kaplanmış numunelerin mikrosertlik testi görüntüleri

Mikrosertlik testi sonuçlarına göre ABT kullanılarak kaplanmış numunenin sertlik değerinin 6P57ABT/ABT kaplanmış numuneye oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar yüzey çizilme dayanımı testi sonuçlarını da desteklemektedir.

6.4. Ti6Al4V İmplantların *In Vitro* Deneyleri

Antimikrobiyal etkinliğinin *in vitro* ortamda belirlenmesi için yapılan deneylerde 14 adet kaplamasız, kontrol grubu olarak 14 adet HA kaplanmış ve 14 adet 6P57ABT/ABT kaplanmış Ti6Al4V intramedüller çivi kullanılmıştır. Besiyeri ve implant yüzeyinden kantitatif kültür sayımı yapılmış ve SEM ile incelen implant yüzeyleri antimikrobiyal etkinlik açısından değerlendirilmiştir.

6.4.1. Besiyerinde Kantitatif Kültür Sayımı

Besiyerinden kantitatif kültür sayımı sonuçları Tablo 6.2’de verilmiştir. Değerlerin normal dağılımı logaritmik transformasyon ile gösterilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık sadece 24 saat sonrası için istatistiksel olarak belirgin miktarda olmuştur ($p = 0.08$). Diğer zaman aralıklarında ise belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. 6P57ABT/ABT kaplanmış implantlardan çalkalama sıvısına bakteri salınımı HA kaplı ve kaplamasız implantlardan belirgin miktarda az olmuştur (sırasıyla $p = 0.039$ ve $p = 0.009$). Aynı zamanda inkübasyon sıvısında atomik absorpsiyon cihazı ile gümüş iyonu salınımı olup olmadığı araştırılmış ve besiyerinde serbest gümüş iyonu tespit edilmemiştir (ölçüm sınırı 0.02 ppm).

Tablo 6.2. Kantitatif kültür sayımı sonuçları

	1.gün	2.gün	15.gün	30.gün	45.gün	60.gün
ABT 1	88900					
ABT 2	13100	100				
ABT 3	0	100	18			
ABT 4	7600	400	23	10	7	
ABT 5	0	3500	18	7	6	4
ABT 6	73600	0	22	6	11	3
ABT 7	39700	600	13	12	6	7
ABT 8	81600	1400	13	29	2	2
ABT 9	25100	1000	22	14	0	4
ABT 10	47300	100	14	8	3	6
ABT 11	56000	1000	12	2	1	3
ABT 12	112500	0	13	10	4	2
ABT 13	22900	2200	18	12	1	5
ABT 14	107300	3500	14	16	4	0
HA1	56000					
HA2	62400	400				
HA3	32100	300	20			
HA4	126400	1500	9	7	2	
HA5	80900	700	18	7	0	3
HA6	26400	600	31	4	0	11
HA7	150400	200	8	122	0	8
HA8	66500	0	18	0	2	26
HA9	116800	5800	19	0	5	3
HA10	18200	8000	8	9	3	8
HA11	72800	3200	6	14	4	3
HA12	27600	600	25	11	1	2
HA13	10500	11000	9	9	2	0
HA14	96000	1200	18	7	6	1
T1	22900					
T2	9500	6200				
T3	25800	700	15			
T4	12500	14000	4	10	2	
T5	6000	0	23	9	0	0
T6	24000	1500	11	3	5	2
T7	12500	5700	10	6	11	1
T8	4000	3400	4	12	1	39
T9	13500	400	7	11	5	2
T10	64000	3200	22	14	2	3
T11	19500	4800	10	9	2	3
T12	10000	600	23	3	3	6
T13	6500	700	14	8	5	1
T14	26000	19300	12	9	4	2

ABT : 6P57ABT/ABT kaplama, HA :HA kaplama, T : Ti6Al4V kaplanmamış implant

6.4.2. İmplant Yüzeyinde Kantitatif Kültür Sayımı

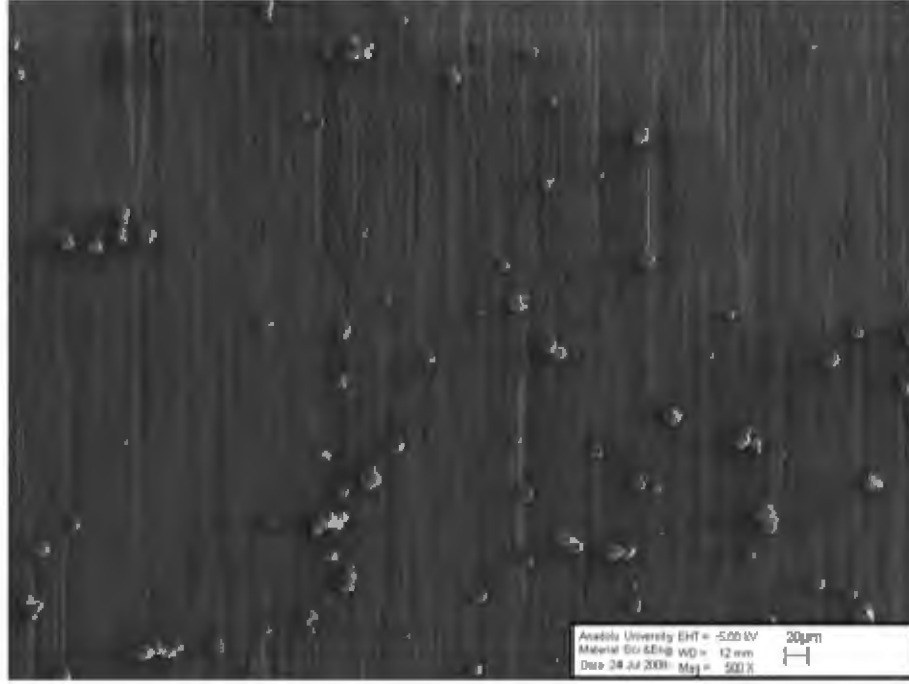
Sonikasyondan sonra elde edilen bakteri sayımı sonuçları Tablo 6.3’de verilmiştir. 6P57ABT/ABT kaplanmış implantlardaki bakteri sayısının HA kaplanmış ve kaplanmamış implantlara oranla çok düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p=0.039$ ve $p=0.002$). Diğer 2 grupta farklılık gözlemlenmemiştir.

Tablo 6.3. Sonikasyon sonrası bakteri sayımı sonuçları

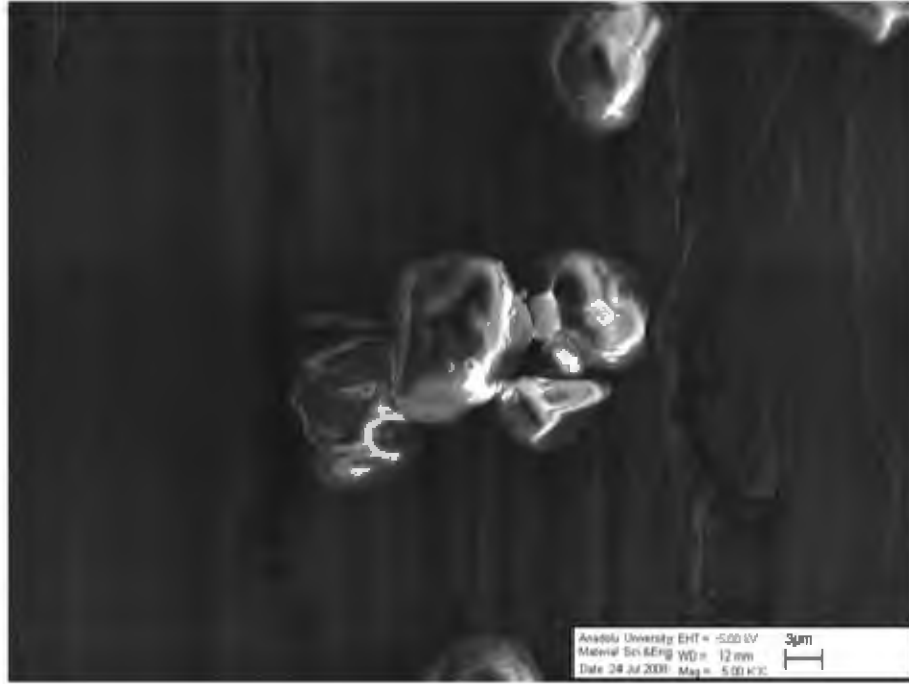
	ABT	HA	T
1.hafta	3104	3360	17920
2.hafta	2402	2272	7040
3.hafta	1864	8192	2848
4.hafta	3696	4640	4132
5.hafta	272	7936	9540
6.hafta	3544	3552	8950
7.hafta	280	9571	8861
8.hafta	440	12740	10128
Anlamlılık	1950	6532	8677

6.4.3. İmplant Yüzeylerinin SEM İle İncelenmesi

İnkübasyon sonrasında 24. saatte tüplerden alınan Ti6Al4V implantların SEM ile yüzeylerindeki bakteri miktarı incelenmiştir. Ti6Al4V implant ve HA kaplanmış implantta bakteri gözlemlenirken, 6P57ABT/ABT kaplanmış implantta rastlanmamıştır (Şekil 6.35-Şekil 6.36-Şekil 6.37). 6P57ABT/ABT ile kaplanan implantın kaplanmamış kısmında ise bakteri gözlemlenmektedir (Şekil 6.38.).

