



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BOR NİTRÜR KAPLANMIŞ İMPLANTLARIN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Samet IŞIK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA
2018



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI

**BOR NİTRÜR KAPLANMIŞ İMPLANTLARIN ANTİBAKTERİYEL
ETKİNLİĞİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Samet IŞIK

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ömür ÇAĞLAR

ANKARA
2018

TEŞEKKÜR

Prof. Dr. A. Mazhar TOKGÖZOĞLU başta olmak üzere uzmanlık eğitimi boyunca emeği geçen ve desteğini esirgemeyen tüm öğretim üyelerine,

Bu çalışmanın konusunun belirlenmesi ve gerçekleştirilmesinde zamanını ve fikirleri ile her aşamada yanımda olan Doç. Dr. Ömür ÇAĞLAR'a ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gaye Özgür ÇAKAL'a,

Beraber çalıştığımız tüm Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı çalışanlarına ve tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Çalışmanın mikrobiyoloji kısmının planlanması ve sonuçlanmasında zaman ayıran ve labarotuvarda incelemelerinin yapılmasını sağlayan Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Özgen ESER'e,

Çalışmanın elektron mikroskopsisi incelemelerinde hazırlık ve inceleme kısmında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa F. SARGON'a,

Yazım aşamasında Biyoistatistik desteği sağlayan Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Sevilay KARAHAN'a,

Araştırma görevlisi olduğum ve süre içinde yanımda olan Zühal ÇALTEPE IŞIK'A teşekkürü borç bilirim.

ÖZET

IŞIK, S., Bor Nitrür Kaplanmış İmplantların Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2018. İmplant ilişkili enfeksiyonlar ortopedi ve travmatoloji pratiğinde nadir olmayan bir medikal durumdur. İmplant ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde enfeksiyon oluşumuna dirençli implantlar kullanılmakta, her geçen gün farklı yüzeylere sahip implantlar piyasaya sürülmekte ve yenileri geliştirilmektedir. Bu çalışmada, dört grup titanyum alaşım implantı farklı kaplama parametreleri ile bor nitrür ile kaplanarak etkinlikleri kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Her grup ve kontrol grubu için farklı kaplama parametreleri ile hazırlanan implantlar disk difüzyon ve koloni sayım yöntemi ile mikrobiyolojik etkinlik açısından incelenmiştir. Ayrıca, implantlar üzerlerinde oluşturulan biyofilm yapımı açısından elektron mikroskopisi ile incelenmiştir. Koloni sayımı ve elektron mikroskopisi için deneyler üç farklı biyofilm oluşturan bakteri türü ile gerçekleştirilmiştir. Disk difüzyon yöntemi ve koloni sayımı sonucunda kapladığımız implantların in vitro koşullarda antibakteriyel etkinlik açısından kontrol grubundan bir fark göstermediği belirlenmiştir. Elektron mikroskop ile inceleme sonucunda ise kontrol grubu implantların üzerinde bakteri kümeleri ve biyofilm oluşumu görülürken deney gruplarımızda yer yer bakteriler görülmekle birlikte biyofilm oluşumuna rastlanmamıştır. Sonuç olarak, bor nitrür kaplanmış implantların antimikrobiyal etkinliğe sahip olmadığı ancak biyofilm oluşumunu engellendiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler; implant, enfeksiyon, biyofilm, yüzey kaplama, periprostetik enfeksiyon.

Bu tez çalışması, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (HÜTF THD-2018-16916).

ABSTRACT

IŞIK, S., Investigation of Antibacterial Efficiency of Boron Nitride Coated Implants.

Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Orhtopaedics and Traumatology, Ankara, 2018.

Implant-related infections aren't a rare medical condition in orthopedics and traumatology practice. Infection resistant implants are used in the prevention and treatment of implant-related infections and new implant surfaces are being launched every day and new ones are being developed. In this study, four groups of titanium alloy implants with different coating parameters were covered with boron nitride and compared with the control group. For each group and control group, microbiological efficacy was investigated using disc diffusion and colony counting method. In addition, electron microscopy was used to examine the effect of boron nitride on prevention of biofilm production. Experiments for colony count and electron microscopy were performed with three different species of biofilm-forming bacteria. According to disc diffusion method and colony count, implants coated with boron nitride showed no difference in antibacterial activity compared with control group. While electron microscopy examination revealed bacterial clusters and biofilm formation on the control group implants, there was no biofilm formation in boron nitride covered implant groups. As a result, although boron nitride covered implants did not have antimicrobial activity, they showed an inhibitory effect on formation of biofilm.

Keywords; implant, infection, biofilm, surface coating, periprosthetic infection.

This study was supported with a grant by Hacettepe University Scientific Research Unit Funding Program with a Project number THD-2018-16916.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Protez Çevresi Enfeksiyon	3
2.1.1. Patojenez	3
2.1.2. Epidemiyoloji.....	5
2.1.3. Risk Faktörleri.....	6
2.1.4. Klinik	6
2.1.5. Sınıflama	6
2.1.6. Tanı	8
2.1.7. Tanı Testleri	9
2.1.8. Tedavi	14
2.1.9. Enfeksiyondan Korunma.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. BN KAPLI TİTANYUM ALAŞIM DİSKLERİN ELDE EDİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU	21
3.1.1. FTIR Testi.....	22
3.1.2. Nano Sertlik Ölçümü	24
3.1.3. Çizik Testi	24
3.1.4. Kalınlık Ölçümü	25
3.2. MİKROBİYOLOJİ İNCELEMELER	26

3.2.1. Disk Difüzyon.....	26
3.2.2. Bakteri Koloni Sayımı	26
3.2.3. SEM İncelemesi.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. KARAKTERİZASYON SONUÇLARI	28
4.1.1. FTIR Testi Sonuçları	28
4.1.2. Nano Sertlik Ölçümü Sonuçları	28
4.1.3. Çizik Testi Sonuçları.....	29
4.1.4. Kalınlık Ölçüm Sonuçları	30
4.2. DİSK DİFÜZYON	30
4.3. KOLONİ SAYIMI	32
4.4. SEM İNCELEMESİ.....	34
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ	45
7. KAYNAKLAR.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAOS	: American Academy of Orthopaedic Surgeons
Al	: Alüminyum
ark.	: Arkadaşları
ATCC	: American Type Culture Collection
ATR	: Attenuated Total Reflectance
BN	: Bor Nitrür
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
cBN	: Kübik-BN
cfu	: colony forming unit
cm	: Santimetre
CN10	: Gentamisin
Co	: Kobalt
CRP	: C-reaktif protein
dk	: Dakika
ESH	: Eritrosit sedimentasyon hızı
FDG	: Fludeoksiglikoz
FTIR	: Fourier Transform InfraRed
Fn	: Yük
HA	: Hidroksiapatit
hBN	: Hegzagonal-BN
L	: Litre
LO	: Longitudinal optic
IDSA	: The Infectious Diseases Society of America
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MPa	: Megapascal
ms	: Milisaniye

MALDI-TOF MS	: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spec trometry
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM	: Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules
N	: Newton
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NHT	: Nano sertlik
nm	: Nanometre
pd	: Derinlik
PET	: Pozitron emisyon tomografisi
RF	: Radyofrekans
rpm	: rounds per minute (dakikadaki devir sayısı)
SAM	: S-Adenozil Metiyonin
Ti	: Titanyum
TO	: Transverse optic
wBN	: Wurtzite-BN
V	: Vanadyum
vw	: Viewport Width
µm	: Mikrometre
\$	: Dolar

ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 3.1. a) Cihaz içinde kaplama yapılan implantlar ve BN plaka b) Vaksis RF-manyetron püskürtme sistemi.....	21
Şekil 3.2. FTIR cihazı.....	23
Şekil 3.3. Optik mikroskop, nano sertlik cihazı, afm cihazı ve mikro çizik testini bünyesinde barındıran açık platform.....	24
Şekil 3.4. Revetest Çizik Testi Ölçüm Cihazı.....	25
Şekil 3.5. F20 ince film kalınlık ölçüm cihazı.....	25
Şekil 4.1. FTIR testi sonuçları	28
Şekil 4.2. Numunelerin normal yüke (Fn) karşı derinlik (pd) grafiğikleri.....	29
Şekil 4.3. Çizik testi sonuçları.....	29
Şekil 4.4. Kontrol grubu ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi	30
Şekil 4.5. Grup 2 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi	31
Şekil 4.6. Grup 3 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi	31
Şekil 4.7. Grup 4 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi	32
Şekil 4.8. Grup 5 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi	32
Şekil 4.9. MRSA suşu ile koloni sayımı sonuçları	33
Şekil 4.10. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC suşu ile koloni sayımı sonuçları.....	33
Şekil 4.11. <i>Staphylococcus epidemidis</i> suşu ile koloni sayımı sonuçları.....	33
Şekil 4.12. Kontrol numunesi SEM görüntüsü	34
Şekil 4.13. Kontrol grubu a,b,c örneklerinde büyük oklar biyofilm oluşumunu gösteriyor	35
Şekil 4.14. 2. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.....	36
Şekil 4.15. 3. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.....	37

Şekil 4.16. 4. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor.

Biyofilm yok.....38

Şekil 4.17. 5. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor.

Biyofilm yok.....39



TABLolar

	Sayfa No
Tablo 2.1. Protez çevresi enfeksiyon sınıflaması, Fitzgerald 1995; Lindeque 2014.....	7
Tablo 2.2. Protez çevresi enfeksiyon sınıflaması, Tsukayama	7
Tablo 2.3. Enfeksiyondan korunmada alınacak önlemler	17
Tablo 3.1. İmplant gruplarının BN kaplanması sırasında kullanılan parametreler.	22
Tablo 3.2. BN'nin allotraoplarına ait dalga boyları	23
Tablo 4.1. Sertlik ölçüm sonuçları	28
Tablo 4.2. Kaplama kalınlık tablosu.....	30
Tablo 4.3. SEM sonuçlarının biyofilm açısından incelenmesi	34
Tablo 5.1. İmplant yüzey kaplamasında istenen gereklilikler	42

1. GİRİŞ

Gün geçtikçe nüfusun artması ile birlikte çoğalan travma hastalarında kullanılan içten kemik tespit implantlarının sayısı ve ilerleyen yaşa bağlı osteoartrit sıklığı nedeniyle kalça ve diz artroplastisi uygulanan hasta sayısı artmaktadır.

ABD’de yıllık 1.000.000’u aşan sayıda kalça ve diz artroplastisi uygulanmaktadır. Bu implantlar iki ana sebepten dolayı başarısızlığa uğramaktadır; bunlar %18 oranında aseptik gevşeme ve %20 oranında enfeksiyondur (1, 2). Artan enfeksiyon oranlarının sağlık sistemine ülkemizde ve dünyada gittikçe artan mali yükü olmaktadır. Primer total kalça artroplastisi sonrası ilk 2 yılda görülen enfeksiyon oranı genel olarak %1’den az, total diz artroplastisinde %2’den azdır (3). İnternal fiksasyon yapılan hastalarda %5’e yaklaşmaktadır (4). Bu oran revizyon ameliyatlarında daha da artmaktadır (5). İmplant ilişkili enfeksiyonlar tipik olarak mikroorganizmaların biyofilm adı verilen bir yapı oluşturması ve burada çoğalması ile ortaya çıkmaktadır (6). Enfeksiyon etkeni bakterilerin oluşturduğu biyofilm formasyonu; bakteri için koruyucu bir katman görevi görür ve bakteriyi antibiyotiklerden, bağışıklık sisteminden ve diğer önleyici faktörlerden korur (7, 8). Enfeksiyonlar erken ve geç olarak ikiye ayrılmaktadır; ilk 6 hafta erken daha sonra oluşan enfeksiyonlar geç enfeksiyon olarak tanımlanır (9). Erken enfeksiyonların önlenmesinde önemli bir yöntem implant yüzeyine bakteri adezyonunu önlemektir. Enfeksiyonun önlenmesinde implant yüzeyine adezyonun engellemesi ve/veya implant yüzeyinin bakterisidal etkisinin olması iki önemli stratejidir (10). Çeşitli mikroorganizmaların neden olduğu implant enfeksiyonların büyük çoğunluğu iki tür tarafından oluşturulmaktadır; bunlar, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*’tir (11). İmplant ilişkili enfeksiyonların tedavisinde izlenen yöntemler antibiyotik baskılama tedavisinden ampütasyona kadar geniş bir yelpazededir.

Tedavide başarıyı artırmak için yeni yöntemler geliştirilmektedir. Bunlardan biri enfeksiyona dirençli implantlardır. Bu implantlar değişik yöntemlerle geliştirilebilir; genel olarak; biyomateryal yüzeyinin, antiadeziv maddeler ile kaplanması, antimikrobiyal maddelerle güçlendirmek ve bu iki yöntemin

kombinasyonu olarak özetlenebilir (12). Eğer patojen bakterinin biyofilm oluşturması engellenebilirse, implant ilişkili enfeksiyonun oluşma ihtimali azaltılabilir (4).

Bu çalışmada amaç; tıp alanında, özellikle ortopedi ve travmatoloji, beyin cerrahisi gibi implant kullanılan tıp branşlarında karşılaşılan implant enfeksiyonlarının önüne geçmek ve/veya yeni bir tedavi yöntemi oluşturmak amacıyla RF(Radyofrekans)-manyetron saçtırma yöntemi ile BN kaplanan implantların invitro ortamda antibakteriyel ve antibiyofilm özelliklerinin araştırılmasıdır.

Projenin hedefleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

Çalışmanın hedefi; in vitro ortamda yapılacak çalışma için RF manyetron saçtırma yöntemi ile farklı kaplama parametrelerinde BN kaplanan materyalin karakterizasyon testleri yapılması, daha sonra, nicel bakteriyel yk araştırılması ve biyofilm oluşumu incelenmesidir.

Bu alışmanın H_0 hipotezi; BN kaplı materyalin biyofilm oluşumu üzerine etkisinin kontrol grubundan farklı olmayacağıdır.

2. GENEL BİLGİLER

Biyomalzemeler ortopedi alanında kullanıldığı gibi tıbbın diğer pek çok dalında da kullanılmaktadır. Bunlara birkaç örnek kalp kapak implantları, abdominal Mesh, eklem replasmanı implantları, kateteri olarak sıralanabilir (13-15). Total kalça replasmanı ve total diz replasmanı doğru teknik ile yapıldığı takdirde uzun süre fonksiyonel olarak kullanılabilen ve hastanın yaşam standartlarını yükseltmektedir (16, 17). Ayrıca travma hastalarında kullanılan implantlar herhangi bir lokal probleme yol açmaması durumunda ömür boyu vücutta kalabilmektedir (18).

Ortopedik implantlar ve diğer implantları incelediğimizde karşımıza çıkan en can sıkıcı problem olarak implant ilişkili enfeksiyonlar olarak görülmektedir. Ortopedi literatüründe “Protez Çevresi Enfeksiyon” olarak tanımlanan bu komplikasyon ile ilgili yayınlar her geçen gün artmakta ve sağlık sistemine maliyetinin büyük bir hızla arttığı görülmektedir. Kurtz ve ark. yaptığı bir projeksiyon çalışmasında 2020 yılında sadece diz ve kalça artroplastisi enfeksiyonlarının ABD’de maliyetinin 1,5 milyar \$ olacağı tahmin edilmektedir (19). Bununla birlikte yol açtığı komorbiditeler, hastanın psikolojik durumu, hastane ve doktora getirdiği yükler düşünüldüğünde önemi daha iyi anlaşılabilir.

2.1. Protez Çevresi Enfeksiyon

Diz ve kalça artroplastisi sonrası enfeksiyon oranları %2’nin altında gösterilmektedir (3). Ancak son dönemde yapılan çalışmalarda bu oranın %2’nin üzerinde olabileceği gösterilmiştir (20). Bu durum implantasyon sırasında eksojen veya endojen kaynaklarla olabileceği gibi sonradan hematogen kaynaklı olarak da meydana gelebilir. Mikrobiyolojik olarak en çok stafilokok türleri suçlanmaktadır.

2.1.1. Patojenez

Protez çevresi enfeksiyonları oluşum şekline göre kabaca üçe ayırmak mümkündür; bunlar, girişim sırasında direkt yayılım, komşu bir enfeksiyon odağından

direkt yayılım ya da kan yoluyla yayılım ile oluşabilir (3). Vücutta yabancı cisim olması enfeksiyon oluşması için gerekli olan bakteri konsantrasyonunu 100,000 kat azaltmakta ve nötrofil hücreleri üzerinde yaptığı defekt ile enfeksiyon olasılığını arttırmaktadır (21, 22). Çoğu implant ilişkili enfeksiyonun oluşumu sırasında biyofilm adı verilen bir slime tabakası önemli rol oynamaktadır (3, 23). Enfeksiyonların önlenmesi ve tedavi edilmesi için bu mekanizmanın anlaşılması ve buna uygun önlemler alınması, tedavinin bu özellikler göz önüne alınarak yapılması önem taşımaktadır.

2.1.1.1. Biyofilm

Bakteri ve implant bu yollardan her hangi biri ile karşı karşıya geldikten sonra enfeksiyon süreci de başlamış olur. 1987’de Gristina ve ark. *“race for the surface”* görüşünü ortaya koymuştur (24, 25). Bu teoriye göre implant yüzeyi için bakteri adezyonu ve doku entegrasyonu arasında bir yarış başlar. Konak doku entegrasyonun bakteri kolonizasyonundan önce gerçekleşmesi durumunda, bakteri kolonizasyonu önlenir ve enfeksiyon gelişiminin önüne geçilmiş olur. Yarış, bakteri hücreleri tarafından kazanılırsa implant yüzeyi bakteri tarafından oluşturulan biyofilm ile kaplanır (24-26).

İmplant bakteri ile karşılaştığında ilk olarak bakteri hücreleri ve implant arasında etkileşim gerçekleşir. Bu etkileşimde öncelikle bakteri implant üzerinde yerleşmektedir. Bu etkileşim iki aşamada gerçekleşmektedir; ilk aşama hidrofobik, elektrostatik etkileşimler, Van der Waals güçleri rol oynarken ikinci aşamada moleküler ve hücresel süreçler rol oynamaktadır (24, 27). Ayrıca Heilmann ve ark. bu aşamada *otolizin/adezin* adı verilen bir proteinin yüzey adezyonuna enzimatik ve adeziv özellikleri ile aracılık ettiğini göstermişlerdir (28). İlk aşamadan gerçekleşen etkileşimler geri dönüşlü iken ikinci aşamadaki etkileşimler geri dönüşsüz olmaktadır. Fiziksel olan ilk aşama gerçekleştikten sonra ikinci aşama olan moleküler ve hücresel süreçler başlar. Bu aşamada implantasyon sonrası implant üzerini fibronektin, fibrinojen, kollajen, laminin, ekstraselüler matriks bağlanma proteini gibi ekstraselüler matriks bileşenleri tarafından kaplanır (29). Bu sayede bakterilerin bu proteinler aracılığı ile yüzeye yapışması kolaylaşır. Bakteriler bu yapışma için kendi yüzeylerinde bulunan adezin ve MSCRAMM (*Microbial Surface Components*

Recognizing Adhesive Matrix Molecules) gibi yüzey reseptörlerini kullanırlar (30, 31). Ayrıca, bu reseptörlerden başka birçok reseptör bulundurmaktadır (32).

