

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENTAL İMPLANT İÇİNE YERLEŞTİRİLEN FARKLI
KONSANTRASYONLARDA KLORHEKSİDİN VE POLİMER ORANINA
SAHİP JELLERİN İMPLANT İÇİ BAKTERİYEL ÜREME ÜZERİNE KISA VE
UZUN DÖNEM ETKİLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ**

Dt. Seçil ÇOPUROĞLU

**Cerrahi Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2015**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENTAL İMPLANT İÇİNE YERLEŞTİRİLEN FARKLI
KONSANTRASYONLARDA KLOORHEKSİDİN VE POLİMER ORANINA
SAHİP JELLERİN İMPLANT İÇİ BAKTERİYEL ÜREME ÜZERİNE KISA VE
UZUN DÖNEM ETKİLERİNİN İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ**

Dt. Seçil ÇOPUROĞLU

**Cerrahi Programı
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Alper AKTAŞ**

**ANKARA
2015**

Anabilim Dalı : AĞIZ, DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
 Program : CERRAHİ
 Tez Başlığı : **DENTAL İMPLANT İÇİNE YERLEŞTİRİLEN FARKLI KONSANTRASYONLARDA Klorheksidin ve Polimer oranına sahip jellerin implant içi bakteriyel üreme üzerine kısa ve uzun dönem etkilerinin in vitro olarak incelenmesi**
 Öğrenci Adı-Soyadı : SEÇİL ÇOPUROĞLU
 Savunma Sınavı Tarihi : 22.01.2015

Bu çalışma jürimiz tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: PROF. DR. OSMAN TAHA KÖSEOĞLU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

Tez Danışmanı:

DOÇ. DR. ALPER AKTAŞ

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

Üye:

PROF. DR. YILMAZ ÇAPAN

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

Üye:

PROF. DR. KEMAL YAMALIK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Üye:

PROF. DR. MURAT AKKOCAOĞLU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ersin FADILLIOĞLU

Müdür

TEŞEKKÜR

Tezimin planlanması ve hazırlanması boyunca yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Alper AKTAŞ'a,

Tüm çalışmam ve eğitim hayatım boyunca, desteklerini hissettiğim başta Ağız, Diş, Çene Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman Taha KÖSEOĞLU olmak üzere bütün hocalarım, asistan arkadaşlarım ve cerrahi ailesine,

Tezimde kullanılan jellerin hazırlanması ve değerlendirilmesinin yanı sıra çalışmamın planlanması aşamasında büyük katkıları bulunan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yılmaz ÇAPAN' a ve Uzm. Ecz. Seçil ÇABAN' a,

Tezimin mikrobiyoloji ile ilgili bölümlerinin yürütülmesi ve planlanma aşamalarında büyük katkıları bulunan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meral SAĞIROĞLU' na ve Uzm. Bio. Ceren ERDOĞDU' ya,

Tezimin istatistiksel çalışmasındaki katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Erdem KARABULUT' a,

Cerrahi ailesine katıldığım günden beri desteğini her zaman yanımda hissettiğim Prof. Dr. Bahadır GİRAY' a,

Tüm eğitim hayatım boyunca, sonsuz sabır, sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olan annem, babam, ağabeyime ve eşim Çağlar ÇOPUROĞLU' na, içtenlikle teşekkür ederim.

ÖZET

Çopuroğlu, S. Dental İmplant İçine Yerleştirilen Farklı Konsantrasyonlarda Klorheksidin ve Polimer Oranına sahip Jellerin İmplant İçi Bakteriyel Üreme Üzerine Kısa ve Uzun Dönem Etkilerinin İn Vitro Olarak İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahi Programı Doktora Tezi, Ankara, 2015. Bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda klorheksidin glukonat ve kitosan içeriğine sahip jellerin, dental implantlarda mikrosızıntı ve bakteriyel üreme üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Her biri beşer adet implanttan oluşan beř grup planlanmıştır. Çalışma grupları; %1.5 kitosan - %1 klorheksidin glukonat, %1.5 kitosan - %2 klorheksidin glukonat, %2 kitosan-%1 klorheksidin glukonat, %2 kitosan - %2 klorheksidin glukonat şeklinindedir. İlgili gruptaki jel, implantın içine uygulanarak iyileşme başlığı kapatılmış; kontrol grubunda ise implantın içine steril besiyeri uygulanmıştır. Tüm implantlar *Staphylococcus Aureus* içeren besiyerinde inkübe edilmiştir. 1 hafta sonra implantların içinden kağıt koni ile örnek alınarak besiyerine ekim yapılmış; sonuçlar bakteriyel üreme var ya da yok şeklinde değerlendirilmiştir. Aynı işlemler 4, 8, 12. haftalarda tekrarlanmıştır. Bakteriyel kùltür sonucunda 1. ve 4. haftalarda, tüm jellerin kontrol grubuna göre belirgin antibakteriyel etki gösterdiği görölmüştür. 8. haftada % 1 klorheksidin glukonat - %1,5 kitosan içeren jelin etkinliğinin azaldığı görölrken diğer jellerin etkinliğinin 12 hafta boyunca değişmediği izlenmiştir. Zamandan bağımsız olarak bakıldığında ise % 2 klorheksidin glukonat içeren jellerin %1 klorheksidin glukonat içeren jellerden daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği görölmüştür. Çalışmamızın sonucunda, özellikle %2 klorheksidin glukonat içeriğine sahip jeller ile, peri-implant kemik kaybının en hızlı olduğu erken dönemde, bakteriyel mikrosızıntının önlenebileceği in vitro olarak gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: klorheksidin, kitosan, jel, mikrosızıntı, erken dönem peri-implant kemik kaybı, peri-implantitis

ABSTRACT

Çopuroğlu, S. In Vitro Examination of Short and Long Term Effects of Gels With Varying Chlorhexidine to Polymer Concentration Ratios Installed Into Dental Implants on Bacterial Growth Within the Implant. Hacettepe University Institute of Health Sciences, Ph. D., Thesis in Oral Surgery, Ankara, 2015. In this study, effects of gels with varying chlorhexidine gluconate to chitosan ratios on microleakage at dental implants and bacterial growth are evaluated. Five groups were planned and each group consisted of five implants. Four different formulations were prepared for test groups. Chlorhexidine gluconate and chitosan concentrations of the formulations were; 1.5% chitosan - 1% chlorhexidine gluconate, 1.5% chitosan-2% chlorhexidine gluconate, 2% chitosan - 1% chlorhexidine gluconate and 2% chitosan- 2% chlorhexidine gluconate. Each of the gels was installed in five implants. Sterile medium was installed in implants for the control group. All implants were embedded in medium containing *Staphylococcus Aureus* and incubated for one week. Samples were collected from the internal part of the implants by using a paper point at the end of one week and the paper points were cultivated. Bacterial growth was evaluated according to the presence of bacterial colonies. All procedure was repeated for 4, 8, 12 weeks. According to the bacterial cultivation results, all formulations prevented bacterial growth in the internal cavity of implants along 1 and 4 weeks. Antibacterial effect of formulation containing 1% chlorhexidine gluconate-1, 5% chitosan diminished after 4 weeks while other formulations protected their antibacterial effect for 12 weeks. Gels containing 2% chlorhexidine gluconate showed stronger antibacterial activity than gels containing 1% chlorhexidine gluconate. At the end of this in vitro study, it was shown that a bacteria free environment can be obtained in the internal cavity of the implants by using gels containing 2 % chlorhexidine gluconate for early period of healing when rapid peri-implant bone resorption occurs.

Key Words: chlorhexidine, chitosan, gel, microleakage, early peri-implant bone loss, peri-implantitis

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiv
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Dental İmplantlar	4
2.1.1. Dental İmplant Tanımı ve Tarihçesi	4
2.1.2. Dental İmplantların Sınıflandırılması	6
2.2. Mikroaralık	10
2.2.1. Mikroaralık Kaynaklı Komplikasyonlar	10
2.2.2. Mikrosızıntıyı Etkileyen Faktörler	13
2.2.3. Mikrosızıntı ve Komplikasyonlarının Önlenmesi	14
2.3. Peri-implant Dokuların Enfeksiyöz Lezyonları	16
2.3.1. Peri-implant Dokuların Enfeksiyöz Lezyonlarının Mikrobiyolojisi	17
2.3.2. Etyoloji ve Patogenez	19
2.3.3. Risk Faktörleri	21
2.3.4. Tanı	24
2.4. Peri-implant Doku Enfeksiyonlarının Önlenmesi ve Tedavisi	26
2.4.1. Peri-implant Mukozitis Tedavisi	27
2.4.2. Peri-implantitis Tedavisi	29
2.5. Antiseptikler	37
2.5.1. Konu ile İlgili Tanımlar	37
2.5.2. Tarihçe	38
2.5.3. Antimikrobiyal Ajanların Etkinliğini Belirleyen Faktörler	41

2.5.4. Antiseptik ve Dezenfektan Ajanlar, Genel Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri	42
2.5.5. Dezenfektanlara Direnç	45
2.5.6. Antiseptik ve Dezenfektan Maddelerin Etki Mekanizmaları	45
2.6. Klorheksidin	46
2.6.1. Kimyasal Yapısı	46
2.6.2. Farmakolojik Özellikleri	47
2.6.3. Antimikrobiyal Aktivite	48
2.6.4. Antimikrobiyal Etki Mekanizması	48
2.6.5. Klinik Kullanım ve Etkinliği	49
2.6.6. Biyolojik Etkileri ve Güvenilirlik	51
2.7. Oral Kavitede Kullanılan İlaç Taşıyıcı Sistemler	54
2.7.1. Topikal Oral İlaç Uygulama Sistemleri	55
2.7.2. Dozaj Formlarında Kullanılan Polimerler	60
2.8. Kitosan	61
2.8.1. Kitosanın Kullanım Alanları	61
2.8.2. Kitosanın Farmasötik Kullanım Alanları	61
2.8.3. Kitosanın Biyolojik Etkileri	62
2.8.4. Toksisite	65
3. GEREÇ VE YÖNTEM	66
3.1. Jellerin Hazırlanması	66
3.2. Klorheksidin Glukonat Yüklü Jellerden Etkin Madde Salımının Değerlendirilmesi	68
3.3. Jellerin Viskozitesinin Değerlendirilmesi	69
3.4. Mikrobiyal Kültür	70
4. BULGULAR	75
4.1. Jellerin Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi	75
4.2. Jellerin Zamandan Bağımsız Olarak Genel Etkinliğinin Değerlendirilmesi	80
4.3. Jellerin Antibakteriyel Etkinliğinin Zaman İçinde Değişiminin Değerlendirilmesi	81
4.4. Jellerin Etkin Madde Salım Profillerinin Değerlendirilmesi	82

4.5. Jellerin Viskozitelerinin Değerlendirilmesi	82
5. TARTIŞMA	84
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	110
7. KAYNAKLAR	112

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrad derece
CFU/mL	: Colony-forming units / Mililitre
cm	: Santimetre
cP	: Centipoise
Da	: Dalton
FDT	: Fotodinamik terapi
g	: Gram
mg/mL	: Miligram / Mililitre
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
PDGF	: Platelet derived growth factor
rpm	: Revolutions per minute
sn	: Saniye
TSA	: Tyriptic soy agar
TSB	: Tyriptic soy Broth
TGF	: Transforming Growth Factor
ug/mL	: Mikrogram / Mililitre
YDR	: Yönlendirilmiş doku rejenerasyonu
μ	: Mikron
μl	: Mikrolitre
1/s	: 1 / Saniye

ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.2.	Mikroaralık ve alveoler kemiğin mikroskopik görüntüsü	10
2.6.	Klorheksidinin yapısal formülü	46
2.8.	Kitosanın moleküler yapısı	61
3.1.1.	A: Yüksek molekül ağırlıklı kitosan; B:Laktik asit çözeltisi içinde kitosan	66
3.1.2.	Kitosan – laktik asit çözeltisinin mekanik karıştırıcı ile karıştırılması	67
3.2.1.	A: İçi boş diyaliz membranı; B: 1 gece boyunca ultrasaf suda bekletildikten sonra içine etken madde yerleştirilmiş diyaliz membranları	68
3.2.2.	Salım ortamlarının manyetik karıştırıcı ile karıştırılması	68
3.2.3.	Çalışmamızda kullanılan spektrofotometre	69
3.3.	Çalışmamızda kullanılan viskozimetre	70
3.4.1.	Bakteri içeren besiyerinin mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilmesi	70
3.4.2.	A: İmplantların içine jel/besiyeri uygulanması; B: Bakteri içeren besiyerine yerleştirilen implant-iyileşme başlığı bileşikleri	71
3.4.3.	Çalışmamızda kullanılan inkübatör	72
3.4.4.	Kağıt koni ile implantların içinden örnek alınması	72
3.4.5.	Mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilen kağıt koni içeren tüpler	73
3.4.6.	Kağıt koni ile 1 gece inkübe edilen TSB besiyerlerinden örnek alınarak TSA besiyerine ekim yapılması	73
3.4.7.	A: Kağıt konilerin 1 gece inkübasyonu sonunda 1 numaralı tüpte bakteriyel üreme nedeniyle bulanık görüntü varken üremenin olmadığı 2 numaralı tüpte besiyeri berrak görünmektedir; B: TSA besiyerinde görülen bakteriyel koloniler	74
4.4.	Klorheksidin glukonat salım grafiği	82
4.5.1.	Jellerin vücut sıcaklığındaki (37 °C) viskozite eğrileri	83

4.5.2. Jellerin oda sıcaklığındaki (25 °C) viskozite eğrileri

TABLOLAR

Tablo		Sayfa
4.1.1.	Test ve kontrol gruplarında üreme görülen implantlar	75
4.1.2.	1 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı	76
4.1.3.	4 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı	77
4.1.4.	8 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı	78
4.1.5.	12 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı	79
4.2.	Zamandan bağımsız olarak farklı jel gruplarında üreme görülen implantların dağılımı	80
4.3.	Jellerin antibakteriyel etkinliğinin zaman içinde değişimi	81

1.GİRİŞ

Herhangi bir nedenle yaşanan diş kaybının, mümkün olduğunca doğal dişe benzer şekilde tedavi edilerek, mevcut estetik ve fonksiyonel sıkıntıların ortadan kaldırılması, tarihin ilk dönemlerinden beri insanoğlunun ilgi gösterdiği bir konudur. İkel zamanlarda basit teknikler ve doğal materyaller kullanılarak yapılan ve genellikle başarısızlıkla sonuçlanan tedaviler, günümüzde uygulanan dental implant tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Yüzyıllar içinde asepsi-antisepsi, biyomateryaller, cerrahi tekniklerdeki ilerlemeler ve oral fizyolojinin daha iyi anlaşılması ile beraber, dental implantoloji de hızla gelişmiş ve günümüzde basit dişsizliklerden komplike vakalara kadar geniş bir hasta grubu, gerek estetik gerek fonksiyonel açıdan başarılı bir şekilde rehabilite edilebilir duruma gelmiştir.

Multidisipliner bir yaklaşım gerektiren dental implant uygulamalarında başarıyı belirleyecek çok sayıda etken bulunmaktadır. Güncel verilere bakıldığında dental implantın sağ kalımı üzerinde negatif etki yaratan en önemli iki parametrenin, peri-implant dokularda gelişen enfeksiyon ve implanta gelen anormal okluzal kuvvetler olduğu görülmektedir (1).

İmplantın bulunduğu oral kavite insan vücudundaki en karmaşık mikrobiyal floraya sahip yapı olup, başta bakteriler olmak üzere çok sayıda mantar, virüs ve protozoa gibi mikroorganizmalara ev sahipliği yapar (2). Oral kavitede gerçekleştirilen diğer cerrahi girişimlerde olduğu gibi dental implant cerrahisi sırasında ve takip eden sürede yara bölgesi bu mikroorganizmalar tarafından kolonize edilir. İmplant cerrahisinin önemli bir farkı ise mikrobiyal üreme için ek bir ortamın (implantın) varlığıdır.

İmplantasyonu takiben kısa süre içinde iyileşme başlıkları, dayanaklar ve dental implant yüzeylerinde, başlangıç seviyesinde bakteriyel adezyon ve kolonizasyon görülür. Fürst ve diğ. (3), cerrahi prosedürün tamamlanmasıyla beraber, submukozal implant mikrobiotasının da oluştuğunu bildirmiştir. İmplant yüzeylerinin bakteriyel kolonizasyonunun dışında, oral

floradaki bakteriler, implant ve dayanak arasındaki boşluktan geçerek implantın iç yüzeyinde de bir mikroflora oluşumuna neden olur (4). İmplantın yüklenmesini takiben ilk yıl görülen kemik kaybından da sorumlu tutulan bu bakteriyel rezervuarın (5), peri-implantitis tedavisi ya da yönlendirilmiş doku rejenerasyonunun uygulandığı durumlarda, tedavinin başarısızlık riskini arttırdığı bildirilmiştir (6). Sonuç olarak implant komponentlerinin yüzeyinde oluşan mikrobiyal biyofilmin yanı sıra özellikle fiziksel olarak uzaklaştırmanın mümkün olmadığı ve konağın savunma mekanizmalarından etkilenmeyen internal mikroflora, mikrosızıntı yoluyla peri-implant dokuların enfeksiyonuna zemin hazırlar (7). Bu nedenle internal mikroflora oluşumunun engellenmesi ya da oluşan mikrofloranın etkisiz hale getirilmesi önemli bir konudur. Bu amaçla önerilmiş farklı uygulamalar bulunmaktadır. Bunlardan birisi de implant yüzeyleri, iyileşme başlığı ve ya dayanak aracılığı ile klorheksidin gibi antimikrobiyal bir ajan içeren topikal salım sistemlerinin kullanılmasıdır (8).

Klorheksidin geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliği nedeniyle medikal alanda çok sık tercih edilen bir dezanfektandır. Gargara, jel, cila gibi farklı formlarda olacak şekilde diş hekimliğinde de oldukça sık kullanım alanı bulunan klorheksidinin, son yıllarda uzun süre etkisinin elde edilmesinin amaçlandığı kontrollü salım sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemlerin implant içine uygulandığında internal mikroflora oluşumu üzerine etki ettiği literatürde gösterilmiştir (9-11).

Literatürde mikrosızıntı üzerine olan antibakteriyel etkinin değerlendirilmesi amacı ile kullanılan ajanların hepsi ticari olarak kullanımda olan formülasyonlardır. Daha önce etken madde dışında formülasyonda kullanılan diğer maddeler ile kimyasal ve fiziksel olarak antibakteriyel etkinliğin artırılmasına yönelik bir çalışma yapılmamıştır. Biz çalışmamızda, mikrosızıntı üzerinde etki edebilecek uygun klorheksidin glukonat konsantrasyonunu belirlemenin yanı sıra antibakteriyel etkinin fiziksel ve kimyasal olarak artırılıp artırılamayacağını gözlemleyebilmek için polimeriçeriğini de değiştirdik ve farklı miktarlarda etken madde ve polimer konsantrasyonuna sahip jeller hazırladık. İn vitro olarak planladığımız bu

Çalışmada, implant içine yerleştirdiğimiz farklı konsantrasyonlarda klorheksidin glukonat ve polimer ile hazırlanan jellerin antibakteriyel etkinliğini, birbirleriyle ve sadece steril besi yeri uygulanan kontrol grubu ile karşılaştırmayı amaçladık. Aynı zamanda preparatların antibakteriyel etkinliklerinin zaman içindeki değişimi ve böylece optimum formülasyonu ve etki sürelerini belirleyebilmeyi hedefledik. Çalışmadan elde edilecek sonuçlar doğrultusunda, implantasyonu takiben erken iyileşme dönemindeki kemik kaybını azaltacak, peri-implantitis tedavisi ve yönlendirilmiş doku rejenerasyonu uygulanan durumlarda başarı şansını arttıracak bir preparat elde edilmesi amacıyla yapılacak ileri çalışmalara zemin hazırlanmiş olacaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Dental İmplantlar

2.1.1.Dental İmplant Tanımı ve Tarihçesi

Latince bitki ekmek anlamına gelen *implantare* kelimesinden türeyen implant sözcüğü, kayıp ya da hasar görmüş bir biyolojik yapının yerine konması ya da desteklenmesi amacı ile vücuda yerleştirilen medikal cihazları tanımlamaktadır. Kayıp biyolojik yapı diş olduğunda ise dental implant olarak adlandırılmaktadır (12).

Modern implantlara benzememekle birlikte, dental implant olarak kabul edilebilecek ilk uygulamalara MÖ (Milattan önce) 2500 yılında Mısır'da rastlanmaktadır. MÖ 500'lerde Etrüskler ve MÖ 300'lerde Fenikeliler, hayvanlardan çektikleri dişleri ve diş şeklinde yonttukları hayvan kemiklerini, altın bantlar ile stabilize ederek fonksiyon kaybını gidermeye çalışmıştır (13).

MS (Milattan sonra) 600' lü yıllarda ise Mayalar'ın, diş şeklinde yonttukları deniz kabuklarını, kaybedilmiş mandibuler insizör alveollerine implante ettikleri görülmektedir. Hatta 1970'lerde bu implantlardan alınan radyografların etrafında, kompakt kemik formasyonu olduğu gösterilmiştir. MS 800 yıllarında ise taştan yontulan ilk implant implante edilmiştir (13).

1981'de Atilla(14), İzmir yakınlarında bir mezarlıkta yapılan kazıda hematit ve kalsit tabakalarından oluşan, taştan diş şeklinde yontulmuş implant benzeri bir yapı ve bunu komşu dişlere bağlamakta kullanıldığı sanılan altın bir aparey bulmuştur. Haziran 1990'da ise Crubézy ve diğ.(15), Fransa'da yaptıkları kazıda, Roma dönemine ait bir erkek cesedinin maksillasında, dental implant olarak kullanıldığı düşünülen metal bir apareye rastlamış ve bu apareyin herhangi bir patolojiye neden olmaksızın ölümden önce yaklaşık 1 yıl kadar fonksiyon gördüğünü ileri sürmüştür.

Becker ise (16, 17), tüm bu arkeolojik verilere şüphe ile yaklaşmış; yapay olarak kabul edilen dişlerin aslında bronz gibi bir metalle temas sonucu boyanan doğal dişler olduğu ve dentinle kökün postmortem olarak ayrıldığı

sonucuna varmıştır. Maya dönemine ait “implantlar” ın etrafındaki kemikte, integrasyon gibi görünen radyolojik bulguların ise, aslında kök ile kemik arasına sıkışmış topraktan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (18).

Modern implantlara benzer, altından yapılmış ilk implant 1809’da Maggiolo tarafından taze çekim soketine tek aşamalı olarak yerleştirilmiştir (19).1900’lerin başında Greenfield, doğal dişlerin implantasyonunun kısıtlılığı nedeniyle yapay materyallere önem vermiş; 24 ayar altın ile lehimlenmiş iridoplatinum tellerden içi boş silindir şeklinde yapılmış implantların kullanımı üzerine çalışmıştır (19).

İlk biyouyumlu materyalden yapılmış endosseoz implant, Strock tarafından 1938’de Harvard’da yerleştirilmiştir. Kobalt-krom-molibdenyumdan oluşan bu implant, hastanın öldüğü 1955 yılına kadar stabil olarak kalmıştır. Strock yaptığı çalışmalarla, ilk defa metalik endosteal implantların 17 yıla kadar insan vücudu tarafından tolere edilebildiğini göstermiştir (20).

1943 yılında Dahl tarafından subperiosteal implant kavramı tanımlanmış olsa da dünyada yaygın olarak kullanımına Goldberg ve Gershkoff’un 1949’daki yayınından sonra başlanmıştır (21). Ancak subperiosteal implantlar, genellikle yaranın açılması sonucu başarısızlıkla sonuçlanmıştır.

Endosseoz*blade* implant düşüncesi ilk defa Linkow ve Roberts tarafından ortaya atılmış ve 1968 yılında Prof. Leonard Linkow’un yayınıyla beraber farklı formları bulunan bu tip implantların, parsiyel veya total dişsiz hastalarda kullanımı sıklaşmıştır (20).

Dental protezleri destekleyen titanyum dental implantlar ile ilgili ilk çalışmalar 1960’ ların sonlarında Brånemark tarafından yapılmıştır(19). Aynı dönemde İsviçre’ de Schroeder, Almanya da ise Schulte bağımsız olarak titanyum endosseoz implantlar üstünde çalışmışlardır (21). 1970’lerde osseointegrasyonun öngörülebilirliğine dair verilerin artmasıyla beraber, Avrupa’daki merkezlerde rutin klinik kullanıma başlanmıştır. İlk başarılı osseointegre dental implant, dişsiz mandibulaya uygulanmış; hatta erken dönemlerde osseointegre implant kullanımı dişsiz mandibula ile sınırlı tutulmuştur.

1982 yılında Toronto'da Brånemark ve laboratuvarı tarafından düzenlenen Klinik Diş Hekimliğinde Osseointegrasyon Konferansı'nda, osseointegre implantlar ile ilgili temel bilimler, biyomateryaller ve klinik çalışma bulguları hakkında bilgi verilmiş ve osseointegrasyon konsepti tanımlanmıştır. Bu konferans sonrası yayınlanan bildirilerle beraber, dental implantlara olan akademik ilgi artmış ve günümüzde dental implant uygulaması rutin bir prosedür haline gelmiştir.

2.1.2. Dental İmplantların Sınıflandırılması

Modern anlamda dental implantoloji ile ilgili çalışmalara 1930' ların sonlarında başlanmış olup bu çalışmalara halen yoğun bir şekilde devam edilmektedir. Sonuç olarak günümüze kadar geliştirilen çok sayıdaki implant sistemlerinden bazıları başarısız sonuçları nedeniyle kullanılabilirliğini kaybederken bazıları günden güne geliştirilerek piyasadaki yerini korumuştur. Kullanılan bu implant sistemlerini, yerleştirildikleri ve destek aldıkları dokulara göresınıflandıracak olursak:

Subperiosteal implantlar: 1940'lı yıllarda tanımlanan bu tip implantlar, cerrahi olarak ekspoz edilen kemik üzerinden ölçü alınarak veya radyolojik görüntüler ile bilgisayar ortamında oluşturulan modeller kullanılarak üretilir (12, 22). Ciddi kemik rezorpsiyonu varlığında endike olan subperiosteal implantlar, kafes şeklinde ince metal yapılar olup periost altına, direkt kemik üzerine yerleştirilir. Bir eğer şeklinde kemiğin üzerine oturan bu implantların etrafı, zamanla fibröz doku ile sarılır. Diş etinden ağız içine doğru yükselen uzantıları olan bu implantlar, gelen kuvvetleri direkt kemik üzerine dağıtır (12). Bu sistemde yara bölgesinin primer olarak kapatılması zordur ve implantın direk buksinator kas üzerine oturması sonucu kasta ödem ve çiğneme zorluğu yaratabilir(12).

Transosteal implantlar: Bu implant sistemi, özellikle kaza ya da bir patoloji sonucu mandibula anterior bölgede ciddi kemik kaybının olduğu durumlarda endikedir. Bu sisteminin en önemli dezavantajı, ekstraoral ve intraoral girişimin aynı anda yapılması nedeniyle, hastanın genel anestezi

altında opere edilmesi gerekliliğidir. İmplantın, mandibulayı alveolden bazise kadar geçerek mandibulanın tabanına gelen kaide plağı, retansiyon pimleri, transosseoz pimleri, bağlayıcılar ve kilitleyici somunları içeren karmaşık bir yapısı vardır (12).

Intramukozal implantlar: 1940'lı yıllarda geliştirilen bu implantlar, atrofik maksilla varlığı, protezin labial uzantılarının kısa olmasının istendiği ve protezde palatinal bölümün istenmediği durumlarda tercih edilir (12). Titanyumdan yapılmış mantar şeklindeki bu implantlar, keratinize gingivaya atake olarak mekanik bir kilitleme sağlar. Bunun elde edilebilmesi için, implantın etrafındaki yumuşak dokunun, implantı çok sıkı saracak biçimde iyileşmesi gerekmektedir (23). Günümüzde bu tip implantlar tercih edilmemektedir.

Endosseoz implantlar: Direkt olarak kemiğe uygulanan bu tip implantlar,yük taşıyan implant ile canlı kemik arasında rijid, fonksiyonel ve yapısal bir bağlantı olarak tanımlanan osseointegrasyon özelliğine sahiptir(24). Özellikle kemik rejenerasyon tekniklerinin gelişmesi ile birlikte diğer tip implantların kullanımı azalırken endosseoz implantlar giderek artan başarı oranları ile birlikte en sık kullanılan implant türü haline gelmiştir. Endosseoz implantların çok sayıda çeşidi bulunmaktadır. Bunlara kısaca bakacak olursak;

Blade implantlar: Daha önce geliştirilmesine rağmen 1960'ların sonlarına doğru popülerlik kazanan *blade* implantlar, özellikle bukko-lingual boyutun yetersiz olduğu durumlarda endikedir. İmplant, kret üzerinde kortikal kemikte hazırlanan delikler birleştirilerek elde edilen osteotomi hattına, mümkün olduğunca derine penetre olacak şekilde yerleştirilir. Bu işlemi takibendayanak, karşıt dişin pozisyonuna göre eğim verilerek pozisyonlandırılır (25). Üzerinde, kemiğin aralarından geçerek stabiliteyi arttırmasına olanak verecek deliklerin bulunduğu 'bıçak' şeklinde olan bu implantların, farklı tip olanları bulunmaktadır. Çekim sonrası soketlere adaptasyonu zor olan *blade* implantlarda, cerrahi sırasında çevre kemiğin hasar görme riski bulunmaktadır (25).

Intramobil silindir implantlar: İmplant, apikalinden kemiğin dolmasını sağlayarak implantı stabilize eden perforasyonlara sahip gövde kısmı, cilalı yüzeye sahip kranial kısım, titanyumdan yapılmış yüzük şeklinde ara parça ve sisteme adını veren polioksimetilenden yapılmış bir ara parçadan oluşur. İmplant cerrahisini takiben 3-6 ay kadar osseointegrasyon için beklenir ve sonrasında ikinci bir cerrahi ile implantın içindeki mukoza uzaklaştırılarak intramobil parça takılır. Her türlü dişsizlik durumunda endike olan bu tip implantlar ile özellikle her iki çenede posterior bölgede başarılı sonuçlar elde edilmektedir (12).