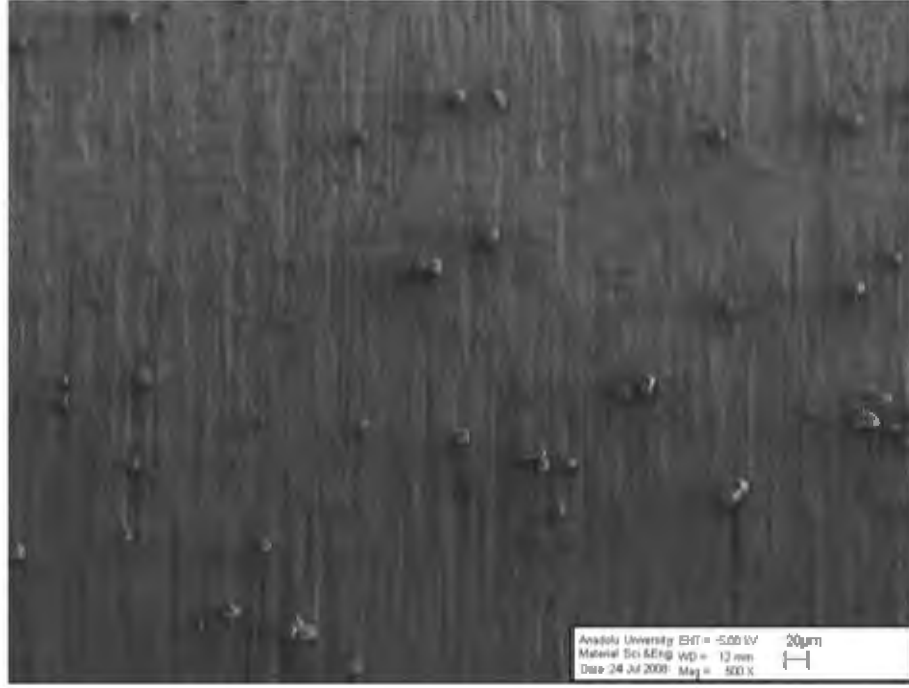


(a)



(b)

Şekil 6.35. İnkübasyon sonrası kaplanmamış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütmelerde alınan SEM görüntüleri (a) 500 büyütme (b) 5000 büyütme

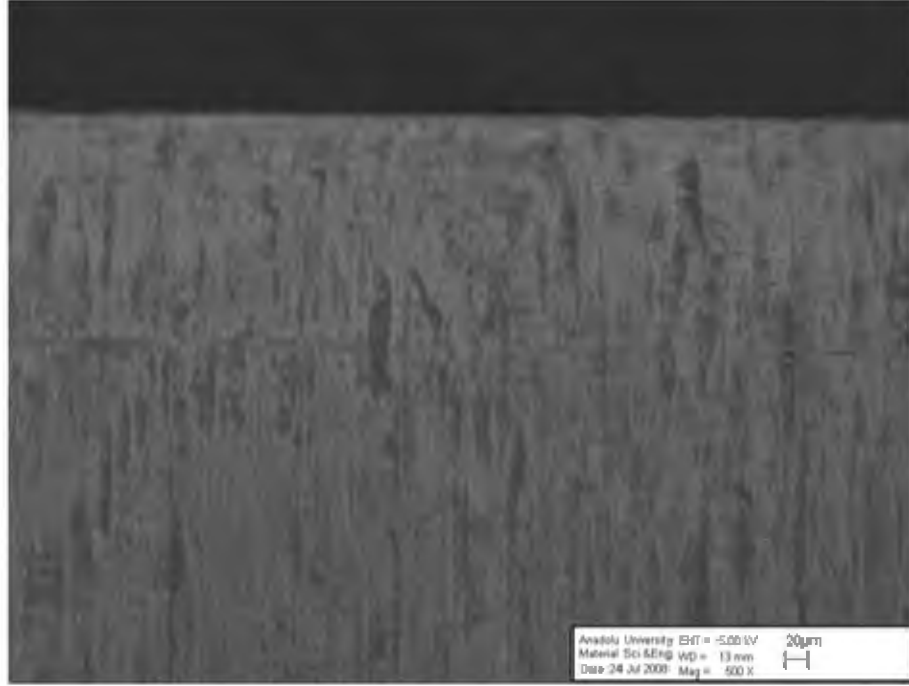


(a)

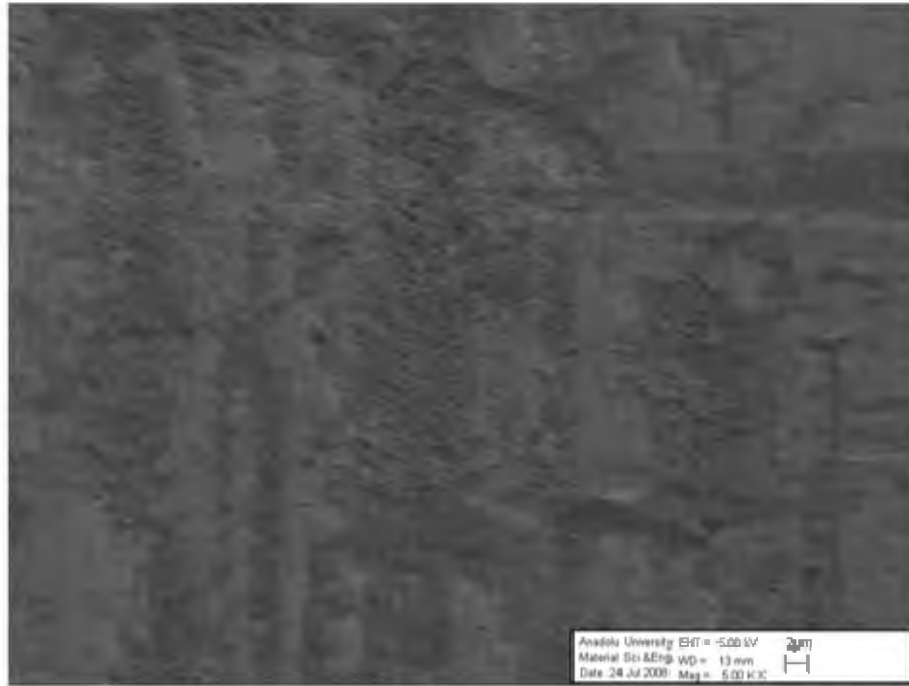


(b)

Şekil 6.36. İnkübasyon sonrası HA ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüleri (a)500 büyütme (b)5000 büyütme

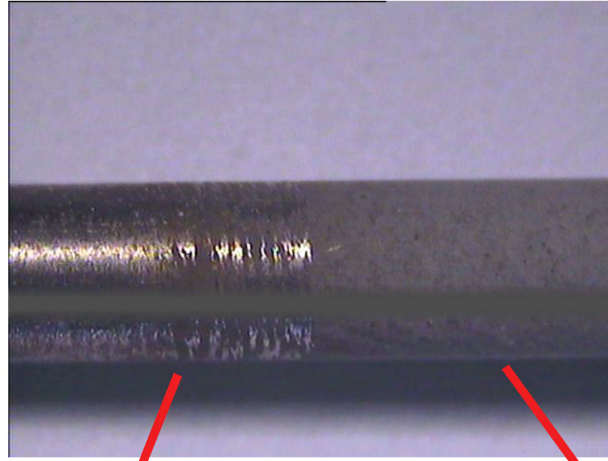


(a)

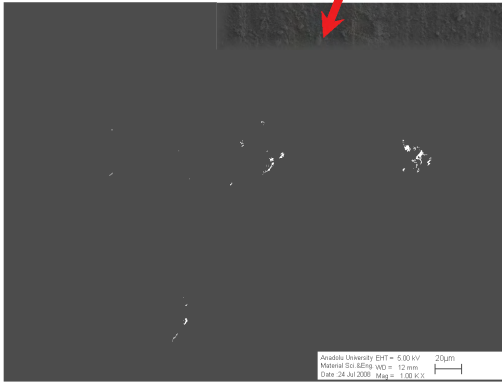


(b)

Şekil 6.37. İnkübasyon sonrası 6P57ABT/ABT ile kaplanmış Ti6Al4V implantın yüzeyinden farklı büyütme oranlarında alınan SEM görüntüleri (a) 500 büyütme (b) 5000 büyütme



(a)



(b)



(c)

Şekil 6.38. (a)ABT ile kaplanmış implantın kaplanmış ve kaplanmamış kısımlarının stereo mikroskop görüntüsü (10x) (b) 6P57ABT/ABT kaplanmış implantın kaplanmamış kısmının SEM görüntüsü (c) 6P57ABT/ABT kaplanmış implantın kaplanmış kısmının SEM görüntüsü

Ti6Al4V implantların 6P57ABT/ABT ile kaplanması sonucu kısa sürede başlayan ve deneyin yapıldığı 24 saat süresince ile antibakteriyel etkisi saptanmıştır. Bu etki ile ortopedik operasyonlarda sıkça kullanılan metal implantlara bağlı postoperatif enfeksiyonların önlenmesinde yararlı olabileceği, Ag^+ iyon katkılı kalsiyum fosfat esaslı seramik toz ile kaplı implantların klinikte hastalara uygulanmadan önce hayvan deneyleri yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

6.5. Ti6Al4V İmplantların *In Vivo* Deneyleri

In vivo deneyler için 24 adet tavşan; Grup 1 (Kaplanmamış implant kullanılan tavşanlar), Grup 2 (HA kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) ve Grup 3 (6P57ABT/ABT kaplanmış implant kullanılan tavşanlar) olmak üzere üç gruba ayrılmış ve 3 grup için hematolojik, mikrobiyolojik ve histopatolojik analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Ayrıca *in vivo* deneyler sırasında deneklerden alınan kan örnekleri ve sonrasında alınan organlardaki Ag⁺ iyonu miktarı belirlenmiştir.

6.4.1. Hematolojik Sonuçlar

Deneklerden alınan kanlardan yapılan kan sayımlarında Hgb düzeylerinde gruplar arasında başlangıç ve takip düzeylerinde farklılık saptanmamıştır. Bütün gruplarda Hgb düzeyleri takiplerde azalmıştır ancak gruplar arasında fark saptanmamıştır (Tablo 6.4).