Yüzeye yapışma sonrasında bakteriler biyofilm yapısını oluşturmaya başlarlar. Biyofilmin oluşmasını genel olarak dört basamakta ele alabiliriz, bunlar; 1. geri dönüşlü ve geri dönüşsüz yapışma aşaması, 2. hücre kümelenmesi ve birikmesi, 3. matriks oluşumu ve matürasyon, 4. bakteri gruplarının ayrılıp planktonik evreye geçmesi ve yeni bir döngünün başlaması olarak sıralanmaktadır (33). Matür biyofilm yapısı polisakkaritler, proteinler ve ekstraselüler DNA'dan oluşmaktadır (33). Bu yapının düzenlemesi için bakterilerin kendi aralarında kullandıkları bir iletişim sistemi vardır. *Quorum sensing* adı verilen bu sistem bakterilerin biyofilm maturasyonu, bakteriler arasında gen ekspresyonu, virülans faktörlerinin transferi planktonik faza geçme ve çoğalma gibi birçok mekanizmanın kolektif bir biçimde kontrol edilmesini sağlamaktadır (34).

Bu yapı enfeksiyon tedavisinde büyük bir engel olarak karşımıza durmaktadır. Tedavideki bu zorluğun sebebi yapısının getirdiği dezenfektanlara direnç, bağışık sistemi hücrelerine karşı direnç geliştirmesi ve antibiyotik direnci olarak özetlenebilir (35). Antibiyotik direnci birkaç farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bakterileri metabolik adaptasyonu, oksijen gradiyentinin değişimi, düşük büyüme hızı, ekstraselüler matriks ve uyku fazında olan hücreler antibiyotik direncine neden olan başlıca mekanizmalardır (35).

2.1.2. Epidemiyoloji

Son yıllarda ameliyat odalarında kullanılan laminar akım, asepsi ve antisepsi kurallarının uygulanması ve profilaktik antibiyotik uygulaması gibi önlemler ile implant ilişkili enfeksiyonların sıklığı geçmişe yıllara göre azalmıştır (36). Ameliyat sonrası ilk iki yıl içinde enfeksiyon ile karşılaşma oranı diz protezi için <%2, kalça ve omuz protezi için <%1 civarında görülmektedir (37). En sık karşılaşılan etken mikroorganizmalar bölgelere göre değişmekle birlikte koagülaz negatif stafilokoklar, *Staphylococcus aureus* ve streptokoklardır (38). Bu üç grup bakteri tüm enfeksiyonların yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (38).

2.1.3. Risk Faktörleri

Enfeksiyon için hastaya bağlı komorbiditeler, demografik özellikler ve cerrahiden kaynaklanan dolayı bazı hasta gruplarında enfeksiyon riski daha yüksek olmaktadır.

Obezite, sigara kullanımı, diyabet ve bağışıklık sistemi hastalıkları hasta komorbiditelerine bağlı enfeksiyon riskini artıran nedenlerdendir (39). Cerrahi ilişkili nedenler ise profilaktik antibiyotik, ameliyat odasındaki trafik ve havalandırma, kılların alınma şekli ve ameliyat sonrası yara bakımı olarak sıralanabilir (39).

2.1.4. Klinik

İçten kemik tespit cihazları ile ilişkili enfeksiyon yapılan ameliyat ve geçirilen travmaya göre, kırığın anatomik bölgesi, kemik ve çevre yumuşak doku kalitesi, bulaş ve cerrahi arasında geçen süre ve etken mikroorganizmaya göre çeşitli şekillerde görülebilir (40). Erken postoperatif enfeksiyonun (<3 hafta) belirtileri genel olarak kızarıklık, bölgesel hiperemi, yara iyileşmesinin gecikmesidir ve erken debridman ve antibiyotik ile tedavi edilmelidir (41). 3 haftadan sonra görülen geç ve gecikmiş enfeksiyonlar düşük virülanslı mikroorganizma kaynaklı olabileceği gibi akut enfeksiyon uygun olmayan tedavisi nedeniyle de görülebilir ve klinik olarak inatçı ağrı, eritem, sinüs traktından zaman zaman püy gelmesi, kaynamama, psödoartroz, yumuşak doku kalsifikasyonu ve sekestrum görülebilmektedir (41).

Protez çevresi enfeksiyon akut ya da kronik başlangıçlı olabilir. Akut enfeksiyonda eklem ağrısı, ateş, toksemi, kızarıklık, yara problemleri görülebilirken, kronik enfeksiyon ateş olmadan ilerleyici ağrı, ciltte fistül ve drenaj şeklidir (42).

2.1.5. Sınıflama

Hem implant ilişkili enfeksiyonlar için hem de protez çevresi enfeksiyonlar için değişik zamanlarda farklı sınıflamalar önerilmiş ve zaman zaman revize edilmiştir.

Protez çevresi enfeksiyonlar beş kritere göre sınıflanabilir. Bunlar I- yayılım yolu, II- interval, III- patojen tipi, IV- yumuşak doku, V-tanı olarak sıralanabilir (43).

- I. Yayılma göre eksojen ya da hematojen olarak sınıflandırılır. Ekzojen enfeksiyon ameliyat sırasında bulaş ile gerçekleşirken, hematojen enfeksiyon herhangi bir zamanda başka bir vücut bölgesinden yayılım ile gerçekleşmektedir (43).
- a. Değişik yazarlar tarafından kullanılan başlangıç zamanına göre protez çevresi enfeksiyonlar için sınıflama sistemi günümüzde en sık kullanılan sınıflamalardan biridir (44). Bu sınıflamaya göre enfeksiyon erken, gecikmiş ve geç olarak üçe ayrılmaktadır. Akut ve gecikmiş enfeksiyonlar hastane kaynaklıyken geç enfeksiyon genellikle vücudun başka bir bölgesinden hematojen olarak yayılan bir enfeksiyon olarak ortaya çıkmaktadır (42).

Tablo 2.1. Protez çevresi enfeksiyon sınıflaması, Fitzgerald 1995; Lindeque 2014

	Zaman
Akut Postoperatif	<3 ay
Gecikmiş derin	3ay< - <24 ay
Geç hematojen	>24ay

- b. Tsukayama tarafından popülerize edilen bir diğer sınıflamaya göre başlangıç zamanı ve intraoperatif kültür sonucuna göre dört kategoriye ayırmıştır (45, 46).

Tablo 2.2. Protez çevresi enfeksiyon sınıflaması, Tsukayama

	Zaman
Tip I	Pozitif intraoperatif kültür
Tip II	Erken postoperatif enfeksiyon (ilk 1ay)
Tip III	Geç kronik
Tip IV	Akut hematojen

- c. McPherson ve arkadaşları ise üç aşamalı bir sınıflama sistemi öne sürmüştür (47). Bu sisteme göre enfeksiyon tipi, sistemik durum ve ekstremitenin durumu ayrı ayrı derecelendirilerek tedaviyi

kişiselleştirmeyi amaçlamaktadır (46). Birinci aşamada Tsukayama'nın sınıflamasından erken, hematogen ve geç kronik enfeksiyon olarak Grade I-II-III, sistemik duruma göre A-B-C ve ekstremitte durumuna göre 1-2-3 olarak sınıflanmaktadır (46).

II. Patojenin patojenitesi ve virülansına göre.

III. Yumuşak doku durumu (43)

a. Yumuşak dokuda küçük etkilenme

i. Normal yara sınırları

b. Yumuşak dokuda büyük etkilenme

i. Yara alanında ödem, fistül, püy drenajı

IV. Tanı (43)

a. Enfeksiyon

i. Klinik ve laboratuvar bulguları enfeksiyonu gösteriyor.

b. Şüpheli enfeksiyon

i. İnspeksiyon ve histoloji enfeksiyonu işaret ediyor ancak bakteriyolojik doğrulama yok.

c. Kontaminasyon

i. Klinik ve histolojik bulgular enfeksiyon ile uyumlu değil ancak kültür pozitif.

2.1.6. Tanı

Protez çevresi enfeksiyon tanısının konulması için yazarlar tarafından farklı kriterler öne sürülmüştür (48-50). 2013'de yapılan konsensüs buluşmasında enfeksiyon tanısının konması için bazı kriterlerde uzlaşma sağlanmış. Bu kriterlere göre bir majör veya üç minör kriter olması durumunda protez çevresi enfeksiyon tanısı konabilmektedir (51). Majör kriterler; fenotipik olarak aynı iki kültür sonucu ve eklem ile ilişkili sinüs traktı olması, minör kriterler ise; yükselmiş serum CRP/ESH, lökosit esteraz çubuk testinde yüksek sinovyal BKH, sinovyal sıvıda yüksek polimorf nüveli nötrofil, protez çevresi dokudan alınan örneklerin pozitif histolojik analizi ve tek

pozitif kültür sonucudur (51).¹ Tanı için önerilen diğer konular ise; kültürler 5-14 gün arası saklanmalı eğer şüphe varsa 14 gün sonrasında bekletilmeli, intraoperatif 3-6 arası kültür alınmalı aerobik ve anaerobik kültür olarak gönderilmeli, özel durumlar dışında rutin sonikasyona gerek olmadığı ve direkt grafi dışındaki diğer görüntüleme yöntemlerinin tanı için değil dışlama için kullanılabileceği şeklinde belirtilmiştir(51).

2.1.7. Tanı Testleri

Laboratuvar

Periferik kan testleri

ESH/CRP: ESH ve CRP hem IDSA (*The Infectious Diseases Society of America*) hem de AAOS (*American Academy of Orthopaedic Surgeons*) tarafından tanı kriterleri arasında kullanılmaktadır (48, 51). Yaygın olarak bulunabilmeleri, hızlı sonuç vermeleri ve ucuz olmaları avantajları arasında sayılabilir. Berbari ve ark. tarafından yapılan 3225 hastanın dâhil edildiği bir meta analizde CRP'nin duyarlılığı %88, özgüllüğü ise %74 olarak tespit edilmiştir (52). Yine aynı meta analizde 3370 hasta üzerinde yapılan incelemede ESH'nin duyarlılık ve özgüllüğü %75 ve %70 olarak bulunmuştur (52). Austin ve ark.'nın yaptığı çalışmaya göre ise iki testin birlikte kullanılması durumunda enfeksiyonu dışlamada %96 duyarlı olduğu görülmüştür (53). Ayrıca bu değerlerin erken postoperatif dönemde yüksek olabileceği akılda tutulmalıdır.

İnterlokın-6: İL-6 monosit ve makrofajlar tarafından üretilen bir sinyal molekülüdür. Protez çevresi enfeksiyonlarda yarılanma süresi 15 saat gibi kısa bir süre olması nedeni aynı gün pik yapıp normal değerlerine dönmeye başlamakta böylece erken dönemde bir test aracı olarak kullanışlı olduğu düşünülmektedir (54). Berbari ve ark.'nın yaptıkları meta analizde eşik değer 10-12 pg/ml olarak belirlendiğinde duyarlılık ve özgüllük %97 ve %91 olarak belirlenirken diğer bir yayında eşik değer 9 pg/ml olarak belirlendiğinde duyarlılık ve özgüllük %81 ve %77 olarak bulunmuştur

¹ ESR>30mm/s, CRP>10mg/l, Sinovyal BKH>3000hücre/ µL, Sinovyal PMN%>%80

(52, 55). Ancak ESH ve CRP kadar yaygın olmaması ve daha iyi kanıt düzeyine sahip yayınların gerekmesi nedeni ile henüz rutin pratikte kullanılmamaktadır (46).

Prokalsitonin: Enfeksiyon hastalıklarının tanısında kullanılan bir diğer test prokalsitonindir. Ancak prokalsitoninin protez çevresi enfeksiyonlarında kullanımı ile ilgili yayınlar kısıtlı ve çelişkili görülmektedir. 78 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada duyarlılığı %33 özgüllüğü ise %98 olarak bulunmuştur (56). Diğer bir çalışmada ise prokalsitonin düzeylerinin tanı koydurucu olmadığı sonucuna varılmıştır (57).

D-Dimer: D-dimer tanı koymada yardımcı yeni popülerite kazanan bir test olarak karşımıza çıkmaktadır. Çeşitli çalışmalar enfeksiyonun fibrinolyze neden olduğunun ve D-dimer değerlerinin yükseldiğini göstermiştir (58, 59). Venöz tromboemboli tanısında kullanılan ancak özgüllüğü düşük olan d-dimer son yıllarda enfeksiyon tanı ve takibinde kullanılmaya başlanmıştır (60).

2017’de yapılan bir çalışmada enfeksiyonu tanısında aseptik hastalara göre anlamlı yüksek olduğu ve yeniden implantasyon zamanlamasının belirlenmesinde önemli bir test olduğu görülmüş (61). Lee’nin yaptığı diğer bir çalışmada CRP ve ESH’ye göre daha hızlı pik yapıp normal değere döndüğü ve erken enfeksiyonun belirlenmesinde faydalı bir parametre olabileceği öne sürülmüştür (62).

Görüntüleme

Direkt Grafi: Tanı ve tedavi takibinde uzun yıllardır yaygın olarak kullanılan direkt grafi konsensüs buluşmasında önerilen tek görüntüleme yöntemidir (51). Direkt grafi ile çıkığı, protez çevresi lüseni, periost reaksiyonu gibi bulgular görülebilir. Ancak bu bulgular enfeksiyona özgül olmayacağı gibi direkt grafi normalde olabilir (63).

BT ve MRG: BT (Bilgisayarlı Tomografi)’nin tanı için rutin kullanımı önerilmemekle birlikte enfekte protezler üzerinde yapılan bir çalışmada yumuşak doku tutulumunu göstermekte başarılı olduğu ancak kemik değişiklikleri göstermede anlamlı bir sonuç elde edilemediği görülmüştür (64).

MRG (Manyetik Rezonans Görüntüleme) görüntüleme titanyum, tantalum gibi metallerle kullanılabilirken, kalp pili gibi implantı olan hastalarda sakıncalı olabilmektedir. Yine BT kullanımında olduğu gibi metal artefaktları görüntülemeyi engelleyecektir. MRG kullanılarak; sinovit/efüzyon, sinovyum/ekstrakapsüler doku ve kemikte ödem ve genişleme, sinüs traktı ve koleksiyon, lenfadenopati, kemik yıkımı görülebilmektedir (65, 66).

Nükleer Tıp: Nükleer tıp görüntüleme yöntemlerinin diğer geleneksel yöntemlere göre bazı avantajları vardır. Diğer yöntemlerin yüksek duyarlılığa rağmen özgüllükleri düşüktür. Morfolojik değişiklikler oluşmadan bulgu verebilir, tedavi takibinde kullanılabilir, fizyolojik ve patolojik fenomenler görüntülenebilir ve tüm vücut değerlendirilebilir (67). En sık kullanılan yöntem; üç fazlı vücut sintigrafisi, işaretli lökosit sintigrafisi, kemik iliği sintigrafisi ve PET (Pozitron emisyon tomografisi)-BT olarak sıralanabilir.

3 fazlı sintigrafi: Nükleer tıp yöntemleri arasında en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Radyoaktif izotopun verilmesi sonrası 3 fazda görüntüleme alınır; verildiği anda, 15 dk. sonra (göllenme) ve 2-4 saat sonra (geç)(68). Göllenme fazı ve geç fazda tutulumun olması protez çevresi enfeksiyon tanısı için duyarlı olmasına karşın özgüllüğü düşüktür (69).

Lökosit İşaretli Sintigrafi/ Kemik İliği Sintigrafisi: Bir diğer nükleer tıp yöntemi lökosit işaretli sintigrafidir. İlk defa Thakur tarafından 1977’de tarif edilmiştir (70). 1976’da kemik iliği sintigrafisinin deneysel osteomyelit modelinde tanımlanmıştır (71). Yapılan çalışmalar duyarlılık ve özgüllüğün kombine kullanımda arttığını göstermektedir (72).

FDG-PET: FDG (Fludeoksiglikoz)-PET kanser tanı, tedavi ve takibinde kullanılan bir nükleer tıp yöntemidir. Enfeksiyon taramasında da tercih edilen bu yöntem ile ilgili yapılan çalışmalarda kalça için %90 duyarlılık %89.3 özgüllük, diz için ise %90.9 duyarlılık ve %72 özgüllüğü olduğu gösterilmiştir (73).

Sinovyal Sıvı Testleri: Sinovyal sıvı testleri eklem ile ilgili daha yakın bilgi vermesiyle birlikte eklem içi örnek alınması gerektiği için invaziv testlerdir ve hastayı ameliyathaneye indirmek gerekebilmektedir.

Enfeksiyon ile birlikte sinovyal sıvıda yükselen birçok parametre olmakla birlikte bunların çoğu vaskülit ve romatizmal hastalıklarda da yükseldiği için kullanışlı değildir (74).

Günümüzde bu testlerden sadece alfa-defensin bu amaç için optimize edilmiş ve ticari kullanımı sunulmuştur (74). Nötrofillerden salınan bir madde olan alfa-defensinin $>5.2\text{mg/ml}$ düzeyinde olmasının %97 oranında duyarlı ve %96 özgül olduğu gösterilmiştir (75).

Bir diğer test üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılan lökosit esteraz testidir. Bu enzim lökositlerde bulunmakta ve kültür ile karşılaştırıldığında %93.3 duyarlı ve %77 özgül sonuç vermektedir (76).

CRP karaciğerde makrofajlardan sentezlenen bir akut faz reaktanıdır (77). Yüksek serum CRP değerleri periprostetik enfeksiyon tanısında kullanılmakta sinovyal sıvıda $>9.5\text{ mg/L}$ olması %85 duyarlı ve %95 özgül olarak bulunmuştur (78).

Sinovyal Kültür: Protez çevresi enfeksiyon düşünülen hastalarda sinovyal kültür öneren yazarlar mevcut olmakla birlikte tanıyı doğrulamada başarılı olma ihtimali yüksek değildir (79). Duyarlılığın düşük olması yakın zamanda antibiyotik kullanımı veya düşük virülanslı mikroorganizma kaynaklı enfeksiyon olabilir (74). Bu durumda kültürler 14 gün veya daha uzun bekletilmelidir (80).

Protez Çevresi Örnekler: İntraoperatif olarak protez çevresi dokudan alınan örneklerden histopatolojik inceleme, gram boyama ve kültür incelemesi yapılabilir.

Histopatoloji: İntraoperatif frozen enfeksiyon tansının objektif bir şekilde konamadığı hastalarda tanı koymaya yardımcı olabilmektedir. Beşten fazla 400X büyütme alanından beş ya da fazla nötrofil görülmesi akut inflamasyon lehinedir ve protez çevresi enfeksiyonu gösterir (81). Cerraha ameliyat sırasında kararını gözden geçirme fırsatı vermekte ancak iyi ortopedik enfeksiyon ile ilgili tecrübeli patolog

gerekliliği ve düşük virölanslı patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların yanlış negatif sonuç verebileceği unutulmamalıdır (82).

Gram Boyama: İntraoperatif tanı testlerinden biri de Gram boyamadır. Gram boyama 1800'lü yıllarda tanımlanmış, ucuz olması ve kolay uygulanabilirliği ile yaygın olarak kullanılmaktadır (83). Duyarlılığı yüksek olmasına karşın özgülüğü düşüktür ve enfeksiyon tanısı koymada yetersizdir (84).