İçi boş silindirik implantlar: 1976 yılında kullanıma giren içi boş silindir şeklindeki bu implantların üzerinde, kemik yüzeyi ile olan teması arttırabilmek için perforasyonlar bulunmaktadır. Her türlü dişsizlik durumunda kullanılabilen bu implantların en önemli avantajı, solid implantlardaki kadar kemik uzaklaştırılmadan yeterli primer stabilitenin sağlanabilmesidir. Ancak ilerleyen yıllarda yapılan çalışmalarda, transvers açıklıkları bulunan içi boş bu yapının, bazen hiçbir klinik bulgu vermeden hızlı kemik kaybı ve mobilite nedeniyle kaybedilebileceği, mikroorganizmaların üremesi için uygun ortamı hazırlayabileceği ve implantta kırık gibi komplikasyonların görülebileceği rapor edilmiştir (26-28).

Vida şeklinde yivlere sahip implantlar: Günümüzde en sık tercih edilen implant formudur. Kemik içine yerleştirilen silindirik ya da konik formda olan ve üzerinde yivler bulunan bu implantlar, mukozayı delerek ağız ortamına açılan bir dayanak ile proteze bağlanır. Bu tip implantlar, protetik dayanağın implantla olan ilişkisine göre ikiye ayrılır;

- Tek parça (Monoblok) implantlar: Bu tip implantlar, genel olarak ankraj ünitesi ile transmukozal parça ve dayanak parçasının birleşik olarak üretildiği implantlar olarak tanımlanmıştır ki (29) biz de çalışmamızda bu tanımlamayı kullanmayı tercih ettik. Ancak bazı kaynaklarda, kemiğe bağlanan kısım ile transmukozal parçanın beraber olduğu, protetik dayanak kısmının ise bu bileşke ile beraber ya da ayrı olabileceği belirtilmiştir (30). Monoblok implantların

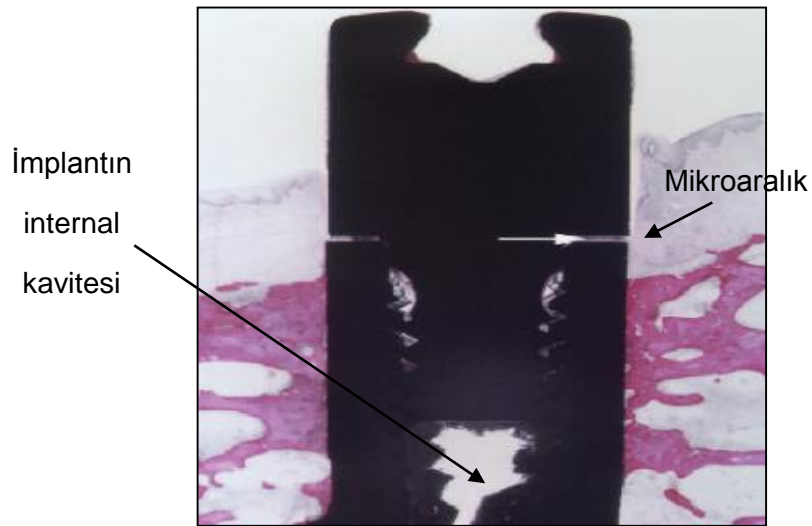
avantajları, dayanağın takılması için ikinci bir cerrahi gerektirmemesi, protetik aşamaların daha kolay olması ve implant-dayanak arasındaki mikroaralık kaynaklı mekanik ve biyolojik komplikasyonların yaşanmamasıdır. Ancak bu tip implantların dayanakları üzerinde, protetik aşamada çok az miktarda aşındırma ve düzeltme yapılabileceğinden mükemmel bir anatomik pozisyon ve açılama ile yerleştirilmeleri gerekmektedir (30).

Uygun endikasyon ve iyi bir cerrahi teknik ile monoblok implantlar kullanılarak oldukça başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir. Monoblok implantlar ile rehabilite edilen hastalarda, peri-implant kemik ve yumuşak doku stabilitesinin değerlendirildiği çok merkezli bir çalışmada, 3 yıl sonunda %98,3 oranında sağ kalım elde edildiği bildirilmiştir (31).

- İki parçadan oluşan implantlar: İmplant ile dayanak ayrı olarak üretilir. Bu tip implantlar, klasik olarak iki aşamalı cerrahi ile yerleştirilir. İlk aşama cerrahide, implant alveoler kret seviyesinde yerleştirilir ve gingiva eski pozisyonunda olacak şekilde kapatılır. 3-6 aylık bir osseointegrasyon periyodundan sonra ikinci aşama cerrahi ile implantların üzerindeki gingiva kaldırılarak iyileşme başlığı ya da protetik dayanak takılır (32). Ancak uygun endikasyon varlığında tek aşamalı cerrahi ile, implantın yerleştirildiği seansta, dayanak ya da iyileşme başlığının takılmasının da iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (33). Literatürde yüksek başarı oranlarının rapor edildiği bu tip implantların avantajı, kemik hacmine göre bazı durumlarda implantın minimal bir açılama ile yerleştirilebilir ve protetik aşamada uygun dayanak seçimi ile bu durumun kompanse edilebilir olmasıdır (34). Tek parça implantlar ile karşılaştırıldığında, iki parça implantların en büyük dezavantajı, iki aşamalı cerrahi gerektirmesi ve implant komponentleri arasında kalan aralıktır.

2.2.Mikroaralık

İki parçadan oluşan implant sistemlerinin en büyük dezavantajlarından biri, implant ve iyileşme başlığı ve ya protetik dayanak arasında oluşan “mikroaralık” ya da “mikroboşluk” olarak adlandırılan bölgedir (Şekil 2.2) (35). Pek çok faktör tarafından belirlenen ve değişken olan mikroboşluğun büyüklüğü, temelde implantın boyutu ve dayanağın takılması sırasında uygulanan tork ile alakalıdır (36, 37). Literatüre bakıldığında, farklı sistemlerde yapılan değerlendirmeler sonucunda, mikroaralık boyutunu 1-144,50 µgibi çok geniş bir aralıkta rapor eden farklı çalışmalar bulunmaktadır (38-41).



Şekil 2.2. Mikroaralık ve alveoler kemiğin mikroskopik görüntüsü (5)

2.2.1. Mikroaralık Kaynaklı Komplikasyonlar

Hassas laboratuvar süreci ve komponentler arası maksimum uyuma rağmen elimine edilmesi mümkün olmayan bu aralıktan kaynaklanan problemler, mekanik ve biyolojik problemler olarak ikiye ayrılabilir.

Mekanik Problemler: İmplant ve dayanak arasındaki uyumsuzluk, peri-implant kemik, implant ve bağlantı parçalarında anormal stresler oluşmasına ve stresler de dayanağı implanta bağlayan vidada gevşeme ve kırılma gibi komplikasyonlara neden olabilmektedir (42, 43).

Biyolojik Problemler: İmplantın internal yüzeyindeki boşluklarda, 1. ve 2. aşama cerrahi sırasındaki kontaminasyon (35, 41, 44, 45) ya da protetik rehabilitasyonu takiben mikroorganizmaların mikroaralıktan geçişi ile (41, 46, 47) heterojen ve primer olarak anaerobik bakterilerden meydana gelen bir flora oluşur (48). Oral bakterilerin ortalama 2-8 µ çapında olduğu ve mikroaralığın boyutları göz önüne alındığında, optimum koşullarda bile bakteri transferinin kaçınılmaz olduğu görülmektedir(4, 41, 47, 48). Bu transfer, sadece oral kaviteden implantın internal yüzeyine değil, implantın internal yüzeyinde kolonize olan bakterilerin aynı yol ile oral kaviteye transferi şeklinde de olabilir (35, 49, 50). Mikrosızıntı olarak adlandırılan ve literatürde çok sayıda in vitro (4, 9, 35, 41, 49, 51-57) ve in vivo (46-48, 58-60) çalışma ile gösterilen bu süreçle beraber mikroboşluk bakteriyel rezervuar fonksiyonu görmeye başlar (35).

İmplant cerrahisini takiben, implant yüzeyi ve peri-implant dokular dakikalar içinde kolonize olur (3); implant ve dayanak/iyileşme başlığı arasında kalan mikroboşluk oral kavitedeki patojen olanlar da dahil mikroorganizmalar için bir kapan görevi görerek zamanla implantın internal boşluklarına ilerlemesini sağlar (35, 41, 61). Persson ve diğ.(48), ortalama 3 yıldır fonksiyon görmekte olan 28 adet implantın internal kontaminasyonunu değerlendirmişler ve tüm implantların internal yüzeylerinde “şiddetli” ve “çok şiddetli” olarak derecelendirilebilecek miktarda bakteriyel üreme rapor etmişlerdir. Penetre olan floranın genel olarak fakültatif ve anaerobik *Streptococcus* türleri, Gram (+) rodlar, Gram (-) anaerobik rodlar olduğu ve mikrobiyal içeriğin aynı hastada farklı implantlarda benzerlik, farklı hastalarda ise değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir (48). Literatürde benzer şekilde heterojen mikroflora rapor eden başka çalışmalar da bulunmaktadır (35, 46, 62). Bu floranın en önemli özelliklerinden biri, kapalı bir ortamda bulunması sonucu, konak savunma sistemi ile direkt karşı karşıya gelmemesidir(10).

Çift yönlü bakteri transferi, yumuşak ve sert doku üzerinde önemli etkilere neden olabilir. İmplantların etrafında çok iyi plak kontrolü sağlansa ve yumuşak doku klinik olarak sağlıklı görünse dahi implant-dayanak bölgesine

komşu bölgede, inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmektedir (63, 64). İmplantın internal yüzeyinden kaynaklanan kemotaktik stimulusa karşı konağın verdiği cevap olarak kabul edilen bu inflame alan, yumuşak dokunun marjinal kısmındaki inflamasyondan histolojik olarak sağlıklı bağ dokusu ile ayrılabilir (44, 63, 64). Brogini ve diğ. (65), köpeklerde yaptığı çalışmanın sonunda, iki parçadan oluşan implant sistemlerinde, mikroboşluğa komşu yumuşak dokunun hemen koronalinde görülen inflamatuvar hücre infiltrasyonun (özellikle nötrofillerin), tek parça implantların peri-implant yumuşak dokusunda görülen inflamatuvar hücre infiltrasyonundan anlamlı şekilde fazla olduğunu rapor etmiştir.

Başarılı bir şekilde osseointegre olan implantın yüklenmesini takiben, ilk yıl oldukça hızlı bir kemik kaybı gerçekleşmektedir. Erken dönemde görülen bu hızlı kemik kaybının nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte ikinci aşama cerrahi esnasında kanlanmanın bozulmasının (66) yanı sıra özellikle mikroboşluk kaynaklı mikrobiyal sızıntısının, hızlanmış kemik kaybından sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (47, 48, 63, 64, 66, 67). İki parçadan oluşan sistemlerde, kemik seviyesinde görülen bu hızlı değişime karşılık monoblok sistemlerde kemik kaybının minimal seviyede olduğu rapor edilmiştir (5, 58, 66, 68). Quirynen ve van Steenberghe (47), henüz ikinci aşama cerrahi uygulanmadığı için ağızdaki bakteriyel ortama maruz kalmayan iki parçadan oluşan implantlarda, kemik kaybının olmadığını bildirmiştir.

İkinci aşama cerrahi sonrası gerçekleşen kemik kaybı, mikroaralığın kemiğe olan uzaklığından etkilenmektedir. Mikroboşluk, kemik seviyesinden yeteri kadar uzakta konumlandığında, minimum kemik kaybı izlenirken (66, 68, 69), en fazla kemik kaybı mikroboşluk kemik seviyesinin altında konumlandığında görülmektedir (66, 69). King ve diğ.(58), köpekler üzerinde yaptığı in vivo çalışmasında, mikroboşluğun krestal kemik kaybı üzerine olan etkisini değerlendirmiş; iki parçadan oluşan sistemlerde kemik rezorpsiyonunun tek parça sistemlere göre özellikle erken iyileşme döneminde (ilk 1 ve 2. aylarda) belirgin şekilde fazla olduğunu göstermiştir.

İlginç bir şekilde, iki parçadan oluşan sistemlerde 2. aydan 3. aya doğru kemik yüksekliğinde artış eğilimi olması nedeniyle iki sistem arasında 3. ay sonunda fark olmadığı ve mikroaralık boyutunun kemik rezorpsiyonunu etkilemediği bildirilmiştir (58). Bir süre sonra kemik kaybının yavaşlaması veya tamamen durmasının nedeni ikinci aşama cerrahi ve yükleme sonrası internal implant mikrobiotası ile konak arasında bir denge meydana gelmesi ve arada oluşan fonksiyonel bariyerin erken dönemde görülen hızlı rezorpsiyonu yavaşlatarak peri-implant dokuların stabilize olmasını sağlamasıdır (40, 48, 63, 64).

Normalde konak tarafından tolere edilebilen internal bakteriyel flora, özellikle aktif ya da subakut bir inflamasyon varlığında (66) veya peri-implantitis nedeniyle rejeneratif teknikler ile tedavinin planlandığı durumlarda önem kazanmaktadır (11). Bu nedenle peri-implantitis tedavisinde, internal mikrofloranın etkilerini elimine etmek için üst yapı parçalarının sterilizasyonu ve internal yüzeylerin dezenfeksiyonu önerilmektedir (35).

Sonuç olarak oral mikroorganizmalar, mikroaralık yoluyla implantın internal yüzeyini kontamine etmektedir. Normal koşullarda bu bakteriyel flora, konak tarafından tolere edilebilmekle beraber herhangi bir nedenle gelişen enfeksiyon varlığında önem kazanmaktadır. Bu nedenle oldukça maliyetli ve sonuç olarak cerrahi bir girişim olan implant tedavisinde, mikrosızıntının etkilerinin önüne geçilmesi, başarısızlık riskinin azaltılması için önemli bir gerekliliktir.

2.2.2.Mikrosızıntıyı Etkileyen Faktörler

Mikroaralık yoluyla bakteriyel penetrasyonun derecesi, multifaktoriyeldir. Etkileyen parametreler arasında implant-dayanak arasındaki uyum ve dolayısıyla mikroboşluğun boyutu (41, 70), komponentler arası mikrohareket (42, 70), dayanağın takılması esnasında uygulanan tork miktarı (52), implant-protetik dayanak bağlantı şekli (41, 53), dayanağın takılması sırasında vidada oluşan deformasyon (46) bulunmaktadır.

Mikroboşluğun boyutu: Literatürde mikroaralık boyutunun penetre olan bakteri ve kemik rezorpsiyon miktarını etkilemediğini savunan görüşlerin yanı sıra (5, 38, 46, 58, 71) buna tezat görüşlerde bulunmaktadır (52, 53). Mekanik olarak engellenmesi mümkün olmayan mikroaralık, komponentler arası uyum maksimum olduğunda dahi mikroorganizmaların geçişi için yeterli aralığı sağlamaktadır. Bu durum dikkate alındığında, erken dönemde mikroaralık boyutu penetrasyonu azaltsa da uzun dönemde bakıldığında bakteriyel sızıntının önlenmesi mümkün görünmemektedir.

Komponentler arası mikrohareket: İmplantlar yüklendikten sonra fonksiyonel kuvvetlerin gelmesiyle beraber, implant-dayanak (58) arasındaki mikrohareketler pompa etkisi yaratarak mikrosızıntıda artışa neden olur (55, 72). İmplantın internal kavitesindeki bakteriyel yükün ortamdakinden 1000 kat küçük olduğu ancak ağız ortamında fonksiyon gören bir implantta artan sızıntı sonucu farkın 100 kata kadar azaldığı bildirilmiştir (35).

Dayanağın takılması esnasında uygulanan tork miktarı: Dayanak, firmanın önerdiği miktarda tork uygulanarak takıldığında, mikroaralık boyutunun azalması sonucu, mikrosızıntının daha az olacağı rapor edilmiştir (52, 73). Ancak ne kadar fazla tork uygulanırsa uygulansın, hermetik bir kapama elde edilmeyeceğinden bu etkinin erken dönemle sınırlı kaldığı bildirilmiştir (38).

İmplant-protetik dayanak bağlantı şekli: Farklı implant sistemlerinde, implant ve dayanakların birbirlerine bağlanma şekli farklı olup bu durum mikrosızıntı derecesini etkilemektedir (49, 51, 53, 74-76). Örneğin Piattelli ve diğ.(51), bakteriyel kültür tekniğini kullandığı in vitro çalışmasında simante dayanaklarda mikrosızıntının vidalı dayanaklara göre daha az olduğunu bildirmiştir.

2.2.3. Mikrosızıntı ve Komplikasyonlarının Önlenmesi

Olası komplikasyonlarının anlaşılması ile beraber mikroboşluğun hermetik olarak tıkanabilmesini sağlayacak veya implantın internal yüzeyinde antibakteriyel etkinlik göstererek bakteriyel aktiviteyi ortadan kaldıracak çok

sayıda materyal ve madde tanımlanmıştır. Bunlar arasında, implant ve dayanak/iyileşme başlığı arasına uygulanan: adezivler (77) , farklı özelliklere sahip rondeller (41, 46), antibakteriyel içerikli ajanlar (10, 78) bulunmaktadır.

Adeziv ajanlar: Kullanılacak adeziv bir ajanla, parçalar arasındaki boşluğun hermetik olarak tıkanması ve bakteriyel penetrasyon için fiziksel bir bariyer oluşturulması amaçlanmıştır. Buna örnek olarak simante dayanaklarda sızıntı miktarının, vidalı olanlara göre daha az olması gösterilebilir (51).

Silikon rondeller: Rondeller aracılığı ile mikroaralığın hermetik bir şekilde tıkanması amaçlanmıştır. Jansen ve diğ.(41), implant-dayanak bağlantısı silikon rondel kullanılarak modifiye edilen implantlarda, rondel bulunmayan implantlara göre mikrobiyal sızıntının daha az olduğunu göstermiştir.

Antibakteriyel ajanlar: Bu ajanlar kullanılarak implantın internal mikroflorasının etkisiz hale getirilmesi amaçlanmıştır. Klorheksidin-timol içeren cilalar (9, 78), klorheksidin içeren solüsyon (10) ve jeller (11)bu amaçla kullanılan maddelerdir. Yapılan klinik bir çalışmada, implantın internal yüzeyine uygulanacak % 1 klorheksidin içeren jelin etkinliğini 6 aya kadar koruyabildiği gösterilmiştir (11).

İmplant Dizaynı:

- “*Platform switching*” olarak adlandırılan dizaynda, implantın boyun kısmından daha dar çapta bir dayanak kullanılarak mikroaralığın krestal kemikten uzaklaştırılması ve böylece etkilerinin minimuma indirilmesi amaçlanır (79).
- Lazer ile modifiye edilmiş yüzey: Lazer ile muamale edilen implant yüzeylerinde oluşan mikroluklar, hücresel cevabın kontrol edilmesine katkıda bulunacak; krestal bölgede oluşan stresin dağıtılmasına ve yumuşak doku ataçmanının arttırılmasına katkıda bulunacaktır (67, 80).

Vakaya uygun tedavi planlaması: Uygun endikasyon varlığında monoblok implantların kullanılması, monoblok implantların kullanılmayacağı durumlarda implantın mümkün olduğunca mikroaralık kemik kretten uzak olacak şekilde konumlandırılması, mikrosızıntı kaynaklı komplikasyon riskini azaltacaktır. Estetik nedenlerle mikroaralığın kemik kretten uzakta konumlandırılmadığı durumlarda ise antibakteriyel ajan uygulaması gibi tekniklerin tercih edilmesi daha uygun olacaktır.

2.3. Peri-implant Dokuların Enfeksiyöz Lezyonları

İmplantın başarılı bir şekilde osseointegre olmasını takiben bakteriyel yük ile konak savunması arasındaki dengenin bozulması sonucu, peri-implant enfeksiyon gelişir (81). Peri-implant mukozada bakteriyel travma nedeniyle gelişen inflamasyon, iki şekilde sonuçlanabilir; peri-implant mukozitis ve ya peri-implantitis.

Peri-implant Mukozitis: Fonksiyonda olan bir implantı çevreleyen mukozada görülen, inflamasyonun sadece yumuşak doku ile sınırlı kaldığı, iyileşme süresince başlangıç kemik remodelasyonu dışında destek kemikte kaybın görülmediği, geri dönüşümlü inflamasyon durumudur(82). Temelde gingivitisten farklılık göstermeyen peri-implant mukozitis (83), peri-implantitisin bir öncüsü olarak kabul edilmekle birlikte her zaman peri-implantitis ile sonuçlanmaz (84). 2008 yılında düzenlenen 6. Periodontoloji Semineri sonunda, implant ile rehabilite edilmiş hastaların yaklaşık %80'inde, implantların ise % 50' sine peri-implant mukozitis bildirilirken hastaların % 28-56'sının, implantların ise % 12-40'ının peri-implantitisten etkilendiği rapor edilmiştir (82).

Peri-implantitis: Peri-implant mukozada inflamasyon ve biyolojik kemik remodelasyonunun ötesinde kemik kaybı ile seyreden klinik durumdur (82). Peri-implant mukozitisin klinik bulgularının yanı sıra radyolojik olarak kemik kaybının izlenmesi ile teşhis edilir (85). İmplantın koronal kısmında normal kemik-implant bağlantısı varken radyolusensi ve inflamasyonun sadece implantın apikal kısmı ile sınırlı kaldığı ve implant yerleştirildikten kısa süre

sonra gelişen peri-implant inflamasyon ise retrograd peri-implantitis olarak adlandırılır (86). Esposito ve diğ. (87), implant kayıplarının ortalama % 2.8'inin peri-implantitisten kaynaklandığını rapor etmiştir.

2.3.1. Peri-implant Dokuların Enfeksiyöz Lezyonlarının Mikrobiyolojisi

Osseointegre bir dental implant, ağız ortamına açıldıktan çok kısa bir süre sonra pelikül tabakası oluşur (3, 88-91). Pelikül, tükürük içeriğinin yanında bakteriyel ve konağa ait doku ürünlerini de içerir ve bakteriyel kolonizasyon için substrat görevi görür (92). Pelikül oluşuktan sonra başlangıç kolonizasyonunu sağlayan bakteriler atake olur ve onlara hücresele düzeyde yapışan diğer bakteriler biyofilmi oluşturur (93). Biyofilm, canlı ve ya cansız bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri organik bir ekzopolisakkarit matriks içine gömülü ve hareketsiz olarak birbirine, katı bir yüzeye veya bir ara yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş şekilde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluktur (94). Oluşan bu mikrobiyal topluluk genel olarak doğal dentisyondaki dişlerin florası ile paralellikler göstermekle birlikte özellikle enfeksiyon hallerinde farklılıklar görülebilmektedir (95).

Sağlıklı peri-implant doku ile ilişkili mikrobiota: Herhangi bir inflamatuvar bulgunun izlenmediği stabil implantlarda, mikrobiyal floranın içeriği genel olarak *Streptococcus sanguinis* ve *Streptococcus mitis*'in baskın olduğu Gram (+) fakültatif kok ve hareketsiz rodlardan meydana gelmektedir. Hareketli rod, Spiroket, Fusiform bakteriler ya da *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi patojen bakterilere ise nadiren rastlanır (96-98). Bu bakteriyel flora, sağlıklı doğal diş ya da gingivitis florası ile benzerdir. 1980'lerin sonunda yapılan bir çalışmada, implantlar yerleştirildikten 1 hafta sonra Gram (+) fakültatif bakterilerden zengin bir flora oluştuğu ve 6 aylık çalışma süresi boyunca devamlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir. Çalışmaya dahil edilen implantlardan birinde, 3 ay sonra süpürasyon görülürken bu implantın florasının çalışma süresi boyunca

giderek anaerobik Gr (-) bakterilerden zengin bir floraya doğru değiştiği izlenmiştir (99).

Peri-implant hastalık ile ilişkili mikrobiota: Peri-implant hastalık bulgularının görüldüğü implantlarda, subgingival floranın mikrobiyal içeriği sağlıklı implantların florasının tersine Gram (-) anaerobik bakterilerden zengin olup periodontopatojen mikroorganizmaların prevelansı oldukça yüksektir (100-102). İmplant kaybından sorumlu tutulan bakteriler: *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacterioides forsythus*, *Treponema denticola*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Tannerella forsythia*, *Peptostreptococcus micros* ve *Fusobacterium nucleatum*'dur (96, 98, 101, 103).

Temel periodontopatojenler arasında bulunan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ile peri-implant lezyonların ilişkisi ise çelişkilidir. Bazı çalışmalarda bu bakterinin sadece doğal diş varlığında oral floradan izole edilebileceği ve tüm dişler çekildikten sonra peri-implant florada bulunamayacağı ileri sürülürken (104, 105) bazı çalışmalarda, tam dişsizlik halinde dahi bu bakterinin peri-implant florada yaşayabildiği ileri sürülmüştür (106). Ayrıca literatürde, implant ile rehabilite edilmiş tam dişsiz hastada gelişen peri-implantitis lezyonundan, sistemik doksisisiklin tedavisine dirençli *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* izole edildiğini bildiren bir vaka raporu da bulunmaktadır (107).

Peri-implant enfeksiyon bulguları gösteren implantların mikrobiotası, periodontitisli dişlerin mikrobiotasına oldukça benzemekle beraber daha kompleks bir mikrobiyal kompozisyona sahiptir. Koyanagi ve diğ.(108), peri-implantitisli implantların mikroflorasında 77, periodontitisli dişlerinkinde 57 ve sağlıklı implantların mikrobiotasında 12 adet bakteri tanımlamışlardır. Aynı çalışmada *Chloroflexi* gibi bazı türlerin sadece peri-implantitisli bölgelerden izole edilebildiği, temel periodontopatojenlerden olan *Porphyromonas gingivalis* ve *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'a peri-implant lezyonlarda daha az miktarlarda rastlandığı bildirilmiştir (108). Başka bir çalışmada, kaybedilen 18 implantın mikrobiotası incelenmiş ve klasik periodontopatojenlerin yanı sıra *Enterobacteriaceae* türleri, *Candida albicans*

ve *Staphylococcus* türleri gibi periodontopatojen olarak kabul edilmeyen fırsatçı mikroorganizmaların izole edildiği rapor edilmiştir(109). Bakterilerin dışında özellikle *Epstein-Barr* virüsü başta olmak üzere *Herpes* virüs ailesinin bakteriler ile sinerjistik etki göstererek mevcut enfeksiyonu alevlendirdiği ve medikal tedaviye direnç gelişmesine neden olduğu da literatürde rapor edilmiştir(110).

Peri-implant mikrobiyal florayı etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerden biri, hastanın dişsizlik durumudur. İmplant ile rehabilite edilmiş kısmi dişsizliğe sahip hastalarda, peri-implant mikrobiyal yük, implant ile tedavi edilmiş tam dişsiz hastalardaki mikrobiyal yükten daha fazladır ve patojenitesi yüksek mikroorganizmaların oranı artmıştır (111, 112). Hastanın dişsizlik durumu dışında farklı implant karakteristiklerinin de (yüzey pörözitesi, implant dizaynı) mikrobiyal florayı etkilediği ileri sürülmüştür(87).

2.3.2.Etyoloji ve Patogenez

Sağlıklı bir peri-implant florada da çok sayıda bakteri bulunmasına rağmen diyabet, genetik yatkınlık gibi kolaylaştırıcı faktörlerin varlığı ya da herhangi bir nedenle bakteriyel yükün patojenler lehine değiştiği durumlar peri-implant enfeksiyon ile sonuçlanmaktadır.

İnflamasyonun erken evresi olan peri-implant mukozitisin histolojik karakteristiklerine bakıldığında, peri-implant mukozada, özellikle T ve B lenfositlerinden zengin inflamatuvar hücre infiltrasyon alanları izlenir. Bu alanlar, bariyer epiteli ile sınırlı kalır; kemiğe ilerlemez (113).

Peri-implant enfeksiyonun ilerlemiş evresi olan peri-implantitise bakıldığında ise inflamatuvar infiltratın cep epitelinin apikaline kadar uzandığı, B lenfositleri başta olmak üzere yüksek oranda plazma hücresi, lenfosit, polimorfonükleer lökosit ve makrofaj içerdiği görülür (114). Ayrıca hücre yüzeylerinde, IL-1,6,8,12 (İnterlökin- 1,6,8,12) ve TNF- α ' ya (*Tumor necrosis factor α*) ait reseptörlerin arttığı izlenir (115). Peri-implant mukozitis ile karşılaştırıldığında, peri-implantitiste daha fazla miktarda inflamatuvar hücre akümüülasyonu olduğu ve bu inflamatuvar hücre infiltratının

merkezinde peri-implant mukozitiste bulunmayan elastaz pozitif hücrelerin olduğu gösterilmiştir (116).

İmplant üzerinde dental plak formasyonuna izin verildiğinde, peri-implant mukozada oluşan immün reaksiyon, doğal dişin etrafında biriken plak sonucu verilen immün reaksiyondan daha şiddetli olmaktadır. Bunun nedeni supraalveoler bağ dokusu ile titanyum yüzey arasındaki ilişkinin, gingiva ile doğal diş arasındaki ilişkiden farklı olmasıdır. Doğal dişlerdeki gingivadan farklı olarak peri-implant mukozanın koronal kısmının vaskülarizasyonu azalmıştır ve diş ile gingivayı bağlayan, diş yüzeyine dik olarak uzanan lifler peri-implant mukozada bulunmaz. Bunun yerine, implant aksına paralel uzanan sirkumferansiyel lifler bulunur ki bu lifler mukoza ile implant arasında oldukça zayıf bir bağlantı sağlar. Bu ataçman bir kere zarar gördüğünde, mikroorganizmalar hızlıca ve direkt olarak kemiğe ulaşır ve inflamasyonun kemiğe kadar yayılmasına neden olur (114, 117, 118). Schou ve diğ.(119), maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, periodontal ligamentin destek dokularında gelişenbaşlangıç aşamasındaki yıkıma olan etkisini değerlendirmişlerdir. Maymunlardan bilateral olarak 1. ve 2. mandibuler molar dişler çekildikten 12 hafta sonra, implantlar yerleştirilmiştir. İmplantlar yerleştirildikten 8 hafta sonra, maksiller 2. molar dişler çekilerek 60 dakika boyunca dışarıda bekletilmiştir. Bu süre sonunda, pulpa artıkları uzaklaştırılıp apikali tıkanarak replante edilen dişlerin ankiloze olarak iyileşmeleri sağlanmıştır. Replantasyondan 4 hafta sonra radyograf ile ossointegrasyonun sağlandığı ve dişlerin ankiloze olarak iyileştiği teyit edilmiş; sonrasında peri-implant marjinal gingivaya, ankiloze dişlerin ve kontrol olarak seçilen maksiller 2. molar dişlerin marjinal gingivasına ipek sutur ile dikiş atılarak plak birikimi sağlanmıştır. Klinik bulguların yanı sıra kemik kaybının da değerlendirildiği çalışmanın sonunda ankiloze dişlerin ve implantların çevresinde kemik kaybının normal dişlere göre daha fazla olduğu, kaybın özellikle peri-implant bölgede daha belirgin olduğu bildirilmiştir (119). Schou ve diğ.'nin başka bir çalışmasında ise (120), periodontal ligamentin olmadığı ankiloze diş ve implantları destekleyen dokularda

osteoklast miktarının daha fazla olduğu ve periodontal ligament yokluğunun kemikte rezorpsiyona yatkınlığa neden olacağı belirtilmiştir.