Tablo 6.4. Kan Hgb seviyeleri[†]

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

One Way Anova

[†]:g/dl

Yapılan kan sayımlarındaki beyaz küre (WBC) sayılarında başlangıç ve takiplerde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (Tablo 6.5).

Tablo 6.5. Kan WBC sayımları[†]

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

One Way Anova

[†]: /mm³

Tam kan sayımlarındaki trombosit sayılarında gruplar arasında başlangıç ve takiplerde fark saptanmamıştır (Tablo 6.6).

Tablo 6.6. Kan trombosit sayımları[†]

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

One Way Anova

[†]: /mm³

Deneklerden yapılan serum CRP düzeylerinde başlangıçta fark saptanmamış ancak ikinci hafta ölçümlerinde Grup 3'de CRP düzeyleri ortalamaları diğer gruplara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (p<0,05). 6. ve 10. hafta ölçümlerinde gruplar arasında farklılık olmadığı saptanmıştır (Tablo 6.7, Tablo 6.8).

Tablo 6.7. 0., 2. ve 10 hafta serum CRP seviyeleri[†]

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

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

[†]: mg/dl^a: Grup 1 & Grup 2 p>0,05 ^b: Grup 1 & Grup 3 p<0,05 ^c:Grup 2 & Grup 3 p<0,05**Tablo 6.8.** 6. hafta serum CRP seviyeleri[†]

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

One Way Anova

[†]: mg/dl

6.4.2. Mikrobiyolojik Sonuçlar

İmplant örneklerinden alınan sürüntü örnekleri, %5 koyun kanlı agara ekilmiştir. İmplantlar 2 ml steril serum fizyolojik içerisinde 3 dakika süreyle döndürülmüş ve bakterilerin serbestleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra kantitatif kültür için implantların içinde bulunduğu sıvıdan (10⁰) 0.1 ml alınıp 0.9 ml steril SF'e ilave edilerek 10⁻¹ dilüsyonu hazırlanmış, bu işleme seri halde devam edilerek 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ ve 10⁻⁴ dilüsyonları yapılmıştır. Her bir dilüsyondan (10⁰'dan 10⁻⁵'e kadar) 50 µl alınıp %5 koyun kanlı agara inoküle edilmiştir. İnoküle edilen tüm %5 koyun kanlı agar plakları aerop ortamda 35°C'de 48 saate kadar inkübe edildi. *S. aureus*'un tanımlanmasında gram boyama, koloni özellikleri (hemoliz ve pigmentasyon) ve hızlı biyokimyasal testler (katalaz ve tüpte koagülaz) gibi geleneksel yöntemlerden ve otomatize identifikasyon-

antibiyotik duyarlılık sisteminden (Phoenix, BD, Amerika) yararlanılmıştır. İmplant örneklerinin kantitatif kültürleri yapıldığından implantlardaki bakteri sayıları belirlenmiş ve buna göre sayılabilecek kadar üremenin olduğu kültür plakları alınarak koloniler tek tek sayılmıştır. İmplantın konduğu sıvı miktar (2 ml) ve dilüsyon kat sayısı dikkate alınarak orijinal (dilüsyon yapılmamış) sıvıdaki bakteri sayısı belirlenmiş ve daha sonra her bir implantın santimetre karesi başına düşen koloni (colony forming units/cm² = CFU/cm²) sayısı, silindir yüzey alanı formülü kullanılarak hesaplanmıştır. İmplantların yüzey alanlarının 1,63 cm² olarak belirlenmiştir.

Deneklerden alınan intramedüller sürüntü kültürlerinde 6P57ABT/ABT kaplı implant kullanılan Grup 3'te diğer gruplar ile karşılaştırıldığında bakteri üremesi daha az olduğu görülmüştür (Tablo 6.9).

Çivilerin üzerinden yapılan bakteri ekimi sonrası birim alanda üreyen bakteri sayısına göre 6P57ABT/ABT kaplı implant kullanılan Grup 3'te bakteri sayısı belirgin olarak daha az olduğu saptanmıştır (Tablo 6.10)

Tablo 6.9. İntramedüller sürüntü kültürü sonuçları

SÜRÜNTÜ KÜLTÜRÜ	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	P
ÜREME				
-	0	1	5	0,003
+	2	0	5	
++	2	3	1	
+++	5	7	0	
Toplam	9 ^{a,b}	11 ^{a,c}	11 ^{b,c}	

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

Tablo 6.10. İmplant üzerinden yapılan kantitatif kültür sonuçları

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

[†]: CFU/cm²

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

6.5.3. Histopatolojik İnceleme

Işık mikroskopisi için implant örneklerine gerekli küçültme işlemlerinin ardından kemik dokusu örnekleri %10'luk formalinde fiksatif günlük olarak değiştirilmek suretiyle 5 gün boyunca tespit edilmiştir. Daha sonra kemik dokusunun dekalsifikasyon işlemine geçilmiştir. Bu aşama için 5cc formik asit ve 95cc distile su içeren dekalsifikasyon solüsyonu hazırlanmıştır. Bu solüsyonda solüsyon sıvısı tazelenerek kemiğin 10 gün döndürülerek yumuşaması sağlanmış ve bu süre esnasında toplu iğne ile kemiğin yumuşayıp yumuşamadığı kontrol edilmiştir. Yumuşayan kemikler 24 saat çeşme suyunda yıkandıktan sonra 80° alkolde 12 saat bekletilmiştir. 96° alkolde ise kurumamasına dikkat edilerek kemik dokusunun takibine devam edilmiştir. Alkol takibinin ardından ksilol aşamasına alınan kemiğin şeffaflaşp şeffaflaşmadığı kontrol edilmiştir. Şeffaflaşan kemik dokusu örnekleri ksilol aşamasının ardından parafine alınmıştır. Parafin 4 defa değiştirilmiş ve her bir parafinde 1 saat bekletilen örnekler parafine gömülerek bloklanmıştır. Gömme işleminin ardından ışık mikroskopik incelemeler için kemik dokusu örneklerinden 5 µ boyutlarında kesitler alınmış ve alınan kesitler Hematoksilen-Eozin boyası ve masson trikrom boyası ile boyanıp, ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapılan preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekilmiştir.

Yapılan histolojik takip sonucunda her gruptan 7 adet örneğin tamamından değerlendirme için görüntü alınmış ve görüntüler karşılaştırıldığında kemik dokusundaki enflamasyon açısından gruplar arasında farklılık olduğu

belirlenmiştir (p:0,033). Ancak farklılığın hangi gruplar arasında olduğu tespit edilememiştir. Grup 1’de 7 örneğin 5 tanesinde enflamasyon hiç gözlenmezken, Grup 2’de ve Grup 3’te 7 örnekten 2 tanesinde enflamasyon hiç gözlenmemiştir. Bu durumun tersine Grup 1’de 7 örnekten 2 tanesinde enflamasyon az miktarda gözlenirken Grup 2’de 2 örnekte az miktarda 3 örnekte orta miktarda gözlenmiştir. Grup 3’te ise 7 örnekte 5 tanesinde az miktarda enflamasyon gözlenmiştir (Tablo 6.11).

Tablo 6.11. Histolojik örneklerin enflamasyon bulgularına göre incelenmesi

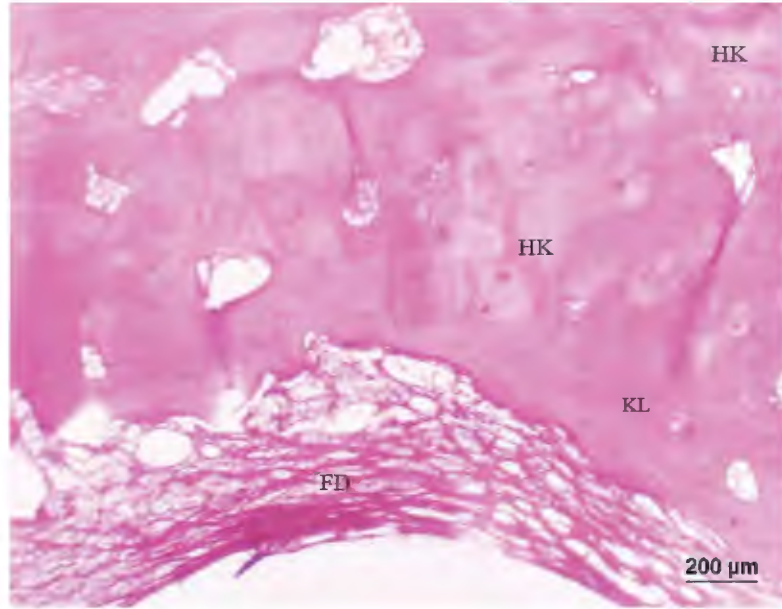
ENFLAMASYON	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	P
-	5	2	2	0,033
+	2	2	5	
++	0	3	0	
+++	0	0	0	
Toplam	7	7	7	

Histolojik örnekler fibröz doku oluşumu açısından incelendiğinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır (p:0,35) (Tablo 6.12).