Protez çevresi intraoperatif kültür: İntraoperatif kültür inflame bölgelerden farklı bıçaklarla alınmalı. Kültür alma metodu ile ilgili kesin bir standart olmasa da genel kabul görmüş kılavuzlar mevcuttur. Bunlara göre en az beş ya da altı örnek alınmalı ancak örnek sayısı üçün altına düşmemelidir (85, 86). Mantar ya da mikobakteri kültürleri rutin olarak önerilmemekte ancak yüksek riskli hastalarda alınmalıdır(86). İntraoperatif kültürün tedavi sürecinde uygun antibiyotik tedavisinin planlanması için önemlidir. Ancak farklı çalışmalarda %68-95, %71-100 arasında değişen duyarlılık ve özgülük değerleri görölmektedir (87). Ayrıca yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlar görölebilmektedir. Yanlış pozitif sonuç daha çok transport sırasında oluşmaktadır(88). Bununla birlikte yanlış negatif sonuç nedenleri arasında bakteri sayısının azlığı, virölansın düşük olması, biyofilm içinde dormant formda olması ve profilaktik antibiyotik kullanılması olarak sıralanabilir (89). Çoğu bakteri ilk 5-7 günde üremekte ancak inkübasyon süresi uzadıkça pozitif sonuç oranı artmaktadır (90).

Sonikasyon: Sonikasyon ultrason dalgaları kullanarak protez üzerinde ki biyofilm tabakasını parçalayarak mikrobiyolojik tespit oranını artırmayı amaçlayan bir yöntemdir. Bu yöntemi ilk tanımlayan Tunney ve ark. 120 kalça protezinde sonikasyon uygulamışlar ve normal doku kültürü ile karşılaştırıldığında daha yüksek oranda pozitif sonuç bulmuşlar (91). Trampuz ve ark. yaptığı çalışmada ise duyarlılığının daha yüksek olduğu ancak özgülüğün düşük olduğu belirtilmiş (92). Ayrıca işlem sırasında örneklerin kontamine olma riski önemli bir kısıtlılık olarak görölmüştür (92).

Moleküler Testler: Son yıllarda mikrobiyoloji alanındaki moleküler testlerde ilerleme kaydedilmektedir. Bu testlerin ana avantajlarından biri mikroorganizmanın üretilmesine gerek kalmadan protez çevresi enfeksiyonun tanısı koyabilmesi olarak

gösterilebilir(93). Bu alanda kullanılan iki test polimeraz zincir reaksiyonu ve *MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight kütle spektrometrisi)* testleridir (93, 94). Duyarlılık ve özgüllüğü çeşitli yayınlara göre %64-100 ve %0-100 arasında değişmektedir (74).

2.1.8. Tedavi

Protez çevresi enfeksiyonların tedavisi etken mikroorganizma, hastanın medikal durumu, yara yeri ve ekstremitenin durumu, hasta beklentileri gibi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Tedavideki amaç etken mikroorganizmayı ortandan kaldırmak, ağrısız ve fonksiyonel bir eklem elde etmek ve morbidite ve mortaliteyi düşürmek olarak sıralanabilir. Bu tedavide başarılı olmak için ortopedist, enfeksiyon hastalıkları uzmanı gibi hastayı ve hastalığı ilgilendiren tüm dallardan hekimler ortak çalışmalıdır. Günümüzde en yaygın kabul gören tedavi seçeneği iki aşamalı revizyon olmak ile birlikte tedavi seçenekleri aşağıda sıralanmıştır.

- Antibiyotik baskılama tedavisi
- Cerrahi debridman
- Cerrahi debridman ve liner değişimi
- Tek aşamalı revizyon
- İki aşamalı revizyon
- Rezeksiyon artroplastisi
- Artrodez
- Ampütasyon

Antibiyotik Baskılama:

Antibiyotik baskılama tedavisi protez çevresi enfeksiyonların tedavisinde sık tercih edilen bir yöntem değildir. Ancak medikal komorbiditeler, özellikle pelvik bölgede büyük kemik kaybı olan hastalarda tercih edilebilir (95). Bu tedavi için bazı ön şartlar mevcuttur. Bu şartlar iyi fikse komponentler, duyarlı mikroorganizmanın

olması ve sistemik sepsisin olmamasıdır (96). Segreti ve ark. uzun süreli antibiyotik tedavisi ile 18 hastanın 15'inde iyi sonuçlar almışlar ancak erken tanı alan hastalarda etkin olduğunu bildirmişler (97).

Özet olarak bu tedavi pozitif intraoperatif kültür olgularda ve cerrahiye tolere edemeyecek erken tanı alan hastalarda uygulanabilir.

Cerrahi Debridman Ve Antibiyotik Tedavisi:

Bu tedavi üç bileşenden oluşmaktadır. Bunlar cerrahi debridman, uygun antibiyotik tedavisi ve implantların korunmasıdır. Bu tedavinin uygulanabilmesi için gerekli koşullar şunlardır; iyi fikse implantlar, antibiyotikleri duyarlı mikroorganizma, sinüs traktının olmaması ve semptomların 3 haftadan kısa süredir var olmasıdır(36). Bu şartların sağlanması halinde tedavinin başarı oranı %70'in üzerinde olabilir(36). Byren ve ark.'nın yaptığı çalışmada 112 hastanın %18'inde rekürrens görülmüş ve riskin artroskopik debridman, geçirilmiş revizyon ve *Staphylococcus Aureus* üremesi olan hastalarda daha yüksek olduğu belirtilmiş (98). Ancak diğer çalışma ve meta analizlere bakıldığında başarı oranında değişiklik görmekteyiz. Ortalama başarı oranı diz protezinde %33, diz ve kalça protezinde %52 olarak görülmektedir (99, 100).

Tek Aşamalı Revizyon:

İki aşamalı revizyona göre daha az sıklıkla kullanılsa da seçilmiş vakalarda kullanılabilecek bir diğer yöntem tek aşamalı revizyondur. Bu işlemde bir önceki tedavi seçeneği olan cerrahi debridman ve antibiyotik tedavisinde olduğu gibi agresif bir debridman ile birlikte tüm protez bileşenleri çıkarılır ve yerine yeni implantlar koyulur. Bu işlemden sonra hastaya antibiyotik tedavisi başlanır. Hasta seçiminde sinüs traktının olmaması, duyarlı mikroorganizma olması, kemik stokunun yeterli olması, yumuşak dokunun uygun olması konularına dikkat edilmelidir (101).

Antibiyotik tedavisi için çeşitli yazarlar değişik tedavi protokolleri önerilmiştir. Yaygın olarak kullanılan rejim 4-6 hafta parenteral tedavi sonrası 3-12 ay oral tedavi

olarak kullanılmaktadır (102, 103). Diğer antibiyotik rejimi ise ameliyat sonrası kısa bir parenteral tedavi sonrası 6 hafta ile 6 ay arasında oral antibiyotik tedavisidir (104, 105).

Tedavi başarısına baktığımızda 589 hastanın dahil olduğu büyük bir seride başarı oranı %77 olarak gösterilerken diğer yayınlar %84-100 arası başarılı sonuçlar göstermişlerdir (46, 101).

İki Aşamalı Revizyon:

İki aşamalı revizyon enfekte protez çevresi enfeksiyon tedavisi için en yaygın kullanılan yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk aşamada enfekte implantlar çıkarılır geniş bir debridman ve yıkama sonrasında eklem içine antibiyotik ile hazırlanmış ticari olarak satılan ya da el ile yapılan bir spacer konulur ve takibinde hastaya uygun antibiyotik tedavisi başlanır. Spacer kullanmak skar dokusunu gelişmesini ve eklem kontraktürünü önler, eklem aralığını korur ve iki aşama arasında hasta konforuna katkı sağlar(106). Etken mikroorganizmanın özellikleri ve yumuşak doku durumuna göre ikinci aşama için 2-4 hafta ya da 6-8 hafta beklenir (107). Klinik, radyolojik ve laboratuvar değerleri normale döndüğünde ve enfeksiyon bulguları düzeldiğinde ikinci aşamaya geçilebilir. İkinci aşamada spacer çıkarılır ve yerine kalıcı implantlar koyulur. Bu aşamada alınan kültürler negatif gelirse parenteral antibiyotik tedavisi oral antibiyotik tedavisine çevrilir ve üç ay devam edilir, eğer kültür pozitif gelirse iki hafta parenteral antibiyotik tedavisini takiben on hafta oral antibiyotik tedavisi yapılır (82).

İki aşamalı revizyon başarı oranı yapılan çalışmalarda genellikle %90'ın üzerinde görülmektedir (38).

Rezeksiyon Artroplastisi:

Rezeksiyon artroplastisi enfeksiyon tedavisinin başarısız olduğu ya da tedaviye uyumsuz hastalarda bir kurtarma operasyonu olarak kullanılabilir. Küçük bir hasta grubunun orta dönem takibinde 42 ayda 18 hastanın 15'inde enfeksiyon görülmemiştir (108). Ancak fonksiyonel sonuçlar için beklenti çok yüksek değildir.

Artrodez:

Revizyon ameliyatlarının başarılı olmadığı durumda bir diğer seçenek artrodezdır. Artrodezin avantajlarından biri hareket sırasında mekanik destek sağlamasıdır. Artrodez işlemi artroplastide daha çok diz protezi için kullanılmaktadır nadiren kalça için de kullanılabilir (46). Bu işlem yapılırken izlenecek protokol iki aşamalı revizyona benzer şekilde öncelikle enfeksiyonun tedavi edilmesi ile başlar (29). Ardından kanal içi çivi ile ya da eksternal sistemler ile artrodez gerçekleştirilir (29). Kanal içi çivi yönteminin kaynama konusunda üstün görülürken eksternal fiksasyon yöntemi enfeksiyon kontrolünde daha üstün görülmüştür (109).

Ampütasyon:

Ampütasyon diğer tedavi seçeneklerinin başarısız olduğu durumlarda veya yaşamı tehdit edecek sepsis durumunda son seçenek olarak düşünülebilir (110, 111). Amputasyon seviyesinin üstünde enfeksiyon devam ediyorsa hastaya osteomyelit tedavisi uygulamak gerekir (29).

2.1.9. Enfeksiyondan Korunma

Bütün olumsuz olaylar gibi protez çevresi enfeksiyon ile mücadele etmenin etkili yolu enfeksiyon oluşmadan bu süreci önlemektir. Bunun için kullanılan yöntemler ana başlıkları ile tablo olarak aşağıda sıralanmıştır (73).

Tablo 2.3. Enfeksiyondan korunmada alınacak önlemler

Preoperatif	İntraoperatif	Postoperatif
Hasta ilişkili faktörlerin düzeltilmesi	Antibiyotik profilaksisi	Antibiyotik kullanımı
MRSA (Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus Aureus</i>) dekolonizasyonu	Cilt hazırlığı	Dren kullanımı
Cilt dezenfeksiyonu	Ameliyathane ortamı	
	Kanamayı önleme	
	İmplant seçimi	

Enfeksiyon başarılı olarak önlemesi için birçok faktörün bir arada bulunması önem taşımaktadır. Diyabetin, diğer enfeksiyon alanlarının kontrolü, cilt temizliği, profilaksi, kan kaybının ve transfüzyonu en aza indirme bunlardan bazılarıdır.

Gelecekte biyofilm nedenli enfeksiyonların önlenmesi için implantların yüzey modifikasyonları umut verici bir seçenek olarak görülmekte ve hali hazırda bu amaç için üretilmiş implantlar bulunmakta ve yenileri için araştırmalar sürmektedir.

Enfeksiyona Dirençli Biyomateryal:

Ortopedide enfeksiyona dirençli biyomateryal yapımında kullanılan dört strateji mevcuttur. Bunlar 1. antiadeziv yüzey, 2. antimikrobiyal yüzey, 3. antiadeziv ve antimikrobiyal yüzeyin birlikte elde edilmesi ve 4. antibiyofilm ve kemik tamiri aynı anda sağlayan yüzeylerin elde edilmesidir (12). Bu amaçla prelinik, klinik olarak çalışılan ve ticari olarak kullanılan çok çeşitli materyal vardır. Bunlar selenyum, çinko, iyot, antibiyotikler, albümin, polimerler, enzim ve sitokinler gibi geniş bir yelpazede bulunurlar.

1. Antiadeziv Yüzey

Bu yöntemde implant yüzeyine hidrofilik bir karakter kazandırılarak mikroorganizmanın yüzeye tutunmasını engellemek amaçlanmaktadır. Bu amaç için değişik molekül ve maddeler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri yüzeyin heparin ile kaplanmasıdır. Tenke ve ark.'nın yaptığı çalışmada heparin kaplanmış ürolojik cihazların üstünde 6-12 aylık düzeyde hem invitro hem invivo deneylerde biyofilm oluşumunun önlediği gösterilmiştir (112). Yine yüzeyin Polietilen Glikol veya Polietilen Oksitten oluşturulmuş hidrofilik polimerik bir fırça tabakası ile kaplanmasının protein ve bakteriyel adezyonu önlediği gösterilmiştir (113).

2. Antimikrobik Yüzey

Yüzeyin antimikrobik madde ile kaplanması bir seçenektir ancak bu yöntemde gelişebileceği antibiyotik direnci göz önünde bulundurulmalıdır (114). Schmidmaier

ve ark.'nın çalışmasında gentamisin ile kaplanmış implantların kullanıldığı hayvan çalışmasında enfeksiyon tedavisinde başarılı olduğu belirtilmiş (115). Yine aynı çalışmada sekiz açık tibia kırığı olan hasta bu yöneme tedavi edilmiş ve bir yıllık takipte enfeksiyon gelişmemiş (115). Aynı yazarın 2017 yılında yayınladığı makalede aralarında 15 GA tip III kırık olan 68 hasta ve 31 enfeksiyon nedeni kaynamama hastasının tedavisi gentamisin kaplı kanal içi çivi ile yapılmış ve enfeksiyon oranları kırık grubunda %4.5 ve revizyon grubunda %6.5 bulunmuştur (116). Fuchs ve Metsemakers'ın yayınladığı serilerde ise enfeksiyona rastlanmamıştır (117, 118).

3. Antimikrobik ve Antiadeziv Yüzey

Bu yöntemde katman katman hem antiadeziv hem antimikrobik kaplama yaparak biyomateryalin tutunmayı engellemesi ile birlikte aynı zamanda bakteriyi öldürmesi amaçlanarak daha etkili bir önleme amaçlanmıştır. Bu yöneme örnek olarak Fu ve ark.'nın yaptığı heparin ve *chitosan* maddesini birlikte kullandıkları yöntem örnek olarak gösterilebilir (119).

4. Antibiyofilm ve Kemik Tamiri

Bu yöntemde amaçlanan biyofilm oluşumunu engellerken aynı zamanda kemik tamiri ve entegrasyonunu uyarmaktır. Buna örnek olarak hidroksiapatit kaplaması gösterilebilir (120, 121).

2.1.10. Bor ve Mikrobiyoloji

Bor periyodik tabloda karbondan önce gelen 5 atom numarasına sahip bir elementtir. Bor bileşikleri sağlıktan roket sanayisine, savunma sanayisinden tarıma kadar birçok alanda kullanılmaktadır. Farmakolojik kullanımı uzun süredir bilinmekle beraber son yıllarda bor bileşiklerinin hipolipidemik, antiinflamatuvar, antineoplastik, antiosteoporotik özellikleri ortaya konmuştur (122-125). İnsan fizyolojisindeki yeri her geçen gün daha iyi anlaşılmaktadır. SAM (S Adenozil Metiyonin) ve NAD

(Nikotinamid Adenin Dinükleotit) gibi önemli yapıtaşlarının görevlerinde rol oynar (126, 127). Ayrıca çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında kalsiyum metabolizması üzerine etkileri gösterilmiştir (128-132).

Bor bileşikleri Arap hekimler tarafından 800'lü yıllarda temizlik maddesi ve ilaç olarak kullanılmıştır (133). Uzun yıllardır mantar ve bakteriler üzerinde etkisi olduğu bilinmektedir (133). Günümüzde oftalmik solüsyonlarda, dış kulak yolu iltihabı tedavisinde, bakteriyel vajinoziste antibakteriyel etkisi nedeni ile kullanılmaktadır (134-136).

Türkiye'de yapılan bir çalışmada sıçanlar üzerinde invivo olarak borik asit ve vankomisin lokal ve sistemik olarak uygulanmış, borik asitin osteomyelit tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (137). Borik asit ile ilgili yapılan bir çalışmada kliniğimizde yapılmıştır. Bu çalışmada borik asidin invitro ortamda biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi araştırılmış ve bu çalışmada biyofilm oluşumunu önlediği gösterilmiştir (138).

Bor nitrür (BN); hegzagonal, kübik gibi değişik morfolojilerde bulunabilen bir bor türevidir (139). BN'nin kesici aletlerde kullanımı bilinmektedir (140). Bununla birlikte kesici cerrahi aletler üzerinde yapılan bir çalışmada kobalt yüzeyler ile karşılaştırıldığında; kobalt (Co) malzeme hücre ölümüne neden olurken, BN kaplı kesici aletlerin hücre ölümüne neden olmadığı gösterilmiştir (141). Kaftanoğlu ve ark. yaptığı çalışmada BN kesici aletler üzerine başarılı bir şekilde kaplanmış (142). Yine aynı grup tarafında titanyum ilk defa titanyum implantlar üzerinde BN kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir (143).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Dört farklı kaplama parametresi ile BN kaplanmış titanyum alaşım (Ti 6Al 4V) disk şeklindeki implantın karakterizasyon çalışmaları yapıldı ve agar difüzyon yöntemi, koloni sayım yöntemleri ve SEM (*scanning electron microscope*) incelemesi ile BN kaplanmış implant çeşitlerinin invitro ortamda antimikrobiyal ve antibiyofilm özellikleri değerlendirildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

BN KAPLI TİTANYUM ALAŞIM DİSKLERİN ELDE EDİLMESİ VE KARAKTERİZASYONU

Bu aşamada 1 kontrol grubu ve 4 deney grubu belirlendi. Her grup için halinde 5 adet 10 mm çapında ve 1 adet karakterizasyon çalışmaları için 16mm çapında titanyum alaşım disk hazırlandı.

Hazırlanan diskler temizlenip parlatılıp metal teller ile sisteme sabitlendi. Diskler ayrıca ultrasonik metot kullanılarak nano temizleyicilerle ve kimyasal temizleyicilerle (aseton, etil alkol, izopropil alkol) temizlendi. Kplama işlemi Vaksis

Radyo Frekans (RF)-ManyetronManyetron püskürtme sistemi (PVD Hard-Coater, Vaksis R&D and Engineering, Ankara, Türkiye) ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. a) Cihaz içinde kaplama yapılan implantlar ve BN plaka b) Vaksis RF-manyetron püskürtme sistemi

Kaplama için 100X250X5 mm boyutunda hegzagonal BN(hBN) hedef plaka katota yerleştirildi. Sistem temizledikten sonra tutucular döner mekanizmaya bağlandı. Yüksek vakum altında ~ 25-30 devir/dakika hızında kaplama işlemi yapıldı. Her bir grup için kullanılan parametreler tablo olarak aşağıda verildi, grup 1 kontrol grubu olarak belirlendi.