Literatürdeki bu verilere bakıldığında, genel olarak periodontal dokular ve peri-implant mukozanın biyofilme verdiği reaksiyon benzer olmakla birlikte peri-implant dokularda çok daha şiddetli ve hızlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle implantın başarısı açısından yakın takip, gerekli görülen durumlarda bakteriyel plağın uzaklaştırılması ve destekleyici tedaviler ile implantın sağ kalım şansı arttırılabilir.

2.3.3. Risk Faktörleri

Daha önceden var olan periodontal rahatsızlık: İmplant tedavisinde destekleyici kemik ve implant kaybı görülme sıklığının, periodontitis hikayesi olan hastalarda (özellikle agresif periodontitis geçmişi olanlarda) olmayan hastalara göre farklı olabileceği belirtilmiştir (81, 121). Literatürde, periodontitis hikayesinin peri-implant destek doku kaybına zemin hazırlamasına rağmen sağ kalımını etkilemediği yönünde çalışmalar olmakla birlikte(122, 123), Karoussis ve diğ.(124), 10 yıllık takip periyodunun sonunda, kronik periodontitis nedeniyle dişlerini kaybeden ve implant ile rehabilite edilen hastalarda, biyolojik komplikasyonların daha sık görüldüğünü ve implant sağ kalım oranının daha düşük olduğunu bildirmiştir.

Kötü oral hijyen: Medikal cihazların üzerinde oluşan biyofilm, enfeksiyöz sürecin başlamasında en önemli rolü oynar (89). Bu durum dental implantlar için de geçerli olup yeterli ağız hijyeninin sağlanamaması nedeniyle plak ve tartar birikimi, peri-implant dokularda inflamasyon ile sonuçlanmakta ve özellikle peri-implant hastalık oluşumuna zemin hazırlayan diğer faktörlerin varlığında (örneğin sigara kullanımı) kötü ağız hijyeni önem kazanmaktadır (125).

Dentisyon: Oral kavitede doğal diş varlığı, potansiyel peri-implant patojenlerin kolonizasyonu için uygun ortamı oluşturur (126). Literatürde, doğal dişlerin periodontal ceplerinin bir rezervuar görevi gördüğü ve sonuç

olarak çapraz enfeksiyon yoluyla periodontal patojenlerin peri-implant bölgede kolonize olduğu bildirilmiştir (111).

Siman artıklarının varlığı: Protetik restorasyonun simantasyonunu takiben, tamamen uzaklaştırılmayan subgingival siman artıklarının kendisi dokuda inflamasyona neden olurken, sahip oldukları pürüzlü yüzey nedeniyle bakteriyel akümülyasyon için uygun ortamı hazırlar (84).

Sigara: Literatürde, sigara kullanımının peri-implant inflamasyon ve kemik kaybı riskini arttırdığını ve implant sağ kalım oranını azalttığını rapor eden çok sayıda çalışma mevcuttur (127-131). Karbach ve diğ.(126), 100 adet hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, sigara dahil 5 parametrenin peri-implant inflamasyon ve sulkuler mikroflora üzerindeki olası etkilerini değerlendirmişler ve sigaranın peri-implant mukozitis gelişimindeki en önemli risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Sigaranın olumsuz etkisi diğer risk faktörlerinin varlığında daha da ön plana çıkmaktadır (132, 133).

Literatüre bakıldığında, sınırlı sayıda da olsa sigaranın implant başarısı üzerine etkisi olmadığını savunan çalışmalar olduğu görülmektedir. Maximo ve diğ.(134), minimum 7 yıldır fonksiyon görmekte olan 347 implant üzerinde yaptıkları çalışmada, peri-implant doku durumunun sigara kullanımı, yaş, cinsiyet, diabetes mellitus, osteopeni ve osteoporoz gibi durumlardan etkilenmediğini bildirirken peri-implant mukozitis ve peri-implantitisin implantın fonksiyon gördüğü süre arttıkça daha sık görüldüğünü rapor etmiştir. Aalam ve Nowzari (133), yüzeyleri farklı şekillerde pürüzlendirilen implantların klinik ve radyografik prognozunu değerlendirdiği çalışmasında sigaranın marjinal kemik kaybı üzerine etkisinin olmadığını rapor etmiştir.

Genetik Yatkınlık: İnterlökin-1 α , interlökin-1 β ve onların inhibitörü olan interlökin-1 reseptör antagonisti, inflamatuvar cevabın düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Bu nedenle interlökin-1 α , interlökin-1 β 'da görülebilecek genetik polimorfizmin, bir risk belirteci olabileceği düşünülerek bu yönde çalışmalar yapılmıştır (81). Laine ve diğ.(135), en az 1 implantında peri-implantitis bulguları olan 71 hastanın dahil olduğu 120 hastayı, interlökin-

1 polimorfizmi açısından değerlendirmiştir. En az 2 yıldır fonksiyon görmekte olan implantların dahil edildiği çalışma sonunda, interlökin-1 polimorfizminin, peri-implantitis ile ilişkili olduğu ve bir risk faktörü olarak kabul edilebileceği rapor edilmiştir (135). Literatürde özellikle sigara ve interlökin-1 polimorfizminin sinerjistik etkisinden bahseden çalışmalar bulunmaktadır (132, 136).

Anormal okluzal kuvvetler: Peri-implant bölgede okluzal kuvvetlerin en yoğun olduğu bölge, peri-implant marjinal kemiktir (137). Bu bölgeye özellikle lateral yönde sürekli olarak gelecek anormal okluzal kuvvetler sonucu oluşan mikro kırıklar, ilerleyen dönemde kemik kaybı ile sonuçlanabilir (118). Karşit okluzyonda doğal dişlerin varlığı, brüksizm gibi parafonksiyonel alışkanlıklar, yanlış tedavi planlaması, protetik hatalar nedeniyle anormal stresler oluşmakta ancak oral hijyenin iyi olduğu durumlarda bu kuvvetler belli bir noktaya kadar tolere edilebilmektedir. Aşırı kuvvetler nedeniyle kemik kaybının yaşandığı durumlarda, sondlamada kanama, süpürasyon, ağrı gibi bakteriyel inflamasyon bulguları görülmeyebilmektedir (118).

İmplant dizaynı ve komponentler arası uyum: İmplant ile parçalar ve üst yapı arasındaki uyumsuzluk, plak birikimi ve kemik kaybına zemin hazırlar. Ayrıca implantın makroskopik dizaynı, gelen kuvvetlerin kemiğe uygun şekilde iletilmesi yönünden de önem taşımakta olup belli bir noktada oluşan kemik kayıpları ve peri-implant cepler, bakteriyel üreme için uygun ortamı oluşturur (118).

Potansiyel risk faktörleri:

Diabetes mellitus: Peri-implantitis ile diabet arasındaki ilişki olduğunu savunan sınırlı sayıda çalışma vardır (128, 138). Bu çalışmalarda dikkat çekilen nokta, kan glukoz seviyesinin kontrolünün sağlanmasıdır. Yüksek kan glukoz seviyesi, nötrofil fonksiyonlarını etkileyerek konak cevabı ve doku iyileşmesini olumsuz olarak etkiler (139). Bu tür hastalarda glisemik kontrolün

yanı sıra sigara kullanımı ya da kötü ağız hijyeni gibi diğer risk faktörlerinin ortadan kaldırılması yerinde olacaktır.

Romatoid artirit gibi bağ doku hastalıklarının (140) ve alkol tüketiminin de (141, 142) peri-implantitis patogenezinde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.

2.3.4. Diagnoz

Peri-implant mukozitis ve peri-implantitis tedavisinde erken teşhis önemlidir. Çoğunlukla kompleks ve uygulaması zor olan peri-implantitis tedavisinde, sonuçlar öngörülebilir değildir ve cerrahi dışındaki tedavi seçeneklerinin yetersiz olduğu gösterilmiştir (84). Peri-implantitisin erken teşhisinde izlenecek yollar;

Sondlama derinliğinin giderek artması: Literatürde peri-implant mukozitis ya da peri-implantitis teşhisinde kullanılacak net olarak belirlenmiş bir sondlama derinliği bulunmamaktadır. Bazı kaynaklarda, peri-implantitis teşhisinin konabilmesi için minimum 6 mm peri-implant cep varlığı gerektiği savunulurken (143, 144) bazılarında 5 mm sondlama derinliğinin, peri-implantitis ile ilişkili olduğu savunulmuştur (129, 145). Peri-implant mukozitte ise bu değer genellikle 4 mm civarında olduğu belirtilmiştir (129). Önemli olan, üst yapının yerleştirildiği seansta peri-implant sondlama derinliğinin belirlenerek kontrol seanslarında herhangi bir artış olup olmadığının değerlendirilmesidir (83).

Radyograflar: İmplantın yerleştirilmesini ve protetik rehabilitasyonu takiben alınan periapikal radyograflar ile takip seanslarında alınan periapikal radyograflarda kemik interproksimal seviyesi sabit bir referans noktası belirlenerek karşılaştırılmalı ve kemik kaybı olup olmadığı değerlendirilmelidir (81). Özellikle çok kesitli bilgisayarlı tomografi ve konik ışınlı volumetrik tomografi teknikleri kullanılarak minimal distorsiyon ve bozulmaya sahip görüntüler elde edilebilir, konvansiyonel radyograflarda mümkün olmayan kemik yapıların 3 boyutlu değerlendirmesi yapılabilir ve kemik kaybının miktarı gerçeğe yakın olarak ölçülebilir (81, 84).

Sondlamada kanama: Peri-implant bir problem varlığının en önemli ve daimi göstergesi, sondlamada kanamadır (81). Sondalamada kanamaya, peri-implant mukozada ödem ve hiperplazi gibi inflamasyon bulguları eşlik edebilir. Hafif sondlamada (0.25 Newton'u geçmeyecek şekilde) kanama varlığı, yumuşak dokudaki inflamasyonun göstergesidir ve ileri radyografik incelemeyi gerektirir (81, 82, 146).

Süpürasyon ve fistül varlığı: Süpürasyon, patolojik durum sonucunda görülür ve ileri değerlendirme ve tedavi gerektiren bir durumdur (84). Fransson ve diğ. (130), 184 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, sondlamada kanama, püy varlığı, gingival çekilme ve 6 mm'den daha derin cep oluşumunun, ilerleyici kemik kaybı izlenen implantlarda daha fazla olduğunu göstermiştir. Aynı çalışmada bu bulgulara özellikle sigara içen bireylerde daha fazla rastlandığı da belirtilmiştir.

Mukozal çekilme: Mukozal çekilme, ilerleyici kemik kaybının bir sonucu olup peri-implant hastalık göstergesidir. Leonhardt ve diğ.(147), mukozal çekilme sonucu implantın en az 3 yivinin açığa çıkmış olmasının, sondlamada kanama ve süpürasyon varlığının başarısızlığın göstergesi olduğunu ileri sürmüştür.

İkincil diagnostik parametreler: Bakteriyel kültür, peri-implant sulkus sıvısında ve ya tükürükte inflamatuvar belirteçlerin varlığı ve genetik yatkınlığın belirlenmesi, peri-implant hastalıkların tanısında başvurulacak ilk yöntemler olmamakla birlikte teşhiste yararlı olabilir (84). Salcetti ve diğ. (148), kaybedilen implantlarda mikrobiyolojik kompozisyon ile inflamatuvar cevabı karşılaştırdıkları klinik çalışmada, PGE2 (Prostaglandin E 2), interlökin-1 β ve PDGF (*Platelet derived growth factor*) seviyesinin implant kaybı ile ilişkili olduğunu, özellikle mikrobiyal içerik ile mediatör seviyeleri bir arada değerlendirildiğinde, diagnostik bir değere sahip olduğunu bildirmiştir. Javed ve diğ. (115)derleme şeklindeki çalışmada, peri-implant sulkus sıvısında artmış proinflamatuvar sitokin seviyesinin, klinik olarak herhangi bir bulgu vermeyen erken evre peri-implantitisin teşhisine imkan verebileceğini bildirmiştir.

Peri-implant mukozitis ya da peri-implantitis teşhisinde kullanılacak kesin bir kriter ya da kriterler topluluğu bulunmamakla birlikte, yukarıda sayılan bulgulardan genellikle bir kaçının varlığı, peri-implant hastalık ile ilişkilidir ve tedavi gerekliliğinin bir göstergesidir (129, 144, 147). İmplantta mobilite ise artık implantın osseointegrasyonunu kaybettiğini ve çıkarılması gerekliliğini gösteren bir bulgu olup peri-implantitisin erken teşhisinde yararlı değildir (81, 84).

2.4. Peri-implant Doku Enfeksiyonlarının Önlenmesi ve Tedavisi

Peri-implant doku enfeksiyonları, biyofilm kaynaklı gelişen enfeksiyonlar olup biyofilmin sahip olduğu bazı özellikler nedeniyle tedavisi oldukça zor olabilmektedir. Tedaviyi zorlaştıran bu özelliklerden bazıları;

- Biyofilmi oluşturan bakterilerin, diğer bakterilere göre yüzeylere bağlanabilme potansiyeli daha fazladır (149). Örnek olarak, doğaflorida bulunmamasına ve klasik periodontopatojenlerden biri kabul edilmemesine rağmen *Staphylococcus aureus*' un titanyum yüzeylere affinitesi vardır ve derin peri-implant ceplerdeki varlığı sondlamada kanama ve süpürasyon ile ilişkilendirilmiştir (150-153).
- Bir bakterinin bu organize yapının içinde bulunması, planktonik haline göre fizyolojik özellikleri, antimikrobiyal ajanlara olan duyarlılığı, konak dokuları ile olan ilişkisi ve immünolojik cevap açısından farklı davranışlar göstermesine ve bu sayede direnç kazanmasına neden olur (154, 155). Antimikrobiyallere dirençli olmayan bir mikroorganizma, biyofilm oluşturunca dirençli hale gelebilirken, biyofilmden ayrıldığında yeniden duyarlı hale dönüşebilir (156, 157).
- Negatif yüklü veya nötral polisakkaritlerden oluşan ekzopolimer matriks, genellikle pozitif yüklü olan antimikrobiyal ajanlar ile elektrostatik veya iyonik etkileşime girerek penetre olmasını engeller.
- Bakteriler tarafından sentezlenen yüksek konsantrasyondaki enzimler, bakteri türleri arasındaki pozitif etkileşim, virülans ve direnç sağlayan genlerin horizontal olarak kolayca aktarılabilmesi antimikrobiyallerin etkinliğini zorlaştıran diğer özelliklerdir. Ayrıca biyofilmin kompleks ve

yavaş büyüyen mikrobiotası, özellikle metabolizması hızlı ve hızla çoğalan bakteriler üzerinde daha etkin olduğu bilinen antimikrobiallere karşı oluşan dirençte etkilidir. Bu direnç mekanizması bakterinin ve antimikrobiyal ajanın türüne ve biyofilmin habitatına göre değişmektedir (158-161).

Peri-implant hastalıkların tedavisi, genel olarak 3 bölüme ayrılabilir. Bunlar:

- Peri-implant mukozitisin tedavisi
- Peri-implantitisin cerrahi olmayan tedavisi
- Peri-implantitisin cerrahi tedavisi (162)

2.4.1. Peri-implant Mukozitis Tedavisi

Profesyonel Uygulamalar:

Peri-implant mukozitisin tedavisindeki amaç, implant yüzeylerinin dekontamine edilmesidir. Bu amaçla kullanılan teknikler;

Mekanik Debridman: İmplant yüzeyine zarar vermeden, implantın boyun kısmı ve dayanak yüzeyindeki supragingival ve subgingival biyofilm, kalkulus, siman artığı gibi eklentilerin uzaklaştırılması işlemidir (163). Bu amaçla kullanılan cihazlar:

Küretler: İmplant yüzeyinde kullanılacak küretlerin yüzeye zarar vermemesi için, titanyumdan daha yumuşak bir materyalden yapılmış olması gerekmektedir (164, 165). Bu amaçla titanyum (166) ya da metalik olmayan bir materyalle kaplanmış küretler (167) kullanılabilir. Ancak karbon-fiber, teflon ya da plastik olabilen metalik olmayan küretler, tekrarlayan kullanımlarda, kümülatif etki sonucu yüzeyde bozulmaya neden olabilir ve küret ucundaki materyal implant yüzeyinde birikebilir (167).

Ultrasonik Cihazlar: İmplant yüzeylerinde kullanılmak üzere polieter-eterketon, karbon fiber, silikon kaplı uçlar geliştirilmiştir (168). Ancak literatürde, metalik olmayan karbon fiber uçlu ultrasonik sitemlerin de

titanyum yüzeyde hasar yarattığı, artık kalmasına neden olarak implant yüzeyindeki hücre yoğunluğunun azalmasına neden olduğu bildirilmiştir (169).

Antimikrobiyallerin Kullanımı: Mekanik debridmanın etkinliğini arttırmak amacıyla antimikrobiyal ajanların kullanılması, önerilen bir tekniktir. Porras ve diğ.(170), tek başına mekanik debridman ve ek olarak klorheksidin solüsyon ile irrigasyon ve klorheksidin jel uygulamasının, peri-implant mukozit tedavisindeki etkinliğini karşılaştırmış ve iki tedavi rejimi ile de iyi sonuçlar elde edildiğini ancak mekanik debridmana ek olarak klorheksidin uygulamasının, tek başına mekanik debridman üzerinde üstünlüğünün olmadığını göstermiştir.

Mekanik debridmanın antibakteriyel etkisini arttırmak amacıyla, antiseptiklerin yanı sıra topikal antibiyotik uygulaması da önerilmiştir. Bu amaçla genellikle tetrasiklin emdirilmiş fiberler kullanılmaktadır. Uygulama, etken madde emdirilmiş fiberlerin, peri-implant bölgede boşluk kalmayacak şekilde implantın etrafına tabaka halinde uygulanması şeklinde olmakta ve yaklaşık 10 gün sonra fiberler uzaklaştırılmaktadır (171).

Peri-implant, oluk sıvısında etkin antimikrobiyal konsantrasyona ulaşabilmek için sistemik antibiyotik uygulaması da önerilmektedir. Ancak Hallström ve diğ. (163), peri-implant mukozitis tedavisinde, mekanik debridmana ek olarak sistemik azitromisin uygulamasının tedaviye sağladığı yararı değerlendirdiği klinik çalışmasında, sistemik antibiyotik uygulamasının tedavi etkinliğinde değişiklik yaratmadığını bildirmiştir.

Evde Yapılacak Uygulamalar:

Hastanın evde uygulayabileceği mekanik ve kimyasal plak kontrolü teknikleri ile peri-implant enfeksiyondan sorumlu plak ve diş taşı gibi eklentilerin oluşumu engellenecektir. Böylece hem peri-implant mukozitis primer olarak önlenmiş hem de tedavi edilen olgularda tekrarlayan enfeksiyonların önüne geçilmiş olacaktır (166).

2.4.2. Peri-implantitis Tedavisi

Peri-implantitis tedavisi cerrahi ve cerrahi olmayan tedaviler olarak iki sınıfta incelenebilir;

Cerrahi Olmayan Peri-implantitis Tedavisi:

Peri-implant mukozitis tedavisindekine benzer şekilde mekanik debridman, peri-implantitis tedavisinde de öncelikli amaçtır. Ancak farklı olarak, ekspoz olan implant yüzeylerinin tam dekontaminasyonu için subgingival alanda da çalışılması gerekir. Bunun için peri-implant mukozitis tedavisindekine benzer aletler ve cihazlar kullanılmakla birlikte son dönemde farklı cihazlar da geliştirilmiştir. Ancak literatürde, dekontaminasyon tekniklerinden herhangi birinin daha üstün olduğu gösterilememiştir (172).

Basıncı hava ve su ile çalışan aşındırıcı (abraziv) sistemler: Normalde periodontoloji alanında kullanılan abraziv sistemler, aşındırıcı olarak düşük abraziv etkinliğe sahip amino asid glisin partiküllerinin geliştirilmesiyle beraber implant yüzeylerinde de kullanılmaya başlanmıştır (173). Taştepe ve diğ. (174), abraziv sistemler ile bakteriyel toksinlerin %98, biyofilmin ise %100'e kadar uzaklaştırılabildiğini, kaybedilen osseointegrasyonun %39-46 oranında geri kazanıldığını, implantın klinik ataçman seviyesinin arttığını ve sondlamada kanamanın azaldığını bildirmiştir.

Basıncı abraziv sistemlerin implant yüzeylerinde kullanımının dezavantajı, zamana bağımlı olarak implant yüzeyinde düzensizliklere neden olabilmesidir (175). Ayrıca abraziv sistemlerde uygulanan ve implant yüzeyinden tamamen uzaklaştırılamayan partiküller, hücrelerin implant yüzeyine olan yapışabilme potansiyelini azalmaktadır (174). Subkütanöz amfizem ve epitelial deskuamasyon bu uygulamanın diğer riskleridir (176, 177).

Lazer ile yüzey dekontaminasyonu: Son yıllarda implant yüzeylerinin dekontaminasyonunda lazerlerin kullanımı gündemdedir. CO₂ (karbon dioksit), Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet; Nd:Y₃Al₅O₁₂),

Er:YAG (erbium-doped yttrium aluminium garnet;Er:Y₃Al₅O₁₂) ve GaAlAs (gallium aluminium arsenid) gibi lazerler, implant yüzeylerinin dezenfeksiyonu amacıyla kullanılan lazerlerdir (178). Lazerin ablasyon ve vaporizasyon etkisi sayesinde mikrobiyal plak dahil rezidüel organik artıklar ve peri-implantsulkuler epitel uzaklaştırılsa da genel görüş elde edilen klinik yararın sınırlı düzeyde olduğu ve lazer uygulamasının ancak faz 1 tedaviyi oluşturabileceği yönündedir (179-181).

Lazer ile implant yüzeyinin dekontaminasyonu sırasında dikkat edilmesi gereken en önemli nokta, cihazın güç ayarının uygun şekilde yapılması ve su spreyi kullanılarak ortamın soğutulmasıdır (182). Aksi takdirde, implant yüzeyinde meydana gelecek bozulma ve erime, yeniden osseointegrasyon sağlanmasında problemlerle karşılaşılmasına neden olur (178). Farklı titanyum yüzeylerde, farklı lazertürlerinin neden olduğu değişimin değerlendirildiği bir çalışmada, Nd:YAG ve Ho:YAG (holmium:yttrium-aluminum-garnet) lazerlerin implant yüzeyinde hasara neden olduğu, Er:YAG ve CO₂ lazerlerin ise güç yoğunluğuna bağlı hasar verme ihtimalinin olduğu belirtilirken en güvenli lazerin GaAlAs lazer olduğu bildirilmiştir (183).

Fotodinamik terapi (FDT): Fotodinamik terapide, ışığa duyarlılığı arttırıcı bir ajan kullanılarak (toluidin mavisi gibi) uygulanan yüksek enerjili tek frekanslı ışığın (diod lazer gibi) reaktif oksijen ürünlerini açığa çıkarması ile etki elde edilmesi amaçlanır (184). Bu işlemde bakteriler için letal olan dozun, implant yüzeyini etkilemediği ve fotosensitizasyon ve ışık aktivasyonunun lazer ile ablasyona oranla titanyum yüzeylerde daha yüksek bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir (185). 580-1400 nm arasında dalga boyuna sahip ışık,10-50 ug/mLkonsantrasyona sahip toluidin mavisi ile uygulandığında, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* gibi aerobik ve anaerobik bakteriler üzerinde bakterisid etki göstermektedir (186, 187). Ancak FDT de lazer gibi ek bir tedavi şekli olarak önerilmekte olup oldukça yeni olan bu tedavi ile ilgili uzun dönem çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kimyasal dekontaminasyon ve antibiyotik kullanımı: Peri-implantitis tedavisinde, sadece mekanik debridman ile bakteriyel yükü, konağın tolere edebileceği seviyeye indirmek oldukça zordur. Bu nedenle ek olarak antiseptik ya da antibiyotik gibi antimikrobiyal ajanların kullanımı önerilmiştir. Bu amaçla antiseptik olarak sıklıkla farklı dozaj formlarındaki klorheksidin içerikli ajanlar, değişik rejimlerde olacak şekilde mekanik debridmana ek olarak kullanılmıştır. Kullanım şekilleri arasında, peri-implant cebin klorheksidin içeren solüsyon ile tekrarlayan irrigasyonu (188), %1'lik klorheksidin jelin cebe tek seans(189) ya da tekrarlayan uygulamaları(190), klorheksidin içeren solüsyon ve jelin kombine uygulamaları ve 2 hafta boyunca klorheksidinli solüsyon ile gargara gibi uygulamalar bulunmaktadır (191, 192). Klorheksidin dışında sitrik asit, hidrojen peroksit, salin gibi kimyasallar da bu amaçla kullanılmaktadır (173, 193-195). de Waal ve diğ. (196), rezektif peri-implantitis tedavisi sırasında, klorheksidin ve setil pirdinyum klorid ya da fizyolojik salin solüsyonu ile yüzey dekontaminasyonu yapılan implantları değerlendirdiği çalışmasında, klorheksidin ve setil pirdinyum klorid ile daha hızlı etki elde edildiğini ancak iki uygulama arasında klinik bulgular açısından bir fark olmadığını bildirmiştir.

Bu tür kimyasalları kullanmanın dezavantajları, implant yüzeyinde korozyona, yeniden osseointegrasyonu engelleme ve dokular üzerinde toksik etki gibi durumlara neden olmasıdır(197).

Peri-implant mukozitistekine benzer olarak lokal ya da sistemik antimikrobiyal ajan uygulamaları da tedavi protokolünde bir yere sahiptir. Antibiyotiklerin tek başına kullanımı tedavi için yetersiz olsa da lokal ya da sistemik antibiyotik uygulaması, mekanik debridmana ek olarak önerilmektedir. Javed ve diğ. tarafından yayınlanan derlemede(198), manuel debridmana ek olarak kullanılan lokal ya da sistemik antibiyotiğin (tetrasiklin, doksisisiklin, amoksisilin, metronidazol, minosiklin hidroklorid, siprofloksasin, sülfanomid-trimetoprim), cep derinliğini belirgin şekilde azalttığı bildirilmiştir. Renvert ve diğ.(189), başlangıç aşamasındaki peri-implantitis olgularında oral hijyen motivasyonu ve mekanik debridmana ek olarak implantların bir

kısına % 1 klorheksidin içeren jel diğerlerine ise topikal minosiklin uygulayarak sonuçları değerlendirdiği çalışmasında, minosiklin mikrokürelere uygulanan implantlarda 12 ay sonunda sondlama derinliği ve kanama skorlarının iyileştiği izlenirken klorheksidin jelin sadece kanama skorları üzerinde sınırlı etki gösterdiği bildirilmiştir Ayrıca peri-implantitiste virüs ve bakteriler arasındaki sinerjistik etkiyi gösteren bir çalışmada, antiviral tedavinin de yarar sağlayabileceği ileri sürülmüştür (110).

Cerrahi Peri-implantitis Tedavisi:

Cerrahi olmayan teknikler ile peri-implantitisin tedavisi, genellikle başarısızlık ile sonuçlanmaktadır (166, 180, 184). Bunun olası nedeni, ağız ortamına açılan implant yüzeylerinin yeterince dekontamine edilememesidir. Ayrıca peri-implantitiste, inflamatuvar hücre infiltratının birleşim epitelinden daha apikale uzanıp direkt krestal kemik ile temas ederek ossointegrasyonu bozması ve peri-implantitisten sorumlu Gram (-) floranın cerrahi olmayan teknikler ile uzaklaştırılabilmesinin zorluğu, cerrahi olmayan tedavilerin olası başarısızlık nedenlerindedir (114, 199). Carcuac ve diğ.(200), köpekler üzerindeki çalışmasında, farklı yüzey özelliklerine sahip implantlarda deneysel olarak peri-implantitis oluşturmuş ve cerrahi tedaviye ek olarak dekontaminasyon için kullanılan iki farklı ajanın, tedavi üzerine etkisini değerlendirmiştir. Çalışma sonunda dekontaminasyon için klorheksidin ya da salin kullanılmasının tedavinin sonucu üzerine etkisinin minimal olduğu, tek başına cerrahi tedavi ile peri-implantitisin tedavisinin mümkün olduğu ve implant yüzey özelliklerinin tedaviye cevabı etkilediği bildirilmiştir (200).

Peri-implantitis tedavisinde tanımlanan cerrahi yaklaşımların 3 farklı amacı bulunmaktadır. Bunlar:

- Temizlik ve dekontaminasyon için uygun girişin sağlanması,
- Etkilenen yüzeylerde hijyenin, hasta ve hekim tarafından devamının sağlanabilmesi,
- Temizliğin yanında rejenerasyon ve yeniden osseointegrasyonun sağlanabilmesi için uygun işlemlerin yapılmasıdır(166).

Flep cerrahisi: Amaç, flep kaldırıldıktan sonra tüm granülatöz dokuların ve biyofilmin mekanik olarak uzaklaştırılmasıdır. İdeal olan uygulama, implantın üst yapısının uzaklaştırılıp bir kapatma vidası ile implantın internal kavitesi korunarak bu cerrahinin gerçekleştirilmesidir (201). Bu girişimin amacı sadece dekontaminasyon olup yeniden osseointegrasyon sağlanabildiği gösterilememiştir. Bu nedenle sadece peri-implant kemik kaybı az olduğunda endikedir (166). Leonhardt ve diğ. (202), cerrahi debridman ve hidrojen peroksit uygulamasına ek olarak sistemik antibiyotik uygulaması ile tedavi edilen peri-implantitis olgularında, başarı oranını 5 yıl sonunda % 58 olarak bildirmiştir.