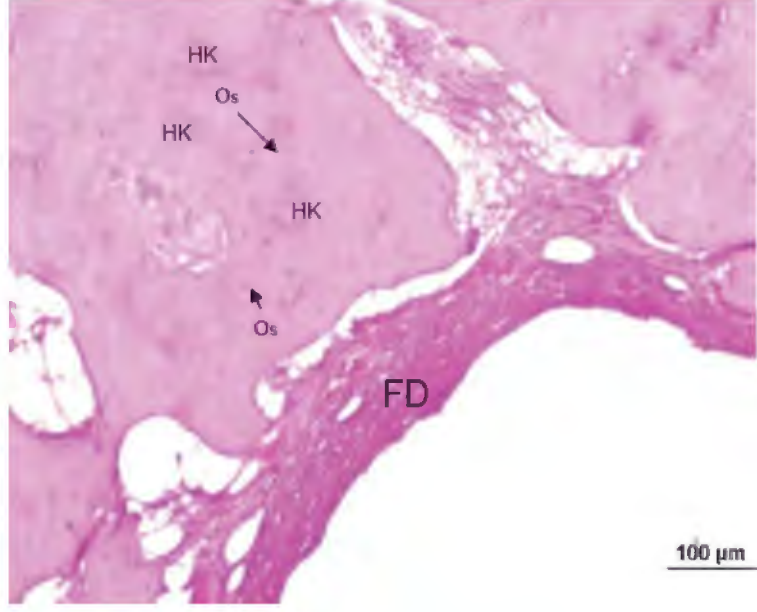
Tablo 6.12. Histolojik örneklerin fibröz doku oluşumuna göre incelenmesi

FİBRÖZ DOKU OLUŞUMU	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	P
-	5	2	2	0,35
+	2	2	2	
++	0	1	0	
+++	0	2	3	
Toplam	7	7	7	

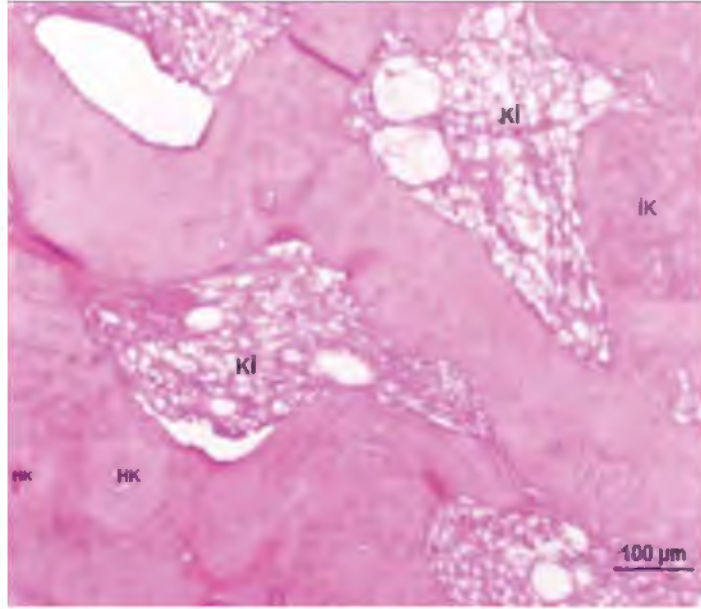
Grup 1'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğin ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 6.39 ile verilmektedir. Görüntüde dekalsifiye olmuş kemikten alınan örnekte kemik lameller yapısını oluşturan kollajen liflerinin sirküferansiyel devam ettiği alanlar (KL) ve havers kanallarını çevrelediği sirküler yapıları (HK) irregüler düzende olduğu görülmektedir. Ayrıca implantın yerleştiği alanda ise infiltrasyon içeren fibröz doku (FD) bulunmaktadır. Grup 2'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü incelendiğinde ise kemikte havers kanalları (HK) lameller kemik yapısı, osteositler (Os) normal histolojik yapıda görülmüştür (Şekil 6.40). Ancak implantın bulunduğu yerde yoğun fibröz doku (FD) dikkat çekmektedir. Grup 3'ten seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü Şekil 6.41 ile verilmektedir. Görüntünün sol alt kısmında görülen matür kemik yapısı havers kanalları (HK) ve etrafındaki sirküler liflerle beraber osteon yapısı (Os) ve kemik iliği (Kİ) hematopoietik kan hücreleri ve yağ hücreleriyle normal histolojik yapıda gözlemlenirken sağ üst kısmında ise henüz lameller yapısını tamamlamamış immatür kemik yapısı (İK) tespit edilmiştir.



Şekil 6.39. Grup 1'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü



Şekil 6.40. Grup 2'den seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışmikroskobu görüntüsü



Şekil 6.41. Grup 3'ten seçilen dekalsifiye kemikten alınan örneğe ait ışık mikroskobu görüntüsü

6.5.4. Kanda Gümüş İyonlarının Tespiti

Kanda gümüş tespiti amacı ile alınan kanlar 3000 rpm/dk hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Kanın hücresel elemanları ayrıldıktan sonra serum elde edilmiş ve bu serum örnekleri nitrik asit ilavesi ile pH 2 ye getirilerek, analiz işlemine kadar +4 °C'de bekletildi. Analiz için Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (Varian Spectra A 250 Plus) kullanılmış ve standart metot uygulanmıştır [160]. Analiz işleminde örnekler öncelikle direk okumaya alınmış sonrasında n/10 luk HCl ile 2 ml si 10 ml olacak şekilde seyreltilerek okumaya alınmıştır. Deneklerden alınan kanların tamamında serumda gümüş saptanmamıştır.

6.5.5. Organlarda Gümüş İyonlarının Tespiti

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

7. GENEL SONUÇLAR

Günümüzde ortopedik implant kullanımı her geçen önemli oranlarda artış göstermektedir. İmplantlar insan vücuduna yerleştirildikten sonra enfeksiyon riski taşımaktadır. Bu risk ortopedik cerrahide özellikle, açık kırık ve eklem revizyon ameliyatlarında daha yüksektir.

Yapılan çalışmalar, implant ilişkili enfeksiyonların önlenmesi için uygulanan yöntemlerden birisi olan gümüşün implant yüzeyine kaplanması giderek artan oranda ilgi çekmekte ve önem kazanmakta olduğunu göstermektedir. Gümüşün implant yüzeyi kaplaması olarak tercih edilmesinin nedenleri, kullanılan dozlarda lokal ve sistemik toksik etkilerinin görülmeşi, etkisinin uzun olması, bakteriyel direnç görülmeşi ve birçok madde ile birlikte kullanılabilmesidir. Ancak yüksek gümüş ilavesi antimikrobiyal etkiyi güçlendirirken, gümüşün toksik etkisinin de artmasına neden olmaktadır.

Uniform bir kaplama ve kaplama kalınlığına sahip implant malzemelerinin *in vitro* ve *in vivo* deneyleri sonrasında implant kaynaklı enfeksiyonların önüne geçilebilmesi amacı ile planlanan bu doktora tezinde metalik implant malzemelerinden 316L paslanmaz çelik eksternal fiksator çivilerinin ve Ti6Al4V intramedüller çivilerinin metal iyonu katkılı kalsiyum fosfat esaslı antimikrobiyal seramik toz ile kaplanması ve tavşanlar üzerinde deneysel çalışmaların yapılması gerçekleştirilmiştir.

Tezin amacına yönelik olarak yürütülen çalışmalar neticesinde alınan sonuçları üç ana bölümde toplamak mümkündür.

7.1. Toz Üretimi

Ag^+ iyonu katkısı yapılarak kalsiyum fosfat esaslı tozun üretimi gerçekleştirilmiş ve bu tozun kalsiyum ve hidroksiapatit fazlarını bir arada bulduran bir yapıya sahip olduğu ve gümüşün yapı içerisinde iyonik halde bulunduğu belirlenmiştir. ABT tozun standart maya ve bakterilerle yapılan mikrobiyolojik analizleri neticesinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve aynı

zamanda sitotoksik etkisinin 10 mg/ml değerlerinde olmadığı gözlemlenmiştir. İçerdiği Ag^+ iyonunun salınım değerleri 21 günlük süreçte incelendiğinde, salınım miktarlarının ppm derecesinde olduğu saptanmıştır.

Kaplamalar için karşılaştırma amaçlı olarak kullanılacak hidroksiapatit tozun üretimi gerçekleştirilmiştir. Ara tabaka olarak kullanılacak biyocam üretimi 2 farklı kompozisyon için denenmiştir. Sinterleme sıcaklığı ve altlık ile termal genişleme katsayısı uyumu dolayısıyla 6P57 ticari adı ile bilinen biyocam kompozisyonu tercih edilmiştir. Kaplamalarda sinterleme işlemi sonrasında yüksek sıcaklıklar neticesinde azalan gümüş miktarını arttırmak amacıyla cam kompozisyonuna %30 oranında ABT tozu ilave edilmiş ve cam kompozisyonuna da antimikrobiyal özellik kazandırılmıştır.

7.2. 316L Paslanmaz Çelik İmplantların Kaplanması ve *In Vivo* Deneyler

İmplant malzemelerinin kaplama çalışmalarına, vücudun dışarısında bir kısmı bulunduğu için dolayı yüksek enfeksiyon riskine sahip olan eksternal fiksator çivisi 316L paslanmaz çelik implantlar ile başlanmıştır. Öncelikle implant malzemelerin kaplanmasında yaygın olarak kullanılan plazma sprey yöntemi denenmiştir. Bu yöntem ile kaplanan 316L paslanmaz çelik implantlarında kaplama sonrası Ag^+ miktarı yetersiz kalmış ve metal-toz yapışma mukavemeti düşmüştür.

İmplantların kaplanması için ikinci yöntem olarak daldırma yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntem için hazırlanan solüsyonlar neticesinde 9 farklı kaplama 2 farklı sinterleme prosesi kullanılarak kaplanmıştır. Kaplamaların homojen olmaması nedeni ile bu yöntemden vazgeçilmiştir.

İmplantların kaplanması için kullanılan 3. yöntem elektrosprey yöntemidir. Bu yöntem için hazırlanan ABT ve HA solüsyonlarında zeta potansiyeli ve sedimentasyon test sonuçları dikkate alınarak alkol ile hazırlanan sistemler tercih edilmiştir. Ara katman olarak kullanılan 6P57ABT kompozisyonu için toz hızlı çökme eğilimine sahip olduğundan dolayı daldırma yöntemi ile kaplama uygulanmıştır. Kaplama için en uygun olan elektrosprey parametreleri belirlendikten sonra kaplamalar gerçekleştirilmiş ve sonrasında implantlar RF

yöntemi ile sinterlenmiştir. *In vivo* deneylerde kullanılacak tavşanlar için uygun boyutlarda hazırlanan 316L paslanmaz çelik implantların elektrosprey ile kaplama işlemi neticesinde yüzeylerinde homojen kaplamalar elde edilmiş ve içerdiği Ag^+ miktarının %2,91 olduğu saptanmıştır.