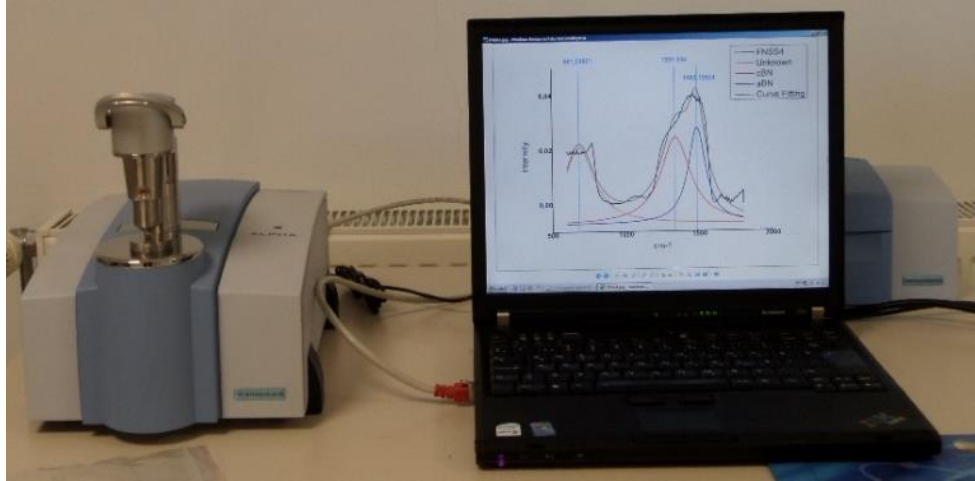
Tablo 3.1. İmplant gruplarının BN kaplanması sırasında kullanılan parametreler.

Grup	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Sıcaklık	Kontrol	300	300	300	300
Kaplama Basıncı	Kontrol	0.005	0.005	0.005	0.005
Temizlik basıncı	Kontrol	0.05	0.05	0.05	0.05
Temizlik süresi	Kontrol	15 dk.	15 dk.	15 dk.	15 dk.
Temizlikte kullanılan gaz	Kontrol	Argon, 40sccm	Argon, 40sccm	Argon, 40sccm	Argon, 40sccm
Alttaş-RF	Kontrol	250V	1 saat 100V, 5 saat 0V	0V	250V
Manyetron-RF	Kontrol	900W	900W	900W	900W
Devir	Kontrol	30 rpm	30 rpm	30 rpm	Statik
Süre	Kontrol	6 saat	6 saat	6 saat	6 saat
Gaz oranı	Kontrol	5:1	5:1	5:1	5:1
Kaplama sonu basıncı	Kontrol	3.8-6	2.4-6	1.3-6	2.8-6

Gruplar oluşturulduktan sonra her bir grup için alının numuneden karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Her grup için FTIR (*Fourier Transform InfraRed*) testi, nano sertlik (NHT) testi, çizik testi ve kalınlık testi yapıldı.

3.1.1. FTIR Testi

Oluşturulan kaplamaların içerdiği fazlar Alpha FTIR cihazı ile incelenmiştir. FTIR ölçümleri sırasında ATR (*Attenuated Total Reflectance*) metodu kullanılmıştır. ATR tekniğinin temelinde ışının numune tarafında soğrulup yansıtılması (geçirgenlik yöntemi) yerine ışının örnekten saçılımı ölçülür.



Şekil 3.2. FTIR cihazı

Ölçümler Ti numuneler üzerinden alınmıştır. BN'nin allotroplarına ait dalga boyları Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. BN'nin allotroplarına ait dalga boyları

Literatür değerleri	
Faz	Tepe Aralığı (cm-1)
hBN eğilme	760–800
hBN gerilme (TO)	1364–1400
h-BN gerilme (LO)	1600
c-BN gerilme (TO)	1055–1110
c-BN gerilme (LO)	1300
a-B:N	1263–1350
a-B:N	1505–1550
w-BN (TO)	960, 1090, 1120, 1230
w-BN (LO)	1150, 1250
e-BN	1400-1450 (s),
	1650-1600, 1100,
	1020, 930 (ms),
	800, 1200 (vw)
r-BN (TO)	783, 1367
r-BN (LO)	828, 1610
t-BN	934.3, 963.8, 1331.8
t-BN	738, 1032, 1155
TO: Transverse optic	
LO: Longitudinal optic	

3.1.2. Nano Sertlik Ölçümü

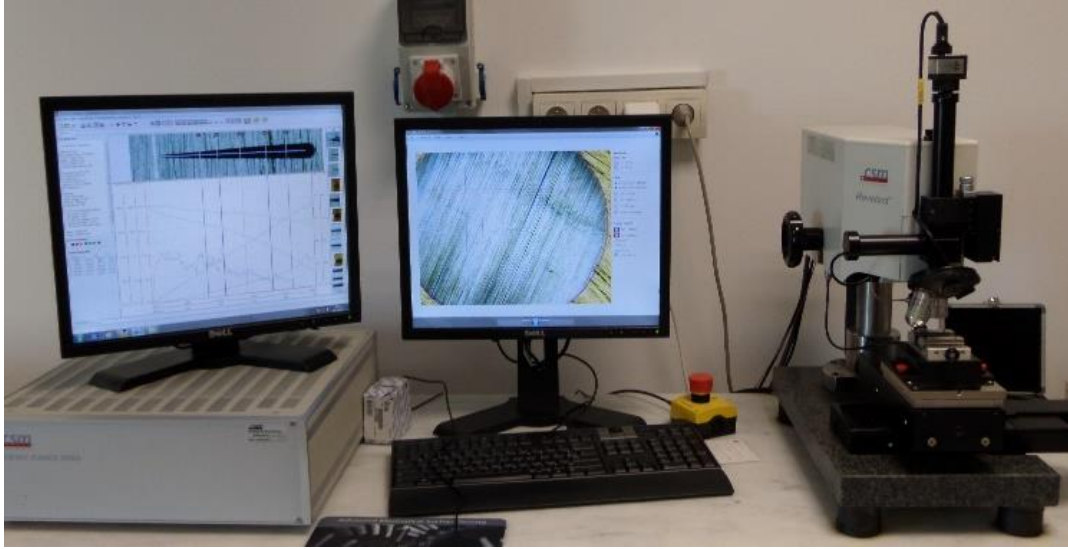
Sertlik ölçümleri CSM *Nano-indentation Testing Device* (CSM nanosertlik ölçüm cihazı) ile yapılmıştır. Cihazda elmas malzemeden üretilmiş Berkovich tipi bir uç kullanılarak ölçüm alınmaktadır. Elmas uç 3000nm/dk. hareket etmekte ve numune üzerine lineer yük (maks:500mN) uygulamaktadır.



Şekil 3.3. Optik mikroskop, nano sertlik cihazı, afm cihazı ve mikro çizik testini bünyesinde barındıran açık platform.

3.1.3. Çizik Testi

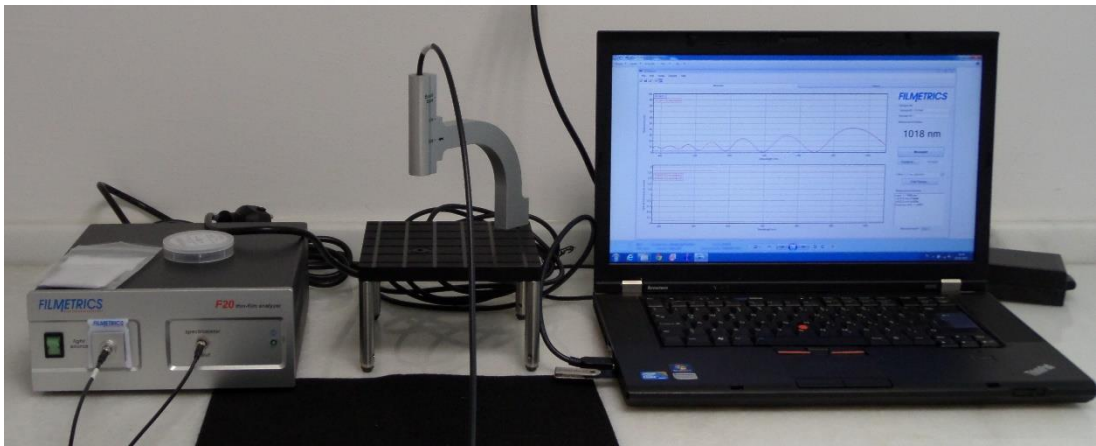
Yapışkanlık testleri CSM *Macro Scratch Device* (CSM Çizik Testi) ile yapılmıştır. Çizik testi boyunca uygulanan yük 0.5N'dan başlayıp 150N'a kadar çıkmaktadır. Çizik testi için 200 μ m yarıçapında, Rockwell elmas uç kullanılmaktadır. Numune üzerinde oluşan çizik 3mm olup, elmas uç 6mm/dk. hızla ilerlemektedir.



Şekil 3.4. Revetest Çizik Testi Ölçüm Cihazı

3.1.4. Kalınlık Ölçümü

Kalınlık ölçümü F20 İnce Film Analizi cihazı ile gerçekleştirilmiştir. İnce film kaplamalarının kaplama sonrası kalınlık ölçümü için kullanılmaktadır. Ölçüm Aralığı 15nm-70µm.



Şekil 3.5. F20 ince film kalınlık ölçüm cihazı

3.2. MİKROBİYOLOJİ İNCELEMELER

3.2.1. Disk Difüzyon

Çalışmanın ilk aşamasında agar difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkinlik incelmesi yapıldı.

Bu yöntemde *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanarak Mueller Hinton agar besiyeri üzerine inoküle edildi. Her gruptan diskler besiyerlerine yerleştirildi. Besiyerleri 36 ± 1 °C’de bir gece inkübe edildi ve her bir disk çevresindeki inhibisyon zonu incelendi. >10 mm inhibisyon zonu oluşması etkinliğin olduğu yönünde değerlendirildi. Her grup üçer kez test edilerek invitro değerlendirme tamamlandı.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 suşunun duyarlı olduğu antibiyotik diski kontrol olarak aynı plakta çalışıldı.

3.2.2. Bakteri Koloni Sayımı

Disklerin antibakteriyel etkinliğini ortaya koymak amacıyla diskler, üç farklı bakteri türü için belirli miktarda bakteri süspansiyonu içinde bekletilerek disklerin antibakteriyel etkinliği araştırıldı. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşu ve *Staphylococcus epidermidis* suşu ile hazırlanmış 0.5 McFarland bakteri süspansiyonu içinde her 5 grup implant bekletildikten sonra bakteri süspansiyonundan alınan 10 µl örnek kanlı agar besiyerine 0., 1.5, 3 ve 4.5 saatlerde ekildi ve üç kere tekrarlandı. Bir gece 36 ± 1 °C’de inkübe edilen plaklar ertesi gün üreyen koloniler açısından değerlendirilerek koloni sayımı yapıldı.

3.2.3. SEM İncelemesi

Çalışmanın dördüncü aşamasında *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu, MRSA suşu ve Streptokok epidermidis suşları ile çalışıldı. 0,5 McFarland bulanıklığında hazırlanan suşlar ile her 5 grup implant 36 ± 1 °C’de inoküle edildi. 36 ± 1 °C’de 48 saat

bekletildi. İmplantlar SEM incelemesi için alınan implant örnekleri 24 saat %2.5 gluteraldehit solüsyonunda bekletildi. Daha sonra fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra %1 Osmium tetroksid ile yıkandı, tekrar fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra yüksek konsantrasyonda aseton ile dehidrate edildi. Örnekler Bio-Rad püskürtme cihazı (Bio-Rad Laboratuvarları, Hemel Hempstead, Hartfordshire, İngiltere) ile 100 Angstrom kalınlığında altın püskürtüldü. Örnekler FEI Noca NanoSEM 430 (ABD) *scanning electron microscope* ile incelendi. İstatistik inceleme ki kare yöntemi ile yapılmıştır.

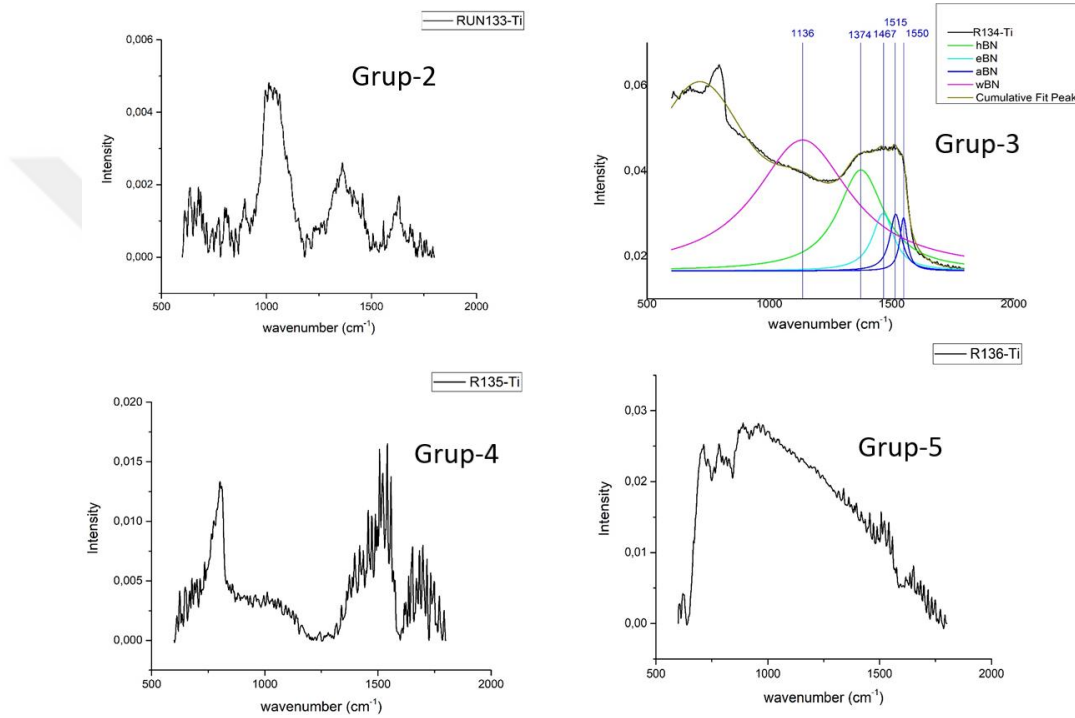


4. BULGULAR

4.1. KARAKTERİZASYON SONUÇLARI

4.1.1. FTIR Testi Sonuçları

Test sonuçları şekil 4.1’de verilmiştir.



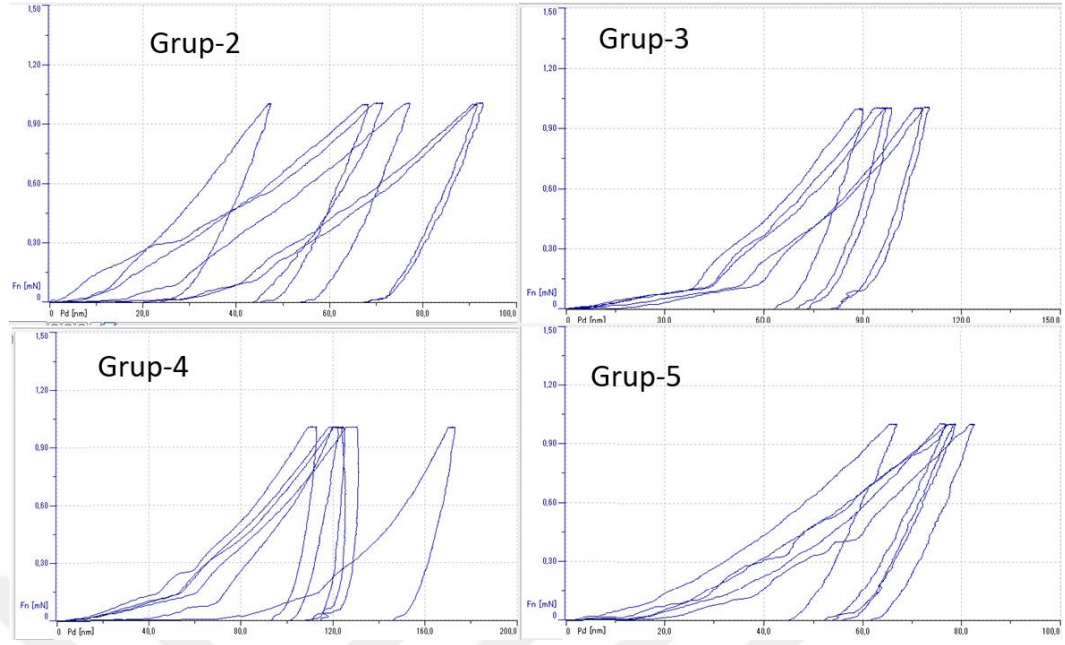
Şekil 4.1. FTIR testi sonuçları

4.1.2. Nano Sertlik Ölçümü Sonuçları

Numunelerin nano ölçüm sonuçları tablo 4.1 verilmiştir. Ayrıca şekil 4.2’de kaplanmış implantların yüke (F_n) karşı derinlik (pd) grafiğikleri aşağıda listelenmiştir.