Rezektif cerrahi teknikler: Rezektif cerrahinin amacı, peri-implant cep derinliğinin azaltılması, biyofilmin uzaklaştırılması ve oral hijyenin devamına olanak verecek yumuşak doku morfolojisinin elde edilmesidir. Rezektif teknikler, hafif ya da orta şiddetli horizontal kemik kaybı varlığında ve estetik kısıtlamanın olmadığı durumlarda endikedir (201). Yapılacak ostektomi ve osteoplasti işlemleri ile flebin uygun şekilde adaptasyonunu sağlayacak uygun alveoler kontur elde edilebilir (201, 203). Sıklıkla kullanılan rezektif teknikler;

- *Apikale pozisyone flep:* Peri-implant cebin derinliği ve peri-implant mukozanın genişlik ve kalınlığına uygun olarak kaldırılan flep, yumuşak dokunun etkilenen boyun kısmı uzaklaştırılıp implant yüzeyleri dekontamine edildikten sonra apikale doğru kaydırılarak dikilir. Cerrahi sonrası genellikle implantoplasti önerilir (204).
- *İmplantoplasti:* Pürüzsüz bir implant yüzeyi oluşturup plak retansiyonunu azaltmak amacıyla implantın açıkta kalan yivlerinin düzeltilmesi işlemidir (205). Bu uygulamanın dezavantajı, oksit tabakasının uzaklaştırılması sonucu açığa çıkan implant yüzeyinde korozyon riskinin olmasıdır (206). Romeo ve diğ.(204), rezektif cerrahiye ek olarak implantoplasti uygulamasının, 2 yıl sonunda sondlama derinliğini ve sondlamada kanamayı belirgin şekilde

azalttığını ve bu tedavi protokolünün peri-implantitisten etkilenen implantlarda sağ kalımı olumlu yönde etkilediğini bildirmiştir.

- Kemik kaybının sınırlı olduğu apikal peri-implantitis olgularında ise antimikrobiyal tedavi, dekontaminasyon ve rejeneratif tekniklerin yanında implantın apikal kısmının rezeksiyonu ile tedavi sağlanabileceği bildirilmiştir (207).

Rejeneratif cerrahi teknikler: Rejeneratif tekniklerin amacı, iyileşme süresince dokunun boyutlarının korunması ve mukozal çekilmenin engellenmesinin yanında yeniden osseointegrasyonun sağlanmasıdır.

Mevcut yumuşak dokunun korunması için genellikle sulkuler insizyon ile bukkal ve lingualden flep kaldırılır. Granülasyon dokularının uzaklaştırılması ve dekontaminasyonu takiben, defektin kemik içinde kalan kısmı zenojen, otojen veya allogreftten biri ile doldurulur (191). Greft ile beraber membran kullanımı ise tartışmalı bir konudur. Genel kanı, tek başına greft uygulaması ile membran ile beraber yapılan greft uygulaması arasında kemik rejenerasyonu yönünden fark olmadığı yönündedir (208-211). Wetzel ve diğ.(212), membran ile “yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR)” uygulamasında, geri kazanılan osseointegrasyon miktarı ile membran kullanılmadığı durumlarda kazanılan osseointegrasyon miktarı arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını, bu şekilde % 80'e kadar kemik dolumu elde edilse de geri kazanılan osseointegrasyon miktarının çok az seviyede olduğunu bildirmiştir.

Gerekli durumlarda kemik içi defekte rejeneratif teknik uygulanırken kemik üstü defekte de implantoplasti yapılarak iki teknik kombine edilebilir (213). Matarasso ve diğ. tarafından yapılan ve prospektif olarak değerlendirilen vaka serilerinden oluşan çalışmada (214), sondlama derinliği en az 5 mm olan, sondlamada kanama ve minimum 2 mm kemik kaybı bulunan veya en az 1 yivin açığa çıktığı implantlar peri-implantitis olarak teşhis edilmiş ve bu implantlar rejeneratif teknik ile rezektif cerrahi kombinasyonu ile tedavi edilmiştir. Peri-implant kemik içi defektlerde proteinize sıgır minerali ve kollajen membran uygulanırken kemik üstünde

kalan implant yüzeylerine implantoplasti yapılmıştır. Yumuşak doku apikale pozisyonlandırılarak dikilmiş ve tek aşamalı olarak iyileşme sağlanmıştır. 12 ay sonunda, sondlama derinliğinde önemli miktarda azalma elde edilmiş ve radyolojik olarak kemik dolumu izlenmiştir (214).

Genel olarak bakıldığında rejeneratif teknikler, sadece debridman uygulamasının sağlayamadığı kemik rejenerasyonu ve yeniden osseointegrasyonu sağlaması nedeni ile daha etkilidir (203). Ancak tedavinin başarısı için yumuşak dokuda inflamasyon olmaması ve yeterli genişlikte keratinize dişeti varlığının yanında membran altında yeterli boşluğun elde edilmesi, epitelial ve bağ doku hücrelerinin iyileşme süresince ilgili bölgeden uzakta olması, 9 ay süresince ilgili bölgenin yumuşak doku ile sıkıntısız bir şekilde kapalı kalması önemlidir (201).

Son yıllarda ise peri-implant lezyonların tedavisinde kümülatif özellikte olan ve 4 basamaktan oluşan bir tedavi protokolü önerilmiştir. Kümülatif destekleyici ve durdurucu tedavi (*Cumulative interceptive supportive therapy – CIST*) olarak adlandırılan bu protokolde, antibakteriyel etkinlik potansiyeli giderek artan 4 tedavi basamağının her biri, lezyonun şiddetine göre sırasıyla kombine edilerek uygulanır. Bu protokolde anahtar teşhistir. Bu tedavi protokolünün basamakları:

- Mekanik debridman (destekleyici tedavi protokolü - A): Klinik olarak tartar ya da plak gibi eklentilerin ve peri-implant dokulardaki hafif inflamasyon nedeniyle sondlamada kanamanın izlendiği, süpürasyon olmayan ve maksimum peri-implant cep derinliğinin 3 mm olduğu durumlarda mekanik debridman uygulanır.
- Antiseptik tedavi (destekleyici tedavi protokolü - B): Plak varlığı, sondlamada kanama, 4-5 mm sondlama derinliği durumunda destekleyici tedavinin ilk aşamasına ek olarak antiseptik tedavi de uygulanır. Süpürasyon her zaman olmayabilir.
- Antibiyotik tedavisi (destekleyici tedavi protokolü - C): En az 6 mm olan cep derinliğine plak ve sondlamada kanama eşlik eder. Süpürasyon her zaman olmayabilir. Bu seviyedeki lezyonlar, genellikle

radyolojik olarak bulgu verir. Mekanik debridman ve antiseptik uygulamasını takiben metronidazol gibi Gram (-) bakterilere etkinlik gösteren bir antibiyotik sistemik ya da lokal olarak uygulanır.

- Rejeneratif ve ya rezektif tedavi (destekleyici tedavi protokolü - D): Diğer tedavi protokolleri uygulanıp peri-implant dokulardaki enfeksiyon kontrol altına alındıktan sonra uygun cerrahi tedavi uygulanır (215, 216).

Peri-implantitis tedavisinde ortaya atılmış çok sayıdaki tedavi protokolüne rağmen her zaman tedavi mümkün olamamaktadır. Tedavinin başarısını belirleyen asıl faktör kemik kayıp miktarıdır. 8 mm ya da implant boyunun %50'sinden daha fazla kemik kaybının olduğu durumların tedavisi oldukça zordur. Bu nedenle özellikle derin sirkumferansiyel cep varlığında, ilgili implantın uzaklaştırılmasını takiben YDR uygulanıp sonrasında yeni bir implant yerleştirilmesi daha güvenli ve öngörülebilir bir tedavi şekli olabilir (189). YDR için uygun retansiyon alanını sağlayamayacak vertikal kemik defektlerinde ise implantın erken dönemde çıkarılması uygun bir tedavi şekli olabilir. Aksi takdirde ilerleyen vertikal kemik kaybının tedavisi daha zor bir hal alabilir (189).

Sonuç olarak bakıldığında “ideal peri-implantitis tedavisi” ‘nin olmadığı görülmektedir. Bu nedenle peri-implantitisin engellenmesine yönelik girişimler önem kazanmaktadır. Bu amaçla, tedavi planlaması boyunca gerekli görülen durumlarda konsültasyon ve protetik rehabilitasyonu takiben idame programları önerilmektedir (217). Ayrıca uygun tedavi planlaması, atravmatik cerrahi, belli aralıklarla kontrol, gerekli durumlarda profesyonel bakım ve oral hijyen motivasyonu da peri-implant enfeksiyonları önlemek adına yapılabilecek önemli uygulamalardır. Peri-implant enfeksiyon geliştiği durumlarda ise uygun tedavi protokolünün uygulanmasının yanında eşlik eden periodontal hastalık da eş zamanlı olarak tedavi edilmelidir. Hangi tedavi protokolü seçilirse seçilsin, mutlaka oral hijyen motivasyonu ve plak kontrolü hakkında hasta bilgilendirilmelidir (218). Özellikle hastada sigara ya da periodontal hastalık gibi risk faktörlerinden biri ve ya bir kaçı mevcutsa yukarıda belirtilen noktalara daha da önem verilmelidir.

2.5. Antiseptikler

2.5.1. Konu ile İlgili Tanımlar

Sterilizasyon: Ortamda bulunan mikroorganizmaların her türlü formunun fiziksel ya da kimyasal olarak ortadan kaldırıldığı süreçtir ve sonrasında ortamda mikroorganizma bulunmaması gerekmektedir (219).

Dezenfeksiyon: Cansız ortamdaki patojen mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasına dezenfeksiyon, bu amaçla kullanılan ajanlara ise dezenfektan denir. Dezenfektan ajanlar mikroorganizmaların spor formlarına karşı etkisizdir (219).

Asepsi: İşlem esnasında mikroorganizmalar ile kontaminasyonun önlenmesidir. Bu uygulamanın içine, dokuların, kullanılan materyallerin ve operasyon odasının sterilizasyonu ve dezenfeksiyonu girmektedir (219).

Antisepsi: Canlı yüzeylerdeki patojen mikroorganizmaların öldürülmesi ya da çoğalmalarının inhibe edilmesi işlemine antisepsi, bu amaçla kullanılan ajanlara ise antiseptik denir (219).

Dekontaminasyon: Kontaminasyon ve enfeksiyondan korunmak için mikrobiyal kaynağın azaltılmasına yönelik her türlü işleme dekontaminasyon denir. Dezenfeksiyon, sterilizasyon ve antisepsi işlemlerinin hepsi birer dekontaminasyondur (220).

Antibiyotik: Dilüe formları bakterileri öldüren ya da bakterilerin büyümesini inhibe eden, mikroorganizmaların ürettiği organik kimyasal ajanlardır (219). Eskiden doğal yollardan elde edilen antibiyotikler, günümüzde sentetik olarak üretilmektedir.

Bakterisid: Patojen olan ve olmayan bakterileri öldüren ajanlara bakterisid denir. Bakterisid ajanların bakterilerin spor formlarına etki etmesi zorunlu değildir (219).

Bakteriostatik: Bakterilerin büyümesini engelleyen ve genellikle kimyasal olan ajanlara bakteriostatik ajan denir (219).

Biosid: Makroorganizmalar da dahil ortamda yaşayan patojen olsun olmasın tüm organizmaları öldüren fiziksel ya da kimyasal ajanlardır (219).

2.5.2. Tarihçe

Dezenfektan, sterilizan ve koruyucuların bilimsel uygulamaları geçtiğimiz 150 yıl ile sınırlı olsa da ampirik uygulamaları antik döneme kadar uzanmaktadır (221). Eski devirlerde insanlar, hastalıkların tanrının verdiği bir ceza olduğunu ya da yıldızların pozisyonlarından kaynaklandığını düşünmüşler; tedavi amacıyla da dua etmiş, sihirli yollara ve batıl inanışlara başvurmuşlardır (222). 17. yüzyılda, Londra'daki büyük veba salgınından korunmak için katrana batırılmış püskül taşınması önerilmiş ve hastasından veba bulaşan doktor hastalıktan kurtulmak için göğsüne kurutulmuş kurbağa yapıştırarak vücudunu zehirden arındırmayı amaçlamıştır (222).

Bugünkü sterilizasyon ve dezenfeksiyon tanımlarına pek uymasa da dini kitaplarda da bir takım uygulamalardan bahsedilmektedir. İncilde, savaştan dönen askerlerin, elbise ve eşyalarından dayanıklı olanları aleve maruz bırakmaları, dayanıklı olmayanları ise kaynatmaları gerekliliğinden bahsedilmektedir. Özellikle pişirme kaplarının alevden geçirilmesi çok eskiden beri mekanik temizliğin yetmeyebileceği anlayışının olduğunu göstermekte olup ilk sterilizasyon uygulaması olarak kabul edilebilir (222). Yunan şair Homeros, MÖ 800'lü yıllarda yazdığı *Odyssey* adlı yapıtında, Odysseus'un hasımlarını öldürüp "bana biraz kükürt getirin ve ateş yakın da evi tütsüleyin" dediğini yazmıştır. Bu sözler ampirik bir dezenfeksiyon uygulamasının o dönemlerde de kullanıldığını göstermektedir. MÖ 500'lerde Hintli hekim Sustruta, cerrahlara ameliyattan önce ve sonra ameliyat odasının hardal, yağ, tuz kükürt yakılarak tütsülenmesini önermiştir (219, 222).

Bir çeşit kimyasal sterilizasyon olarak kabul edilecek diğer bir uygulama da MÖ 450'lerde Pers İmparatorluğu'nda görülmektedir. Buna göre suyu saklamak için çömlek kaplar yerine bakır ya da gümüş kaplar kullanılmıştır (223). MÖ 380-322 arasında Aristo, sefere çıkan Büyük

İskender'e, ordusuna kaynatılmış su içirmesini ve atıklarını gömmesini önermiştir. Sık kullanılan mabet gibi yapıların kapı kollarının bakırdan olması, o dönemde metallerin oligodinamik etkisinin gözlemlendiğini düşündürmektedir (219, 222).

Roma'da Celsus tarafından batın bölgesi yaralarının temizlenmesinde en sık kullanılan madde sirke olmuştur. Benzer şekilde yara dezenfeksiyonu ve pansumanında şarap da kullanılmış olup sonrasında *Pseudomonas auruginosa* ile enfekte olmuş cerrahi yaraların dezenfeksiyonunda bu maddelerde de bulunan seyreltilmiş asetik asidin etkin olduğu bildirilmiştir (222, 223). Balın da yara dezenfeksiyonunda kullanıldığı bilinmektedir (222). Bu uygulamalar antisepsinin ilk ampirik uygulamaları olarak kabul edilebilir.

Kötü kokular ile bozulma, çürüme ve hastalıklar arasında ilişki olabileceği inancı eski devirde Arap, Hint, Yunan halkında mevcut olup, önlemek için tütsüler kullanılmıştır. Joseph Burgundy tarafından kaleme alınan eserde (223), veba salgınında hasta insanların buldukları odada ardış ağacı dallarının yakıldığından ve hastalıktan kurtulmak için sülfür kullanıldığından bahsedilmiştir. 1438'de ise Venedikliler, salgınların ticaret yolları ile yayıldığını fark ederek gemileri tütsülemişlerdir (222).

16 yüzyıl ilk yarısında Rönesans İtalya'sında şair, filozof, hekim ve aynı zamanda Padova Üniversitesi'nde mantık profesörü olan Girolamo Fracastoro, hastalıkların tohumları olduğundan, çoğalma yeteneğine sahip küçük yaratıklarla oluştuğundan ve hastalıkların insandan insana bulaşabildiğinden bahsetmiş ve bulaşın temas, çıkartılar ve hava gibi yollarla gerçekleştiğini söylemiştir. Fracastoro'dan yüzyıllar önce, MÖ 1. yüzyılda Marcus Terentius Varro kayıtlara geçen ilk enfeksiyon tanımında "bazı gözle görülemeyen küçük hayvancıklar çoğalabilir, ortamda bulunabilir ve vücut içine girerek hastalıklara neden olabilir" diyerek o dönemde varlıkları bilinmeyen mikroorganizmalara dikkat çekmiştir (224). Mikroorganizmaların varlığı konusu, mikroskobun keşfine kadar fazla ilgi görmemiştir.

1676'da Anthony van Leewenhoek, hobi olarak yonttuğu ve 300 büyütme sahip merceklelerden mikroskop yaparak havuz suyu, yağmur suyu ve dental plağı incelemiş ve mikroorganizmaları gören ilk kişi olmuştur (222). Leeuwenhoek, biber suyu ve sirke eklendiğinde "animakül" (hayvancık) olarak adlandırdığı bu varlıkların hareket etmediğini de bildirmiştir. 1693 yılında Edmund King, çeşitli maddelerin bu hayvancıkları öldürdüğünü belirtmiştir. 18. yüzyıl ikinci yarısında Joseph Pringle tarafından ilk defa "antiseptik" terimi kullanılmıştır 18. yüzyıl ilk yarısıyla beraber hastalıkların "*Contagium animatum*" olarak adlandırılan küçük hayvancıklar tarafından oluşturulduğu inancı giderek artmaya başlamıştır (222).

Günümüzdekilere yakın kimyasal dezenfektanlar, orta çağlarda Arabistanlı hekimler tarafından kullanılmıştır. 18. yüzyıl sonlarında kireç kaymağı içeren dezenfektan ve deodorantlar üretilmiştir. 1839'da Davies, pansumanda iodin kullanımını önerirken 1843 yılında Lefevre, klorlu suyu tanıtmıştır. Semmelweis, loğusalık hummasının bulaşıcı olduğunu gösteren ve herhangi bir girişim öncesi ve sonrası ellerin klorlu su ile yıkanarak dezenfeksiyonunu öneren ilk kişi olarak bilinmektedir (222).

1860'lara gelindiğinde Lister, ameliyatlarında fenol-karbolik asit uygulamasına başlamış ve bu sayede kendisine "antisepsinin babası" ünvanı verilmiştir (222, 223). Pasteur'ün fermentasyon ve pütrefikasyonun havadan bulaşan mikroorganizmalarla olduğunu savunan görüşlerinden sonra, fenolü açık yaralara uygulayarak çalıştığı hastanedeki postoperatif sepsise bağlı ölümlerin büyük çoğunluğunun önüne geçmiştir (223). Lister'i takip eden yıllarda ve özellikle 19 yüzyıl sonlarında dezenfektanların dinamiğinin anlaşılması ile beraber bu alandaki çalışmalar artmış ve farklı maddeler tanımlanmıştır. Bunların arasında 1893 yılında Traugott tarafından tanımlanan hidrojen peroksit, 1915'te Daikin tarafından tanımlanan klor salan bileşikler ve 1916 yılında Jacobs tarafından tanımlanan kuaterner amonyum bileşikleri bulunmaktadır (223). Günümüzde en sık kullanılan katyonik biosidlerden biri olan klorheksidin ise 1958' de tanımlanmıştır (223).

2.5.3. Antimikrobiyal Ajanların Etkinliğini Belirleyen Faktörler

Organizma ile ilişkili faktörler;

- Organizmanın üreme fazı: Bakterilerin, logaritmik üreme fazındayken antimikrobiyal ajana olan hassasiyeti, durağan fazdakine göre daha yüksektir.
- Anaerobiosis: Etki etmesi istenen bakterinin aerob, anaerob ya da fakültatif olması ve ortamın oksijen içeriği antimikrobiyal ajanın etkisini değiştirecektir.
- Etki etmesi beklenen mikroorganizmanın hidrasyon durumu: Yapısındaki suyu kaybetmiş bakteriler, antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençlidir.
- Etki etmesi beklenen mikroorganizmanın türü, sayısı, lokasyonu ve ortamda başka organizma varlığı.
- Bakterilerin vejetatif formu spor formundan daha duyarlıdır.
- Bakteriyel biyofilm: Biyofilm içindeki bakteriler antimikrobiyal ajanlara karşı daha dirençlidir (225-228).

Bulunulan ortam ve antimikrobiyal ajan ile ilişkili faktörler;

- Bakterinin bulunduğu ortam: Bulunulan ortam bakterinin fizyolojik özelliklerini, dolayısıyla antimikrobiyal ajana olan duyarlılığını etkileyecektir.
- Ortamın pH'sı: pH, mikroorganizmanın yüzey özellikleri gibi fizyolojik özelliklerini ve antimikrobiyal ajanın moleküler yapısını etkileyecektir.
- İnkübasyon sıcaklığı: Sıcaklık artışı, bakterinin hücre duvarının yapısındaki fosfolipid içeriği başta olmak üzere fizyolojik özelliklerini ve etken maddenin iyonizasyon miktarını etkileyerek antimikrobiyal etkiyi de arttıracaktır.
- Antimikrobiyal ajana maruz kalmadan önce mikroorganizmanın başka bir madde ile muamele edilip edilmediği: Antimikrobiyal ajan kullanımı öncesinde uygulanan yüzey aktif ajanlar, mikroorganizmanın geçirgenliğini etkileyecektir.

- Kullanılan antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu ve türü: Kullanılan antimikrobiyal ajanın konsantrasyonu ile etki arasında optimum değere ulaşıncaya kadar doğru orantı vardır. Ancak optimum değere ulaştıktan sonra konsantrasyon artsa da etkide artış izlenmez.
- Uygulama süresi: Mikroorganizmanın antimikrobiyal ajana yeterli süre maruz kalmaması durumunda, istenen etki elde edilemez.
- Ortamda organik madde varlığı: Kan, serum, besin artığı gibi organik maddeler, mikroorganizmaların dezenfektan ile doğrudan temasını engellediklerinden ve çoğu etken maddenin yapısını bozduklarından özellikle protein denatürasyonu yolu ile etkili olan dezenfektanların etkilerinin azalmasına yol açar.
- Ortamda bulunan ve dezenfektan ile kimyasal antagonistik etki gösteren başka kimyasal maddeler, dezenfektanların etkisini ortadan kaldırır.
- Yüzey gerilimini azaltıcı maddelerin varlığı: Dezenfektanın ıslatma ve yayılma yeteneğini arttırarak mikroorganizmalarla daha kolay ve doğrudan etkileşmesini sağlar.
- Ortamın osmotik basıncı: Yüksek osmotik basınç, mikroorganizmayı dehidrate ederek dezenfektana olan direncin artmasına neden olur.
- Bunların dışında, ortamdaki su/yağ oranı, metal iyonlarının varlığı da antibakteriyel etkinliği belirleyen faktörler arasındadır (225-228).

2.5.4. Antiseptik ve Dezenfektan Ajanlar, Genel Kimyasal Yapıları ve Farmakolojik Özellikleri

Dezenfektanların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılırsa;

Organik ve İnorganik Asitler: Özellikle organik asitler, gıda ve ilaç endüstrisinde koruyucu olarak ve uygun formları cilt dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Örneğin salisilik asit ve sirkede de bulunan asetik asit, yara dezenfeksiyonunda tek başına ya da kombine olarak kullanılmaktadır. Asidik dezenfektanlar, nükleik asitlerin bağlarını yıkarak ve proteinleri presipite ederek etki gösterir. Ayrıca ortamın pH' sını da değiştirir(227, 229).

Alkaliler: Sodyum hidroksit, amonyum hidroksit, sodyum karbonat, kalsiyum oksit en sık kullanılan alkali ajanlardır. İyi mikrobisidal olmakla birlikte yavaş etki gösteren, oldukça koroziv ajanlardır (227).

Alkoller: Sitoplazmik zarın lipid yapısını ve hücrenin protein içeriğini bozarak etki eder. Sonuç olarak hücre lizise uğrar. İyi birer bakterisid ve fungusid ajan olan alkoller, sporosid etki göstermezken virüsid etkileri değişkendir. Genellikle topikal antiseptik olarak kullanılan alkoller, medikal aletlerin dezenfeksiyonunda ve enjeksiyon öncesi cilt antisepsisinde sıklıkla kullanılır. Etanol ve izopropanol en sık kullanılan alkollerdir(227).

Aldehidler: Proteinlerin yapısını bozup nükleik asitleri parçalayarak sterilizan etki gösteren aldehidler, geniş spektrumlu ve yüksek etkili dezenfektanlardır (227). Spor formları dahil bakteriler, mikobakteriler, funguslar ve virüsler üzerinde etkili olup en sık kullanılan türleri gluteraldehit ve formaldehittir (227, 229, 230). Oldukça iritan olan bu maddeler, inhalasyon ile vücuda alındığında kanserojen etkiye sahiptir. Özellikle ısı ile sterilize edilemeyen aletlerin sterilizasyonu amacı ile kullanılır. En büyük avantajlarından biri organik madde varlığından etkilenmemeleridir (229).

Biguanidler: Mikroorganizmaların hücre zarındaki negatif yüklü gruplarıyla reaksiyona girerek, hücre zarının geçirgenliğini bozar. Antibakteriyel etkinlikleri geniş olmasına karşın virüslere olan etkileri sınırlıdır. Sporlara karşı etkisiz olup organik madde, sabun ve anyonik deterjan varlığında inaktive olur. Toksik ve iritan etkileri düşüktür ve canlı yüzeylerde sıklıkla kullanılır. Klorheksidin ve aleksidin bu grupta bulunmaktadır (227).

Halojenler ve Halojen İçerikliler: Düşük toksisiteli, ucuz, kullanımı kolay, güçlü ve hızlı etki gösteren geniş spektrumlu antimikrobiyal bileşiklerdir İyodin ve klorin bileşikleri bu grupta yer almaktadır (229). Bu bileşikler, mikroorganizmada enzimatik hasar yaratarak ya da hücresel içeriğin oksidasyonuna neden olarak etki gösterir (227). Bu grupta yer alan hipoklorit ve iyot, sporlar dahil mikroorganizmalar üzerinde ölümcül etkiye sahiptir (229).

Oksitleyici Ajanlar (Peroksitler, Peroksijen Bileşikleri): Bu grupta yer alan hidrojen peroksit ve perasetik asit yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri açığa çıkarıp DNA dizisinde kırılmalara neden olarak bakterisidal etki gösterir (227, 231). Sporlara ise germinasyon aşamasında etkilidir (229). Bozunması sonucu açığa su ve oksijen çıktığından doğa dostu olarak kabul edilmektedir (227, 229, 231). Hidrojen peroksit, 100 yıldan uzun süredir bilinmesine rağmen son yıllarda stabil solüsyonlarının üretilmesiyle beraber tercih edilir hale gelmiştir (231).

Fenoller: Hücre duvarı geçirgenliğini değiştirerek hızlı ve yüksek bakterisidal etki gösteren bu bileşikler sporlara karşı etkisizdir (227). Özellikle asidik pH'da daha yüksek etkinlik gösteren fenollerin en önemli dezavantajı cilt ve dokulardaki kostik ve sistemik toksik etkileridir (231). Bu nedenle etkinliği düşük olmasına rağmen daha az toksik olan fenol türevleri tercih edilmektedir (227). Krezoller, ksilenoller ve ortofenilfenol günümüzde hastanelerde dezenfektan olarak sık kullanılan fenol türevleridir. (227)

Yüzey Aktif Ajanlar: Yüzey aktif ajanlar, moleküldeki hidrofilik grubun iyonizasyonuna göre anyonik, katyonik, non-iyonik ya da amfoterik ajanlar olmak üzere sınıflandırılır (229, 231). İçlerinde kayda değer antimikrobiyal etkinlik gösteren grup, katyonik yüzey aktif ajanlardır. Bu ajanlar mikroorganizma yüzeyindeki negatif yüklü grupları hedef alır (227). Gram (+) bakterilere olan etkisi Gram (-) bakterilerden daha fazla olup zarflı virüslere olan etkileri güçlüdür (227). Funguslar üzerinde letal etkiden çok fungistatik etki gösterir (231). Ancak zarfsız virüs, mikobakteri ve sporlara karşı etkin değildir (227, 231). Bakterisidal etkileri güçlü olup deterjan özellikleri zayıf olan bu maddeler özellikle cerrahi öncesi el yıkama, yara temizliği, farmasötik preparatlarda koruyucu olarak ve medikal alet dezenfeksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır (231). En sık kullanılan kuaterner amonyum bileşikleri benzalkonyum klorit (zefiran), benzotonyum klorit ve setilpridinyum klorittir (227).

Ağır Metaller: Cıva ve gümüşün antibakteriyel etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu metallerin dışında, arsenik, çinko, bakır gibi ağır

metallerin de germisid etkisi bilinmektedir. Çoğu ağır metal bakterisidal değil bakteriostatiktir. Genellikle sülfidril grupları sayesinde proteinler ile birleşerek etki gösterir. Aşıların inaktivasyonunda, antiserum ve antitoksinlerin korunmasında kullanılır (227). Yüksek toksisiteleri nedeniyle günümüzde yerini diğer dezenfektanlar almıştır.

Diğer Dezenfektanlar: Kinolon ve isokinolon türevleri, geçirgenliği arttıran ajanlar, anilidler, misellenöz koruyucular, akridin gibi antimikrobiyal boyalar diğer dezenfektan maddeler arasındadır.

2.5.5. Dezenfektanlara Direnç

Mikroorganizmaların dezenfektanlara karşı iki türlü direnci vardır:

İntrinsik direnç: Etken madde mikroorganizma içine girmeden, hücre duvarındaki enzimlerce parçalanır. Diğer bir mekanizma da aynı zamanda fizyolojik bir uyum olan biyofilm formasyonudur(232).

Kazanılmış direnç: Kromozomlardaki mutasyon, plazmit ya da transpozan aracılı sonradan gelişen dirençtir (232).

Mikroorganizmaları, dezenfektanlara karşı olan dirençlerine göre en dirençliden başlayarak sıralayacak olursak: prionlar, sporlar, mikobakteriler, küçük zarfsız virüsler, trofozoitler, Gram (-) bakteriler, mantarlar, büyük zarfsız virüsler, gram pozitif bakteriler, lipit zarflı virüsler(227).

2.5.6. Antiseptik ve Dezenfektan Maddelerin Etki Mekanizmaları

Çoğu hücre içi etki gösteren antiseptik ve dezenfektan maddelerin antimikrobiyal etki mekanizmalarını kısaca özetlemek gerekirse:

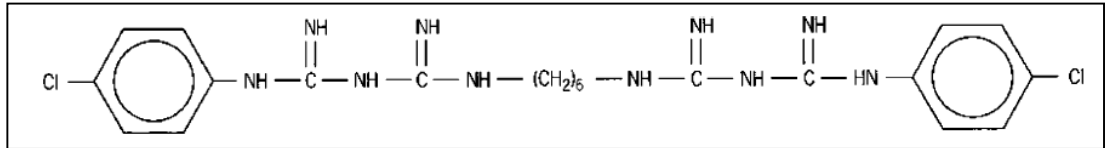
- Hücre duvarı ve dış membran üzerindeki proteinlere bağlanarak hücre geçirgenliğini bozar. Gluteraldehit bu şekilde etki etmektedir.
- Sitoplazmik membranın fosfolipid tabakasını içeren generalize membran hasarı sonucu hücre içeriği dışarı çıkar. Örnek olarak bazı kuaterner amonyum bileşikler verilebilir.