Yapılan *in vivo* deneyler neticesinde kaplamasız 31 çivinin 27'sinde, HA kaplı 31 çivinin 13'ünde, 6P57ABT/ABT kaplı 31 çivinin 2'sinde enfeksiyon görülmüştür. Kemik sürüntü kültürlerinde her gruptan 24 örnek alınmış ve bunların kaplamasız grubun 20'sinde, HA kaplı grubun 14'ünde ve 6P57ABT/ABT kaplı grubun 2'sinde üreme olduğu gözlenmiştir. Çiviler üzerinde bakteri sayımı sonrası ABT ile kaplanmış grupta üreme olan 2 çivideki bakteri sayısının diğer iki gruba göre oldukça az olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarla 6P57ABT/ABT kaplanmış 316L paslanmaz çelik implantların antibakteriyel etkinliği net olarak gözlenmiştir. İmplantların histolojik incelemelerinde ise kaplanmamış implantların çevresinde, yoğun enflamasyon bulguları gözlemlenmiş, HA ve 6P57ABT/ABT kaplanmış implantların çevresinde az yoğunlukta inflamasyon bulgusu gözlemlenmiş ve havers kanalları ile kemik hücreleri normal olarak izlenmiştir.

7.3. Ti6Al4V İmplantların Kaplanması, *In Vitro* ve *In Vivo* Deneyler

İmplant olarak yaygın kullanım alanına sahip Ti6Al4V intramedüller çivilerin kaplanması için elektrosprey yöntemi tercih edilmiştir. HA, 6P57ABT ve ABT tozu, hazırlanan Ti6Al4V implantlara uygun parametreler belirlendikten sonra kaplanmış ve RF yöntemiyle sinterlenmiştir. İmplantlarda homojen kaplamalar elde edilirken haritalama tekniği ile elementel analizleri yapılmış ve 6P57ABT/ABT kaplanmış implantlarda gümüş miktarı %4,08 olarak saptanmıştır.

Kaplanmış Ti6Al4V implantların mekanik özellikleri incelenmiş ve 6P57ABT/ ABT ile kaplanmış implantın, HA ve ABT ile kaplanmış implantlara oranla yapışma mukavemetinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Mikrosertlik ölçümleri ile çizilme dayanımı testleri bu sonucu desteklemiştir.

Ti6Al4V intramedüller çivilerin *in vivo* deneyleri öncesinde antimikrobiyal etkinlikleri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Besiyerinden

kantitatif kültür sayımı sonucunda 6P57ABT/ABT kaplanmış implantlardan çalkalama sıvısına bakteri salınımı HA kaplı ve kaplamasız implantlara oranla belirgin miktarda az olmuştur. Ayrıca inkübasyon sıvısında serbest gümüş iyonu tespit edilmemiştir. İmplantlardan kantitatif kültür sayımında da P57ABT/ABT kaplanmış implantlardaki bakteri sayısının HA kaplanmış ve kaplanmamış implantlara oranla çok düşük olduğu gözlemlenmiştir. İnkübasyon sonrasında Ti6Al4V implantların SEM ile yüzeylerindeki bakteri miktarı incelenmiştir. Ti6Al4V implant ve HA kaplanmış implantta bakteri gözlemlenirken, 6P57ABT/ABT kaplanmış implantta rastlanmamıştır. Bu sonuçlar neticesinde kaplı implantların antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Ti6Al4V implantların 6P57ABT üzerine ABT ile kaplanması sonucunda kısa sürede başlayan ve deneyin yapıldığı 24 saat süresince ile antibakteriyel etkisi saptanmıştır.

Ti6Al4V intramedüller çivilerin in vivo deneyleri sonucunda hematolojik incelemelerde gruplar arasında başlangıç ve düzeylerinde farklılıklar saptanmamıştır. Mikrobiyolojik incelemeler için deneklerden alınan intramedüller sürüntü kültürlerinde, 6P57ABT/ABT kaplı implantlar diğer gruplar ile karşılaştırıldığında bakteri üremesi daha az olduğu belirlenmiştir. Çivilerin üzerinden yapılan bakteri ekimi sonrası birim alanda üreyen bakteri sayısına göre değerlendirme yapıldığında ise 6P57ABT/ABT kaplı implant üzerindeki bakteri sayısının diğer gruplara oranla belirgin olarak daha az olduğu saptanmıştır. Histolojik incelemeler neticesinde kaplamasız implantlarda HA kaplı ve 6P57ABT/ABT kaplı implantlara oranla daha fazla enflamasyon gözlemlenmiştir. Histolojik örnekler fibröz doku oluşumu açısından incelendiğinde gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. Olgulardan alınan kanların tamamında ve karaciğer, dalak, beyin, kalp ve böbrek örneklerinin tamamında gümüş saptanmamıştır.

Bu doktora tez çalışması ile elde edilen sonuçlar doğrultusunda; 6P57ABT kompozisyonu üzerine ABT tozunun elektrosprey yöntemi kullanılarak kaplanması ile elde edilen 316L paslanmaz çelik eksternal fiksasyon çivileri ve Ti6Al4V intramedüller çivilerinin kullanılması sayesinde, implant ilişkili enfeksiyonların önüne geçilebileceği, yöntemin komplikasyonlarının azalacağı, başarı ve güvenilirliğinin artacağı açıktır.

KAYNAKLAR

- [1] Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Lemons, J.E. ve Schoen, F.J., *Biomaterials science: an introduction to materials in Medicine*, California:Academic Press (1996).
- [2] Üçişik, H.A., *Klinik Gelişim*, İstanbul Tabip Odası Yayinlari, **12**, 3375-3378 (1994).
- [3] Simchi, A., Tamjid, E., Pishbin, F. ve Boccaccini, A.R., *Recent progress in inorganic and composite coatings with bactericidal capability for orthopaedic applications*, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, **7**, 22-39 (2011).
- [4] Harris, L.G. ve Richards, R.G., *Staphylococci and implant surfaces: a review*, *Injury Int. J. Care Injured*, **37**, 3-14 (2006).
- [5] Duan, K. ve Wang, R., *Surface modifications of bone implants through wet chemistry*, *Journal of Materials Chemistry*, **16**, 2309-2321 (2006).
- [6] Chen, W., Oh, S., Ong, A.P., Oh, N., Liu Y., Courtney, H.S., Appleford, M. ve Ong, J.L., *Antibacterial and osteogenic properties of silver-containing hydroxyapatite coatings produced using a sol gel process*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **82A**(4), 899-906 (2007).
- [7] Zilberman, M. ve Elsner, J.J., *Antibiotic-eluting medical devices for various applications*, *Journal of Controlled Release*, **130**, 202–215 (2008).
- [8] Trampuz, A., Osmon, D.R., Hanssen, A.D., Steckelberg, J.M. ve Patel, R., *Molecular and Antibiofilm Approaches to Prosthetic Joint Infection*, *Clinical Orthopaedics & Related Research*, **414**, 69-88 (2003).
- [9] Gristina, A.G., *Biomaterial Centered Infection: Microbial Adhesion versus Tissue Integration*, *Science*, **237**, 1855-1987, (1987).
- [10] Nablo, B.J., Rothrock, A.R. ve Schoenfisch, M.H., *Nitric oxide-releasing sol-gels as antibacterial coatings for orthopedic implants*, *Biomaterials*, **26**(8), 917-924 (2005).
- [11] An, Y.H. ve Friedman R.J., *Prevention of sepsis in total joint arthroplasty*, *Journal of Hospital Enfection*, **33**(2), 93-108 (1996).
- [12] Yüce, A. ve Çakır, N., *Hastane Enfeksiyonları*, Nobel Tıp Kitabevi (2003).

- [13] Pekşen, Y., *Hastane İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi*, Klinik Dergisi, **6**(3), 100-101 (1993).
- [14] Akdur, R., *Çağdaş Sağlık ve Sağlık Hizmetleri Kavramları, Bu Kavramlara Etki Eden Dinamikler*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları (1998).
- [15] Park, B.J., ve Bronzino J.D., *Biomaterials: principles and applications*, New York CRC Press, (2003).
- [16] Altıntaş, M., *Klinik gelişim*, İstanbul Tabip Odası Yayınları, **12**, 3408-3412 (1994).
- [17] Holmes, E. R., *Plastic Surgery*, **1**, Saunders Company, ABD (1990).
- [18] Ducheyne, P. ve Hastings, W. G., *Metal and Ceramic Biomaterials*, **1**, CRC Press, ABD (1984).
- [19] Silver, H. F. ve CHRISTIANSEN L. D., *Biomaterials Science and Biocompatibility*, Springer, ABD (1999).
- [20] Walczak, J., Shahgaldi, F., Heatley, F., *In vivo corrosion of 316L stainless-steel hip implants: morphology and elemental compositions of corrosion products*, Biomaterials, **19**, 229-37 (1998).
- [21] Hsu, R., Yang, C.C., Huang, C. ve Chen, Y., *Electrochemical corrosion properties of Co-Cr-Mo implant alloy in the biological environment*, Materials Chemistry & Physics, **93**, 531-538 (2005).
- [22] Yaszemski, M.J., Trantolo, D.J., Lewndrowski, K.U., Hasirci, V., Altobelli, D.E. ve Wise, D.L., *Biomaterials in orthopedics*, New York: Marcel Dekker, (2004).
- [23] Hsu, R.W.W., Yang, C.C., Huang, C.A. ve Chen, Y.S., *Electrochemical corrosion properties of Ti-6Al-4V implant alloy in biological environment*, Mater Sci Eng A, **380**, 100-109 (2004).
- [24] Silver, F. ve Doillon, C., *Biocompatibility: interactions of biological and implantable materials*, **1**, New York: VCH Publishers (1989).
- [25] Katti, S. K., *Biomaterials in total joint replacement*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **39**, 133-142 (2004).
- [26] Hench, L. ve Wilson, J., *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific, Singapore (1993).
- [27] http-1: <http://www.hipsforyou.com/strykerceramichip.php>