Tablo 4.1. Sertlik ölçüm sonuçları

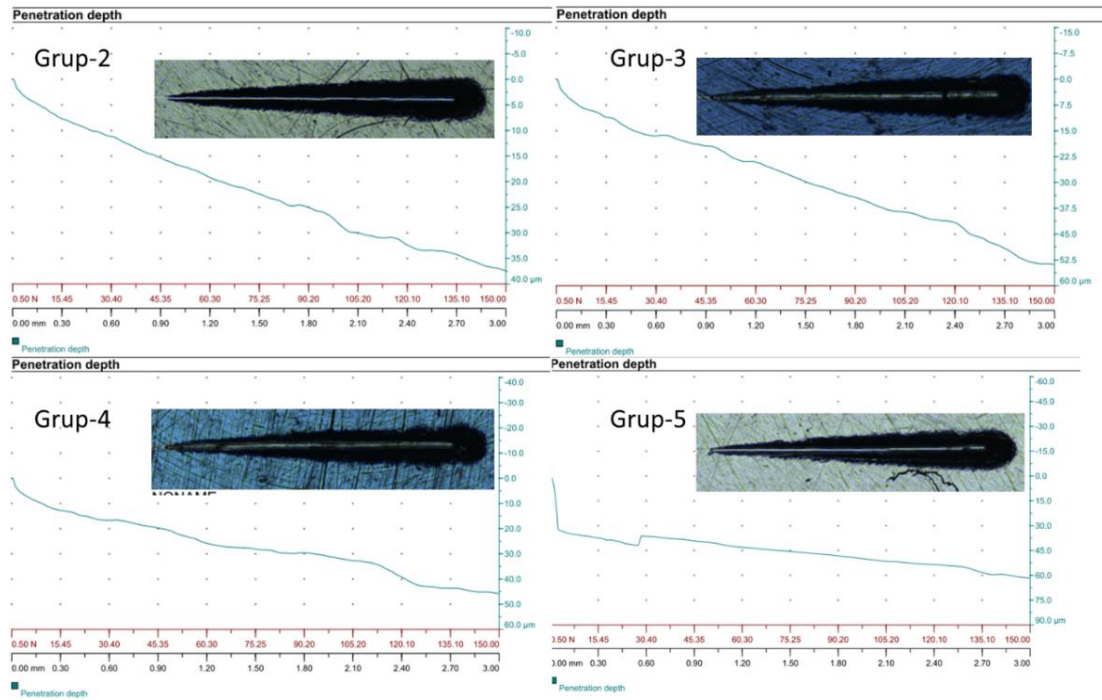
	Grup-1	Grup-2	Grup -3	Grup -4	Grup -5
Ort.-Sertlik (MPa)	Kontrol	7824,647	3302,879	1825,289	6124,224
Derinlik (nm)	Kontrol	74,875	100,902	131,430	76,606



Şekil 4.2. Numunelerin normal yüke (F_n) karşı derinlik (pd) grafiğikleri

4.1.3. Çizik Testi Sonuçları

Aşağıdaki şekilde numunelerin çizik testin sonunda güce karşı penetrasyon grafikleri ve çizik görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.3. Çizik testi sonuçları

4.1.4. Kalınlık Ölçüm Sonuçları

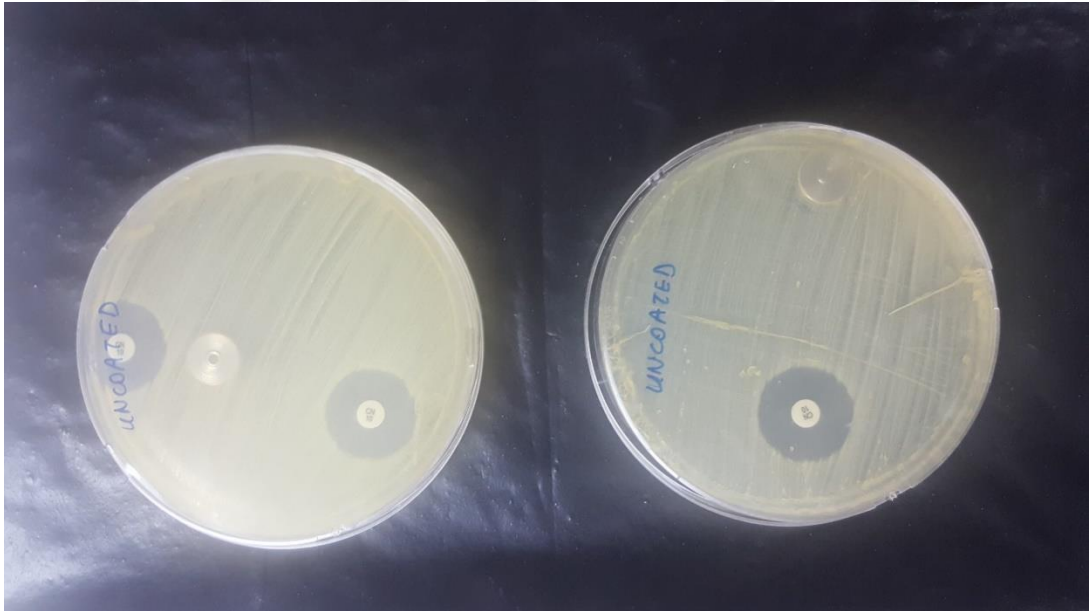
Kaplama sonrası yapılan kalınlık ölçümleri tablo olarak sunuldu.

Tablo 4.2. Kaplama kalınlık tablosu

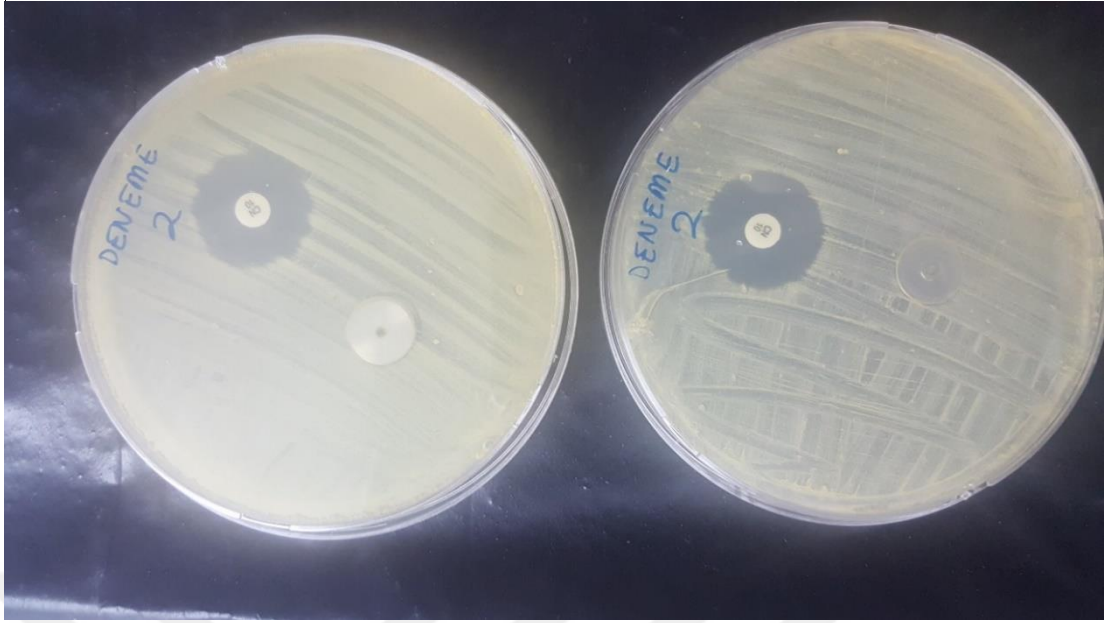
Gruplar	Kalınlık (nm)
Grup-1	Kontrol
Grup-2	<50
Grup-3	61,3
Grup-4	86,5
Grup-5	<50

4.2. DİSK DİFÜZYON

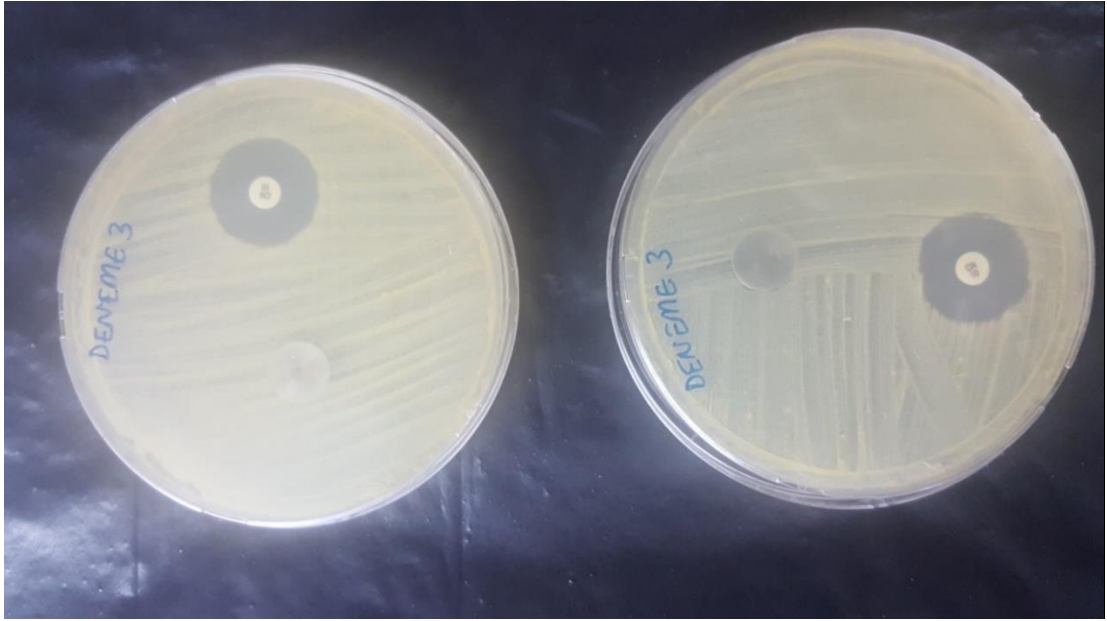
Her gruptan diskler kontrol diskleri ile karşılaştırıldı. Antibiyotik emdirilmiş kontrol diski etrafında 10mm'lik bir inhibisyon zonu oluşurken kontrol grubu ve 4 farklı BN ile kaplanmış Ti alaşım diskler etrafında inhibisyon zonu oluşmadı. Bu sonuçlar ki-kare testi ile değerlendirildi, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1$).



Şekil 4.4. Kontrol grubu ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi



Şekil 4.5. Grup 2 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi



Şekil 4.6. Grup 3 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi



Şekil 4.7. Grup 4 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi



Şekil 4.8. Grup 5 ile CN10 diski ile karşılaştırılması, disk difüzyon testi

4.3. KOLONİ SAYIMI

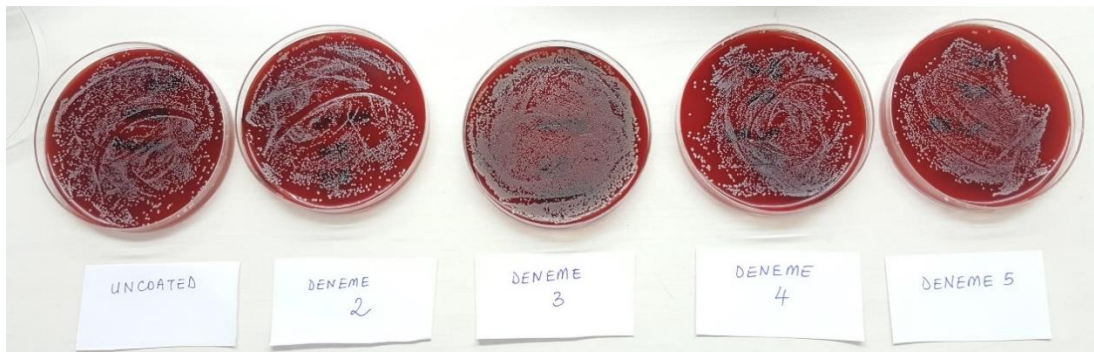
İnokulasyon anında 90. dakika, 180. dakika ve 270. dakikada yapılan ekim sonrası koloni sayımında gruplar arasında bir fark bulunmadı. Tüm gruplarda yapılan koloni sayımları >100000 cfu olarak tespit edildi. Bu sonuç ki-kare testi ile değerlendirildi, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=1$).



Şekil 4.9. MRSA suşu ile koloni sayımı sonuçları



Şekil 4.10. *Staphylococcus aureus* ATCC suşu ile koloni sayımı sonuçları



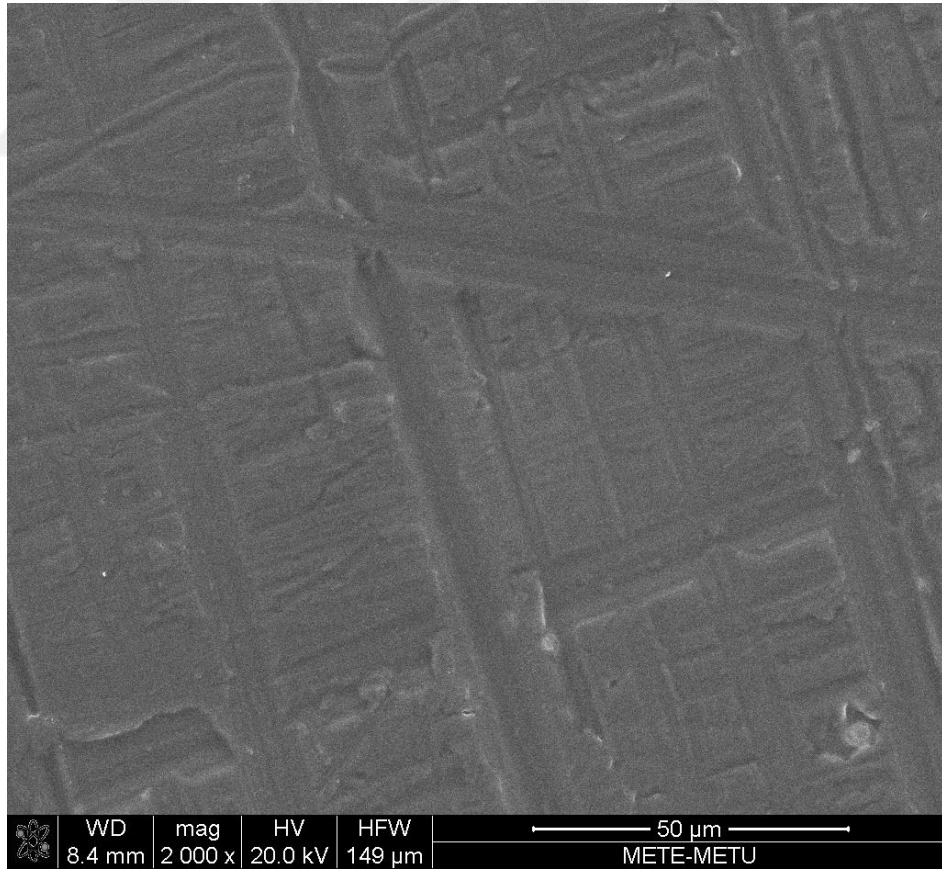
Şekil 4.11. *Staphylococcus epidermidis* suşu ile koloni sayımı sonuçları

4.4. SEM İNCELEMESİ

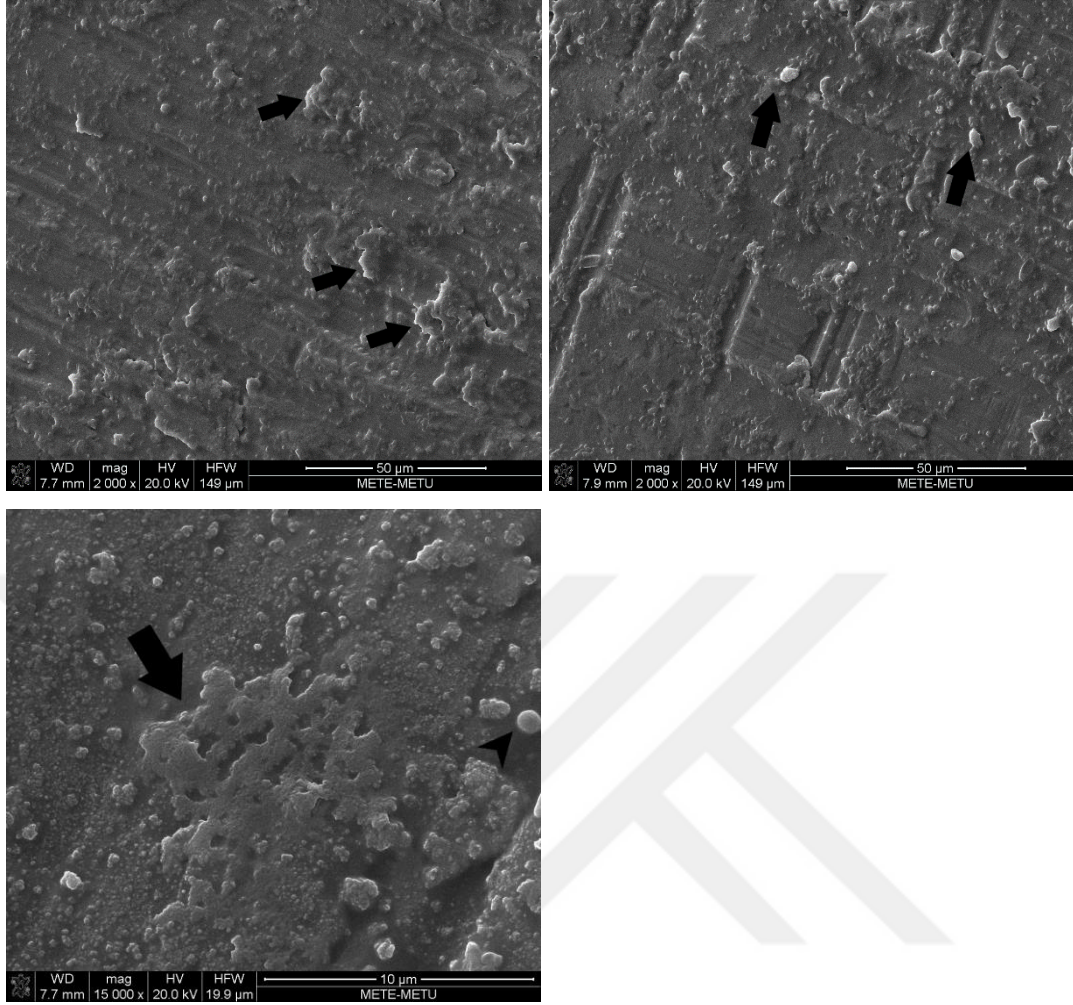
Yapılan incelemede kontrol grubu olarak belirlenen grup 1 de deney grupları ile karşılaştırıldığında yüzeyde yoğun şekilde kok alanları ve biyofilm oluşumu gözlenirken deney gruplarında yer yer kok ve lökosit görülmesine rağmen biyofilm görülmedi ($p < 0.05$).