- Hücrenin herhangi bir bölgesindeki protein, DNA, RNA gibi makromoleküller ile çapraz bağlar oluşturur. Örnek olarak formaldehit verilebilir.
- Hücre DNA'sında iki baz çifti tabakası arasına girer ve DNA'nın yapısını bozar. Örnek olarak akrinin verilebilir.
- Gümüş bileşikleri gibi bazı antimikrobikler, protein ve enzimlerin yapısında bulunan tiol grupları ile etkileşerek enzimlerin fonksiyonlarını bozar. Halojen, peroksijen gibi okside edici ajanlar ise tiol gruplarının oksidasyonuna neden olur.
- Halojen, hidrojen peroksit, gümüş iyonları gibi bazı ajanlar, DNA sentezini inhibe eder ve DNA dizisinde kırılmalara neden olur(233).

2.6. Klorheksidin

2.6.1. Kimyasal Yapısı

Medikal alanda en sık kullanılan antimikrobiyal ajanlardan biri olan klorheksidin, merkezde bulunan heksametilen zincirine bağlanan 2 simetrik 4 klorofenil halkası ve 2 biguanid grubundan oluşan sentetik bir katyonik bisguaniddir (234) (Şekil 2.6.1).



Şekil 2.6.1. Klorheksidin yapısı (234)

Güçlü bazik karaktere sahip olan klorheksidin, asitler ile reaksiyona girerek tuz formunu oluşturur (235) ve tuz formları daha stabildir(234). Pratikte suda çözünmeyen klorheksidin, etanol ve asetonda çözünür (236) ve 134 °C'de erir (237). Hem solüsyon hem toz formundayken neredeyse renksiz ve kokusuzdur. Ancak toz formlarından hazırlanan sulu çözeltilerinin sahip oldukları acı tadın, oral kullanımda maskelenmesi gerekmektedir (235, 237).

Klorheksidin tuzlarının hepsinin suda çözünürlükleri farklıdır (235). En çok kullanılan oral preparat olan klorheksidin glukonat suda çözünür ve

fizyolojik pH'da hızlıca çözünerek pozitif yüklü klorheksidin molekülleri salınmasına neden olur (234). Yüzey aktif özelliği çok belirgin olmayan sulu çözeltilerinden ıslatabilme ve deterjan etkisi istendiğinde katyonik ve iyonik olmayan yüzey aktif maddeler eklenerek bu özellik kazanılabilir (235, 237). Katyonik özelliği nedeniyle, anyonik surfaktanlar ve diğer anyonik bileşenler ile uyumsuzdur. Katyonik ve iyonik olmayan surfaktanlar ile genel olarak uyumlu olmasına rağmen özellikle iyonik olmayan surfaktanların aşırı varlığı, aktivitesini azaltmaktadır (237).

Sulu çözeltilerinin en stabil olduğu pH 5-8 dir. pH 8'in üzerine çıktıkça klorheksidin baz çökelirken 5'ten daha asidik ortamlarda stabilitesi ve etkinliği bozulmaktadır (235).

2.6.2 Farmakolojik Özellikleri

Uyumluluk: Katyonik bir molekül olan klorheksidin, deterjan gibi iyonik olmayan maddeler ile direkt olarak uyumsuz olmamakla birlikte, antiseptik etkinlik bu maddelerin varlığında azalabilir. Klorheksidin, sabun, sodyum lauril sülfat, sodyum karboksi metil selüloz, aljinat gibi organik anyonlar ve inorganik anyonlar ile uyumsuzdur (235).

pH'nin Aktivite Üzerine Etkisi: Klorheksidin'in antimikrobiyal etkinliği pH bağımlı olup vücut yüzeyleri ve dokularda optimum etki gösterdiği değer 5,5 - 7'dir (235).

Saklama Koşulları: Klorheksidin preparatlar, cam ve ya yüksek yoğunluklu polipropilen ya da polietilen şişelerde saklanmalı ve kapakta mantar içerikli materyal kullanılmamalıdır. Aksi takdirde, klorheksidin absorbe edilebilir veya inaktif hale gelebilir. Dilüe klorheksidin solüsyonları oda sıcaklığında saklanmalıdır ve ortalama raf ömrü 1 yıldır. Kontaminasyonu engellemek için saklanmadan önce ısı ile steril edilmeli ya da kimyasal koruyucular eklenmelidir. Uygun şekilde saklanmayan klorheksidin preparatlarında, yan ürün olarak parakloroanilin açığa çıkmaktadır (234). Parakloroanilin'in potansiyel karsinojenik etkisi Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilmiştir (238).

Sterilizasyon: % 1'den daha düşük konsantrasyonlardaki solüsyonlar ısı ile steril edilebilirken daha yüksek konsantrasyonlardaki solüsyonlar ısıya maruz kaldığında klorheksidin tortu halinde çökeleceğinden filtrasyon ile sterilizasyon önerilmektedir (235).

2.6.3. Antimikrobiyal Aktivite

Klorheksidin, düşük konsantrasyonlarda bakteristatikken (235, 239, 240) yüksek konsantrasyonlarda etki derecesi mikroorganizmanın türüne bağlı olacak şekilde bakterisidal özellik kazanır (234, 235, 239, 240). Özellikle Gram (+) bakteriler Gram (-) bakterilere göre, *Streptococcus* türleri de *Staphylococcus* türlerine göre klorheksidine daha hassastır (241). Hızlı bir şekilde başlayan bakterisidal etki geçici olup bir süre sonra ortamdaki bakteri sayısı uygulama öncesine döner (242). Schiott ve diğ. (243), % 0.2' lik klorheksidin ile gargarayı takiben salyadaki mikroorganizmaların % 80-90 oranında azaldığını ve 48 saat içinde klorheksidin uygulanmadan önceki haline döndüğünü rapor etmiştir.

Klorheksidin, yüksek sıcaklık dışında bakterilerin spor formlarına karşı etkisiz olup (235) Gram (-) bakteriler için daha yüksek dilüsyonlara ihtiyaç vardır (237). Lipofilik bazı virüsler, klorheksidin tarafından hızlıca inaktive edilirken sulu çözeltileri küçük protein kaplı virüslere karşı etkisizdir. *Candida albicans* başta olmak üzere mantar ve dermatofitler de klorheksidine hassastır (235, 244).

2.6.4. Antimikrobiyal Etki Mekanizması

Klorheksidin antimikrobiyal etki mekanizması halen net olmamakla beraber katyonik klorheksidin negatif yüklü bakteri hücre membranı ile etkileşmesi en çok kabul gören etki mekanizmasıdır (235, 237). Klorheksidin uygulandıktan sonra, hücre ölümü ile sonuçlanana kadar geçen süreçte görülen muhtemel basamaklar şu şekildedir:

- Pozitif yüklü klorheksidin, bakteri hücre duvarında bulunan anyonik fosfat uçlarına elektrostatik olarak bağlanır (235).

- Bakteri hücre duvarının savunma mekanizması klorheksidin tarafından geçilir (235, 237).
- Klorheksidinin sitoplazmik membrana bağlanması ile bakterinin osmotik dengesi bozulur ve potasyum gibi bazı düşük moleküler ağırlıklı sitoplazmik içerik hücre dışına çıkar (235, 237), adenziltrifosfat gibi bazı membrana bağlanan enzimler inhibe olur (235). Bu aşamaya kadar görülen değişiklikler, klorheksidinin bakteriyostatik etki mekanizmasını açıklamaktadır.
- Daha yüksek konsantrasyonlarda ise bakteriyidal etki başlar ve adenzintrifosfat ya da nükleik asit gibi bazı bileşenlere fosfat bağlanır. Sonucunda oluşan kompleksler, sitoplazmik membranın yapısının bozulmasına neden olur (234, 235, 237). Hücre potasyum içeriğinin % 50'den, nükleik asit içeriğinin ise % 15'den fazla kaybı geri dönüşümsüz hücre hasarı ile sonuçlanır (235).

Klorheksidinin genel olarak kabul gören bu mekanizmasının haricinde başka bazı olası mekanizmalar da ileri sürülmüştür. Bu olası mekanizmalar arasında bakterilerin proteolitik ve glikozidik enzimlerini inhibe ederek bakteriyostatik etki göstermesi, protein sentezi ve hücre çoğalmasını etkilemesi, bakterinin hidrofobik özelliğini değiştirmesi gibi mekanizmalar bulunmaktadır (240, 245-247).

2.6.5. Klinik Kullanım ve Etkinliği

Günümüz diş hekimliğinde en sık kullanılan antibakteriyel ajan olan klorheksidin, ilk olarak 1950'de İngiltere'de proguanil tipi antimalarial ajanlar üzerinde yapılan antimikrobiyal araştırma esnasında sentezlenmiş; ancak antimalarial ajan olarak hiç kullanılmamıştır (235).

Yüksek antibakteriyel etkinlik, düşük toksisite, cilt ve membranlara yüksek bağlanma özelliği sayesinde medikal alanda sıklıkla tercih edilen klorheksidinin kullanım alanlarına bakılırsa:

Diş hekimliğinde :

Klorheksidin, 1959' dan beri plak kontrolü amacıyla Avrupa' da topikal oral ajan olarak kullanılmasına rağmen diş hekimliğinde kullanımı Schroder'in 1969 yılında antiplak etkisini göstermesi (248) ve bunu takiben Loe ve diğ.'nin yaptığı çalışmalar (249, 250) ile yaygınlaşmıştır. Günümüzde özellikle periodontal rahatsızlıkların tedavisi, oral cerrahi öncesi ve sonrası antisepsi amacıyla, endodontik uygulamalarda kök-kanal sisteminin dezenfeksiyonu amacıyla ve antikaryojenik özelliği nedeniyle çürük aktivitesi yüksek bireylerde yaygın olarak kullanılmaktadır (235, 251).

Klorheksidin diş hekimliğinde yaygın olarak kullanılma nedenleri arasında, anyonik özelliğe sahip hidroksiapatit, tükürükteki musin ve diş yüzeyleri tarafından abzorbe edilebilmesi bulunmaktadır (252, 253). Abzorbe edilen klorheksidin, ilgili dokulardan 8-12 saat boyunca salınmaya (254) ve bakteriyostatik etki göstermeye devam eder (255). Bonesvoll (256), 10 mL % 0,2' lik solüsyon ile 60 saniye irrigasyon sonrası bu dozun 1/3 ünün abzorbe edildiğini ve abzorbe edilen klorheksidin salınmaya ve bakteriyostatik etkinliğine devam ettiğini bildirmiştir. İlk 4-8 saat boyunca, tükürükteki konsantrasyonu logaritmik bir şekilde azalmaya devam eden klorheksidin, 24 saat sonunda düşük miktarlarda da olsa tükürükte halen bulunduğu gösterilmiştir(256).

Klorheksidin diğer bir avantajı ise tükürükte bulunan musinin negatif yüklü karboksil gruplarına affinitesi sayesinde plak oluşumunu inhibe etmesidir (253). Böylece bakterilerin, dokulara ve biyofilme bağlanma kapasitesini (257) ve mikroorganizmaların başlangıç kolonizasyon ve akümülyasyonunu azaltan klorheksidin (244), aynı zamanda antikaryojenik etki de göstermiş olur.

Klorheksidin antiseptik ve antiplak etkisinin yanı sıra kollajen yıkımına ve dolayısıyla doku kaybına neden olan bakteriyel matriks metalloproteinazları üzerindeki inhibitör etkisi, özellikle periodontoloji alanında kullanımını arttırmaktadır (240, 258). Cronan ve diğ.(259), 2006

yılındaki çalışmasında, en önemli periodontal patojenlerden *Porphyromonas gingivalis* tarafından üretilen bir proteaz olan *gingipain*'in klorheksidin tarafından belirgin bir şekilde inhibe edildiğini göstermiştir.

Klorheksidin, dental implantoloji alanında da kullanım alanı bulmuştur. Son yıllardaki çalışmalar, klorheksidinin implant yüzeyindeki oksit tabakası tarafından absorbe edildiğini göstermektedir (260). Oksit tabakası tarafından absorbe olan klorheksidin, 24 saat içinde salınarak ortamdaki bakteriyel büyümeyi inhibe etmektedir (261).

Kullanım amacına yönelik olarak piyasada farklı konsantrasyonlarda solüsyon, jel, cila, talaş halinde ya da diş macununa eklenmiş olarak bulunabilen klorheksidinin, en sık % 0.12 ve % 0.2 konsantrasyonları gargara olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda ise klorheksidinin yavaş salım yapan preparatları üzerinde çalışılmaktadır (262, 263).

Cilt Dezenfeksiyonunda:

Klorheksidinin deterjan bazlı formülasyonları, cerrahi el yıkama ve cerrahi öncesi operasyon bölgesinde cilt dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmaktadır (235, 251).

Klorheksidin, bu alanların dışında yara ve yanık dezenfeksiyonunda, jinekolojik ve ürolojik girişimlerde, alet dezenfeksiyonunda ve bazı farmasötik ve medikal ürünlerde koruyucu olarak da kullanılmaktadır (235, 264).

2.6.6. Biyolojik Etkileri ve Güvenilirlik

Uzun yıllardır birçok alanda sıklıkla kullanılan klorheksidinin yan etkileri nispeten azdır. Uzun süre kullanımında dahi kan biyokimya değerlerinde, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarında değişim yaratmadığını (234), oral mukozanın klinik görünüm, histolojik yapı, enzimatik fonksiyonlarında bozulma olmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (265-267).

Klorheksidin en sık kullanılan formlarından biri olan solüsyon ile gargarayı takiben preparatın yaklaşık % 4'ü yutulmaktadır (256). Ancak gastrointestinal emilimi minimal olan klorheksidin (268) % 90'ı feçes, kalanı ise üriner sistem ile vücutta herhangi bir yan etkiye neden olmadan atılır (269).

Diş hekimliği açısından bakıldığında, klorheksidin en önemli yan etkisi dişlerde sarı-kahverengi boyanma, tat duyusunda değişiklik, oral mukozada yanma hissi ve ağrı, deskuamatif lezyonlar ve ülserasyonlardır (234, 270, 271). Flotra (271), klorheksidine ait yan etki görülme sıklığının oldukça az olduğunu bildirmiş ve birkaç vakada oral mukozada deskuamasyon ve iki vakada jel uygulamasını takiben dudakta şişlik rapor etmiştir. Literatürde klorheksidin solüsyon ile gargarayı takiben parotiste şişlik bildirilmesine rağmen bu durum ajan ile ilişkilendirilmemiştir (272).

Ototoksik bir ajan olan klorheksidin, iç ya da orta kulak ile teması total duyu kaybı ile sonuçlanabilmektedir. Nörotoksik etkisi de bulunan klorheksidin, cerrahi esnasında meninksler veya beyin ile temasından kaçınılmalıdır (235).

Saf klorheksidin dilüe solüsyonları göz irrigasyonu ve oküler preparatlarda koruyucu olarak kullanılsa da % 2'den daha yüksek konsantrasyonları, kornea hasarına neden olmaktadır (235, 273).

Nadiren de olsa klorheksidin ile lokal cilt irritasyonu ve hassasiyet olabilmektedir. Klorheksidine maruziyet sonrası şok ile seyreden generalize alerjik reaksiyon vakaları da rapor edilmiştir (236, 274). Aşırı duyarlılık reaksiyonu riski nedeniyle direkt müköz membranlara uygulanması uygun değildir (269). Moghadam'ın 1991 yılındaki vaka raporu ile beraber klorheksidin sabit ilaç reaksiyonu yapan ilaçlar sınıfına eklenmiştir (275).

Klorheksidin yara iyileşmesi üzerine olan etkisi ise tartışmalıdır. Klorheksidin fibroblastlar (245, 246, 276, 277), gingival fibroblastlar (245, 246), periodontal ligament hücreleri (278), alveoler kemik hücreleri (279), osteoblastik hücre serileri (277), makrofajlar ve nötrofiller (280) üzerine olan

sitotoksik etkileri in vitro olarak gösterilmiştir. Faria ve diğ.(276), 2009 yılındaki çalışmasında klorheksidinin endoplazmik retikulumda protein akümüasyonu sonucu aşırı yüklenmeye ve stres oluşumuna neden olarak nekroz ya da apoptoz yoluyla hücre ölümünü indüklediği sonucuna varmışlardır. Alleyn ve diğ. ise (281), klorheksidinin fibroblastların kök yüzeyine ataçmanını ve periodontal rejenerasyonu bozduğunu bildirmiştir. Bu çalışmalar dikkate alındığında, klorheksidinin yara iyileşmesini geciktirmemesi mümkün değil gibi gözükse de Sanchez ve diğ. (282), in vitro olarak fibroblastlarda görülen bu sitotoksik etkinin in vivo olarak görülmediğini köpekler üzerinde yaptıkları in vivo çalışmasının sonunda bildirmiştir. Saatman ve diğ. de (283), domuzlarda deneysel olarak oluşturulan cilt yaralarını klorheksidin ile irriye ederek yara iyileşmesini değerlendirdikleri çalışmasında, iyileşmede ciddi bir gecikme olmadığını rapor etmiştir. Literatürde epiteliyal bariyerin alt tabakadaki hücreleri koruması (284) ve klorheksidinin konak hücreleri yerine oral floradaki bakterilere bağlanması sonucu in vitro olarak görülen sitotoksik etkinin in vivo olarak görülmediği bildirilmiştir(245).

Klorheksidin ile ilgili tartışılmalı konulardan biri de karsinojenik etkisidir. Klorheksidin diglukonatın bukkal mukoza hücrelerinde DNA hasarını arttırdığını (285) ve diğer vücut hücrelerinde de genotoksik etki yarattığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (277, 280, 286, 287). Li ve diğ. (280), fare makrofajları üzerinde yaptıkları çalışmanın sonunda, klorheksidinin sitogenotoksik etkisinin zaman ve konsantrasyon bağımlı olduğunu göstermiş ve bu etkiden reaktif oksijen ürünlerinin sorumlu olduğunu ileri sürmüştür. Ancak klorheksidinin onkojen bir ajan olmadığı yönünde görüşler de mevcuttur (235, 274, 288). Hikiba(288), fare embriyo hücrelerinde yaptığı çalışmasında klorheksidinin genetik hasar yaratmadığını göstermiştir.

Tüm bu verilere bakıldığında, klorheksidinin yan etkilerinden kaçınmak için doz ve zaman unsuru göz önüne alınmalı ve özellikle % 2'den daha yüksek konsantrasyonların kullanımında dikkatli olunmalıdır.

2.7. Oral Kavitede Kullanılan İlaç Taşıyıcı Sistemler

Yapısal, fizyolojik özellikleri ve hasta tarafından kolaylıkla uygulanabilmesi nedeniyle ilaç taşınması için önemli bir yol olan oral mukoza ile ilaç uygulamasının hedefleri:

- Kontrollü salım yapan klorheksidin içeren jel ve mukoadesiv tabletlerde olduğu gibi sadece yüzey epitelinin hedeflendiği mukozal enfeksiyonların tedavisi (289),
- Yaygın ağız ülserlerinin tedavisi ve topikal anestezi uygulamalarında olduğu gibi yüzey epitel hücrelerinden daha alt tabakaların ya da bağ dokusunun hedeflendiği durumlar(290),
- Anjina pectoriste uygulanan sublingual nitrogliserin tabletlerinde olduğu gibi ilacın sistemik dolaşıma katılması ile beraber hızlı bir biçimde etki istenendurumlardır(289).

Oral mukoza yoluyla ilaç uygulamasının avantajları;

- 1) Yüksek vaskülarizasyon sayesinde uygulanan herhangi bir ilaç hepatic metabolizmaya uğramaksızın kapiller ve venöz drenaj yoluyla direkt sistemik dolaşıma katılır (290).
- 2) Gastrointestinal sisteme nazaran daha az enzimatik aktivite varlığı, özellikle protein gibi enzimatik ve hidrolitik etkilere karşı hassas olan moleküllerin uygulanması için uygun ortamı sağlar (289, 291).
- 3) Oral mukozanın geçirgenliği, deriye göre çok daha fazla olup sindirim sisteminin mukozasının geçirgenliğinden daha azdır (292). Oral mukozayı geçirgenliğine göre sıralarsak: en yüksek geçirgenlik sublingual bölgedeyken onu bukkal ve palatal mukoza takip eder (291).
- 4) Oral mukozada cilde göre daha az Langerhans hücrelerinin bulunması alerji riskini azaltır (293).

- 5) Oral mukozanın travma ve hasar sonrası iyileşmesi hızlıdır. Bu da topikal uygulama sonrası yan etki görülme süresini kısaltır (291, 293, 294)

Oral mukoza yoluyla ilaç uygulamasının dezavantajları:

- 1) Tükürüğün yıkayıcı etkisi ve fonksiyonlar ile ilaç ortamdaki uzaklaştırılacak ve tekrarlayan uygulama gerekecektir (291).
- 2) Ajanın aspirasyon ve ya yutulma tehlikesi bulunmaktadır (294).
- 3) Cilde göre oral mukozada uygulama alanı daha küçüktür (291).
- 4) Kabul edilebilir bir tadının olması gerekmektedir (293).

2.7.1. Topikal Oral İlaç Uygulama Sistemleri

İlaçların sistemik uygulamalarının toksisite, ilaç etkileşimleri, eğer antibiyotik kullanılıyorsa rezistans veya süperenfeksiyon gelişimi gibi yan etkileri bulunmaktadır. Lokal taşıma sistemlerinde ilacın sadece hedef bölgeye uygulanması sayesinde potansiyel problemlerden çoğunun önüne geçilmiş olur (295).

Bukkal ve oral mukoza, lokal ve sistemik ilaç uygulamaları için uzun yıllardır kullanılmasına rağmen oral mukozal rahatsızlıkların tedavisine özel olarak geliştirilmiş az sayıda topikal ilaç formülasyonu bulunmaktadır. Günümüzde bu amaçla kullanılan ilaçların çoğu, dermatolojik hastalıkların tedavisi için kullanıma sunulmuş preparatlardır. Özellikle oral mukozal rahatsızlıkların tedavisi için üretilen ilaçların uzun süreli salım yapabilme özelliğine sahip olması önemlidir (293).

Oral bölgeye uygulanan ilaçlar adeziv olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılır:

Adeziv olmayan sistemler: İlaç oral kavite içinde serbest olarak bulunur. Bu sistemler arasında:

Hızlı çözünen dozaj şekilleri: 1970'li yılların sonunda tabletleri yutma zorluğu yaşayan pediatrik ve geriatrik hastalar dikkate alınarak üretilmiş bu preparatlar, yatalak ya da bulantı refleksi olan hastalarda, ani gelişen alerjik ataklarda kullanıma uygundur. Hızlı salım yapan sistemler, hazırlanış şekli ve dozaj formuna göre liyofilize sistemler, sıkıştırılmış tablet bazlı sistemler ve oral kullanıma uygun ince film şeklindeki sistemler olarak ayrılabilir (296, 297).

Sakızlar: Reçine bazlı katı bir form olan sakız etken maddenin yavaş bir şekilde salınıp ortamda uzun süre bulunmasını sağlar (298). Bu forma en bilinen örnek nikotin sakızlarıdır. Sakızlara ayrıca kalsiyum, bikarbonat, karbamid, klorheksidin, florid ve ksilitol gibi maddeler yüklenerek antikaryojenik ve antiplak özellik de kazandırılabilir (299).

Pastiller: Toz halindeki etken madde, katkı maddesi ve polimerlerin sıkıştırılması ile üretilir ve oral mukozaya direkt temas edecek şekilde yerleştirilir. Etken maddenin oral mukoza ve oral kavitede çok yönlü dağılımı sağlanır.

Mikropöröz boş fiberler: Diş hekimliğinde özellikle periodontal tedavi amacıyla kullanılan bu formda, geçirgen özellikteki içi boş küçük boyutlu silindirler, etken madde ile yüklenerek kontrollü salım sağlanır. Sadaf ve diğ. (300), klasik periodontal tedaviye ek olarak tetrasiklin ile yüklenmiş fiberleri periodontal cebe uygulamışlar ve bu fiberlerin detartraj ve polisaj tedavisinin etkinliğini arttırdığını bildirmişlerdir.

Spreyler: Etken madde çok küçük partiküller ya da damlacıklar şeklinde oral mukozaya uygulandığından ilaç daha hızlı bir şekilde emilir (289, 291).

Adeziv olmayan sistemlerde, preparatın yutulması, tükürüğün seyreltici etkisi ve fizyolojik etkilerle ilacın istenen konsantrasyonda yeterli süre tutulamaması en önemli dezavantajlardır (301).

Adeziv Sistemler: Bu tür sistemlerde, ilacın belli bir oran ve hızda salınarak tedavi ihtiyacını karşılayacak şekilde taşınması amaçlanır (295). Adeziv sistemlerin genel özelliği, formülasyonların mukoadeziv yapıda olmasıdır.

Doğal ve ya sentetik bir polimerin biyolojik bir substrata bağlanması biyoadezyon şeklinde adlandırılır. Polimerin bağlandığı substrat, mukozal epitel olduğunda sistem primer olarak epitel yüzeyindeki mukus ile etkileşir ve bu mukoadezyon olarak adlandırılır. Mukoadezyon özelliğine sahip maddeler ise mukoadeziv maddeler olarak adlandırılmaktadır(302).

Adeziv sistemleri oluşturan dozaj formları:

Adeziv tabletler: Farklı bölgelere uygulanabilen bu tabletler tükürük varlığında mukozaya yapışır ve tamamen çözünene kadar mukozaya atake olarak kalır. Formülasyonun hazırlanması sırasında kullanılan biyoadeziv polimerler ile hem mukoadeziv özellik elde edilir hem de etken madenin taşınması sağlanır(303). İstenen tedavinin sistemik ya da lokal olmasına göre çift ya da tek yönlü etken madde salımı sağlanacak şekilde tabletler oluşturulabilir (301). Bukkoadeziv tabletler kullanılarak antiseptik, antibiyotik, antiinflamatuvar maddelerin salımı gerçekleştirilebilir (304, 305). Tablet formunun dezavantajı fizyolojik mekanizmalar ile ortamdan uzaklaştırılabilmesidir (306). Sonuç olarak etki istenen bölgedeki retansiyon süresi kısalmış ve etken madde hızlı bir şekilde tedavi dozunun altına iner. Bu nedenle yeni nesil adeziv tabletler geliştirilmiştir. Hasta konforunun az olmasına bağlı uyum sorunu özellikle uzun süren tedavi ve tekrarlayan uygulamalarda problem yaratabilir (306).

Adeziv filmler ve yamalar: Bukkal mukozaya uygulanan bu form, etken madde yüklü olan polimerik bir tabaka ile tek yönlü ilaç salımını sağlayan bir katmandan oluşur ve genellikle enzim inhibitörü, penetrasyon arttırıcı ajanlar ve salımı geciktiren katkı maddeleri içeren mukoadeziv bileşenlere sahiptir (307). Zor üretim aşamaları ve yüksek maliyetine karşılık oral yama ve filmler lokalize, hafif ya da orta şiddetteki lezyonların tedavisi için idealdir.

Yama ve filmlerin yüksek fleksibilitesi, yüksek retansiyon süresi ve artmış hasta uyumu ve konforu mevcuttur. Sprey ve jelle göre kontrollü doz uygulamasına olanak verir ve lezyonlu bölgeyi ortamdan izole ederek ağrıyı azaltır. Yüksek retansiyon süresi nedeniyle özellikle kronik lezyonların tedavisinde uygun seçenektir (306).

Adeziv yarı katı preparatlar (Merhem ve jeller): Tipik olarak polimer, etken madde ve baz içerisinde çözünmüş tatlandırıcı maddelerden oluşur (289). Bu formun avantajı mukozada dağılımının kolay olmasıdır (306). Mukoza ile yakın kontakt kurarak emilim sahasında ilacın hızlıca salımına olanak verir (308). Ancak doz ayarlaması tablet, yama ya da filmlerdeki kadar kolay değildir ve fiziksel etkilerle ajan ortamdan uzaklaştırılabilir. Bu nedenle terapötik penceresi dar ilaçların uygulanması için uygun değildir. Bu durumun önüne geçip jellerdeki retansiyon süresinin artırılması için farklı biyoadeziv maddelerle formülasyonlar güçlendirilmeye çalışılmıştır (306).

Hidrojel de yarı katı dozaj formları arasında yer almaktadır. Hidrojeller su içeren ortamda çözünmeden hidrate olup molekülleri fiziksel olarak hapseder ve sonrasında difüzyon ya da erozyon aracılığı ile yavaşça etken madde salımına olanak verir (309). Kiremitçi ve diğ. (310), klorheksidin kontrollü salımı amacıyla geliştirdikleri vinil eter bazlı sıcaklığa duyarlı hidrojellerde, en hızlı klorheksidin salımının ilk 2 saatte olduğunu ve salım miktarının azalarak 27. güne kadar devam ettiğini rapor etmişlerdir.

Adeziv likid sistemler (gargara ve sprey): İnce bir tabaka halinde oral mukozayı kaplar ve abzorbe edilen ilaç molekülü miktarı böylece artmış olur (306). Bu sistemin dezavantajları; preparat tadının hasta uyumu açısından önemli olması ve uzun süreli kullanıma bağlı çevre dokularda ve dişlerde boyanma, tat duyusunda değişiklik oluşmasıdır (310). Ayrıca oral kavitede retansiyon süresinin uzun olmaması, preparatın yutulma riski ve uygulanan ilacın dozunun ayarlanmasının zorluğu da diğer sıkıntılardır. Bu nedenle kitosan ve sodyum aljinat gibi ajanlar, preparatın emilimini arttırmak için kullanılır(311). Bu formun en bilinen örneği diş hekimliğinde çok sık kullanılan klorheksidin içeren gargara ve spreylerdir.