- [28] [http-2: http://www.ioi.com/](http://www.ioi.com/)
- [29] Kärholm, J., Anderber, C., Snorrason, F., Thanner, J., Langeland, N., Malchau, H. ve Herberts, P., *Evaluation of a femoral sStem with reduced stiffness : A randomized study with use of radiostereometry and bone densitometry*, J Bone Joint Surg Am, **84**(9), 1651-1658 (2002).
- [30] Chai, F., Hornez, J.C., Blanchemain, N., Neut, C., Descamps, M. ve Hildebran, H.F., *Antibacterial activation of hydroxyapatite (HA) with controlled porosity by different antibiotics*, Biomolecular Engineering, **24**, 510–514 (2007).
- [31] Lopez-Esteban, S., Saiz, E., Fujino, S., Oku, T., Suganuma K. ve Tomsia, A.P., *Bioactive glass coatings for orthopedic metallic implants*, Journal of the European Ceramic Society, **23**(15), 2921-2930 (2003).
- [32] Leonardi, E., Ciapetti, G., Baldini, N., Novajra, G., Verné, E., Baino, F. ve Vitale-Brovarone, C., *Response of human bone marrow stromal cells to a resorbable P(2)O(5)-SiO(2)-CaO-MgO-Na(2)O-K(2)O phosphate glass ceramic for tissue engineering applications*, Acta Biomaterialia, **6**(2), 598-606 (2010).
- [33] Ravarian, R., Moztarzadeh, F., Hashjin, M.S. , Rabiee, S.M., Khoshakhlagh P. ve Tahriri, M., *Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite* , Ceramics International, **36**, 291–297 (2010).
- [34] Hench, L.L., *The Story of Bioglass*, J Mater Sci: Mater Med, **17**, 967–978 (2006).
- [35] Aydıngöz Ö., *Klinik Gelişim*, İstanbul Tabip Odası Yayınları, **7**(12), 3379-3384 (1994).
- [36] Geetha, M., Singh, A.K., Asokamani, R. ve Gogia, A.K., *Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants–A review*, Progress in Materials Science, **54**, 397–425 (2009).
- [37] Olszta, M.J., Cheng, X., Jee, S.S., Kumar, R., Kim, Y.Y. ve Michael, J., *Bone structure and formation: a new perspective*, Materials Science & Engineering R-Reports, **58**, 77-116 (2007).

- [38] Rho, J.Y., Kuhn-Spearing, L. ve Zioupos, P., *Mechanical properties and the hierarchical structure of bone*, Med Eng Phys, **20**, 92-102 (1998).
- [39] http-3: <http://www.hiwtc.com/products/orthopedic-implants-totalorthopedic-solution-330772-17192.htm>
- [40] http-4: <http://ahmedabad.olx.in/orthopedic-implants-iid-40206238>
- [41] http-5: http://en.wikipedia.org/wiki/Internal_fixation
- [42] http-6: <https://www.mja.com.au/journal/2011/194/12/>
- [43] http-7: <http://www.betaorthoimplants.com/hip-prosthesis-439822.html>
- [44] http-8: <http://www.medicaexpo.com/medical-manufacturer/knee-prosthesis>
- [45] Mahan, J., Seligson, D., Henry, S., Hynes, P. ve Dobbins, J., *Factors in pin tract infections*, Orthopedics, **14**, 305-308 (1991).
- [46] Öztürk, R., *Antiseptik Dezenfektan Maddelere Karşı Direnç Sorunu*, Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane İnfeksiyonları, Simad Yayınları,**1**, 41-60 (2004).
- [47] Brutel De La Riviere, A., Dossche, K.M., Birnbaum, D.E. ve Hacker, R., *First clinical experience with a mechanical valve with silver coating*, J Heart Valve Dis, **9**(1),123-129 (2000).
- [48] Schierholz, J.M., Lucasj, L.J., Rump, A. ve Pulverer, G., *Efficacy of silver-coated medical devices*, J Hos Inf, **40**, 257-262 (1998).
- [49] http-9: <http://www.adremed.com/?newUrun=1&Id=45199>
- [50] Bong, M.R., Koval, K.J., ve Egol, K.A., *The history of intramedullary nailing*, Bull NYU Hosp Jt Dis, **64**(3-4), 94-97 2006
- [51] Rush, L.V. ve Rush, H.L., *A technique for longitudinal pin fixation of certain fractures of the ulna and of the femur*, J Bone Joint Surg Am, **21**, 619-626 (1939).
- [52] Modny, M.T. ve Lewert, A.H., *Transfixion intramedullary nail*, Orthop Rev, **15**, 83-88 (1986).
- [53] Zickel, R.E., *A new fixation device for subtrochanteric fractures of the femur: A preliminary report*, Clin Orthop Relat Res, **54**, 115-123 (1967).
- [54] Mueller, M., Burger, C., Florczyk, A., Striepens, N. ve Rangger, C., *Elastic stable intramedullary nailing of midclavicular fractures in adults: 32 patients followed for 1-5 years*, Acta Orthop, **78**(3), 421-423 (2007).

- [55] Hunter, J.B., *The principles of elastic stable intramedullary nailing in children*, Injury, **36**, 20-24 (2005).
- [56] Evis, Z. ve Doremus, R.H., *Coatings of Hydroxyapatite-nanosize alpha alumina composites on Ti-6Al-4V*, Materials Letters, **59**, 3824-3827 (2005).
- [57] Mondragon-Cortez, P. ve Vargas-Gutierrez, G., *Electrophoretic deposition of hydroxyapatite submicron particles at high voltages*, Materials Letters, **58**, 1336-1339 (2004).
- [58] SONG, Y.W., SHAN, D.Y. ve HAN, E.H., *Electrodeposition of hydroxyapatite coating on AZ91D magnesium alloy for biomaterial application*, Materials Letters, **62**, 3276-3279 (2008).
- [59] [http-10: www.azom.com](http://www.azom.com) - Hydroxyapatite Coatings An Overview
- [60] Jeffrey Brinker, C., Sherer, G.W., *Sol-Gel Science, The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press, (1990).
- [61] Jon G.P. Binner, *Advanced Ceramic Processing and Technology, Vol.1*, Noyes Publications, (1990)
- [62] Nanning, J., A.B.D Patent 4,568,578, 4 Şubat (1986).
- [63] Fenga, H.P., Hsub, C.H., Lub, J.K. ve Shyb, Y.H., *Effects of PVD sputtered coatings on the corrosion resistance of AISI 304 stainless steel*, Mat. Sci. Eng., **A347**(1), 123-129 (2003).
- [64] [http-11 : http://www.gitam.edu/eresource/nano/nanotechnology/bottamup](http://www.gitam.edu/eresource/nano/nanotechnology/bottamup)
- [65] Sun, L., Berndt, C.C. ve Grey, P.C., “Phase, structural and microstructural investigations of plasma spray hydroxyapatite coatings”, Mat. Sci. Eng., **A360**, 70-84 (2003).
- [66] Lynn, A.K. ve DuQuesnay, D.L., “Hydroxyapatite coating Ti-6Al-4V Part 1: the effect of coating thickness on mechanical fatigue behaviour”, Biomaterials, **23**, 1937-1946 (2002).
- [67] Miao, P. ve Balachandran, W., *Formation of ceramic thin films using Electrospray in cone-jet mode*, IEEE Transactions on Industry Applications, **38**(1), (2002).
- [68] Miao, P., Balachandran, W. ve Wang, J.L., *Electrostatic generation and theoretical modelling of ultra fine spray of ceramic suspensions for thin film preparation*, Journal of Electrostatics, **51**, 43-49 (2001).

- [69] Chen, C.H., Emond, M.H.J., Kelder, E.M., Meester, B. ve Schooman, J., *Electrostatic sol-spray deposition of nanostructured ceramic thin films*, Journal of Aerosol Science, **30**(7), 959-967 (1999).
- [70] Jaworek, A., *Micro and nanoparticle production by electrospraying*, Powder Technology, **176**(1), 18-35 (2007).
- [71] Maissel, L.I. ve Glang, R., *Handbook of thin film technology*, McGrawHill, (1970).
- [72] Balachandran, W., Miao, P. ve Xiao, P., *Electrospray of fine droplets of ceramic suspensions for thin film preparation*, Journal of Electrostatics, **50**, 249-263 (2001).
- [73] Gaskell, S.J., *Electrospray: Principles and Practice*, Journal of Mass Spectrometry, **32**, 677-688 (1997).
- [74] Zhao, L., Chu, P.K., Zhang, Y. ve Wu Z., *Antibacterial coatings on titanium implants.*, J Biomed Mater Res Appl Biomater, **91**(B), 470–480 (2009).
- [75] Harris, L.G. ve Richards, R.G., *Staphylococci and implant surfaces: a review*, Injury, **37**(2), 3-14 (2006).
- [76] Hetrick, E.M. ve Schoenfisch, M.H., *Reducing implant-related infections: Active release strategies*, Chem Soc Rev, **35**, 780-789 (2006).
- [77] Dunne, W.M., *Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately?*, Clin Microbiol Rev, **15**, 155-166 (2002).
- [78] Donlan, R.M. ve Costerton, J.W., *Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*, Clin Microbiol Rev, **15**, 167-193 (2002).
- [79] Lewis K. Riddle of biofilm resistance. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:999–1007.
- [80] Melcher, G.A., Claudi, B., Schlegel, U., Peren, S.M., Printzen, G. ve Munzinger, J., *Influence of type of medullary nail on the development of local infection. An experimental study of solid and slotted nails in rabbits*, J Bone Joint Surg, **76**(B), 955-959 (1994).
- [81] Arens, S., Schlegel, U., Printzen, G., Ziegler, W.J., Perren, S.M. ve Hansis, M., *Influence of materials for fixation implants on local infection. An experimental study of steel versus titanium DCP in rabbits*, J Bone Joint Surg, **78**(4), 647-51 (1996).