Tablo 4.3. SEM sonuçlarının biyofilm açısından incelenmesi

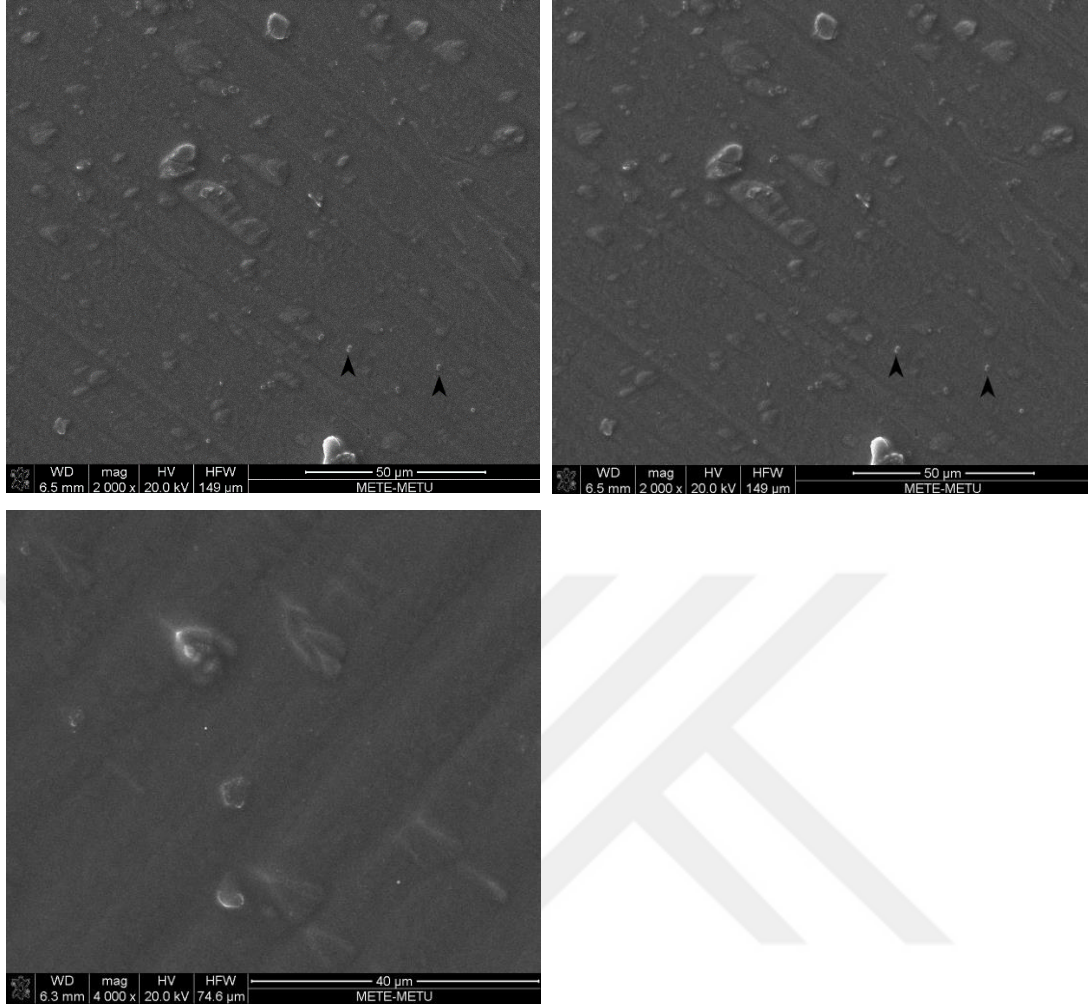
	MRSA/A	Staf.Epidermidis/B	Staf.Aureus ATCC/C
Grup 1	+	+	+
Grup 2	-	-	-
Grup 3	-	-	-
Grup 4	-	-	-
Grup 5	-	-	-
Kontrol	-	-	-



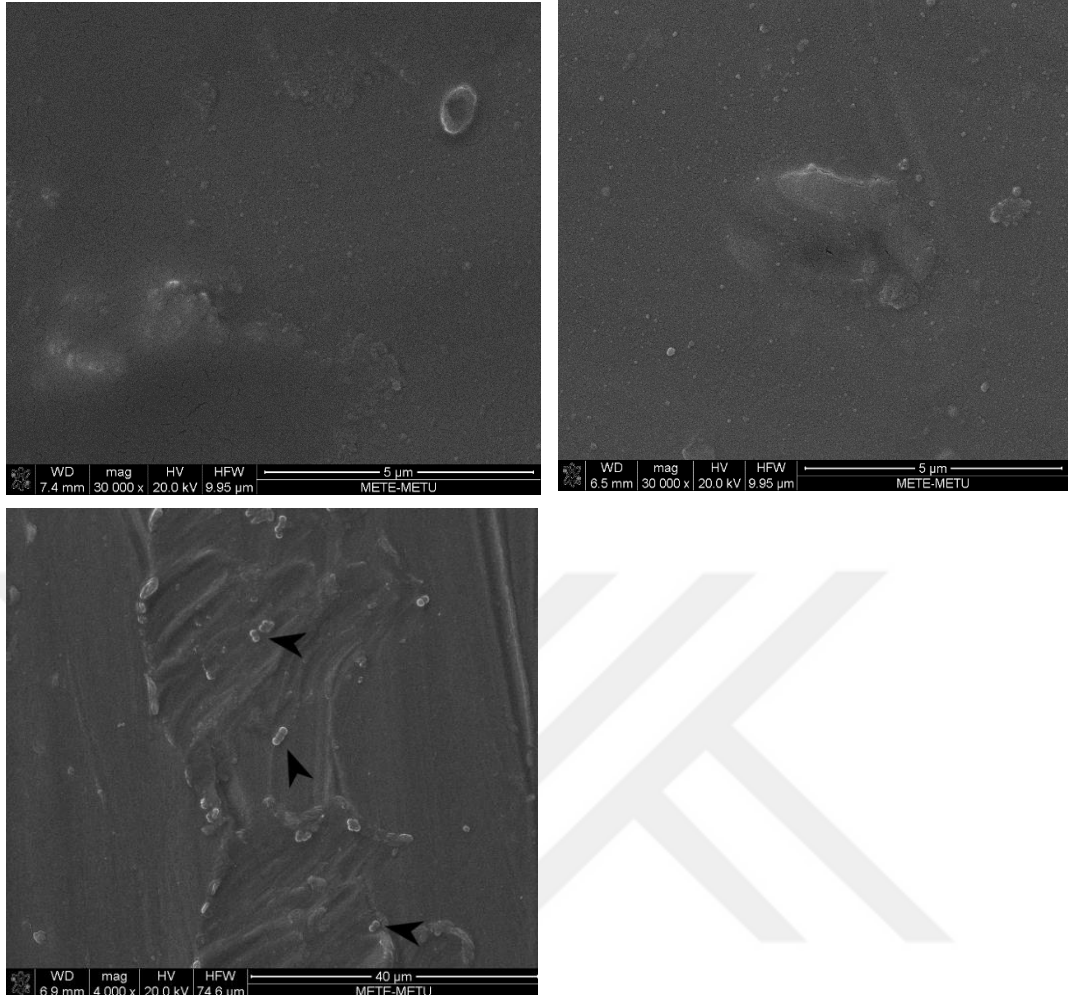
Şekil 4.12. Kontrol numunesi SEM görüntüsü



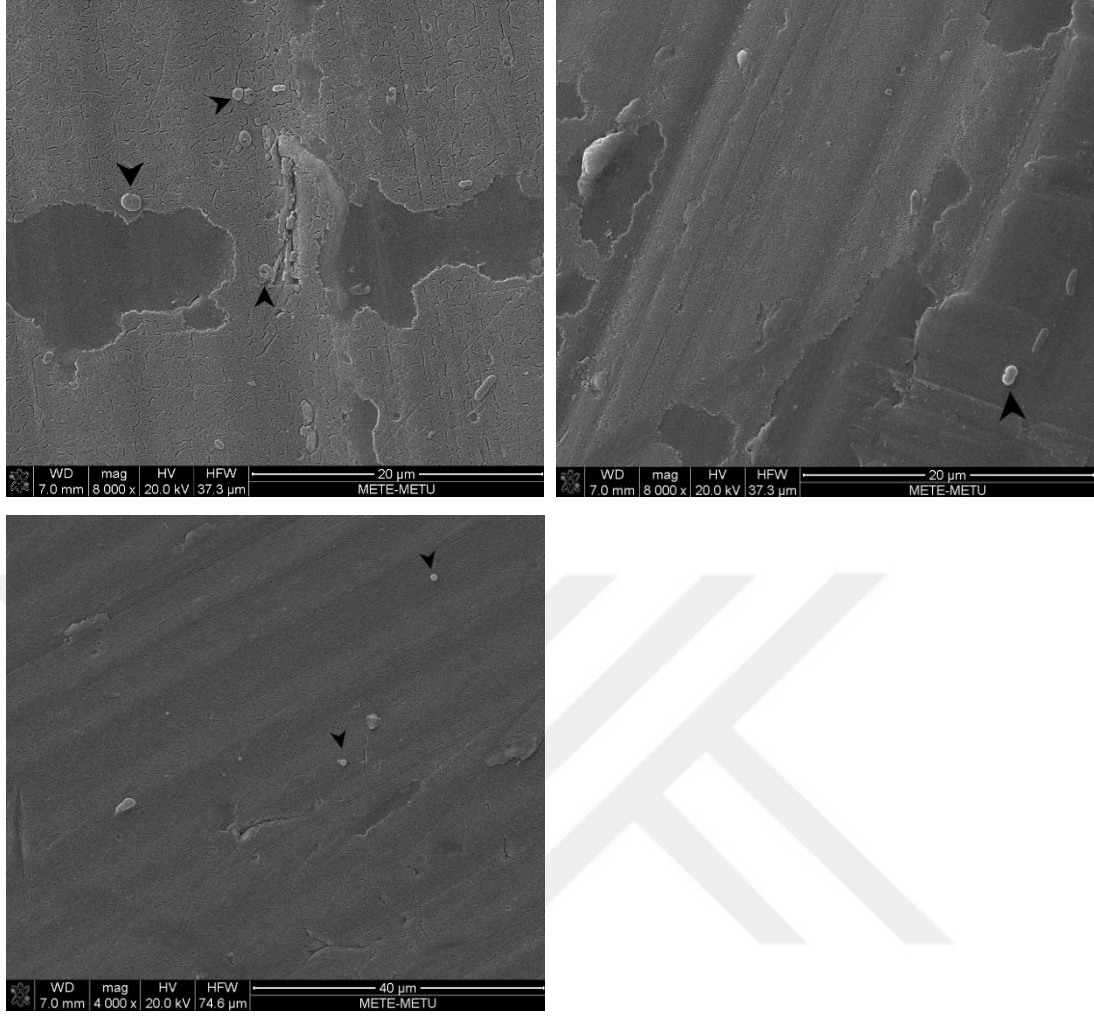
Şekil 4.13. Kontrol grubu a,b,c örneklerinde büyük oklar biyofilm oluşumunu gösteriyor



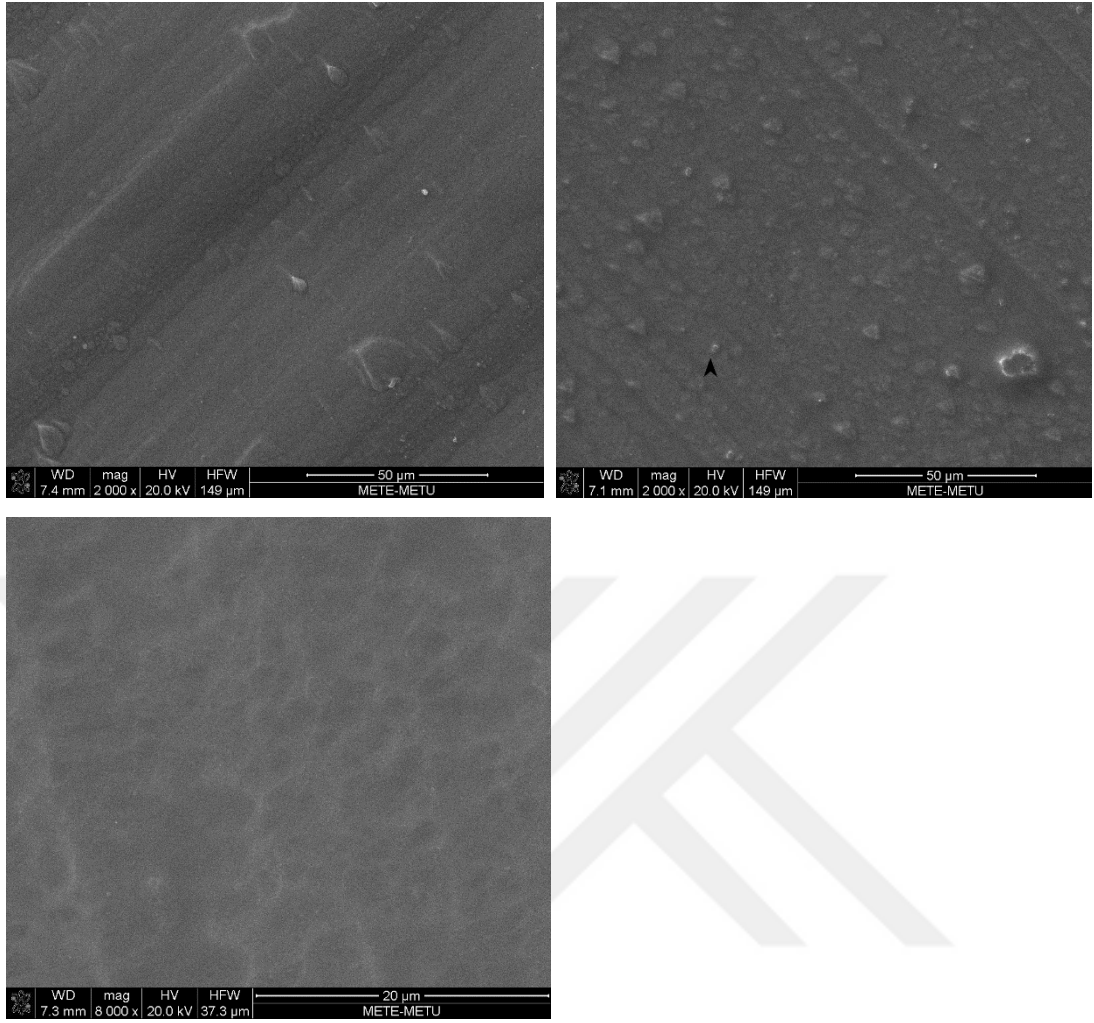
Şekil 4.14. 2. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.



Şekil 4.15. 3. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.



Şekil 4.16. 4. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.



Şekil 4.17. 5. grup a,b,c örneklerinde küçük oklar kokları gösteriyor. Biyofilm yok.

5. TARTIŞMA

İmplant kullanımı ortopedi pratiğinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle implant ilişkili enfeksiyonlarla sıklıkla karşılaşabilmekteyiz. Hasta birkere implant ilişkili enfeksiyon tanısı aldığı zaman bu durum çoğunlukla implant ve ilişkili materyalin vücuttan tamamen çıkarılması gerekmektedir. Bunun nedeni ise çoğunlukla enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın biyofilm oluşturması ve bu tabaka nedeni ile bağışıklık sistemi ve antibiyotiklere direnç kazanmasıdır. Biyofilm ilişkili enfeksiyonlar ortopedi için olduğu gibi implant kullanılan diğer branşlar için de tedavisi zor ve maliyetli hastalıklardır. Biyofilm oluşumunun engellenmesi ve tedavisinde biyofilm oluşumunu engelleyen yüzeye sahip implantlar kullanılmakta ve yeni yüzey seçenekleri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

BN'nin RF manyetron saçtırma yöntemi ile kaplanması bilinen bir yöntemdir ve daha çok kesici alet kaplamalarında kullanılmaktadır. Bu yöntem ile kaplanan metalin üzerinde dayanıklı bir yüzey oluşturduğu gösterilmiştir (142). Aynı grup tarafından ilk defa insan vücudunda kullanılmak üzere dental implant üzerine BN kaplama uygulaması yapılmış (143). Bu çalışmada kemik entegrasyonunu artırmak için kullanılan diğer yöntemlere bir alternatif oluşturmak amaçlanmıştır. Yüzeyden ayrılmayan dayanıklı bir malzeme ile kaplanarak HA (hidroksiapatit) kaplama gibi kaplamalardan daha iyi bir yüzey oluşturabilmek hedeflenmiştir. HA kaplama osteoentegrasyon açısından başarılı olsa da kalın olması ve delamiasyon gibi istenmeyen özellikleri mevcuttur (144). Benzer amaçla uygulanan titanyum plazma spreyl kaplı yüzeylerden de belli bir süre sonra titanyum parçalarının yüzeyden ayrılarak ortama karışmaktadır(145). Bu ve benzer nedenlerle yeni yüzeyler üzerinde çalışılmaktadır. Bor'da bu maddelerden biridir ve insan vücuduna uyumlu olabileceği düşünülmektedir. Bor ile yapılan çalışmalarda borun yara iyileşmesini hızlandırdığı, büyüme faktörleri ve sitokin salınımını uyardığı ve hücre dışı matriks döngüsünü hızlandırdığı görülmüştür (146). Diğer bir çalışmada ise fibroblastlar üzerine toksik etkisinin olmadığı aynı zamanda endotelial hücreleri uyardığı görülmüştür (147). Kemik metabolizması üzerinde ise postmenopozal kadınlarda ve yaşlı erkeklerde ileri

kemik kaybını engellediği gösterilmiştir (148). Bu sebeplerle uyguladığımız kaplamanın biyo-uyumlu olacağını ve yüzeyden ayrılıp lokal makrofaj tetiklenmesi yapmayacağını düşündürmektedir.

Bu çalışmadaki çıkış noktamız daha önce kliniğimizde borik asit ile yapılan bir çalışmada biyofilm oluşumuna etkisi gösterilmiş olan bor maddesinin başka bir formu BN'yi implant üzerine kaplanarak biyofilm oluşumunu dolayısıyla dirençli enfeksiyonları engelleyecek bir implant yüzeyi elde etmektir (138). Kliniğimizde yapılan bu çalışmada 2009-2012 arasında protez enfeksiyonuna neden olan klinik suşlar üzerinde borik asitin etkinliği incelenmiş, enfeksiyona neden olan suşların %74 oranında koagülaz(-) ve koagülaz(+) stafilokok suşları olduğu görülmüş ve borik asitin biyofilm oluşumunu engellediği gösterilmiştir (138). Bizde bu çalışma ve literatüreden aldığımız bilgilere dayanarak çalışmamızda biyofilm pozitif stafilok suşları ile BN kaplı gruplar ile kontrol grubunu karşılaştırdık. Amacımız önceki çalışmada biyofilm üzerine etkinliği gösterilen bor maddesini yüzey kaplaması olarak kullanarak biyofilm oluşumunu engellemektir.

Agar difüzyon ve koloni sayımı değerlendirmelerimizde kontrol grubu ile deney grupları arasında fark bulunamaması bu kaplama yönteminin en sık gördüğümüz enfeksiyon etkenleri karşısında başarısız olduğunu düşündürmekteydi. Oysa referans aldığımız çalışmada borik asit ile hazırlanmış çimentonun agar difüzyon testinde etkinliği olduğunu gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize implant yüzeyine kaplanmış olan BN'nin enfeksiyon etkenlerine karşı etkinliğinin olmadığını düşündürebileceği gibi ortama karışmadığı ve yüzeyde etkili olması sonucunada düşündürebilmektedir. Önleyici olarak kullanılması planlanan bir materyalde yüzeyde enfeksiyon oluşmu engellenirken aynı zamanda bu maddenin ortama salınmaması ile hem enfeksiyon önlenirken kullanılan maddenin istenmeyen etkilerinden kaçınılabılır. Böyle bir materyal ile biyofilm oluşumu engellenirken, toksik olabilecek herhangi bir yayılım olmayacaktır. Bor her ne kadar insan vücudunda eser miktarda bulunan ve enzimatik reaksiyonlara giren bir madde olsa da yüksek oranda yayılması toksiste ile ilgili endişelenmemize neden olabilmektedir (126, 127). Borik asit ve BN'nin toksisitesiyle ilgili invitro ve invivo çalışmalar olmakla beraber insan üzerindeki

toksik etkilerini ile ilgili yeterli yayın yoktur (149, 150). Bu özelliklere sahip bir implantın canlıda kullanılması hem enfeksiyonları önlememizde başarılı olacak aynı zamanda kullanımı güvenli olacaktır. Çalışmanın devamında yaptığımız SEM incelmesinde kontrol gruplarında biyofilm oluşumu ve bakteri kümeleri gözlemlenirken deney gruplarında biyofilm gözlenmemesi bu yöntemin antibiyofilm yüzey olarak kullanılmasında umut vaatetmektedir.