Diğer Uygulamalar: Daha önce belirtilen dozaj formlarının yanı sıra flor salımı yapan depo aygıtlar (312), flor emdirilmiş diş ipleri ve ya ortodontik apareyler (313) gibi kontrollü salım amacıyla kullanılan farklı uygulamalar da bulunmaktadır. Son dönemde yapılan çalışmalar iontoforezis tekniğinin yani elektrik akımı uygulamasının ilaçların lokal etkilerini ve sistemik olarak etken madde seviyesini etkilediğini göstermiştir (309).

Son yıllarda ise nanoteknoloji alanındaki gelişmelerle beraber nano ve mikropartiküller ilaç uygulamalarında kullanılmaya başlanmıştır. Nanopartiküllerin en büyük avantajı çözünürlük, retansiyon süresi ve biyoyararlanımlarının daha iyi olması ve hasta tarafından kolay tolere edilebilmesidir (289, 314). Ancak bukkal mukozada kalan ve dolayısıyla taşınan etken madde miktarı, yama ve ya tablet gibi tek ünitelik dozaj formlarında olduğu gibi istikrarlı olmayabilir (289). Lipid, karbon, silika, silikon, altın gibi materyallerden olabilen nanopartiküllerin formülasyonları hazırlanırken kitosan, jelatin, sodyum aljinat, polilaktid-ko-glikolik asit (PLGA) gibi farklı özelliklerdeki polimerler kullanılır (314). Tarabelli ve diğ.(315), PLGA ve kitosan ile hazırladıkları mikropartiküllere bupivakain yükleyerek biyolojik olarak "akıllı" hidrojeller üretmişler ve bu hidrojellerin bazılarında 7 güne kadar bupivakainin kontrollü olarak salındığını in vitro olarak göstermişlerdir.

Diğer bir yeni uygulama şekli ise lipozomlardır. Lipozomlar ortasında aköz bir çekirdeği bulunan ve bu çekirdeğin çift katlı lipid tabakası tarafından sınırlandırıldığı kapalı, küresel, sentetik fosfolipidlerdir. Merkezdeki aköz çekirdek, hidrofilik ajanları etkin bir şekilde çevreleyebilirken lipofilik ajanlar fosfolipid tabaka tarafından hapsedilebilir (316). Franz-Montan ve diğ.(317), lokal anestezi uygulamalarında iğnenin girişinin hissedilmesini önlemek ve topikal anestetik etki sağlamak için hazırladıkları % 1 etken madde içeren lipozomal ropivakain preparatlar ile istenen etkinin elde edildiğini bildirmişlerdir.

2.7.2. Dozaj Formlarında Kullanılan Polimerler

Dozaj formlarının oluşturulmasında kullanılan taşıyıcı maddeler genel olarak mukoadesiv polimerler ve geçirgenliği arttıran ajanlar olarak ayrılabilir.

Mukoadesiv Polimerler: Kontrollü ilaç salım sistemleri hazırlanırken mukoadesyonu sağlamak için çok sayıda farklı polimer kullanılmaktadır. Bunlar:

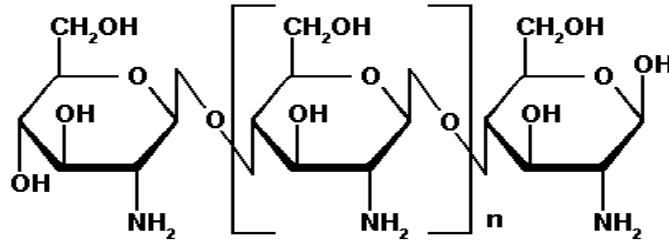
- Hidrofilik ve termoplastik polimer ve hidrojeller en sık kullanılanlardandır. Hidrofilik polimerler arasında metilselüloz, hidroksietil selüloz ve kitosan bulunmaktadır. (301, 318) Su çekme potansiyeli olan hidrojellere örnek olarak ise poliakrilik asit ve sodyum aljinat verilebilir (301). Termoplastik polimerler arasında yarı kristal biyobozunumlu polimerler, bozunmayan doğal polistiren, sentetik polimerler arasında ise polivinil alkol, polikarbonatlar, poliamidler, polimetakrilik asitler bulunmaktadır.
- Selüloz esaslı polimerler ve polivinil asetat diğer biyoyumlu polimerlerdendir.
- Bu polimerler dışında, karbomerler, maleik anhidrit kopolimerleri, polietilenoksit, polivinil alkol, nişasta ve dietilaminoetil dekstran kullanılan diğer polimerlerdir(319).

Diş hekimliğinde sıklıkla kullanılan klorheksidin içeren kontrollü salım dozaj formlarının hazırlanmasında kitosan ve ksantan gam benzeri biyobozunur polimerlerin yanı sıra etil selüloz, etilen vinil asetat kopolimerleri gibi biyobozunur olmayan polimerler de kullanılmaktadır (308, 320).

Geçirgenliği Arttıran Ajanlar: Farklı mekanizmalar ile mukozal emilimi arttıran bu ajanlar arasında siklodekstrin, surfaktanlar, safra tuzları, enzim inhibitörleri, kitosan bulunmaktadır. Ayrıca çeşitli solvent, plastikleştirici ajanlar gibi farklı katkı maddeleri de kullanılmaktadır (311).

2.8. Kitosan

Kitinin kısmi deasetilasyonu sonucu elde edilen ve 5000'den fazla glikozamin ünitesi içeren kitosan, farklı biyolojik aktiviteleri olan, hidrofilik, polikasyonik bir biyopolimerdir (321) (Şekil 2.8.). Selülozdan sonra en sık bulunan ikinci doğal polimer olan kitin, yengeç, karides, ıstakoz gibi kabuklu hayvanların ve bazı böceklerin iskeletlerinde bulunan majör biyopolimerdir (322). Son yapılan çalışmalarda kitosanın ayrıca *Aspergillus niger* isimli mantarın üretimi sırasında da elde edilebileceği gösterilmiştir (323).



Şekil 2.8. Kitosanın moleküler yapısı

2.8.1. Kitosanın Kullanım Alanları

Kitosan çok farklı alanda farklı amaçlar için kullanılmaktadır. Bunlar arasında, tekstil, tarım ve hayvancılık, gıda endüstrisi, kozmetik sektörü, atık su arıtımı ve suyun saflaştırılması, biyoteknoloji ve farmakoloji gibi alanlar bulunmaktadır (324-326).

Kitosanın suda çözünmemesi, yüksek viskozitesi, bazik ortamda koagülasyona olan eğilimi, reaksiyona girme kabiliyeti ve işlenebilirliğinin sınırlı olması kullanımını zorlaştıran özellikleridir (324).

2.8.2. Kitosanın Farmasötik Kullanım Alanları

- 1) İlaç taşınması: Kitosan, katyonik boyalar, surfaktanlar, kuaterner amonyum tuzları, çoğu katyonik ve iyonik olmayan polimerler, çok kutuplu anyonlar ile uyumunun iyi olması nedeniyle ilaç taşıma

sistemlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Mukoadesiv özelliği de kitosanın ilaç taşıma amacıyla kullanımı için bir avantajdır (322).

- 2) Kontrollü ilaç salımı: Kitosan, katyonik özelliği sayesinde zıt yüklü ilaçlar ve preparattaki diğer maddeler ile çapraz bağlar oluşturarak presipite olur. Jel oluşturacak şekilde presipite olan kitosan bu nedenle kontrollü ilaç salım sistemlerinin hazırlanmasında oldukça sık kullanılmaktadır (322). Son yıllarda ise kitosandan hazırlanan nanopartiküllere etken madde yüklenerek kontrollü salım sistemleri oluşturulmaktadır (327). Diğer taşıyıcı maddeler olan etilenoksit ve ksantan gam ile karşılaştırıldığında kitosanın ilaç seviyesini daha uzun süre koruduğu ve ortamdan daha uzun sürede uzaklaştırıldığı rapor edilmiştir (328).
- 3) Abzorbsiyon arttırıcı ajan olarak kullanımı: Kitosan, molekül ağırlığı yüksek hidrofilik ilaçların, intestinal sistem (329), nazal mukoza (330), bukkal mukoza (331-333) ve korneal epitelden (334) penetrasyonunu arttırmaktadır. Şenel ve diğ.(331) tarafından domuz mukozası kullanarak yapılan in vitro çalışmada, moleküler boyutunun büyük olması nedeniyle abzorbsiyonu az olan TGF- β (*Transforming Growth Factor - β*) içeren jellerin kitosan ile hazırladığında, mukoza tarafından 6-7 kata kadar daha fazla abzorbe edildiği rapor edilmiştir.
- 4) Gen taşınması: Son yıllarda katyonik polimerlerin gen taşınmasında viral olmayan vektörler olarak kullanılabileceği ileri sürülmüş (335).
- 5) Ayrıca kitosan hızlı ilaç salımının istendiği durumlarda ve peptid ve peptid bazlı ilaçların salımı ya da direkt kolon hedeflenen ilaçların taşınması için kullanılmaktadır (322, 335).

2.8.3. Kitosanın Biyolojik Etkileri

Sahip olduğu amin grupları sayesinde düşük asidik ortamda katyonik karakter gösteren tek doğal polisakkarit olan kitosan, protein, anyonik polisakkaritler, yağ asitleri, safra asitleri, fosfolipidler gibi negatif yüklü

moleküller ile etkileşir (336). Toksik olmadığı kabul edilen kitosan, biyoyoumlu, biyobozunur, biyoadeziv özelliklere sahip olup lizozim başta olmak üzere enzimler tarafından hidrolize edilir (308, 331, 337). Kitosanın medikal alanda tercih edilmesine neden olan diğer biyolojik etkileri:

Antimikrobiyal etki: Kitosanın antibakteriyel ve antifungal etkileri bulunmaktadır (338, 339). Glikozamin monomerinin amin grubu nedeniyle pozitif yüklenen kitosanın negatif yüklü bakteri hücre membranı ile iyonik etkileşime girerek bakteri içeriğinin dışarı sızmasına neden olması, antimikrobiyal etkinlikten sorumlu muhtemel mekanizmadır (340). Selektif olarak şelasyon yoluyla bazı metallere bağlanıp toksin üretimi ve mikrobiyal büyümeyi durduran kitosan ayrıca *Candida albicans*'ın da bukkal mukoza hücrelerine adezyonunu engellemektedir (341). Antimikrobiyal etkinlik kitosanın tipi, polimerizasyon derecesi, asetilasyon derecesi ve çevresel faktörler (su aktivitesi, nem, pH) ile ilişkilidir (324, 325). Kitosanın in vitro olarak *Streptococcus mutans*, *Aggregatibacter actinomycetamcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis* gibi karyojenik ve periodontopatojen mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkisi gösterilmiştir (342, 343).

Antioplak etki: Bakteriler diş yüzeyine elektrostatik ve hidrofobik bağlar ile bağlanır. Kitosanın pozitif yüklü amino grupları, bu etkileşimleri bozarak bakterilerin adezyonunu engeller (344). Yapılan çalışmalarda kitosanın mikrobiyal adezyonu inhibe ettiği ve halihazırda mevcut olan biyofilm tabakasının çözülmesini indüklediği rapor edilmiştir (336, 345). Costa ve diğ.(346), düşük ve yüksek molekül ağırlıklı kitosanın biyofilm formasyonu ve *Streptococcus mutans*'ın biyofilm tabakasına adezyonu üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmasında, bakterinin adezyonunu 1 haftaya kadar engelleyebildiğini in vitro olarak göstermiştir. Primer biyofilm formasyonunu da bozan kitosanın, matür biyofilme de etki ettiği ve özellikle yüksek molekül ağırlıklı kitosanın daha etkin olduğu rapor edilmiştir (346). Düşük moleküler ağırlıklı kitosan hidrojelin *Candida* türlerine karşı gösterdiği antibiyofilm özelliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, kitosanın mikroorganizmanın adezyonunu azaltarak biyofilm formasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (347).

Antiinflamatuvar etki: Kitosan inflamatuvar cevabı, kemokin ve sitokin üretimini ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunu engelleyerek baskılamaktadır (348, 349). Değişken kitosan konsantrasyonlarının periodontal patojenler ve gingival fibroblastların inflamasyona olan cevabı üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kitosanın inflamasyonda görevli interlökin-1 β 'nin stimüle ettiği PGE2 (Prostaglandin E 2) seviyesini azaltarak antiinflamatuvar etki sağladığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, kitosanın 5mg/mL' de sitotoksik etkiye neden olduğu ve bundan hem bakteri hücrelerinin hem bağ doku hücrelerinin etkilendiği rapor edilirken *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ile *Porphyromonas gingivalis*'in büyümesini inhibe ettiği de bildirilmiştir (350).

Yara iyileşmesini hızlandırıcı etki: Literatürde kitosanın hem yumuşak doku hem sert doku iyileşmesini pozitif yönde etkilediğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu etkiden sorumlu mekanizma kitosanın yara iyileşmesinin çok erken evrelerinde proinflamatuvar sitokin ve büyüme faktörlerini sekrete eden inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu aktive etmesidir. Aynı zamanda granülasyon dokusunun formasyonu hızlanırken normalden daha fazla kollajen sentezi ile beraber yara kontrakte olur. Bağ dokusunun yeniden oluşumunu takiben normalden daha fazla fibroblast proliferasyonu olur ve artmış damarlanma görülür (351, 352). Park ve diğ.(353), köpekler üzerinde yaptıkları çalışmada, oluşturdukları tek duvarlı kemik içi defektlere kitosan ve kollajen içeren sünger yerleştirerek kemikleşme üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma sonunda kitosan ve kollajen içerikli ajanın uygulandığı test grubunda sadece kollajen içeren ajan uygulanan gruba göre epitelin apikale migrasyonunun daha az olduğu ve yeni kemik formasyonunun arttığı rapor edilmiştir. Yeni kemik formasyonunun hızlanmasına, şelasyon yapabilme potansiyeli bulunan pozitif yüklü kitosanın, yeni kemik dokusunda kristalizasyonu desteklemesinin neden olduğu ileri sürülmüştür(353). Kitosan içeren ajanın çekim soketi ve apikal rezeksiyon yapılan alanlarda iyileşme üzerine olan pozitif etkisini radyografik olarak ve biyopsi alınarak gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır (354-356).

Hemostatik Etki: Kitosan normal pıhtılaşma mekanizmasından farklı olarak eritrositlerin hücre membranındaki muraminik asit içeren reseptörler ile etkileşir ve çökmesine neden olur. Tam kan ile temas eden kitosan, pıhtılaşma ile ilgili parametrelerde önemli bir değişime neden olmaksızın pıhtılaşma zamanını %40 oranında azaltmaktadır (357). Klokkevold ve diğ. (358), heparinize sıçanlarda lingual insizyon sonrası topikal kitosan uygulamasının, intraoral kanama süresini etkin bir biçimde azalttığını bildirmiştir.

Mukoadezyon: Nötral pH'da pozitif yüklü olan kitosan, mukustaki negatif yüklü sialik asit ile iyonik etkileşime girerek mukoadeziv özellik kazanır (291, 359).

Kitosanın Diğer Etkileri: Kitosan ayrıca antitümör (360) ve hipokolesterolemik etkisi (361) bulunan bir maddedir.

2.8.4. Toksikite

Toksik olmadığı kabul edilen kitosanın diyet yoluyla ya da paranteral olarak ancak çok yüksek dozlarda alındığı takdirde sistemik toksisiteye neden olabileceği gösterilmiştir (362). Kitosanın karsinojenik potansiyelini gösteren herhangi bir veri bulunmamasının yanı sıra insanlar üzerinde bildirilmiş ciddi bir yan etkisi bulunmamaktadır.

Literatürdeki verilere genel olarak bakıldığında diğer polimerlere göre toksik etkisi oldukça az olan kitosanın toksik etkisinin, doz, uygulama şekli ve kitosanın kimyasal yapısı gibi özellikleri ile ilişkili olduğu görülmektedir. Diş hekimliğinde kullanılan dozajlarda toksik etki bildirilmemiştir. Hatta 2014 yılında yapılan bir çalışmada, kitosan içeren gargaranın toksisitesi in vitro olarak değerlendirilmiş ve bu preparatın toksisitesinin içeriğinde kitosan bulunmayan ticari formülasyonlardan daha az olduğu rapor edilmiştir (363).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı ve Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.1. Jellerin Hazırlanması

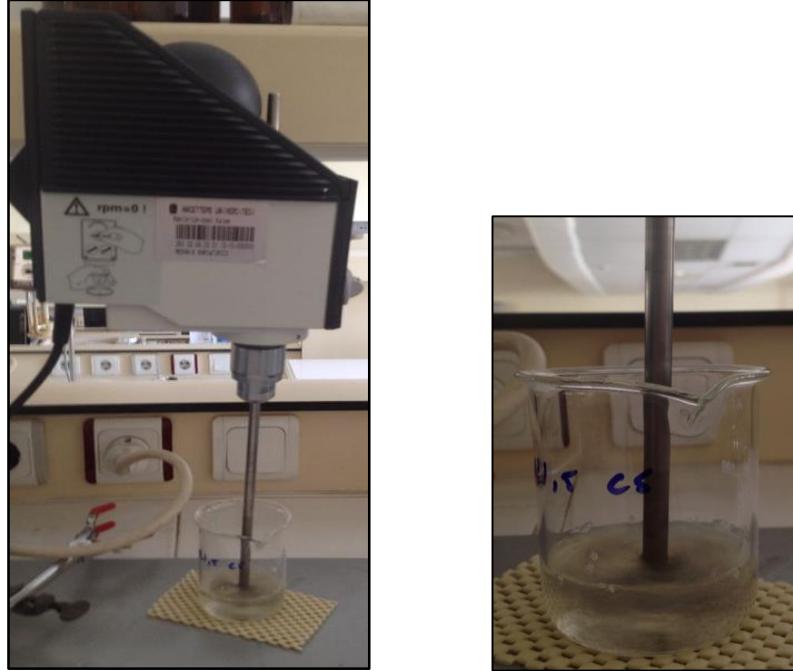
Bu çalışmada polimer ve etkin madde miktarı birbirinden farklı 4 adet jel hazırlanmıştır. Jellerin hazırlanmasında taşıyıcı madde olarak yüksek molekül ağırlığa (850000 Da) ve %75 deasetilasyon oranına sahip kitosan (Sigma-Aldrich Corp, A.B.D.), etkin madde olarak klorheksidin glukonat çözeltisi (Drogsan İlaçları San. ve Tic. A.Ş., Türkiye) kullanılmıştır.

Öncelikle %1.5 ve %2 kitosan içeren çözeltiler hazırlanmıştır. %1.5 kitosan içeren çözeltiyi hazırlamak için 0.75 g yüksek molekül ağırlıklı kitosan; %2 kitosan içeren çözeltiyi hazırlamak içinse 1g yüksek molekül ağırlıklı kitosan 50 mL %1 laktik asit çözeltisine (Sigma-Aldrich Corp., A.B.D.) eklenmiştir (Şekil 3.1.1).



Şekil 3.1.1. **A:** Yüksek molekül ağırlıklı kitosan; **B:** Laktik asit çözeltisi içinde kitosan

Elde edilen karışım, mekanik karıştırıcı (Heidolph RZR 2021, Almanya) ile 4 saat boyunca karıştırılarak polimerin çözünmesi sağlanmıştır (Şekil 3.1.2).



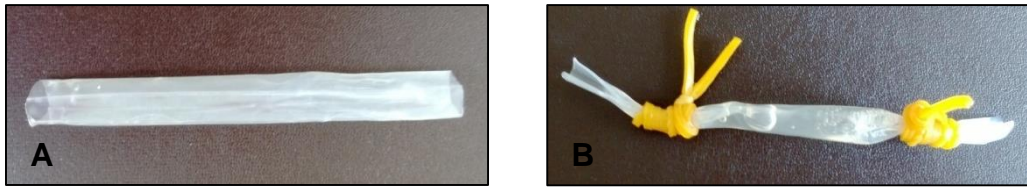
Şekil 3.1.2. Kitosan – laktik asit çözeltisinin mekanik karıştırıcı ile karıştırılması

% 1 etken madde içeren jellerin hazırlanması için 2.5 mL klorheksidin glukonat çözeltisi (%20 ağırlık/hacim) alınarak 47.5 mL %1.5 kitosan içeren laktik asit çözeltisine eklenmiştir. Aynı işlem %2 kitosan içeren çözelti için de tekrarlanmıştır.

% 2 etken madde içeren jelleri hazırlamak için ise 5 mL klorheksidin glukonat çözeltisi 45 mL %1.5 ve % 2 kitosan içeren laktik asit çözeltisine eklenmiştir. Sonrasında tüm formülasyonlar mekanik karıştırıcı ile 1 saat süre ile karıştırılmış ve karıştırma sırasında içine hava hapsolan jellerin homojen hale gelmesi için deneylerde kullanılmadan önce en az 1 gece süre ile +4° C'de bekletilmiştir.

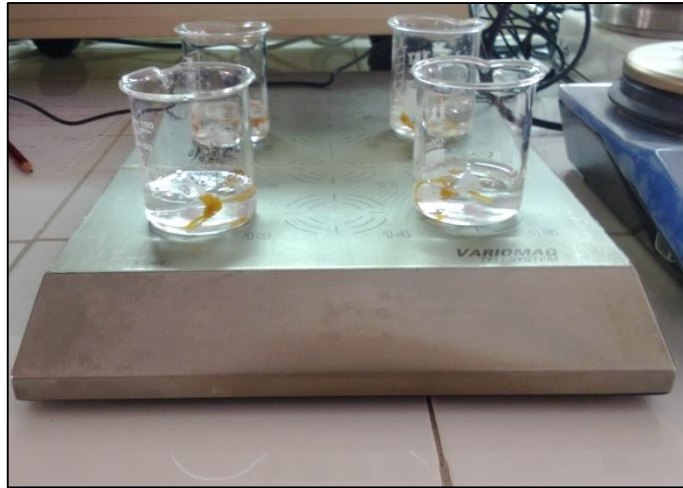
3.2. Klorheksidin Glukonat Yüklü Jellerden Etkin Madde Salımının Değerlendirilmesi

Salım çalışmalarının yapılacağı diyaliz membranları(Sigma-Aldrich Corp, A.B.D.)çalışma yapılmadan 1 gece önce ultrasaf su (Merck – Millipore saf su cihazı, Almanya) içerisinde bekletilerek ıslanması sağlanmıştır. Yaklaşık 15 cm büyüklüğünde parçalara ayrılan membranların içine etkin madde yüklenmiş 4 jelin herbirinden 1 mL aktarılarak uçları kapatılmıştır (Şekil 3.2.1).



Şekil 3.2.1. **A:** İçi boş diyaliz membranı; **B:** 1 gece boyunca ultrasaf suda bekletildikten sonra içine etkin madde yerleştirilmiş diyaliz membranları

Kapatılan diyaliz membranları ultrasaf su ile yıkanıp 20 mL distile sudan oluşan salım ortamına bırakılmış ve 24 saatlik deney süresince salım ortamının manyetik karıştırıcı (Variomag Telesystem Stirrer, Thermo Electron Corp.,A.B.D.) ile karışması sağlanmıştır (Şekil 3.2.2).



Şekil 3.2.2. Salım ortamlarının manyetik karıştırıcı ile karıştırılması

1. saat sonunda tüm salım ortamlarından 1 mL örnek alınarak ortama 1 mL ultrasaf su eklenmiştir. Alınan örnekler 254 nm'de UV spektroskopi yöntemi (Shimadzu UV-1700 Spectrophotometer, Japonya)ile önceden hazırlanmış kalibrasyon doğrusu vasıtası ile analiz edilmiştir (Şekil 3.2.3). Bu işlem 4, 8,12 ve 24. saatlerde tekrarlanmıştır.



Şekil 3.2.3. Çalışmamızda kullanılan spektrofotometre

3.3. Jellerin Viskozitesinin Değerlendirilmesi

Etken madde yüklü olan 4 grup jel ve herhangi bir etken madde yüklenmemiş; sadece % 1.5 ve % 2 oranında kitosan içeren jellerin viskozitesi,koni-plak yöntemine göre çalışan viskozimetre ile (Brookfield Viscometer DV2T, Brookfield Engineering Laboratories, Inc, A.B.D.)ölçülmüştür (Şekil 3.3). Jeller, cihazın içinde bulunan dönebilen bir koni ve sabit bir plaka arasına yerleştirilmiş; koni 10, 15, 20, 25 ve 30 rpm hızda ve her bir hız aralığında 10 saniye kalacak şekilde döndüğünde jellerin bu dönüşe gösterdiği direnç değerlendirilerek viskoziteleri ölçülmüştür. Bu işlemler oda sıcaklığı olan 25° C oda sıcaklığı ve vücut sıcaklığı olan 37° C'de gerçekleştirilmiştir



Şekil 3.3. Çalışmamızda kullanılan viskozimetre

3.4. Mikrobiyal Kültür

Bakteriyel kültürün hazırlanması

Staphylococcus aureus ATCC 6538 suşunun taze kültüründen 0,5 *McFarland* standart bulanıklıkta bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan 100 µl alınarak 900 µl TSB (*Tryptic Soy Broth* - Merck 1.05459, Almanya) bulunan mikrosantrifüj tüplerine eklenmiş ve 10^7 CFU/mL bakteri içeren süspansiyon elde edilmiştir (Şekil 3.4.1).

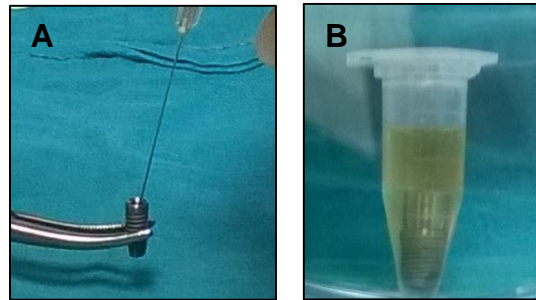


Şekil 3.4.1. Bakteri içeren besiyerinin mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilmesi

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmada 25 adet internal hekzagon dayanak bağlantı şekline sahip, *grade 5* titanyumdan üretilmiş, SLA yüzeyli silindirik dental implant kullanılmıştır (*BioCom, MIS Implants, İsrail*). İmplantlar çalışma öncesi otoklavda (Steris, Temsa Sağlık Araç ve Gereçleri San. ve Tic, Türkiye) steril edilmiş ve steril paketinden çalışma esnasında çıkarılmıştır. Test grubu 20 adet implanttan oluşmaktadır ve farklı konsantrasyonlarda polimer ve etkin madde içeren 4 jelin her biri 5'er adet implantın içine uygulanmıştır. Steril bir dental enjektörün içine uygulanacak jelden bir miktar alındıktan sonra implant klemp ile tutulmuş ve enjektörün ucu implantın internal boşluğunun en derin noktasına temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Bir miktar formülasyonun taşıdığı izlenene kadar jel uygulandıktan sonra tornavida ile iyileşme başlığı manuel olarak kapatılmıştır.

Aynı jelden toplam 5 adet implantın içine yerleştirilmiş ve bu işlem diğer formülasyonlar için de tekrarlanmıştır. Herhangi bir jelin uygulanmadığı 5 implanttan oluşan kontrol grubunda ise steril dental enjektörün içine çekilen TSB, benzer şekilde implantın içine konmuştur (Şekil 3.4.2).



Şekil 3.4.2. **A:** İmplantların içine jel/besiyeri uygulanması; **B:** Bakteri içeren besiyerine yerleştirilen implant-iyileşme başlığı bileşmeleri

Kontrol ve test grubundaki tüm implant dayanak bileşmeleri, taşan jelin uzaklaştırılması ve olası eksternal kontaminasyon riskine karşılık 30 sn boyunca % 70 alkol çözeltisinde bekletilmiştir. Alkol çözeltisinden çıkarılan implantlar kuruduktan sonra her biri ayrı bakteriyel süspansiyon içeren

mikrosantrifüj tüplerine tamamen besiyerinin içinde kalacak şekilde yerleştirilmiştir.

Örnekler 35-37 °C'de, çalışılan zaman parametresine göre 1,4, 8 veya 12 hafta boyunca inkübe edilmiştir (Nüve EN 120, Türkiye) (Şekil 3.4.3.).



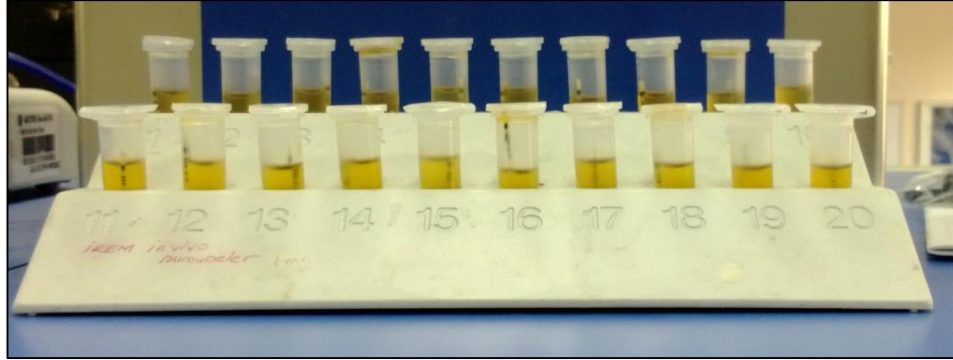
Şekil 3.4.3. Çalışmamızda kullanılan inkübatör

İnkübasyon süresinin sonunda mikrosantrifüj tüplerinden çıkarılan implantlar, %70 alkol çözeltisinde 3 dakika bekletilerek dekontamine edilmiştir. Dekontaminasyon sonrası implant klempile tutularak iyileşme başlıkları tornavida ile açılmış ve 40 numaralı kağıt koninin ucu (Sure Endo, Hindistan) implantın internal kavitesinin en derin noktasına temas edecek şekilde yerleştirilip 10 sn beklenmiştir (Şekil 3.4.4.).



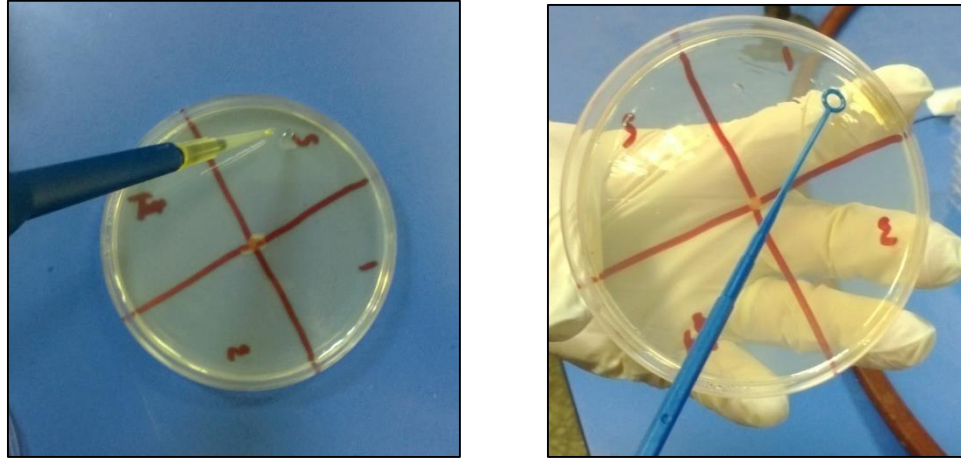
Şekil 3.4.4. Kağıt koni ile implantların içinden örnek alınması

Kağıt koniler, steril TSB içeren mikrosantrifüj tüplerine tek tek yerleştirilerek bir gece boyunca 35-37 °C'de inkübe edilmiştir (Şekil 3.4.5.).