- [82] Schierholz, J.M., Lucasj, L.J., Rump, A. ve Pulverer, G., *Efficacy of silver-coated medical device*, J Hosp Infec, **40**, 257-262 (1998).
- [83] Green, S.A., *Complications of external skeletal fixation causes, prevention and treatment*, Springfield, IL: Charles C Thomas (1981).
- [84] Tamai, K., Kawate, K., Kawahara, I., Takakura, Y. ve Sakaki, K., *Inorganic antimicrobial coating for titanium alloy and its effect on bacteria*, J Orthop Sci, **14**, 204-209 (2009).
- [85] Patzakis, M.J., Harvey, J.P. ve Ivler, D., *The role of antibiotics in the management of open fractures*, J Bone Joint Surg Am, **56**, 532-41 (1974).
- [86] Patzakis, M.J., Bains, R.S., Lee, J., Shepherd, L., Singer, G., Ressler, R., Harvey, F. ve Holtom, P., *Prospective, randomized, double-blind study comparing single-agent antibiotic therapy, ciprofloxacin, to combination antibiotic therapy in open fracture wounds*, J Orthop Trauma, **14**(8), 529-533 (2000).
- [87] Radin, S., Campbell, J.T., Ducheyne, P. ve Cuckler, J.M., *Calcium phosphate ceramic coatings as carriers of vancomycin*, Biomaterials, **18**(11), 777-782 (1997).
- [88] Pyragas, K., *Delayed feedback control of chaos*, Philos Trans R Soc A, **364**, 2309- 2334 (2006).
- [89] Kingshott, P., Wei, J., Bagge-Ravn, D., Gadegaard, N. ve Gram, L., *Covalent Attachment of Poly(ethylene glycol) to Surfaces, Critical for Reducing Bacterial Adhesion*, Langmuir, **19**, 6912-6921 (2003).
- [90] Luginbuehl, V., Meinel, L., Merkle, H.P. ve Gander, B., *Localized delivery of growth factors for bone repair*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, **58**(2), 197-208 (2004).
- [91] Chen, Y., Zheng, X., Xie, Y., Ding, C., Ruan, H. ve Fan, C., *Anti-bacterial and cytotoxicity of plasma sprayed silver-containing HA coatings*, J Mater Sci-Mater M, **19**, 3603-3609 (2008).
- [92] Chen, W., Liu, Y., Courtney, H.S., Bettenga, M., Agrawal, C.M., Bumgardner, J.D. ve Ong, J.L., *In vitro anti-bacterial and biological*

properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating, Biomaterials, 27, 5512-5517 (2006).

- [93] Bosetti, M., Masse, A., Tobin, E. ve Cannas, M., *Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity*, Biomaterials, **23**, 887-892 (2002).
- [94] Evans, R.P. ve Nelson, C.L., *Gentamicin-impregnated polymethyl methacrylate beads compared with systemic antibiotic therapy in the treatment of chronic osteomyelitis*, Clin Orthop Relat Res, **295**, 37-42 (1993).
- [95] Zelken, J., Wanich, T., Gardner, M., Griffith, M. ve Bostrom, M., *PMMA is superior to hydroxyapatite for colony reduction in induced osteomyelitis*, Clin Orthop Relat Res, **462**, 190-194 (2007).
- [96] Mendel, V., Simanowski, H.J., Scholz, H.C. ve Heymann, H., *Therapy with gentamicin-PMMA beads, gentamicin-collagen sponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to Staphylococcus aureus in rats*. Arch Orthop Trauma Surg, **125**(6), 363-368 (2005).
- [97] Kanellakopoulou, K. ve Giamarellos-Bourboulis, E.J., *Carrier systems for the local delivery of antibiotics in bone infections*, Drugs, **59**, 1223-1232 (2000).
- [98] Browne, M. ve Gregson, P.J., *Effect of mechanical surface pretreatment on metal ion release*, Biomaterials, **21**, 385-392 (2000).
- [99] Yang, Y., Kim, K. ve Ong, J.L., *A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process-An alternative to plasma spraying*, Biomaterials, **26**, 327-337 (2005).
- [100] Oosterbos, C.J.M., Vogely, H.C., Nijhof, M.W., Fler, A., Verbout, A.J., Tonino, A.J. ve Dier W.J.A., *Osseointegration of hydroxyapatite-coated and noncoated Ti6Al4V implants in the presence of local infection A comparative histomorphometrical study in rabbits*. J Biomed Mater Res, **60**, 339-347 (2002).
- [101] Laure, B, Besnier, J.M., Bergemer-Fouquet, A.M., Marquet-Van Der Mee, N., Damie, F., Quentin, R., Favard, L., ve Rosset, P., *Effect of*

hydroxyapatite coating and polymethylmethacrylate on stainless steel implant-site infection with Staphylococcus epidermidis in a sheep model, J Biomed Mater Res A, **84**(1), 92-98 (2008).

- [102] Opalchenova, G., Dyulgerova, E. ve Petrov, O.E., *Effect of calcium phosphate ceramics on Gram-negative bacteria resistant to antibiotics*, J Biomedical Mat Res, **32**, 473-479 (1996).
- [103] Moroni, A., Heikkila, J., Magyar, G., Toksvig-Larsen, S. ve Giannini, S., *Fixation strength and pin tract infection of hydroxyapatite-coated tapered pins*, Clin Orthop Relat Res, **388**, 209-217, 2001.
- [104] Nablo, B.J., Prichard, H.L., Butler, R.D., Klitzman, B. ve Schoenfish, M.H., *Inhibition of implant-associated infections via nitric oxide release*, Biomaterials, **26**, 6984-6990 (2005).
- [105] Hetrick, E.M., Prichard, H.L., Klitzman, B. ve Schoenfish, M.H., *Reduced foreign body response at nitric oxide-releasing subcutaneous implants*. Biomaterials, **28**, 4571-4580 (2007).
- [106] Charville, G.W., Hetrick, E.M., Geer, C.B. ve Schoenfish, M.H., *Reduced bacterial adhesion to fibrinogen-coated substrates via nitric oxide release*, Biomaterials, **29**, 4039-4044 (2008).
- [107] Smith, D.J., Chakravarthy, D., Pulfer, S., Simmons, M.L., Saavedra, J.E. ve Davies, K.M., *Nitric oxide-releasing polymers containing the [N(O)NO]-group*, J Med Chem, **39**, 1148-1156 (1996).
- [108] Frost, M.C., Reynolds, M.M. ve Meyerhoff, M.E., *Polymers incorporating nitric oxide releasing/generating substances for improved biocompatibility of blood-contacting medical devices*, Biomaterials, **26**, 1685-1693 (2005).
- [109] [http-2: http://www.TiO2_Centre_files\TiO2_Centre.htm](http://www.TiO2_Centre_files\TiO2_Centre.htm)
- [110] [http-3: http://www.dscera.co.kr](http://www.dscera.co.kr)
- [111] Oka, Y., Kim, W.C., Yoshida, T., Hirashima, T., Mouri, H. ve Urade, H., *Efficacy of titanium dioxide photocatalyst for inhibition of bacterial colonization on percutaneous implants*, J Biomed Mater Res B, **86**, 530-540 (2008).

- [112] Cheng, C.L., Sun, D.S., Chu, W.C., Tseng, Y.H., Ho, H.C. ve Wang, J.B., *The effects of the bacterial interaction with visible-light responsive titania photocatalyst on the bactericidal performance*, J Biomed Sci, **16**, (2009).
- [113] Boccaccini, A.R., Karapappas, P., Marijuan, J.M. ve Kaya, C., *TiO₂ coatings on silicon carbide and carbon fibre substrates by electrophoretic deposition*, J Mater Sci, **39**, 851-859 (2004).
- [114] Chung, C.J., Lin, H.I., Chou, C.M., Hsieh, P.Y., Hsiao, C.H. Ve Shi Z.Y., *Inactivation of Staphylococcus aureus and Escherichia coli under various light sources on photocatalytic titanium dioxide thin film*, Surf Coat Tech, **203**, 1081-1085 (2009).
- [115] Hardes, J., Ahrens, H., Gebert, C., Streitbuerger, A., Buerger, H., Erren, M., Gonsel, A., Wedemeyer, C., Saxler, G., Winkelmann, W. ve Gosheger, G., *Lack of toxicological side-effects in silver-coated megaprotheses in humans*, Biomaterials, **28**, 2869-2875 (2007).
- [116] Laga, M., Meheus, A. ve Piot, P., *Epidemiology and control of gonococcal ophthalmia neonatorum*. Bulletin of the World Health Organization, **67**(5), 471-478 (1989).
- [117] Klase, H.J., *Historical review of the use of silver in the treatment of burns. I Early uses*, Burns, **26**, 117-130 (2000).
- [118] Valappil, S.P., Pickup, D.M., Carroll, D.L., Hope, C.K., Pratten, J., Newport, R.J., Smith, M.E., Wilson, M. ve Knowles, J.C., *Effect of silver content on the structure and antibacterial activity of silver-doped phosphate-based glasses*, Antimicrob Agents Ch, 4453–4461 (2007).
- [119] Bosetti, M., Masse, A., Tobin, E. ve Cannas, M., *Silver coated materials for external fixation devices in vitro biocompatibility and genotoxicity*, Biomaterials, **23**, 887-892 (2002).
- [120] Zhao, G. ve Stevens, S. E., *Multiple Parameters for the Comprehensive Evaluation of the Susceptible of Escherichia_coli to the Silver Ion*, Biomaterials, **11**, 27-32 (1998).
- [121] Hanna, H., Bahna, P., Reitze, R., Dvorak, T., Chaiban, G., Hachem, R., ve Raad, I., *Comparative in vitro efficacies and antimicrobial durabilities of*

novel antimicrobial central venous catheters. Antimicrob Agents Chemother, 3283–3288 (2006)