Günümüz literatürüne bakıldığında enfeksiyonun önlenmesi için çeşitli stratejiler geliştirilmektedir. Bu stratejiler perioperatif dönemde antibiyotik profilaksisi, ameliyat sırasında asepsi-antisepsi kurallarına uyulması, ameliyathane ortamı gibi faktörlerin optimizasyonu olarak sıralanabilir. Tüm bu önlemlere rağmen enfeksiyon implant kullanılan girişimlerde halen önemini korumaktadır. Bu stratejilere bakıldığında daha önce bahsedildiği gibi 4 ana başlık altında toplanabilir. Bunlar antiadeziv, antimikrobik, bu ikisinin kombinasyonu ve doku integrasyonu sağlayan yüzeylerdir (12). Başka bir sınıflamaya göre ise aktif, pasif yada perioperatif taşıyıcılar olarak 3 sınıfta incelenebilmektedir (151). Ayrıca ideal bir antienfektif yüzey hazırlanırken bazı gerekliliklerden bahsedilmektedir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. İmplant yüzey kaplamasında istenen gereklilikler

Gereklilikler(151)				
Güvenlik	İnvitro aktivite	Etkinlik	Kullanım	Market
Sistemik toksite olmaması	Sitotoksite Genotoksite olmaması	İnvivo kanıt	Kolay kullanılmalı	Kabul edilebilir fiyat
Lokal toksite olmaması	Antibakteriyel ve antibiyofilm etkinin kanıtlanması	Vaka serileri	Çok yönlü olmalı	Ulaşılabilir olmalı
Kemik üzerine etkilerin olmaması	Geniş spektrumlu	Çok merkezli çalışmalar	Presfit kullanıma uygunluk	Kolay üretilebilmeli
Uzun dönem yan etki olmaması	Direnç gelişimini indüklemeyecek	Randomize kontrollü çalışmalar	Stoklanabilmeli	Yasal gereklilikleri yerine getirmeli

Bizim BN kaplamanın yüzey kaplaması olarak kullanılmasını araştırmaktaki amacımız bu listedeki gereklilikleri büyük oranda karşılayabileceğini kanıtlamaktır. İn-

vitro sonuçlara baktığımızda BN'nin güvenlik anlamında umut vaat ettiğini söyleyebiliriz. Ancak daha ileri değerlendirme için in-vivo çalışmaların yapılması gerekmektedir. Borun vücutta enzimatik reaksiyonlara girdiğini bilinmekte ancak BN ilgili toksikolojik çalışmalar son yıllarda araştırılmaya başlanmıştır. Halihazırda uyguladığımız kaplamanın ortama salınmadığı antienfektif bir yüzey oluşturarak çalıştığı sonucuna varmakla birlikte BN ile ilgili yapılan sınırlı sayıdaki invivo çalışmalarda da uygun dozda toksik etki gözlenmemiştir (152, 153). Son yıllarda bu amaçla kullanılan ve klinik uygulaması olan yöntemlerden biri implantların gümüş kaplanmasıdır. Gümüş kaplı megaprotez ile yapılan bir invivo çalışmada deney grubunda enfeksiyon oranı anlamlı olarak düşük bulunmuş ancak histopatolojik olarak toksik bir etki bulunmamakla birlikte kan gümüş seviyelerinin yüksek bulunmuştur (154). Üniversitemizde yapılan bir laboratuvar çalışmasında gümüş nanopartiküller ile kaplanmış vidaların biyofilm oluşumunu engellediği ve güvenli olduğu sonucuna varılmıştır (155). Takip eden dönemde yöntemin klinik kullanımında da insanlar üzerinde benzer şekilde enfeksiyon oranlarını düşürdüğü gösterilmiştir (156, 157). Bu sonuçlara baktığımızda enfeksiyonla mücadelede gümüş kaplama iyi bir seçenek olarak görülmektedir. Ancak uzun dönem toksite, dirençli bakteri gelişimi gözardı etmesi zor istenmeyen etkilerdir ve bu açıdan daha ileri klinik çalışmalar gerekmektedir (158). Bakır ve çinko metallerinin geniş spektrumunda antibakteriyel özellikleri bilinmekte ve metal yüzey olarak prelinik çalışmaları yapılmaktadır (159, 160). Ancak bu maddelere karşı direnç gelişme riski kullanım alanlarını kısıtlamaktadır (161).

Bir ortopedik cerrah olan Anthony George Gristina tarafından 1987'de öne sürülen "*race for the surface*" görüşü bakteri hücreleri ve konak hücrenin materyal yüzeyi için yarışını tanımlamaktadır (24, 25). Bakterinin ve konak hücrenin yüzeye bağlanmada önemli rol oynayan fibronektin, integrin, adezin gibi ekstraselüler matriks proteinleri bulunmaktadır (29). Örneğin hem bakteri hücresi hem konak hücre materyal yüzeyine bağlanma sırasında rol oynayan bu proteinlerden fibronektini aracı olarak kullanmaktadır (162). Benzer yollar kullanıldığı için enfeksiyonu önlemek için kullanılan bir materyal aynı zamanda doku entegrasyonunda engelleyebilmektedir. Bu nedenle son dönemde bakteri

adezyonunu engellerken doku entegrasyonunu uyaracak iki etkili yüzeyler üzerinde çalışılmaktadır (163). Bizim çalışmamıza göre de BN kaplı yüzey biyofilm oluşumunu engellemekte ancak ortamda bir etkisi bulunmamaktadır. Kemik metabolizması üzerine etkileri göz önüne alındığında biyofilm oluşumunu engellerken entegrasyonda artırabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu hipotezi kanıtlamak için invivo osteoentegrasyon modeli oluşturarak osteoentegrasyon özelliğini incelemek gerekmektedir.

Çalışmanın kısıtlılıklarına; çalışma tekrar sayılarının az oluşu, invitro bir çalışma olması olarak sıralanabilir. Ayrıca BN kaplamanın bakteri üzerindeki bu etkisinin mekanizmasını bilinmemekte, bu etkinin ortaya konması gerekmektedir. İnvivo ortamda sonuçlarımızı doğrulamak için invivo çalışmalar ile sonuçların desteklemesi gerekmektedir.

6. SONUÇ

BN kaplanmış implant yüzeyi invitro ortamda biyofilm oluşumunu engellemektedir. Bununla birlikte agar difüzyon yöntemi ve bakteri ile inkübasyonu sonucu koloni sayılarını etkilememektedir. Bu sonuçlarda yola çıkarak kaplamanın yüzeyden difüzyon yada iyonizasyon gibi herhangi bir yol ile ortama geçmediği sonucuna varıldı.

Bu çalışma BN kaplamanın antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Tekrarlayan deneyler ve invivo çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Chiu V, Vail TP, et al. The epidemiology of revision total knee arthroplasty in the United States. *Clin Orthop Relat Res*. 2010;468(1):45-51.
2. Bozic KJ, Kurtz SM, Lau E, Ong K, Vail TP, Berry DJ. The epidemiology of revision total hip arthroplasty in the United States. *J Bone Joint Surg Am*. 2009;91(1):128-33.
3. Trampuz A, Widmer AF. Infections associated with orthopedic implants. *Current opinion in infectious diseases*. 2006;19(4):349-56.
4. Darouiche RO. Treatment of infections associated with surgical implants. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(14):1422-9.
5. Widmer AF. New developments in diagnosis and treatment of infection in orthopedic implants. The University of Chicago Press; 2001.
6. Trampuz A, Osmon DR, Hanssen AD, Steckelberg JM, Patel R. Molecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2003;414:69-88.
7. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999;284(5418):1318-22.
8. Kargupta R, Bok S, Darr CM, Crist BD, Gangopadhyay K, Gangopadhyay S, et al. Coatings and surface modifications imparting antimicrobial activity to orthopedic implants. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2014;6(5):475-95.
9. Zimmerli W, Ochsner PE. Management of infection associated with prosthetic joints. *Infection*. 2003;31(2):99-108.
10. Raphael J, Holodniy M, Goodman SB, Heilshorn SC. Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants. *Biomaterials*. 2016;84:301-14.
11. Campoccia D, Montanaro L, Arciola CR. The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. *Biomaterials*. 2006;27(11):2331-9.

12. Arciola CR, Campoccia D, Ehrlich GD, Montanaro L. Biofilm-based implant infections in orthopaedics. *Biofilm-based healthcare-associated infections*: Springer; 2015. p. 29-46.
13. Dieterich M, Paepke S, Zwiefel K, Dieterich H, Blohmer J, Faridi A, et al. Implant-based breast reconstruction using a titanium-coated polypropylene mesh (TiLOOP Bra): a multicenter study of 231 cases. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132(1):8e-19e.
14. Gines A, Planas R, Angeli P, Guarner C, Salerno F, Gines P, et al. Treatment of patients with cirrhosis and refractory ascites using LeVeen shunt with titanium tip: comparison with therapeutic paracentesis. *Hepatology*. 1995;22(1):124-31.
15. Hungerford DS, Kenna RV. Preliminary experience with a total knee prosthesis with porous coating used without cement. *Clin Orthop Relat Res*. 1983(176):95-107.
16. Font-Rodriguez DE, Scuderi GR, Insall JN. Survivorship of cemented total knee arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res*. 1997(345):79-86.
17. Berry DJ, Harmsen WS, Cabanela ME, Morrey BF. Twenty-five-year survivorship of two thousand consecutive primary Charnley total hip replacements: factors affecting survivorship of acetabular and femoral components. *J Bone Joint Surg Am*. 2002;84-A(2):171-7.
18. Bostman O, Pihlajamaki H. Routine implant removal after fracture surgery: a potentially reducible consumer of hospital resources in trauma units. *J Trauma*. 1996;41(5):846-9.
19. Kurtz SM, Lau E, Watson H, Schmier JK, Parvizi J. Economic burden of periprosthetic joint infection in the United States. *J Arthroplasty*. 2012;27(8 Suppl):61-5 e1.
20. Yokoe DS, Avery TR, Platt R, Huang SS. Reporting surgical site infections following total hip and knee arthroplasty: impact of limiting surveillance to the operative hospital. *Clinical infectious diseases*. 2013;57(9):1282-8.
21. Zimmerli W, Lew PD, Waldvogel FA. Pathogenesis of foreign body infection. Evidence for a local granulocyte defect. *J Clin Invest*. 1984;73(4):1191-200.

22. Puhto AP, Puhto TM, Niinimäki TT, Leppilähti JI, Syrjäla HP. Two-stage revision for prosthetic joint infection: outcome and role of reimplantation microbiology in 107 cases. *J Arthroplasty*. 2014;29(6):1101-4.
23. Esteban J, Molina-Manso D, Spiliopoulou I, Cordero-Ampuero J, Fernandez-Roblas R, Foka A, et al. Biofilm development by clinical isolates of *Staphylococcus* spp. from retrieved orthopedic prostheses. *Acta Orthop*. 2010;81(6):674-9.
24. Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*. 1987;237(4822):1588-95.
25. Gristina AG, Naylor P, Myrvik Q. Infections from biomaterials and implants: a race for the surface. *Med Prog Technol*. 1988;14(3-4):205-24.
26. Subbiahdoss G, Kuijter R, Grijpma DW, van der Mei HC, Busscher HJ. Microbial biofilm growth vs. tissue integration: "the race for the surface" experimentally studied. *Acta biomaterialia*. 2009;5(5):1399-404.
27. An YH, Friedman RJ. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J Biomed Mater Res*. 1998;43(3):338-48.
28. Heilmann C, Hussain M, Peters G, Götz F. Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface. *Mol Microbiol*. 1997;24(5):1013-24.
29. George Cierny III ACM, Montri D. Wongworawat. Orthopaedic Knowledge Update: Musculoskeletal Infection. AAOS. 2009:33-41.
30. Speziale P, Pietrocola G, Rindi S, Provenzano M, Provenza G, Di Poto A, et al. Structural and functional role of *Staphylococcus aureus* surface components recognizing adhesive matrix molecules of the host. *Future microbiology*. 2009;4(10):1337-52.
31. Hirschhausen N, Schlesier T, Schmidt MA, Götz F, Peters G, Heilmann C. A novel staphylococcal internalization mechanism involves the major autolysin Atl and heat shock cognate protein Hsc70 as host cell receptor. *Cellular microbiology*. 2010;12(12):1746-64.
32. Götz F. *Staphylococcus* and biofilms. *Molecular microbiology*. 2002;43(6):1367-78.

33. Sauer K, Camper AK, Ehrlich GD, Costerton JW, Davies DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*. 2002;184(4):1140-54.
34. Kong KF, Vuong C, Otto M. *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int J Med Microbiol*. 2006;296(2-3):133-9.
35. Römbling U, Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *Journal of internal medicine*. 2012;272(6):541-61.
36. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infections. *New England Journal of Medicine*. 2004;351(16):1645-54.
37. Corvece S, Portillo ME, Pasticci BM, Borens O, Trampuz A. Epidemiology and new developments in the diagnosis of prosthetic joint infection. *International journal of artificial organs*. 2012;35(10):923.
38. Trampuz A, Zimmerli W. Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. *Swiss medical weekly*. 2005;135(17-18):243-51.
39. Kapadia BH, Pivec R, Johnson AJ, Issa K, Naziri Q, Daley JA, et al. Infection prevention methodologies for lower extremity total joint arthroplasty. *Expert review of medical devices*. 2013;10(2):215-24.
40. Ruedi T, Buckley R, Moran C. *AO principles of fracture management*, books and DVD: Thieme; 2007.
41. Zimmerli W. Clinical presentation and treatment of orthopaedic implant-associated infection. *Journal of internal medicine*. 2014;276(2):111-9.
42. Lima ALL, Oliveira PR, Carvalho VC, Saconi ES, Cabrita HB, Rodrigues MB. Periprosthetic joint infections. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*. 2013;2013.
43. Schafroth M, Zimmerli W, Brunazzi M, Ochsner PE. *Infections. Total hip replacement*: Springer; 2003. p. 65-90.
44. Fitzgerald JR, Nolan D, Ilstrup D, Van RS, Coventry M. Deep wound sepsis following total hip arthroplasty. *The Journal of bone and joint surgery American volume*. 1977;59(7):847-55.

45. Tsukayama DT, Estrada R, Gustilo RB. Infection after Total Hip Arthroplasty.: A Study of the Treatment of One Hundred and Six Infections. JBJS. 1996;78(4):512-23.
46. Tande AJ, Patel R. Prosthetic joint infection. Clin Microbiol Rev. 2014;27(2):302-45.
47. McPherson E, Tontz Jr W, Patzakis M, Woodsome C, Holtom P, Norris L, et al. Outcome of infected total knee utilizing a staging system for prosthetic joint infection. American journal of orthopedics (Belle Mead, NJ). 1999;28(3):161.
48. Parvizi J, Ghanem E, Menashe S, Barrack RL, Bauer TW. Periprosthetic infection: what are the diagnostic challenges? JBJS. 2006;88(suppl_4):138-47.
49. Spangehl MJ, Masri BA, O'connell JX, Duncan CP. Prospective analysis of preoperative and intraoperative investigations for the diagnosis of infection at the sites of two hundred and two revision total hip arthroplasties. JBJS. 1999;81(5):672-83.
50. Berbari EF, Hanssen AD, Duffy MC, Steckelberg JM, Ilstrup DM, Harmsen WS, et al. Risk factors for prosthetic joint infection: case-control study. Clinical Infectious Diseases. 1998;27(5):1247-54.
51. Parvizi J, Gehrke T, Chen A. Proceedings of the international consensus on periprosthetic joint infection. The bone & joint journal. 2013;95(11):1450-2.
52. Berbari E, Mabry T, Tsaras G, Spangehl M, Erwin PJ, Murad MH, et al. Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. JBJS. 2010;92(11):2102-9.
53. Austin MS, Ghanem E, Joshi A, Lindsay A, Parvizi J. A simple, cost-effective screening protocol to rule out periprosthetic infection. The Journal of arthroplasty. 2008;23(1):65-8.
54. Wirtz DC, Heller K-D, Miltner O, Zilkens K-W, Wolff JM. Interleukin-6: a potential inflammatory marker after total joint replacement. International orthopaedics. 2000;24(4):194-6.
55. Worthington T, Dunlop D, Casey A, Lambert P, Luscombe J, Elliott T. Serum procalcitonin, interleukin-6, soluble intercellular adhesin molecule-1 and IgG to shortchain exocellular lipoteichoic acid as predictors of infection in total joint prosthesis revision. British journal of biomedical science. 2010;67(2):71-6.

56. Bottner F, Wegner A, Winkelmann W, Becker K, Erren M, Götze C. Interleukin-6, procalcitonin and TNF- α : markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. *Bone & Joint Journal*. 2007;89(1):94-9.
57. Drago L, Vassena C, Dozio E, Corsi M, De Vecchi E, Mattina R, et al. Procalcitonin, C-reactive protein, interleukin-6, and soluble intercellular adhesion molecule-1 as markers of postoperative orthopaedic joint prosthesis infections. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2011;24(2):433-40.
58. Ribera T, Monreal L, Armengou L, Rios J, Prades M. Synovial Fluid D-Dimer Concentration in Foals with Septic Joint Disease. *Journal of veterinary internal medicine*. 2011;25(5):1113-7.
59. Gando S, editor Role of fibrinolysis in sepsis. *Seminars in thrombosis and hemostasis*; 2013: Thieme Medical Publishers.
60. Schwameis M, Steiner MM, Schoergenhofer C, Lagler H, Buchtele N, Jilma-Stohlawetz P, et al. D-dimer and histamine in early stage bacteremia: a prospective controlled cohort study. *European journal of internal medicine*. 2015;26(10):782-6.
61. Shahi A, Kheir MM, Tarabichi M, Hosseinzadeh HR, Tan TL, Parvizi J. Serum D-Dimer Test Is Promising for the Diagnosis of Periprosthetic Joint Infection and Timing of Reimplantation. *JBJS*. 2017;99(17):1419-27.
62. Lee YS, Lee Y-K, Han SB, Nam CH, Parvizi J, Koo K-H. Natural progress of D-dimer following total joint arthroplasty: a baseline for the diagnosis of the early postoperative infection. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2018;13(1):36.
63. Tigges S, Stiles R, Roberson J. Appearance of septic hip prostheses on plain radiographs. *AJR American journal of roentgenology*. 1994;163(2):377-80.
64. Cyteval C, Hamm V, Sarraabère MP, Lopez FM, Maury P, Taourel P. Painful infection at the site of hip prosthesis: CT imaging. *Radiology*. 2002;224(2):477-83.
65. Karchevsky M, Schweitzer ME, Morrison WB, Parellada JA. MRI findings of septic arthritis and associated osteomyelitis in adults. *American Journal of Roentgenology*. 2004;182(1):119-22.

66. Fritz J, Lurie B, Miller TT, Potter HG. MR imaging of hip arthroplasty implants. *Radiographics*. 2014;34(4):E106-E32.
67. Signore A, Mather SJ, Piaggio G, Malviya G, Dierckx RA. Molecular imaging of inflammation/infection: nuclear medicine and optical imaging agents and methods. *Chem Rev*. 2010;110(5):3112-45.
68. Glaudemans A, Galli F, Pacilio M, Signore A. Leukocyte and bacteria imaging in prosthetic joint infection. *Eur Cell Mater*. 2013;25:61-77.
69. Rosenthal L, Lepanto L, Raymond F. Radiophosphate uptake in asymptomatic knee arthroplasty. *Journal of nuclear medicine*. 1987;28(10):1546-9.
70. Thakur ML, Lavender JP, Arnot RN, Silvester DJ, Segal AW. Indium-111-labeled autologous leukocytes in man. *Journal of Nuclear medicine*. 1977;18(10):1014-21.
71. Feigin D, Strauss H, James A. The bone marrow scan in experimental osteomyelitis. *Skeletal Radiology*. 1976;1(2):103-8.
72. Palestro CJ, Love C, Tronco GG, Tomas MB, Rini JN. Combined labeled leukocyte and technetium 99m sulfur colloid bone marrow imaging for diagnosing musculoskeletal infection. *Radiographics*. 2006;26(3):859-70.
73. Kapadia BH, Berg RA, Daley JA, Fritz J, Bhav A, Mont MA. Periprosthetic joint infection. *The Lancet*. 2016;387(10016):386-94.
74. Matsen Ko L, Parvizi J. Diagnosis of Periprosthetic Infection: Novel Developments. *Orthop Clin North Am*. 2016;47(1):1-9.
75. Deirmengian C, Kardos K, Kilmartin P, Cameron A, Chung D, Booth Jr R, et al., editors. Diagnosing periprosthetic joint infection: the era of the biomarker has arrived. *Orthopaedic Proceedings*; 2013: The British Editorial Society of Bone & Joint Surgery.
76. Wetters NG, Berend KR, Lombardi AV, Morris MJ, Tucker TL, Della Valle CJ. Leukocyte esterase reagent strips for the rapid diagnosis of periprosthetic joint infection. *The Journal of arthroplasty*. 2012;27(8):8-11.
77. Parvizi J, Jacovides C, Adeli B, Am Jung K, Hozack WJ, Mark B. Coventry Award: synovial C-reactive protein: a prospective evaluation of a molecular marker for periprosthetic knee joint infection. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2012;470(1):54-60.