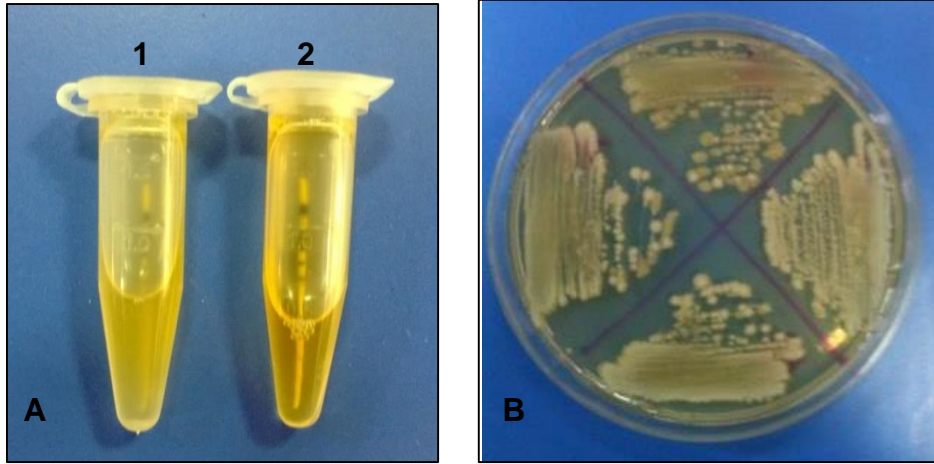
Şekil 3.4.5. Mikrosantrifüj tüplerine yerleştirilen kağıt koni içeren tüpler

İnkübasyon sonrası mikrosantrifüj tüplerinin içindeki TSB'den 10 µl alınarak TSA (Tryptic Soy Agar - Fluka ,Sigma-Aldrich, ABD) besiyerine ekim yapılmıştır (Şekil 3.4.6.).



Şekil 3.4.6. Kağıt koni ile 1 gece inkübe edilen TSB besiyerlerinden örnek alınarak TSA besiyerine ekim yapılması

Bakteriyel üreme, besiyerinde *Staphylococcus aureus*'un tipik opak krem – sarı renkli dairesel kolonilerini varlığına göre “bakteriyel üreme var” ya da “bakteriyel üreme yok” şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 3.4.7).



Şekil 3.4.7. **A:** Kağıt konilerin 1 gece inkübasyonu sonunda 1 numaralı tüpte bakteriyel üreme nedeniyle bulanık görüntü varken üremenin olmadığı 2 numaralı tüpte besiyeri berrak görünmektedir; **B:** TSA besiyerinde görülen bakteriyel koloniler

Belirlenen zaman dilimi sonunda sonra diğer gruplara hazırlık amacıyla implantlar ultrasonik cihaz (*Wattson ultrasonic*, Türkiye) ile eklentilerinden arındırılıp sonrasında otoklav ile steril edilmiştir. Ayrıca 4, 8, 12 haftalık çalışmalarda implantların içinde bulunduğu sıvı besiyeri haftada bir olacak şekilde değiştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Jellerin Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Belirlenen tüm zaman parametrelerinde test ve kontrol gruplarının bakteriyel kültür sonuçları Tablo 4.1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.1. Test ve kontrol gruplarında üreme görülen implantlar

Jeller	İmplant	1 hafta	4 hafta	8 hafta	12 hafta
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	1	-	-	+	+
	2	-	-	+	+
	3	-	-	+	+
	4	+	-	+	+
	5	-	-	+	+
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	6	-	-	-	-
	7	-	-	-	-
	8	-	-	-	-
	9	-	+	-	-
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	10	-	-	+	-
	11	-	+	+	+
	12	-	-	-	+
	13	+	+	-	+
	14	-	-	-	+
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	15	-	+	+	+
	16	-	-	-	-
	17	+	-	-	-
	18	-	+	-	-
	19	+	+	-	-
Kontrol (Steril besiyeri)	20	-	-	-	-
	21	+	+	+	+
	22	+	+	+	+
	23	+	+	+	+
	24	+	+	+	+
	25	+	+	+	+

1 haftalık grup: Bu grupta belirtilen jellerden herhangi birinin kullanılmasının bakteriyel üremeyi azalttığı ve kontrol grubu ile test grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Fisher's kesin ki-kare testi, $p < 0.05$). Jellerin antibakteriyel etkinliği arasında fark bulunamamıştır. 1 hafta sonunda test ve kontrol gruplarında görülen kültür sonuçları Tablo 4.1.2' de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.2. 1 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı

Jeller	1 hafta		Toplam
	-	+	
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	4	1	5
	%80,0	%20,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	5	0	5
	%100,0	%0,0	%100,0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	4	1	5
	%80,0	%20,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	3	2	5
	%60,0	%40,0	%100,0
Kontrol	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
Toplam	16	9	25
	%64,0	%36,0	%100,0

4 haftalık grup: Bu grupta da 1 haftalık grupta olduğu gibi fark yaratan kontrol grubudur ve jellerden herhangi birinin kullanılması antibakteriyel etkinlik göstermiştir (Fisher's kesin ki-kare testi, $p < 0.05$). Jellerin antibakteriyel etkinliği arasında fark bulunamamıştır. 4 hafta sonunda test ve kontrol gruplarında görülen kültür sonuçları Tablo 4.1.3' de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.3. 4 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı

Jeller	4 hafta		Toplam
	-	+	
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	5	0	5
	%100,0	%0,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	4	1	5
	%80,0	%20,0	%100,0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	2	3	5
	%40,0	%60,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	3	2	5
	%60,0	%40,0	%100,0
Kontrol	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
Toplam	14	11	25
	%56,0	%44,0	%100,0

8 haftalık grup: %1 klorheksidin glukonat - %1,5 kitosan içeren jelin antibakteriyel etkinliğinin diğer 3 jelden daha az olduğu, kalan jeller arasında antibakteriyel etkinlik açısından fark olmadığı gösterilmiştir(Fisher's kesin ki-kare testi). 8 hafta sonunda test ve kontrol gruplarında görülen kültür sonuçları Tablo 4.1.4' de gösterilmiştir.

Tablo 4.1.4. 8 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı

Jeller	8 hafta		Toplam
	-	+	
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	4	1	5
	%80,0	%20,0	%100,0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	3	2	5
	%60,0	%40,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	5	0	5
	%100,0	%0,0	%100,0
Kontrol	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
Toplam	12	13	25
	%48,0	%52,0	%100,0

12 haftalık grup: %1 klorheksidin glukonat - % 1,5 kitosan ve % 1 klorheksidin glukonat - % 2 kitosan içeren jellerin antibakteriyel etkinliğinin % 2 klorheksidin içeren diğer iki jelden daha düşük olduğu gösterilmiştir ($p < 0.05$). %2 klorheksidin glukonat içeren jellerin antibakteriyel etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Fisher's kesin ki-kare testi). 12 hafta sonunda test ve kontrol gruplarında görülen kültür sonuçları Tablo 4.1.5' de gösterilmiştir

Tablo 4.1.5. 12 hafta sonunda üreme görülen implantların farklı jel gruplarına göre dağılımı

Jeller	12 hafta		Toplam
	-	+	
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	0	5	5
	%100,0	%0,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	5	0	5
	%80,0	%20,0	%100,0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	5	0	5
	%100,0	%0,0	%100,0
Kontrol	0	5	5
	%0,0	%100,0	%100,0
Toplam	10	15	25
	%48,0	%52,0	%100,0

4.2. Jellerin Zamandan Bağımsız Olarak Genel Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Zaman parametresinden bağımsız olarak antibakteriyel etkinlik değerlendirildiğinde ise en etkili jellerin % 2 klorheksidin glukonat - % 1,5 kitosan ve %2 klorheksidin glukonat - % 2 kitosan içeren jeller olduğu görülmektedir (Pearson ki-kare testi, $p < 0.05$). Bu iki jel arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamsız olduğu gösterilmiştir (Fisher's kesin ki-kare testi, $p > 0.05$). Tüm jellerde, genel olarak bakteriyel üremenin görüldüğü implantların sayısı Tablo 4.2' de görülmektedir.

Tablo 4.2. Zamandan bağımsız olarak farklı jel gruplarında üreme görülen implantların dağılımı

Jeller	Üreme		Toplam
	-	+	
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	9	11	20
	%45,0	%55,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	18	2	20
	%90,0	%10,0	%100,0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	9	11	20
	%45,0	%55,0	%100,0
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	16	4	20
	%80,0	%20,0	%100,0
Toplam	52	28	80
	%65,0	%35,0	%100,0

4.3. Jellerin Antibakteriyel Etkinliğinin Zaman İçinde Değişiminin Değerlendirilmesi

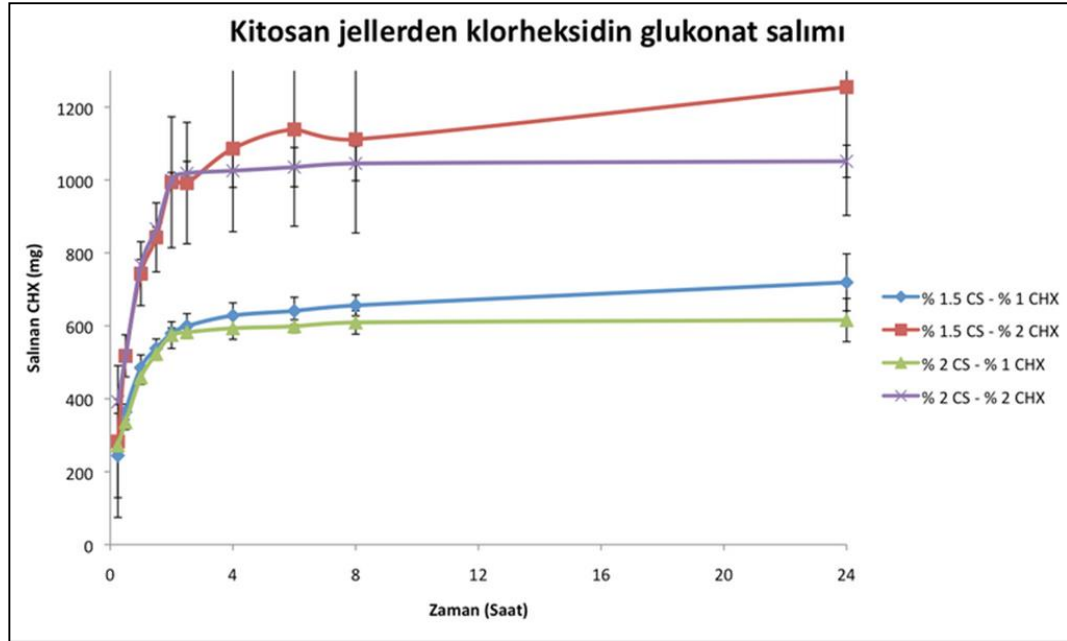
%1 klorheksidin glukonat - %1,5 kitosan içeren jel haricindeki jellerin zaman içinde antibakteriyel etkinliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı grlmştr (Cochran testi, $p>0.05$). %1 klorheksidin glukonat - %1,5 kitosan içeren jelin antibakteriyel etkinliğinin 4. haftadan sonra anlamlı Şekilde azaldığı gösterilmiştir (Wilcoxon testi, $p<0.05$).

Tablo 4.3. Jellerin antibakteriyel etkinliğinin zaman içinde değişimi

Gruplar		ÜREME	
		-	+
%1 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	1 hafta	4	1
	4 hafta	5	0
	8 hafta	0	5
	12 hafta	0	5
%2 klorheksidin glukonat, %1,5 Kitosan	1 hafta	5	0
	4 hafta	4	1
	8 hafta	4	1
	12 hafta	5	0
%1 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	1 hafta	4	1
	4 hafta	2	3
	8 hafta	3	2
	12 hafta	0	5
%2 klorheksidin glukonat, %2 Kitosan	1 hafta	3	2
	4 hafta	3	2
	8 hafta	5	0
	12 hafta	5	0

4.4. Jellerin Etkin Madde Salım Profillerinin Değerlendirilmesi

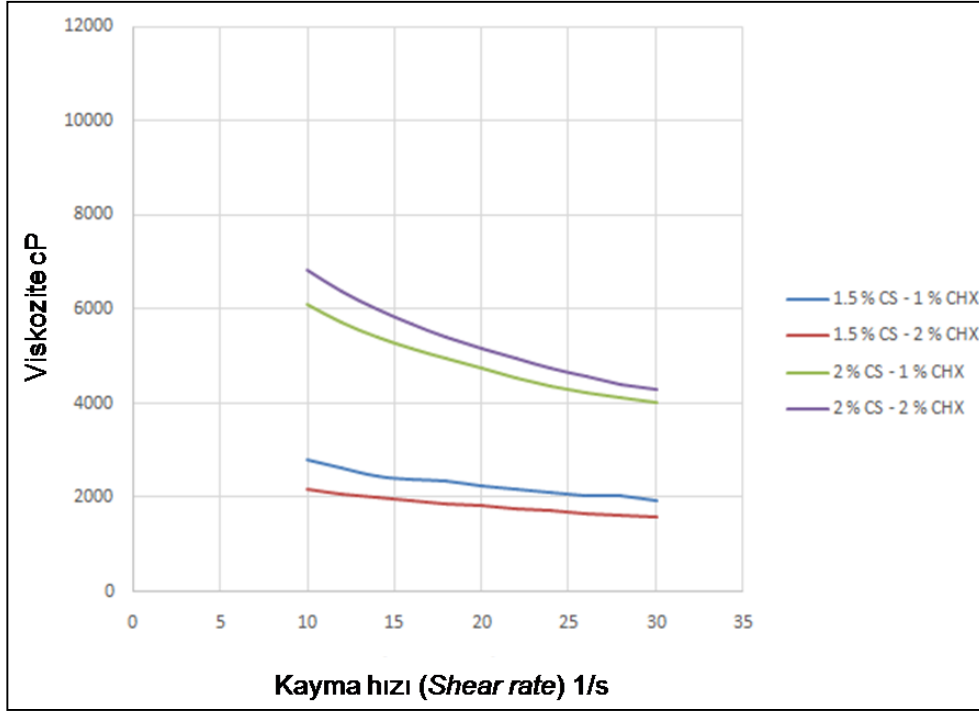
Jellerden klorheksidin glukonat salımının polimer konsantrasyonundan etkilenmediği, etken madde salım miktarının, klorheksidin glukonat konsantrasyonu arttıkça yükseldiği gösterilmiştir (Mann Whitney U testi, $p < 0.05$) (Şekil 4.4).



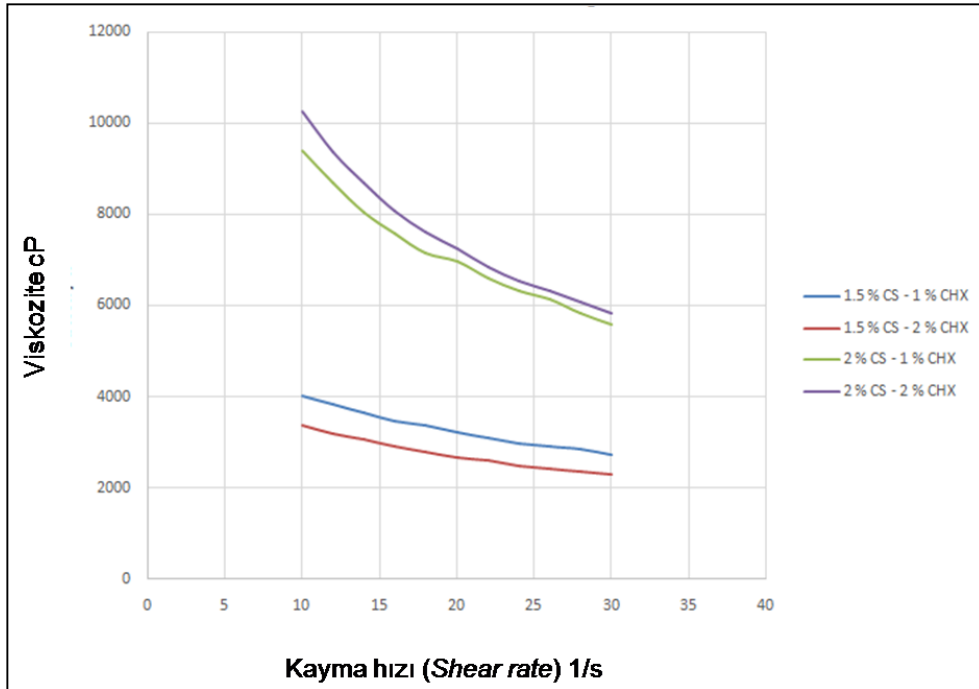
Şekil4.4. Klorheksidin glukonat salım grafiği

4.5. Jellerin Viskozitelerinin Değerlendirilmesi

Jellerin viskozite eğrilerine bakıldığında, artan kitosan konsantrasyonu ile viskozitenin arttığı, klorheksidin glukonat konsantrasyonundaki değişimin viskozite üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.5.1. Jellerin vücut sıcaklığındaki (37 °C) viskozite eğrileri



Şekil 4.5.2. Jellerin oda sıcaklığındaki (25°C) viskozite eğrileri

5. TARTIŞMA

Günümüzde sıklıkla kullanılan dental implant sistemlerinin en önemli dezavantajı, implant ve iyileşme başlığı ya da protetik dayanak arasında kalan mikroaralıktır (35). Uygulanan tork miktarı, dayanak bağlantı şekli, yükleme yapılıp yapılmaması gibi faktörlerden etkilenen mikroaralık boyutu oldukça değişkendir (36, 37, 52, 59, 364). O'Mahony ve diğ. (365), eksplante edilmiş 45 adet implant üzerinde yaptıkları çalışmada mikroaralık boyutunu "Scanning Electron Microscopy (SEM)" ile değerlendirmişler; 18 adet implantta mikroaralık boyutunun 22.0-40,5 µ arasında değiştiğini ve ortalamanın 30,7±20,8 µ olduğunu belirtmişlerdir. Kalan 27 adet implantta ise plak ve diş taşı akümüasyonu ya da implant dizaynı nedeniyle SEM ile ölçüm yapılamadığını bildirmişlerdir (365). Wahl ve diğ. ise(366), en iyi koşullarda üretim yapıldığında dahi implant ve protez arasında 3-8 µ arasında bir boşluk kaldığını belirtmiştir.

Elimine edilmesi mümkün olmayan mikroaralık, dayanak vidasında gevşeme ve kırılma gibi mekanik komplikasyonların yanı sıra mikrosızıntı yoluyla implantın içinde mikroflora oluşumuna ve biyolojik komplikasyonlara zemin hazırlamaktadır (42, 43). Oral florada bulunan mikroorganizmaların ortalama 0,5-8 µ çapında olduğu göz önüne alınırsa optimum koşullarda dahi mikroaralık yoluyla bakteri transferi kaçınılmazdır(4, 41, 47, 48, 365, 367, 368).

İmplantın içinden dışına ya da dış ortamdan implantın internal yüzeyine gerçekleşen bakteriyel sızıntı, literatürde çok sayıdaki in vitro(4, 9, 35, 41, 49, 51-57) ve in vivo (46-48, 58-60) çalışma ile gösterilmiştir.

Mikrosızıntı alanındaki ilk çalışmalardan biri 1994 yılında Quirynen ve diğ. tarafından yapılmıştır(35). 32 adet implant üzerinde yapılan bu in vitro çalışmada, implantların internal boşluklarına oral mikroorganizmalar inoküle edilip vidalı protetik dayanaklar takıldıktan sonra kültür ortamına konmuştur. İmplantların yarısı kültür ortamına tamamen batacak şekilde yerleştirilirken kalan implantlar, boylarının yarısı kültür ortamının dışında kalacak şekilde

parsiyel olarak yerleştirilmiştir. 7 günlük anaerobik ortamda inkübasyonu takiben implantların internal yüzeylerinden alınan örnekler, kanlı agara ekilerek bakteriyel üreme değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda tüm implantların içinde bakteriyel üreme olduğu ve tamamen kültür ortamının içinde kalan implantlarda, hem implant ile dayanak hem de dayanak vidası ile dayanak arasındaki mikroaralıktan bakteriyel penetrasyon gerçekleştiğinden bakteri miktarının daha fazla olduğu bildirilmiştir. Parsiyel olarak kültür ortamına konan implantlarda ise sadece dayanak vidası ile dayanak arasından sızıntı olduğundan bakteriyel yükün daha az olduğu rapor edilmiştir (35).

2011 yılında yapılan diğer bir in vitro çalışmada ise 12 steril implantın içinden alınan örnekler negatif kontrol grubu olarak değerlendirilmiş, sonrasında protetik dayanakları takılan implantlar tükürük içeren ortamda 7 gün boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda implantların içinden alınan örnekler değerlendirilmiş ve yükleme yapılmayan in vitro koşullarda dahi bakteriyel penetrasyon olduğu DNA hibridizasyon analizi ile gösterilmiştir. Bu çalışma sonunda baskın bakterilerin *Aggregatibacter actinomycetamcomitans* ve *Capnocytophaga gingivalis* olduğu rapor edilmiştir (4).

Bu alandaki ilk in vivo çalışmalardan biri yine Quirynen ve diğ. tarafından yapılmıştır (47). Çalışmaya 2 yıldan daha uzun süredir fonksiyonda olan, klinik ve radyolojik olarak sağlıklı görünen implantlar dahil edilmiştir. Sabit protetik üst yapı ve dayanak vidaları çıkarıldıktan sonra cep epiteli, implantın koronal ve internal kısımları klorheksidin diglukonat ile dezenfekte edilmiş; dayanak vidaları ise alkol ile sterilize edilmiştir. Sonrasında yeni steril dayanaklar takılan implantlar 3 ay boyunca fonksiyon görmeye devam etmiştir. Bu süre sonunda dayanak vidasının apikal kısmı faz kontrast mikroskopuyla incelenmiş ve tüm vidalarda kokoid hücreler ve hareketsiz rodler başta olmak üzere çok miktarda bakteri olduğu görülmüştür. Çalışma sonunda kontaminasyonun 3 farklı yoldan olabileceği ileri sürülmüştür. Bunlar: dayanakların yerleştirilmesi esnasında kanla ya da

tükürükle kontaminasyon, dayanağın çıkarılması sırasında kontaminasyon ya da komponentler arası mikroboşluk yoluyla kolonizasyondur. Mikrobiyolojide küçük bir alanda hermetik tıkama sağlandığında mikroorganizmaların birkaç ay sonunda öleceği kabul edildiğinden mikrosızıntı haricinde diğer yollardan bulaşın mümkün olmadığı belirtilmiştir (47).

Bizim çalışmamızın sonuçları da literatürdeki bu in vivo ve in vitro çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir. Kontrol grubu olarak planlanan ve içine sadece steril besiyeri konan steril implantlarda tüm zaman parametrelerinde bakteri üremesi gösterilmiştir. Quirynen ve diğ. tarafından ileri sürülen diğer bulaş yollarının (47) in vitro olarak mümkün olmaması, implantların steril olması, çalışma boyunca steriliteye dikkat edilmesi ve kontrol grubundaki tüm implantlarda bakteriyel üremenin görülmesi implant-iyileşme başlığı arasında hermetik bir tıkamanın sağlanamadığını ve mikrosızıntının varlığını göstermektedir.

Literatürde, implantın internal yüzeyindeki bakteri varlığını ve mikrosızıntıyı gösterebilmek için farklı teknikler kullanılmıştır. Bu teknikler arasında en sık kullanılanlardan biri bakteriyel kültür yöntemidir (10, 35, 47, 49, 78). Guindy ve diğ.(49), farklı protetik dayanak takılmış implantlarda, mikroaralık ve dayanak vidası deliği yoluyla implantın içinden dışarı ve dış ortamdan implantın içine olan bakteriyel sızıntıyı in vitro olarak bakteriyel kültür tekniği ile değerlendirmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde bakteri olarak *Staphylococcus aureus* kullanılan bu çalışmada, implantın içine olan mikrosızıntıyı değerlendirmek için implantlar bakteri içeren besiyerinde bekletilmiş ve implantların internal boşluklarından 24 saat aralıklarla kağıt koni ile örnek alınıp sıvı besiyerinde inkübe edilmiştir. Bu işleme 120. saate kadar devam edilmiştir. Bakteriyel üreme olup olmadığı besiyerinin bulanıklığına bakılarak belirlenmiştir. Çalışmanın devamında ise implantlar steril edilerek tekrar kullanılmış ve içlerine ve vida deliklerine 2 µl bakteri içeren besiyeri konan implantlar steril besiyeri içeren ortamda inkübe edilerek 24 saatte bir üreme olup olmadığı değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda mevcut mikroboşlukların hem implantın içinden dışına hem de dış ortamdan

implantın içine *Staphylococcus aureus* sızıntısına olanak verdiğini bildirmişlerdir (49).

Jervøe-Storm ve diğ. ise (369), mikrosızıntının peri-implant kemik kaybına olan etkisini in vivo bakteriyel kültür tekniğini kullanarak değerlendirmiştir. Bu amaçla implantlar yerleştirildikten hemen sonra kağıt koniler ile örnek alınmış ve bu işlem 3,4 ve 12. aylarda tekrarlanmıştır. Alınan örneklerde *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* ve toplam bakteri yükü PCR(Polymerase Chain Reaction - Polimeraz zincirleme tepkisi)ile değerlendirilmiştir. Kemik kaybı ise alınan radyograflar ile 25 aya kadar takip edilmiştir. Sonuç olarak iki parçadan oluşan implantlarda internal kavitenin giderek periodontopatojenler ile kolonize olduğu ve özellikle *Prevotella intermedia* varlığının kemik kaybı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (369).

Mikroaralık yoluyla sadece bakterilerin kendisi değil ortamın sıvı içeriği sayesinde bakteriden daha küçük olan metabolitleri ve bakteriyel üreme için gereken besin maddelerideiki yönlü olarak taşınabilir. Bu düşünceden yola çıkılarak geliştirilen mikrosızıntı değerlendirme yöntemlerinden biri de sızıntının boya kullanılarak gösterilmesidir. Coelho ve diğ. tarafından yapılan in vitro bir çalışmada(370), 3 farklı implant sistemindeki farklı implant-protetik dayanak şekillerinin, mikroaralığı sızdırmaz olarak kapatabilme özelliğini değerlendirmek için toluidin mavisi kullanılmıştır. İçine boya konan 3 farklı sisteme ait implantların protetik dayanakları takıldıktan sonra sızan boya 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96 ve 144. saatlerde spektrofotometre ile değerlendirilmiş ve zaman geçtikçe sistemlerdeki boya sızıntısının arttığı ve sistemler arasındaki farkın anlamlı olduğu rapor edilmiştir (370). Bu çalışmaya bakılarak bakterinin kendisi mikroaralıktan geçemese dahi daha küçük boyutlu moleküllerin penetrasyonu nedeniyle cerrahi aşamada implantın içinde hapsolan bakterilerin canlılığını devam ettirebileceği, bu bakterilerin metabolitlerinin implantın dışına çıkarak inflamatuvar reaksiyona neden olabileceği düşünülebilir.

Bakteriyel kültür yöntemine göre daha komplike moleküler teknikler olan “Polimeraz zincirleme tepkimesi-PCR”, “DNA-DNA hibridizasyonu”, “DNA prob analizi” gibi teknikler ile daha hızlı, hassas, güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (4, 11, 57, 60, 371).

Harder ve diğ.(372), kemik rezorpsiyonundan Gram (-) bakterilerin hücre membranında bulunan ve küçük moleküler çapa sahip olan lipopolisakkaritlerin sorumlu olduğunu ileri sürerek internal konikal bağlantıya sahip iki farklı sistemde lipopolisakkarit sızıntısını ve neden olduğu proinflatuvar sitokin üretimini değerlendirmiştir (372). Her sistemden 7 adet implantın içine *Salmonella enterica*'ya ait 20 µg/µl konsantrasyonda 1 µl lipopolisakkarit içeren solüsyon inoküle edilirken kontrol grubundaki 3'er adet implanta ise fosfat tamponlu salin solüsyonu konmuştur. Sonrasında tüm örnekler insan kanı içeren tüplere yerleştirilmiş; pozitif kontrol olarak kan içeren tüplere implant içine uygulamadan direk olarak farklı konsantrasyonlarda lipopolisakkarit konmuştur. 1,8 ve 24. saatlerde tüplerden örnek alınarak proinflatuvar sitokin üretimi PCR ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda iki parçadan oluşan implant sistemlerinde lipopolisakkarit sızıntısının engellenemediği ve sızan lipopolisakkarit moleküllerinin direkt kana uygulanan lipopolisakkarit molekülleri ile aynı reaksiyonu oluşturduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda implantın internal yüzeyinden sızan az miktardaki lipopolisakkaritin dahi insan kanında immünolojik reaksiyona ve osteoklast aktive edici yolları indükleyerek alveoler kemik rezorpsiyonuna neden olabileceği de belirtilmiştir (372).

Mikrosızıntının in vivo olarak değerlendirildiği başka bir çalışmada ise ortalama 9.6 yıldır fonksiyon görmekte olan 58 adet sağlıklı implantın internal mikroflorası ile peri-implant sulkus mikroflorası DNA-DNA hibridizasyon tekniği ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda tüm implantların internal yüzeylerinin ciddi şekilde kontamine olduğu ve bu kontaminasyonun muhtemel yolunun implant ile dayanak ara yüzü ya da dayanak ile üst yapı ara yüzü olduğu bildirilmiştir (60).