- [122] Yorganci, K., Krepel, C., Weigelt, J.A., Edmiston, C.E., *In vitro evaluation of the antibacterial activity of three different central venous catheters against gram-positive bacteria*, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **21**, 379-384 (2002).
- [123] Gosheger, G., Harges, J., Ahrens, H., Streitburger, A., Buerger, H., Eren, M., Gonsel, A., Kemper, F.H., Winkelmann, W. ve Eiff, C., *Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects*, *Biomaterials*, **25**, 5547-5556 (2004).
- [124] Alt, V., Bechert, T., Steinrücke, P., Wagener, M., Seidel, P., Dingeldein, E., Domann, E. ve Schnettler, R., *An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement*, *Biomaterials*, **25**(18), 4383-4391 (2004).
- [125] Shimazaki, T., Miyamoto, H., Ando, Y., Noda, I., Yonekura, Y., Kawano, S., Miyazaki, M., Mawatari, M. ve Hotokebuchi, T., *In vivo antibacterial and silver-releasing properties of novel thermal sprayed silver-containing hydroxyapatite coating*, *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, **92**(B), 386-389 (2010).
- [126] Chen, Y., Zheng, X., Xie, Y., Ding, C., Ruan, H. ve Fan, C., *Anti-bacterial and cytotoxic properties of plasma sprayed silver containing HA coatings*, *J Mater Sci: Mater Med*, **19**, 3603-3609 (2008).
- [127] Page, K., Palgrave, R.G., Parkin, I.P., Wilson, M., Savin, S.L.P. ve Chadwick, A.V., *Titania and silver-titania composite films on glass-potent antimicrobial coatings*, *J Mater Chem*, **17**, 95-104 (2007).
- [128] Bilgehan, H., *Klinik Mikrobiyoloji*, Barış Yayınları (2000).
- [129] [http-12: www.lbl.gov](http://www.lbl.gov)
- [130] [http-13: www.astrographics.com](http://www.astrographics.com)
- [131] Öztürk, R., *Antiseptik ve Dezenfektan Maddeler Karşı Direnç Sorunu, Sterilizasyon Dezenfeksiyon ve Hastane Enfeksiyonları*, Simad Yayınları, **1**, 41-60 (2004).

- [132] Bannerman, T.L., *Gram-Positive Cocci, Staphylococcus, Micrococcus, and other Catalase-Positive Cocci That Grow Aerobically*, Editörler: Patrick R Murray, Ellen Jo Baron, James H Jorgensen, Michael A. Pealler, Robert H. Yolken, *Manual of Clinical Microbiology*, 4, 384-404, ASM Pres, Washington DC (2003).
- [133] Akiyama, H., Ueda, M., Kanzaki, H., Tada, J. ve Arata J., Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from impetigo and furuncle: role of fibrinogen and fibrin, *J Dermatol Sci*, **16**, 2-10 (1997).
- [134] [http-14:www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refId-mc02b02.html](http://14:www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refId-mc02b02.html)
- [135] Chen, W., Liu, Y., Courtney, H.S., Bettenga, M., Agrawal, C.M., Bumgardner, J.D. ve Ong, J.L., *In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating*, *Biomaterials*, **27**, 5512-5517 (2006).
- [136] Hendriks, J.G., Van Horn J.R., Van Der Mei, H.C. ve Busscher, H.J., *Backgrounds of antibiotic loaded bone cement and prosthesis related infection*, *Biomaterials*, **25**, 545-556 (2004).
- [137] Yuan, W., Ji, J., Fu, J. ve Shen, J., *A facile method to construct hybride multilayered films as a strong and multifunctional antibacterial coating*, *J Biomed Mater Res B*, **85**, 556-563 (2007).
- [138] Copello, G.J., Teves, S., Degrossi, J., D'aquino, M., Desimone, M.F. ve Diaz, L.E., *Antimicrobial activity on glass materials subject to disinfectant xerogel coating*, *J Ind Microbiol Biotechnol*, **33**, 343-348 (2006).
- [139] Feng, Q.L., Kim, T.N., Wu, J., Park, E.S., Kim, J.O. ve Lim, D.Y., *Antibacterial effects of Ag-Hap thin films on alumina substrates*, *Thin Solid Films*, **335**, 214-219 (1998).
- [140] Montali, A., *Antibacterial coating systems*, *Int. J. Care Injured*, **37**, 81-86 (2006).
- [141] Forster, H., Marotta, J.S. ve Heseltine, K., *Bactericidal activity of antimicrobial coated polyurethane sleeves in open fractures*, *Clin Orthop Res*, **22**(3), 671-677 (2004).

- [142] Shi, Z., Neoh, K.G., Kang, E.T. ve Wang, W., *Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles*, Biomaterials, **27**, 2440-2449 (2006).
- [143] Schmidmaier G., Lucke, M., Wildemann, B., Haas N.P., ve Raschke, M., *Prophylaxis and treatment of implant related infections by antibiotic coated implants: a review*, Int. J. Care Injured, **37**, 105-112 (2006).
- [144] Nohr, R.S. ve Macdonald, J.G, *New biomaterials through surface segregation phenomenon: new quaternary ammonium compounds as antibacterial agents*, J. Biomater. Sci. Polym. Ed., **5**, 607-619 (1994).
- [145] Ewald, A., Gluckermann, S.K., Thull, R. ve Gbureck, U., *Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium*, Biomed Eng, **5**, 22-27 (2006).
- [146] Leonardi, E., Ciapetti, G., Baldini, N., Novajra, G., Verné, E., Bains, F. ve Vitale-Brovarone C., *Response of human bone marrow stromal cells to a resorbable P(2)O(5)-SiO(2)-CaO-MgO-Na(2)O-K(2)O phosphate glass ceramic for tissue engineering applications*, Acta Biomaterialia, **6**(2), 598-606 (2010).
- [147] Ravarian, R., Moztaizadeh, F., Hashjin, M.S., Rabiee, S.M., Khoshakhlagh, P. ve Tahriri, M., *Synthesis, characterization and bioactivity investigation of bioglass/hydroxyapatite composite*, Ceramics International, **36**, 291-297 (2010).
- [148] Lopez-Esteban, S., Saiz, E., Fujino, S., Oku, T., Suganuma, K. ve Tomsia, A.P., *Bioactive glass coatings for orthopedic metallic implants*, Journal of the European Ceramic Society, **23**(15), 2921-2930 (2003).
- [149] Bellucci, D., Cannillo, V. ve Sola, A., *Coefficient of thermal expansion of bioactive glasses: Available literature data and analytical equation estimates*, Ceramics International, **37** (8), 2963-2972 (2011).
- [150] http-15: <http://www.osti.gov/bridge/servlets/purl/788020>
- [151] Hoffman, J.D ve Kimrey D.H., A.B.D Patent 5,266,762, 30 Kasım, (1993).
- [152] Bera, S., Gangopadhyay, P., Nair, K.G.M., Panigrahi, B.K., Narasimhan, S.V., *Electron spectroscopic analysis of silver nanoparticles in a soda-glass matrix*, Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena, **152**, 91-95 (2006)

- [153] Pekşen, C., *Metal iyon katkili kalsiyum fosfat esaslı antibakteriyel tozun karakterizasyonu ve sitotoksitesinin belirlenmesi*, Yüksek Lisan Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü (2006).
- [154] Demirkiran, H., Hu, Y., Zuin, L., Appathurai, N. ve Aswath P.B., *XANES analysis of calcium and sodium phosphates and silicates and hydroxyapatite–Bioglass®45S5 co-sintered bioceramics*, *Materials Science and Engineering C*, **31**, 134-143 (2011).
- [155] Bai, X. A., More, K., Rouleau, C. M., ve Rabiei, A., *Functionally graded hydroxyapatite coatings doped with antibacterial components*. *Acta Biomaterialia*, **6**(6), 2264-2273 (2010).
- [156] Barnes, D., Johnson, S., Snell, R. ve Best S., *Using scratch testing to measure the adhesion strength of calcium phosphate coatings applied to poly(carbonate urethane) substrates*, *Journal of the mechanical behavior of Biomedical Materials*, **6**, 128-138 (2012).
- [157] Zhang, S., Xianting, Z., Yongsheng, W., Kui, C. ve Wenjian W., *Adhesion strength of sol – gel derived fluoridated hydroxyapatite coatings*, *Surface and Coatings Technology*, **200**(22-23), 6350-6354 (2006).
- [158] Toque, J.A., Herliansyah, M.K., Hamdi, M., Ide-Ektessabi, A. ve Sopyan, I., *Adhesion failure behavior of sputtered calcium phosphate thin film coatings evaluated using microscratch testing*, *Journal of the mechanical behavior of Biomedical Materials*. **3**(4), 324-330 (2010).
- [159] Leeuwenburgh, S.C.G, Wolke, J.G.C, Lommen, L., Pooters, T., Schoonman, J., Jansen, J.A., *Mechanical properties of porous, electrosprayed calcium phosphate coatings*, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **7**(3), 558-569 (2006).
- [160] American Public Health Association, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, (Editörler: A.E.Greenberg, L.S. Clesceri, A.D. Eaton), **18**, Washington, U.S.A. (1992).