78. Parvizi J, McKenzie JC, Cashman JP. Diagnosis of periprosthetic joint infection using synovial C-reactive protein. *The Journal of arthroplasty*. 2012;27(8):12-6.
79. Ali F, Wilkinson JM, Cooper JR, Kerry RM, Hamer AJ, Norman P, et al. Accuracy of joint aspiration for the preoperative diagnosis of infection in total hip arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 2006;21(2):221-6.
80. Schäfer P, Fink B, Sandow D, Margull A, Berger I, Frommelt L. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. *Clinical infectious diseases*. 2008;47(11):1403-9.
81. Tsaras G, Maduka-Ezeh A, Inwards CY, Mabry T, Erwin PJ, Murad MH, et al. Utility of intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am*. 2012;94(18):1700-11.
82. Kühn K-D. Diagnosis. In: Kühn K-D, editor. *Management of Periprosthetic Joint Infection: A global perspective on diagnosis, treatment options, prevention strategies and their economic impact*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2018. p. 43-75.
83. Della Valle CJ, Scher DM, Kim YH, Oxley CM, Desai P, Zuckerman JD, et al. The role of intraoperative Gram stain in revision total joint arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 1999;14(4):500-4.
84. Ghanem E, Ketonis C, Restrepo C, Joshi A, Barrack R, Parvizi J. Periprosthetic infection: where do we stand with regard to Gram stain? *Acta orthopaedica*. 2009;80(1):37-40.
85. Osmon DR, Berbari EF, Berendt AR, Lew D, Zimmerli W, Steckelberg JM, et al. Diagnosis and management of prosthetic joint infection: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;56(1):e1-e25.
86. Parvizi J, Zmistowski B, Berbari EF, Bauer TW, Springer BD, Della Valle CJ, et al. New definition for periprosthetic joint infection: from the Workgroup of the Musculoskeletal Infection Society. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2011;469(11):2992.
87. Müller M, Morawietz L, Hasart O, Strube P, Perka C, Tohtz S. Diagnosis of periprosthetic infection following total hip arthroplasty—evaluation of the diagnostic values of pre-and intraoperative parameters and the associated

strategy to preoperatively select patients with a high probability of joint infection. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2008;3(1):31.

88. Kraemer WJ, Saplys R, Waddell JP, Morton J. Bone scan, gallium scan, and hip aspiration in the diagnosis of infected total hip arthroplasty. *J Arthroplasty*. 1993;8(6):611-6.
89. Cataldo MA, Petrosillo N, Cipriani M, Cauda R, Tacconelli E. Prosthetic joint infection: recent developments in diagnosis and management. *J Infect*. 2010;61(6):443-8.
90. Bémer P, Léger J, Tandé D, Plouzeau C, Valentin AS, Jolivet-Gougeon A, et al. How many samples and how many culture media to diagnose a prosthetic joint infection: a clinical and microbiological prospective multicenter study. *Journal of clinical microbiology*. 2015;JCM. 02497-15.
91. Tunney MM, Patrick S, Gorman SP, Nixon JR, Anderson N, Davis RI, et al. Improved detection of infection in hip replacements: a currently underestimated problem. *J Bone Joint Surg Br*. 1998;80(4):568-72.
92. Trampuz A, Piper KE, Hanssen AD, Osmon DR, Cockerill FR, Steckelberg JM, et al. Sonication of explanted prosthetic components in bags for diagnosis of prosthetic joint infection is associated with risk of contamination. *Journal of clinical microbiology*. 2006;44(2):628-31.
93. Rak M, Barlič-Maganja D, Kavčič M, Trebše R, Cör A. Comparison of molecular and culture method in diagnosis of prosthetic joint infection. *FEMS microbiology letters*. 2013;343(1):42-8.
94. Jacovides CL, Kreft R, Adeli B, Hozack B, Ehrlich GD, Parvizi J. Successful identification of pathogens by polymerase chain reaction (PCR)-based electron spray ionization time-of-flight mass spectrometry (ESI-TOF-MS) in culture-negative periprosthetic joint infection. *JBJS*. 2012;94(24):2247-54.
95. Toms A, Davidson D, Masri B, Duncan C. The management of peri-prosthetic infection in total joint arthroplasty. *Bone & Joint Journal*. 2006;88(2):149-55.
96. Goulet JA, Pellicci PM, Brause BD, Salvati EM. Prolonged suppression of infection in total hip arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 1988;3(2):109-16.

97. Segreti J, Nelson JA, Trenholme GM. Prolonged suppressive antibiotic therapy for infected orthopedic prostheses. *Clinical infectious diseases*. 1998;27(4):711-3.
98. Byren I, Bejon P, Atkins B, Angus B, Masters S, McLardy-Smith P, et al. One hundred and twelve infected arthroplasties treated with 'DAIR'(debridement, antibiotics and implant retention): antibiotic duration and outcome. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2009;63(6):1264-71.
99. Silva M, Tharani R, Schmalzried TP. Results of direct exchange or debridement of the infected total knee arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2002;404:125-31.
100. Romanò CL, Manzi G, Logoluso N, Romanò D. Value of debridement and irrigation for the treatment of peri-prosthetic infections. A systematic review. *Hip international*. 2012.
101. Callaghan JJ, Katz RP, Johnston RC. One-stage revision surgery of the infected hip: a minimum 10-year followup study. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 1999;369:139-43.
102. Buechel FF, Femino FP, D'Alessio J. Primary exchange revision arthroplasty for infected total knee replacement: a long-term study. *American journal of orthopedics (Belle Mead, NJ)*. 2004;33(4):190-8; discussion 8.
103. Ure KJ, Amstutz HC, Nasser S, Schmalzried TP. Direct-exchange arthroplasty for the treatment of infection after total hip replacement. An average ten-year follow-up. *JBJS*. 1998;80(7):961-68.
104. Raut V, Siney P, Wroblewski B. One-stage revision of infected total hip replacements with discharging sinuses. *Bone & Joint Journal*. 1994;76(5):721-4.
105. Wroblewski B. One-stage revision of infected cemented total hip arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. 1986(211):103-7.
106. Booth JR, Lotke PA. The results of spacer block technique in revision of infected total knee arthroplasty. *Clinical orthopaedics and related research*. 1989(248):57-60.
107. Burnett RSJ, Kelly MA, Hanssen AD, Barrack RL. Technique and timing of two-stage exchange for infection in TKA. *Clinical orthopaedics and related research*. 2007;464:164-78.

108. Choi H-R, Freiberg AA, Malchau H, Rubash HE, Kwon Y-M. The fate of unplanned retention of prosthetic articulating spacers for infected total hip and total knee arthroplasty. *The Journal of arthroplasty*. 2014;29(4):690-3.
109. Mabry TM, Jacofsky DJ, Haidukewych GJ, Hanssen AD. THE CHITRANJAN RANAWAT AWARD: comparison of intramedullary nailing and external fixation knee arthrodesis for the infected knee replacement. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*. 2007;464:11-5.
110. Krijnen MR, Wuisman PI. Emergency hemipelvectomy as a result of uncontrolled infection after total hip arthroplasty: two case reports¹. *The Journal of arthroplasty*. 2004;19(6):803-8.
111. Sierra RJ, Trousdale RT, Pagnano MW. Above-the-knee amputation after a total knee replacement: prevalence, etiology, and functional outcome. *JBJS*. 2003;85(6):1000-4.
112. Tenke P, Riedl CR, Jones GL, Williams GJ, Stickler D, Nagy E. Bacterial biofilm formation on urologic devices and heparin coating as preventive strategy. *International journal of antimicrobial agents*. 2004;23:67-74.
113. Neoh K, Kang E. Combating bacterial colonization on metals via polymer coatings: relevance to marine and medical applications. *ACS applied materials & interfaces*. 2011;3(8):2808-19.
114. Campoccia D, Montanaro L, Speziale P, Arciola CR. Antibiotic-loaded biomaterials and the risks for the spread of antibiotic resistance following their prophylactic and therapeutic clinical use. *Biomaterials*. 2010;31(25):6363-77.
115. Schmidmaier G, Lucke M, Wildemann B, Haas NP, Raschke M. Prophylaxis and treatment of implant-related infections by antibiotic-coated implants: a review. *Injury*. 2006;37(2):S105-S12.
116. Schmidmaier G, Kerstan M, Schwabe P, Sudkamp N, Raschke M. Clinical experiences in the use of a gentamicin-coated titanium nail in tibia fractures. *Injury*. 2017;48(10):2235-41.
117. Fuchs T, Stange R, Schmidmaier G, Raschke MJ. The use of gentamicin-coated nails in the tibia: preliminary results of a prospective study. *Arch Orthop Traum Su*. 2011;131(10):1419-25.
118. Metsemakers WJ, Reul M, Nijs S. The use of gentamicin-coated nails in complex open tibia fracture and revision cases: A retrospective analysis of a

- single centre case series and review of the literature. *Injury-International Journal of the Care of the Injured*. 2015;46(12):2433-7.
119. Fu J, Ji J, Yuan W, Shen J. Construction of anti-adhesive and antibacterial multilayer films via layer-by-layer assembly of heparin and chitosan. *Biomaterials*. 2005;26(33):6684-92.
 120. Arciola CR, Montanaro L, Moroni A, Giordano M, Pizzoferrato A, Donati ME. Hydroxyapatite-coated orthopaedic screws as infection resistant materials: in vitro study. *Biomaterials*. 1999;20(4):323-7.
 121. Campoccia D, Arciola CR, Cervellati M, Maltarello MC, Montanaro L. In vitro behaviour of bone marrow-derived mesenchymal cells cultured on fluorohydroxyapatite-coated substrata with different roughness. *Biomaterials*. 2003;24(4):587-96.
 122. Rajendran K, Chen S, Sood A, Spielvogel B, Hall I. The anti-osteoporotic activity of amine-carboxyboranes in rodents. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 1995;49(3):131-40.
 123. Hall I, Gilbert C, McPhail A, Morse K, Hassett K, Spielvogel B. Antineoplastic activity of a series of boron analogues of α -amino acids. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1985;74(7):755-8.
 124. Hall I, Williams W, Gilbert CJ, McPhail A, Spielvogel B. Hypolipidemic activity of tetrakis- μ -(trimethylamine-borane-carboxylato)-bis (trimethylamine-carboxyborane)-dicopper (II) in rodents and its effect on lipid metabolism. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1984;73(7):973-7.
 125. Hall I, Das M, Harchelroad F, Wisian-Neilson P, McPhail A, Spielvogel B. Antihyperlipidemic activity of amine cyanoboranes, amine carboxyboranes, and related compounds. *Journal of pharmaceutical Sciences*. 1981;70(3):339-41.
 126. Kim DH, Faull KF, Norris AJ, Eckhert CD. Borate-nucleotide complex formation depends on charge and phosphorylation state. *Journal of mass spectrometry*. 2004;39(7):743-51.
 127. Ralston NV, Hunt CD. Diadenosine phosphates and S-adenosylmethionine: novel boron binding biomolecules detected by capillary electrophoresis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 2001;1527(1-2):20-30.

128. Hunt CD, Herbel JL, Nielsen FH. Metabolic responses of postmenopausal women to supplemental dietary boron and aluminum during usual and low magnesium intake: boron, calcium, and magnesium absorption and retention and blood mineral concentrations. *The American journal of clinical nutrition*. 1997;65(3):803-13.
129. Hunt CD, Herbel JL, Idso JP. Dietary boron modifies the effects of vitamin D3 nutrition on indices of energy substrate utilization and mineral metabolism in the chick. *Journal of bone and mineral research*. 1994;9(2):171-82.
130. Meacham SL, Taper LJ, Volpe SL. Effect of boron supplementation on blood and urinary calcium, magnesium, and phosphorus, and urinary boron in athletic and sedentary women. *The American journal of clinical nutrition*. 1995;61(2):341-5.
131. Hunt CD. Dietary boron modified the effects of magnesium and molybdenum on mineral metabolism in the cholecalciferol-deficient chick. *Biological trace element research*. 1989;22(2):201.
132. Kurtoğlu V, Kurtoğlu F, Coşkun B. Effects of boron supplementation of adequate and inadequate vitamin D3-containing diet on performance and serum biochemical characters of broiler chickens. *Research in veterinary science*. 2001;71(3):183-7.
133. Kingma H. The pharmacology and toxicology of boron compounds. *Can Med Assoc J*. 1958;78(8):620-2.
134. Reichman O, Akins R, Sobel JD. Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis. *Sexually transmitted diseases*. 2009;36(11):732-4.
135. Slack R. A study of three preparations in the treatment of otitis externa. *The Journal of Laryngology & Otology*. 1987;101(6):533-5.
136. Houlsby R, Ghajar M, Chavez G. Antimicrobial activity of borate-buffered solutions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1986;29(5):803-6.
137. Guzel Y, Golge UH, Goksel F, Vural A, Akcay M, Elmas S, et al. The Efficacy of Boric Acid Used to Treat Experimental Osteomyelitis Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: an In Vivo Study. *Biol Trace Elem Res*. 2016;173(2):384-9.

138. Batmaz G. Protez çevresi enfeksiyonlarından elde edilen klinik suşlar üzerinde geçici dolguda kullanılan düşük doz vankomisin, gentamisin ve borik asitin in vitro etkinliği. 2012.
139. Xu Y-N, Ching WY. Calculation of ground-state and optical properties of boron nitrides in the hexagonal, cubic, and wurtzite structures. *Physical Review B*. 1991;44(15):7787-98.
140. Sahin Y. Comparison of tool life between ceramic and cubic boron nitride (CBN) cutting tools when machining hardened steels. *Journal of materials processing technology*. 2009;209(7):3478-89.
141. Koga K, Kaji A, Hirosaki K, Hata Y, Ogura T, Fujishita O, et al. Cytotoxic evaluation of cubic boron nitride in human origin cultured cells. *Toxicology in vitro*. 2006;20(8):1370-7.
142. Kaftanoğlu B, Dökmetaş N. An environmentally friendly method of cutting and forming of materials by boron nitride coated tools. *International Journal of Sustainable Manufacturing* 10. 2014;3(2):143-55.
143. GÖKMENÖĞLU C, Özmeriç N, Çakal G, Dökmetaş N, Ergene C, Kaftanoğlu B. Coating of titanium implants with boron nitride by RF-magnetron sputtering. *Bulletin of Materials Science*. 2016;39(5):1363-70.
144. Sun L, Berndt CC, Gross KA, Kucuk A. Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: A review. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2001;58(5):570-92.
145. Franchi M, Orsini E, Martini D, Ottani V, Fini M, Giavaresi G, et al. Destination of titanium particles detached from titanium plasma sprayed implants. *Micron*. 2007;38(6):618-25.
146. Dzondo-Gadet M, Mayap-Nzietchueng R, Hess K, Nabet P, Belleville F, Dousset B. Action of boron at the molecular level. *Biological trace element research*. 2002;85(1):23-33.
147. Benderdour M, Hess K, Dzondo-Gadet M, Nabet P, Belleville F, Dousset B. Boron modulates extracellular matrix and TNF α synthesis in human fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*. 1998;246(3):746-51.

148. Nielsen FH. Studies on the relationship between boron and magnesium which possibly affects the formation and maintenance of bones [electronic resource]. *Magnesium and trace elements*. 1990;9(2):61-9.
149. Chapin RE, Ku WW. The reproductive toxicity of boric acid. *Environmental health perspectives*. 1994;102(Suppl 7):87.
150. Horvath L, Magrez A, Golberg D, Zhi C, Bando Y, Smajda R, et al. In vitro investigation of the cellular toxicity of boron nitride nanotubes. *ACS nano*. 2011;5(5):3800-10.
151. Romanò CL, Scarponi S, Gallazzi E, Romanò D, Drago L. Antibacterial coating of implants in orthopaedics and trauma: a classification proposal in an evolving panorama. *Journal of orthopaedic surgery and research*. 2015;10(1):157.
152. Chen X, Wu P, Rousseas M, Okawa D, Gartner Z, Zettl A, et al. Boron nitride nanotubes are noncytotoxic and can be functionalized for interaction with proteins and cells. *Journal of the American Chemical Society*. 2009;131(3):890-1.
153. Ciofani G, Danti S, Nitti S, Mazzolai B, Mattoli V, Giorgi M. Biocompatibility of boron nitride nanotubes: an up-date of in vivo toxicological investigation. *International journal of pharmaceutics*. 2013;444(1-2):85-8.
154. Gosheger G, Hardes J, Ahrens H, Streitburger A, Buerger H, Erren M, et al. Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model—an analysis of the infection rate and toxicological side effects. *Biomaterials*. 2004;25(24):5547-56.
155. Secinti KD, Özalp H, Attar A, Sargon MF. Nanoparticle silver ion coatings inhibit biofilm formation on titanium implants. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2011;18(3):391-5.
156. Hardes J, Henrichs MP, Hauschild G, Nottrott M, Guder W, Streitbuerger A. Silver-coated megaprosthesis of the proximal tibia in patients with sarcoma. *The Journal of arthroplasty*. 2017;32(7):2208-13.
157. Donati F, Di Giacomo G, D'Adamio S, Ziranu A, Careri S, Rosa M, et al. Silver-coated hip megaprosthesis in oncological limb salvage surgery. *BioMed research international*. 2016;2016.

158. Mijndendonckx K, Leys N, Mahillon J, Silver S, Van Houdt R. Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance. *Biometals*. 2013;26(4):609-21.
159. Petrini P, Arciola CR, Pezzali I, Bozzini S, Montanaro L, Tanzi M, et al. Antibacterial activity of zinc modified titanium oxide surface. *The International journal of artificial organs*. 2006;29(4):434-42.
160. Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Applied and environmental microbiology*. 2011;77(5):1541-7.
161. Moseke C, Gbureck U, Elter P, Drechsler P, Zoll A, Thull R, et al. Hard implant coatings with antimicrobial properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2011;22(12):2711-20.
162. Dexter SJ, Pearson RG, Davies MC, Cámara M, Shakesheff KM. A comparison of the adhesion of mammalian cells and *Staphylococcus epidermidis* on fibronectin-modified polymer surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2001;56(2):222-7.
163. Busscher HJ, Van Der Mei HC, Subbiahdoss G, Jutte PC, Van Den Dungen JJ, Zaat SA, et al. Biomaterial-associated infection: locating the finish line in the race for the surface. *Science translational medicine*. 2012;4(153):153rv10-rv10.