DNA prob analizi kullanılarak yapılan bir araştırmada, implant ile dayanak ara yüzünde kolonize olan periodontopatojen mikroorganizmaların türlerinin tanımlanması amaçlanmıştır. İyileşme başlıkları takılan 43 adet implantın internal yüzeylerinden ve 11 tanesinin dayanak vidasının yivlerinden 25 gün sonra alınan örneklerde özel olarak *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Treponema denticola* türleri araştırılmıştır. İnternal yüzeylerinden örnek alınan 43 implantın tamamında orta seviyeden şiddetli seviyeye kadar değişen aralıkta bakteriyel kontaminasyon gösterilirken dayanak yivlerinden alınan örnekler negatif çıkmıştır. İmplantların yaklaşık % 50'sinin 4 ya da daha fazla periodontopatojen ile kontamine olduğu rapor edilmiştir. İyileşme başlıklarının yivlerinde bakteri ürememesinin muhtemel nedeni olarak yivlerin implantın internal yüzeyine sıkıca temas etmesi sonucu bakterilerin yiv yüzeylerine tutunamaması veya sıkıca temas eden yiv yüzeylerine tutunabilmeleri için yeterli sürenin geçmemiş olması gösterilmiştir (59).

DNA-DNA hibridizasyon tekniğinin bakteriyel kültür tekniğinden daha hassas olduğu (57) bildirilmesine rağmen maliyetinin yüksek olması nedeniyle bizim çalışmamızda ileri teknikler yerine daha kolay uygulanabilen ve düşük maliyetli bakteriyel kültür yöntemi tercih edilmiştir. Bu metodun en önemli dezavantajı aşamalar esnasında oluşabilecek çevresel kontaminasyondur. Bu olasılığı minimuma indirmek için sterilizasyon kurallarına dikkat edilerek çalışılmış; olası bulaş riski göz önüne alınarak implantın içine jel yerleştirildikten sonra ve örnek alımı öncesi besiyerinden çıkarılan implantlar literatürdeki kültür çalışmalarına benzer şekilde %70'lik alkol çözeltili içinde bekletilerek dekontamine edilmiştir. İmplantlar tekrar kullanılmadan önce ise yine literatürdeki gibi önce ultrasonik cihazla üzerindeki eklentiler uzaklaştırılmış sonrasında otoklav ile steril edilmiştir. Ayrıca besiyerinde oluşan kolonilerin farklı görüntüsü nedeniyle kontaminasyondan şüphelenilen bir grup tekrar edilmiştir.

Bakteriyel kültür tekniği ile sızıntının değerlendirildiği çalışmalarda farklı çok sayıda bakteri kullanılmıştır. Bunlar arasında, tükürükten elde edilmiş *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetamcomitans* dışında *Propionibacterium*, *Eubacterium* ve *Prevotella* türleri bulunmaktadır (9, 35, 41, 46, 48, 49, 51, 53, 54, 78).

Bizim çalışmamızda ise bakteri olarak *Staphylococcus aureus* tercih edilmiştir. Yaklaşık 1 µ çapında, Gram (+) bir kok olan *Staphylococcus aureus* cilt ve nazofarinksin normal florasında bulunmaktadır ve süperfisial enfeksiyonlar, gıda zehirlenmesi, toksik şok sendromu, osteomyelit, endokardit, pnömoni gibi farklı klinik tablolara neden olabilmektedir. *Staphylococcus aureus*'un patojenitesi ürettiği bazı toksin ve enzimlerden kaynaklanmaktadır. Ürettiği toksik şok sendromu toksini, enterotoksin ve benzeri başka toksinler sayesinde hücre lizisinin yanında enfeksiyonla ilgili klinik bulguların ortaya çıkmasına neden olur. *Staphylococcus aureus*, ürettiği koagülaz enzimi sayesinde konak plazmasında pıhtılaşmaya neden olurken diğer enzimleri olan katalaz, hiyaluronidaz, lipaz, protein A gibi enzimler ile konak hücre ve dokularına hasar verir. Diğer bir enzimi olan penisilinaz sayesinde ise antibiyotik direnci kazanır (368, 373).

Staphylococcus aureus biyomateryallerin üzerindeki ekstrasellüler matirks ve proteinlere bağlanarak biyofilm oluşturabilmesi nedeniyle ortopedik implantlar başta olmak üzere medikal cihazların enfeksiyonunda sıklıkla rol oynar. *Staphylococcus aureus*'un titanyum yüzeylere olan affinitesinden sorumlu bazı adezyon mekanizmaları bulunmaktadır. Bunlar arasında adeziv matriks moleküllerinin tanınmasını sağlayan mikrobiyal yüzey komponentleri (374), bakterinin hücre duvarında yer alan negatif yüklü teikoik asit (375), hücre içinde bulunan polisakkarit adezin (376) ve α-toksin (377) bulunmaktadır. Tüm bu mekanizmalar sayesinde bakteri, implant yüzeyine, ekstrasellüler matrikse ve diğer bakterilere bağlanarak dış etkilere dirençli hale gelir (373). *Staphylococcus aureus*, periodontal patojen olarak kabul edilmemesine rağmen hemen hemen her tür titanyum yüzeye atake

olabilmesi nedeniyle peri-implant lezyonlardan izole edilebilmektedir (97, 378).

Bakteriyel kültür tekniğinin kullanılması nedeniyle çalışmamızda tek bakteri ile çalışılması tercih edilmiş ve biyofilm formasyonu üzerindeki anahtar rolü, kolay kültüre edilebilir bir bakteri olması, 1 µ olan çapı ve optimum koşullardaki mikroaralık boyutu dikkate alındığında kolayca sızabilecek olması ve peri-implant lezyonlardan da izole edilmiş olması nedeniyle *Staphylococcus aureus* kullanılması uygun görülmüştür. Ancak tek bir bakteri ile çalışılmış olması bu çalışmanın kısıtlayıcı noktalarından biridir. Kompleks bir floraya sahip ağız ortamında, sızacak farklı özelliklere sahip çok sayıda bakteri, biyofilm formasyonunu, mekanizmasını ve içeriğini etkileyeceğinden jellerin antibakteriyel etkinliği de değişecektir. Bu nedenle daha kompleks bakteriyel içerik ile yapılacak çalışmalar, jellerin etkinliğinin daha net anlaşılmasını sağlayacaktır.

Mikrosızıntının derecesi farklı etkenlere bağlıdır. Bu etkenlerden üç tanesi, mikroaralığın boyutu, uygulanan tork miktarı ve komponent yüzeylerinde oluşan deformasyon bizim çalışmamızı da etkileyebilecek faktörlerdir (41, 53).

İn vitro bir çalışmada 5 farklı implant sisteminde protetik dayanakların takılması esnasında farklı miktarlarda tork uygulamasının mikrosızıntı üzerine etkisi değerlendirilmiştir. İmplantların bir kısmı manuel olarak uygulanabilecek normal ve maksimum miktarlar olarak kabul edilen 10 ve 20 Ncm (Newton santimetre) ile kapatılırken kalanı üretici firmanın önerdiği miktarlarda tork uygulanarak kapatılmıştır. Basınçlı ortamda boya kullanarak sızıntının değerlendirildiği bu çalışmada 5, 20 ve 80. dakikalarda alınan örnekler ile mikrosızıntı varlığı spektrofotometrik olarak değerlendirilmiş; uygulanan tork miktarının mikrosızıntı üzerinde anlamlı etkiye sahip olduğu ve tork miktarı arttıkça mikroaralık boyutu küçüleceğinden sızıntının azalacağı bildirilmiştir. Çalışma sonunda mikroaralığın in situ şartlarda bakterilerin yan ürünleri ve büyümeleri için gereken besin maddelerinin geçişine olanak sağlayarak peri-implantitis ya da halitozis gibi klinik durumların ortaya çıkışına zemin hazırladığı rapor edilmiştir (52). Steinebrunner ve diğ.'nin vitro çalışması

da(53) bu sonucu desteklemektedir. İki yönlü çiğneme simülatörü kullanılarak yapılan bu çalışmada 5 farklı implant sistemine ait implantlar kullanılmış ve implantların içine *Escherichia coli* süspansiyonu inoküle edildikten sonra üretici firmanın önerdiği miktarlarda tork uygulanarak dayanakları takılıp besiyerine konmuştur.120 *Newton* ile yüklemenin yapıldığı implantlarda bakteri penetreasyonu için gereken yükleme döngüsü sayısının her sistemde farklı olduğu rapor edilmiştir. İmplant ile dayanak arasındaki uyum, dayanak takılırken uygulanan tork miktarı ve komponentler arası mikrohareketin sızıntıyı etkilediğini de belirtmişlerdir (53).

Literatürde tork miktarının mikrosızıntıyı etkilediği görüşü ile çelişen çalışmalar da mevcuttur. Smith ve diğ.(71), 2014 yılındaki çalışmasında aynı sisteme ait titanyum ve zirkon dayanakların farklı değerlerde torklanması üzerine olan etkisini araştırmışlardır. 40 adet implantın 20 tanesine titanyum, 20 tanesine ise zirkon dayanak uygulanmıştır. Dayanaklar yerleştirilmeden önce implantların internal apikal bölgeleri test bakterileri olan *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* ile inoküle edilerek dış ortama olan sızıntı değerlendirilmiştir. Her iki gruptaki dayanaklardan yarısı 35 Ncm, kalan yarısı da 20 Ncm ile torklanarak kapatılmıştır. Negatif kontrol grubu olarak zirkon ve titanyum dayanaklardan 2'şer adet alınmış ve implantın içine bakteri karışımı yerleştirilmeden birer tanesi 35, birer tanesi ise 20 Ncm ile torklanarak kapatılmıştır. Pozitif kontrol grubu olarak ise her iki tip dayanak grubundan ikişer adet alınarak bakteriyel ekim yapıldıktan sonra torklama yapılmadan manuel olarak kapatılmış ve sonrasında tüm implant-dayanak bileşikleri besiyerine konmuştur. Besiyerinde bulanıklık oluşması bakteriyel sızıntının bir göstergesi olarak kabul edilip bulanıklık izlenen tüplerden örnek alınarak ekim yapılmış ve 4 günlük inkübasyon sonrası oluşan koloniler sayılmıştır. Bu şekilde gerçekten sızıntı olup olmadığı ve olduysa sızıntı zamanı belirlenmiştir. İnkübasyon periyodunu takiben implantlar temizlenerek stereomikroskop ile mikroaralık boyutları incelenmiştir. Çalışma sonunda test grubundaki 40 adet implantın hepsinde ve pozitif kontrol grubunda mikrosızıntı olduğu ve ilk sızıntının 24. saatte gözlemlendiği bildirilmiştir. Kullanılan dayanak materyalinden ve torklama

miktarından bağımsız olarak tüm test örneklerinde en geç 7 gün içinde sızıntı gerçekleştiği ve mikroaralık boyutu ile bakteriyel sızıntı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir. Mikroaralık boyutu stereomikroskop ile incelendiğinde tüm örneklerde aralığın düzensiz olduğu ve aynı örnekte dahi mikroaralık boyutundaki farkın 12 µ'a kadar çıktığı görülmüştür. Zirkon dayanaklarda torklama miktarının artırılması mikroaralık boyutunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltırken (20 Ncm için 14.3 ± 4.4 µ, 35 Ncm için 10.5 ± 1.4 µ) titanyum dayanaklarda tork miktarının mikroaralık boyutunu (20 Ncm için 5.3 ± 1.9 µ, 35 Ncm için 5.2 ± 2.2 µ) önemli ölçüde değiştirmedeği gözlenmiştir. Zirkon dayanaklarda mikroaralık boyutu azalmasına rağmen bunun bakteriyel sızıntıyı etkilemediği de bildirilmiştir(71).

Rismanchian ve diğ. (38), aynı sisteme ait implantlara farklı dizayna sahip dayanaklar takarak mikroaralık boyutu ve mikrosızıntı miktarını değerlendirdiği çalışmasında, farklı dizayna sahip dayanaklarda mikroaralık boyutunun da farklı olduğunu göstermiştir. Aynı firmaya ait 36 adet implantın içine *Escherichia coli* içeren süspansiyon konmuş ve 4 farklı şekle sahip protetik dayanak takılmıştır. Eksternal kontaminasyon varlığı anlaşılan implantlar otoklavda steril edilerek tekrar kullanılmıştır. Mikroaralık boyutunun mikrosızıntıya olan etkisine bakıldığında ise ilk 5 saat sonunda mikroaralık boyutu ile üreyen koloni sayısı arasında bir ilişki olsa da 24,48 saat ve 14. gün alınan örneklerde bu farkın ortadan kalktığı görülmüştür (38).

Coelho'nun çalışması da (370) kontrollü tork uygulamasının bakteriyel sızıntıyı engellemediği yönünde olup Persson da 1996 yılındaki in vivo çalışması sonunda (48) dayanak tipi, uzunluğu ve stabilitesinin kemik kaybı ve mikroorganizma miktarı ile ilişkili olmadığı sonucuna varmıştır.

Jansen ve diğ.(41), 13 farklı implant-dayanak kombinasyonunu mikrobiyal sızıntı yönünden değerlendirdiği çalışmasında implantların internal yüzeylerini *Escherichia coli* ile inoküle etmiş; 1, 3, 5, 7, 10 ve 14. günlerde örnek almıştır. Alınan örnekler ile agara ekim yapılarak bakteri varlığının gösterildiği bu çalışmada klinik uygulama rutininde her zaman

bulunmadığından protetik dayanaklar torklamadan takılmıştır. Aynı zamanda mikroaralık boyutlarının SEM ile ölçüldüğü bu çalışmanın sonunda implant komponentleri arasındaki uyum iyi olsa dahi mikrobiyal sızıntının engellenemediği ve hemen hemen ilk 2 gün içinde tüm örneklerde sızıntı gerçekleştiği gösterilmiştir (41).

Klinik uygulamalarda iyileşme başlığı takılırken kontrollü torklama yapılması rutin bir işlem olmadığından ve torklamadan kapatmanın bu çalışmada sonuçları etkilemeyeceğini düşündüğümüzden iyileşme başlıklarının aynı araştırmacı tarafından kontrollü torklama yapılmadan kapatılmasını tercih ettik. Literatürdeki, tork miktarının mikrosızıntı üzerine etkisini savunan çalışmaların zaman parametrelerine bakıldığında, çalışmamıza göre çok daha kısa zaman dilimleri olduğu görülmektedir. Rismanchian ve diğ. (38) ve Jansen ve diğ.'nin(41) yaptığı çalışmalara bakıldığında tork miktarının etkisinin erken dönemle sınırlı kaldığı, uzun dönemde yüksek değerlerde torklanan grupta da mikrosızıntı olduğu görülmektedir(38, 41). Çalışmamızda en kısa süreli grubunun 1 hafta olduğu düşünülürse başlıkların torklamadan manuel olarak kapatılmasının sonuçları etkilemediğini düşünmekteyiz. Ayrıca başlıkların ve implantların çalışma süresince birden fazla kullanılması nedeniyle mikroaralığa bakan yüzeylerde gelişecek düzensizlik sızıntıyı arttıracakmış gibi gözükse de Smith ve diğ. 2014 yılındaki çalışmasında(71) aynı implant-dayanak bileşkesinde ilk kullanımda dahi mikroaralık boyutunun zaten düzensiz olduğunu, bazı yerlerde daha dar bazı yerlerde daha geniş olan mikroaralığın bakteriyel penetrasyon sonucunu değiştirmedeğini rapor etmiştir. Aynı zamanda klinik uygulamalarda da steril edilen iyileşme başlıkları birden fazla kullanıldığından ve implantlara da birinci ve ikinci aşama cerrahi sırasında ve protetik rehabilitasyon esnasında farklı dönemlerde tork uygulandığından implant ve diğer parçalardaki aşınma ve olası sonuçları klinik olarak da kaçınılmazdır. Bu nedenle çalışmamızda komponentlerin birden fazla kullanımının yüzeylerde neden olduğu aşınmanın klinik uygulamayı daha iyi şekilde yansıttığını ancak sonuçlar yönünden bir fark yaratmadığını düşünmekteyiz.

1. ya da 2. aşama cerrahi esnasında (35, 41, 44, 45) ya da sonradan mikroaralık yoluyla (41, 46, 47) gerçekleşen mikrobiyal penetrasyon ile beraber implantın içinde primer olarak anaerobik bakterilerden oluşan bir mikroflora oluşmaktadır (48). İmplantın bu internal mikroflorasını oluşturan bakteriler, bakteriyel metabolit ve toksinler mikroaralık yoluyla peri-implant bölgeye geçer (35, 49, 50). Bu geçişin yarattığı stimulus çevre sert ve yumuşak dokuda kronik inflamasyona ve devamında kemik kaybına neden olabilir (38, 47, 52).

Hermann ve diğ.(66),1997 yılında, yükleme yapılmayan implantlarda mikroaralık ile kemik ilişkisinin sert ve yumuşak doku üzerine etkilerini değerlendirmek için köpekler üzerinde kapsamlı bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada 20 tanesi tek parça, 40 tanesi iki parçadan oluşan toplam 60 adet implant, diş çekimleri yapıldıktan 6 ay sonra yerleştirilmiştir. İki parçadan oluşan implantların 10 tanesi iyileşme başlığı gingivanın üzerinde, mikroaralık ise kemik seviyesinin altında kalacak şekilde tek aşamalı olarak yerleştirilirken kalan 30 adet iki parçadan oluşan implantın tamamı mikroaralık gingivanın altında olacak şekilde iki aşamalı olarak yerleştirilmiştir. İki aşamalı olarak yerleştirilen implantlar, mikroaralığın kemik ile olan ilişkisine ve uzaklığına göre gruplara ayrılmıştır.3 aylık iyileşme periyodunu takiben iki parçadan oluşan ve iki aşamalı olarak yerleştirilen implantların dayanakları takılmış ve 3 ay sonra bütün hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Hayvanlar sakrifiye edilmeden önce haftada 3 defa mekanik ve kimyasal plak kontrolü yapılmıştır. İmplantların yerleştirilmesi esnasında hazırlanan kişisel apareyler ile implant cerrahisinin suturlarının alındığı seanstan başlayarak her ay periapikal radyograflar alınmış ve implant-dayanak bileşke noktası ile kemik-implant temas noktasının en koronal seviyesi arasındaki uzaklık değişimi değerlendirilmiştir. Elde edilen radyograflara bakıldığında monoblok implantlarda marjinal kemik kaybının hiç olmadığı ya da iki parçadan oluşan sistemlere göre anlamlı şekilde az olduğu görülmüştür. Kullanılan cerrahi teknikten bağımsız olarak tüm iki parçadan oluşan sistemlerde kemik kret seviyesindeki değişimin mikroaralık seviyesine bağımlı olarak gerçekleştiği ve kemik-implant kontak seviyesi ile mikroaralık

arasındaki mesafenin yaklaşık 2 mm olduğu izlenmiştir. Tek aşamalı olarak yerleştirilen iki parçalı implantlarda marjinal kemik kaybının, iki aşamalı olarak yerleştirilen implantlar ile benzer özellikler gösterdiği, aradaki tek farkın iki aşamalı grupta ilk 3 aylık periyotta kayıp izlenmezken dayanak takılıp mikroaralık oluştuktan sonraki dönemde kaybın izlenmiş olmasıdır. İki parçadan oluşan implantlardaki değişimin, mikroaralığın ağız ortamına ekspozunu takiben ilk 4 hafta içinde olduğu görülmüştür. Klinik olarak bakıldığında da tek parçadan oluşan implantların çevresindeki diş etinde inflamasyonun hiç olmadığı ya da çok az olduğu görülürken iki parçadan oluşan implantların hepsinin etrafında ortadan şiddetliye kadar değişen seviyelerde peri-implant yumuşak doku inflamasyonu rapor edilmiştir (66).

Hermann ve diğ. başka bir çalışmada (69) monoblok ve iki parçadan oluşan implantların krestal kemik kaybı üzerine olan etkisini değerlendirmişler ve iki parçadan oluşan sistemlerde krestal kemik seviyesini cerrahi teknikten bağımsız olarak mikroaralık seviyesinin, monoblok implantlarda ise pürüzlü ve düz yüzey sınırının belirlediğini rapor etmiştir. Ayrıca monoblok implant yerleştirilen bölgelerde hafif derecede peri-implant inflamasyon bulguları görülürken mikroaralık seviyesinden bağımsız olarak tüm iki parçadan oluşan sistemlerde orta ve ya ciddi derecede peri-implantitis bulgularına rastlandığı da bildirilmiştir (69).

Ericsson ve diğ. ise(63) peri-implant yumuşak dokudaki inflamatuvar reaksiyonu değerlendirdikleri çalışmada 5 adet köpeğin sağ ve sol mandibulerpremolar ve molar bölgesindeki dişlerin çekimini takiben 3' er adet implant yerleştirmiş ve ilk aşama cerrahiden 3 ay sonra protetik dayanaklar takılmıştır. Dayanaklar takıldıktan 3 ay sonra her segmentteki implantlardan 2 tanesine plak kontrolü uygulanırken 1 tanesine plak kontrolü uygulanmamış ve köpekler 9 ay sonra sakrifiye edilmiştir. Yapılan histolojik incelemede plak kontrolü yapılan implantlarda marjinal mukozada dağınık halde inflamatuvar hücrelere rastlanırken implant-dayanak bağlantı bölgesine komşu bağ dokusunda yoğun şekilde inflamatuvar hücre izlenmiştir. Plak kontrolü yapılmayan grupta ise marjinal gingivada görülen inflamasyonun dayanak

kaynaklı inflamasyonla devamlılık gösterdiği veya inflame olmayan normal bağ dokusu ile ayrıldığı görülmüştür. Plak kontrolü yapılan grupta da mikroaralığa denk gelen bağ dokusundaki inflamasyon, implantın internal yüzeylerinde bakteriyel kolonizasyon varlığını göstermiştir (63). Mikroaralığa komşu bağ dokusundaki bu inflamasyon, konağın implantın internal mikrobiotasının neden olduğu inflamasyonu sınırlamak için oluşturduğu bir cevap olarak kabul edilmiştir(63). Brogginini ve diğ. de köpekler üzerinde yaptığı çalışmasında (65) benzer sonuçlar elde etmiş ve tek parça implantların çevresinde minimal inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kemik kaybı izlerken iki parçadan oluşan implantlarda implant- dayanak ara yüzü hangi seviyede olursa olsun daha fazla inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve kemik kaybı olduğunu rapor etmiştir. Literatürdeki bu çalışmalar hastanın oral hijyeni ne kadar iyi olursa olsun mikroaralık nedeniyle dokularda mutlaka bir inflamatuvar reaksiyon meydana geldiğini göstermektedir. Konağın travmaya karşı verdiği bir cevap olan inflamasyon, dengenin travmaya neden olan etkenin lehine değişmesi halinde koruyucu bir mekanizma olmaktan çıkıp kemik rezorpsiyonuna neden olacaktır.

Bakteriyel penetrasyon sonucu oluşan kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu yüklemeye yapıldıktan sonra ilk yılda gerçekleşen hızlı kemik kaybı ile ilişkilendirilmiştir (48, 59, 379). Bir süre sonra implant mikrobiotası ile konak arasında kurulan denge sayesinde ilk haftalarda hızla gerçekleşen kemik kaybı giderek yavaşlar ve sonunda peri-implant dokular stabilize olur (48, 63, 64). Rimondini ve diğ. yaptıkları in vivo çalışmada (46), oral hijyeni iyi olan hastalarda implantın internal mikrobiotasının yumuşak dokuda herhangi bir inflamasyona yol açmadan sağlıklı bir şekilde idame edebileceği sonucuna varmışlardır. Oh ve diğ. ise (379), mikroaralık yoluyla bakteriyel penetrasyonun, peri-implantitis gelişimi ile ilgili olduğunu ve sonuçlarının sadece yüklemekten sonraki ilk yıl ile sınırlı olmadığını belirtmiştir.

Bu çalışmalara bakıldığında implantın internal mikroflorasının kemik kaybı üzerine etkisi açıkça görülmektedir. İlk 4 haftada implantın internal mikroflorası nedeniyle hızla gerçekleşen krater şeklindeki bu kemik kaybı

rutinde fonksiyonel olarak implantın sağ kalımını fazla etkilemese de kemik kaybını izleyecek yumuşak doku çekilmesi ya da yumuşak doku profili ince hastalarda mukozada çekilme olmasa dahi yumuşak dokunun altından implantın renginin yansıması, anterior bölgedeki implantlarda estetik problemlere neden olacaktır. Ayrıca herhangi bir nedenle konak ile bakteriyel yük arasındaki denge bakteri lehine değiştiğinde peri-implant dokularında gelişebilecek enfeksiyon, implantın internal mikroflorasından sızacak bakteri ve yan ürünleri nedeniyle alevlenecek ve tedavisi daha da zorlaşacaktır. Bu nedenle internal bakteriyel flora özellikle aktif ya da subakut bir inflamasyon varlığında ya da (66) peri-implantitisten etkilenen bir implantta klinisyenin rejeneratif teknikler ile tedavi planladığı durumlarda önem kazanmaktadır(11). Persson ve diğ. (6), deneysel olarak peri-implantitis oluşturulan implantlarda koronal ve apikal parçalar arasında mikroaralık nedeniyle kemik rejenerasyonunun olmadığını histolojik olarak göstermiştir. Ayrıca peri-implantitis tedavisinde internal mikrofloranın etkilerini elimine etmek için üst yapı parçalarının sterilizasyonu ve internal yüzeylerin dezenfeksiyonu literatürde önerilen bir prosedürdür (35, 380). Sonuç olarak mikrosızıntı, sağlıklı bir ortamda problem yaratmasa dahi herhangi bir enfeksiyon ya da hastada sigara gibi bir risk faktörünün varlığında bu süreci hızlandıran bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır ve sağ kalımı fazla etkilemese de klinik başarının önündeki önemli engellerden biridir.

Biz de çalışmamızda hazırladığımız jeller ile sızıntı ve implantın içindeki flora kaynaklı gelişebilecek erken ve geç dönemdeki kemik kaybına bağlı ossointegrasyonla ilgili problemler ve ilerleyen dönemde yaşanabilecek estetik sıkıntılarının önüne geçebilmeyi amaçladık. Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında özellikle jellerde artan klorheksidin glukonat konsantrasyonu ile birlikte seçilen bakterinin, 12 haftaya kadar etkisiz hale getirilebilir olması hazırlanan preparatlardan istenen etkinin in vitro olarak elde edilebildiğini göstermektedir.

İmplantın internal mikroflorası hem kapalı bir ortam olması hem de implant yüzeyinde akümüle olan biyofilm sayesinde ağzın koruyucu

mekanizmalarından etkilenmemektedir (365). İnternal mikrobiotanın olası komplikasyonları düşünüldüğünde implantın uzun dönem sağ kalımı ve başarılı bir implant tedavisi için implant ve iyileşme başlığı ya da dayanak arasında hermetik bir tıkama sağlanarak mikrosızıntının engellenmesinin veya sızan bakterilerin etkisiz hale getirilmesinin önemi daha da anlaşılmaktadır. Bu nedenle bakteriyel sızıntı ve implantın içinde biyofilm oluşumu ve matürasyonunu engellemek adına dental implant yüzeyleri, iyileşme başlığı ve ya dayanak aracılığı ile ilaç salım sistemlerinin kullanımı ileri sürülmüştür (8). Literatürde bu yönde yapılmış çalışmalar bulunmaktadır.

Duarte ve diğ.'nin 2006 yılında yaptığı in vitro çalışmada(9) implant-dayanak ara yüzüne uygulanan klorheksidin ve timol içeren cila ve silikon materyalin sızdırmazlık özelliği karşılaştırılmıştır. 5 farklı dayanak bağlantı şeklinin dahil edildiği çalışmada test gruplarında seçilen materyal, implantın omuz kısmına uygulanırken kontrol grubunda herhangi bir materyal kullanılmamıştır. *Enterococcus faecalis* içeren besiyerine konan implantların internal yüzeylerinden 7, 14, 21, 35, 49 ve 63. günde kağıt koniler ile örnek alınmıştır. Kağıt koniler 24-48 saat arasında besiyerinde bekletildikten sonra besiyerinin bulanıklığına bakarak sızıntı varlığı değerlendirilmiştir. Kontrol grubundaki implantlarda 14. günde tüm implantlarda bakteriyel penetrasyon izlenirken her iki test grubunda da ilk üremeler 35. günden itibaren izlenmiştir. İki materyalin de bakteriyel sızıntıyı 63 günden daha fazla önleyemediği de çalışma sonunda bildirilmiştir. Bu çalışmada silikon materyalin bakteri geçişini fiziksel olarak engelleyici etkisi görülürken klorheksidin-timol içeren cilanın antibakteriyel etkinliği de gözlenmektedir (9).

Bessimo ve diğ.(78), implantın internal yüzeyinden dış ortama ve dış ortamdan internal yüzeyine sızan bakteriler üzerinde klorheksidin ve timol içeren cilanın gösterdiği antibakteriyel etkinliği değerlendirmiştir. Dış ortamdan implantın internal yüzeyine sızıntının değerlendirilmesi için implantların implant ve dayanak ara yüzüne cila uygulandıktan sonra dayanak ve prefabrike kronlar takılarak *Staphylococcus aureus* içeren besiyerine yerleştirilmiş ve 3. haftadan başlayarak 8. haftaya kadar her hafta

5 adet implant seçilerek kağıt koni ile örnek alınmıştır. Sonrasında steril edilen implantlar aynı prosedürden geçirildikten sonra besiyerine tamamen değil sadece implant-dayanak arayüzleri besiyerinde kalacak şekilde parsiyel olarak gömülmüş ve 3,4,5,7,9,11. haftalarda aynı şekilde örnek alınmıştır. Bu süre sonunda total olarak besiyerine yerleştirilen implantlardan sadece birinde sızıntı görülürken parsiyel olarak besiyerine yerleştirilen implantlarda sızıntı olmadığı görülmüştür (78). Literatürde bildirilmiş diğer bir teknik ise implantın internal yüzeyine antibakteriyel bir ajan uygulayarak penetre olan bakterilerin etkisiz hale getirilmesidir. Ulaşabildiğimiz kadarı ile literatürde bu amaçla kullanılan tek ajan diş hekimliğinde farklı form ve farklı bileşenlerde olacak şekilde sıklıkla kullanılan bir dezenfektan olan klorheksidin içeren ajanlardır (9-11, 78).

Bu alandaki en uzun süreli çalışmalardan biri 2008 yılında yapılmıştır. 30 hastada protetik rehabilitasyon tamamlandıktan 3 ay sonra kronlar ve dayanaklar çıkarılmış ve test grubundaki implantların içine %1 klorheksidin etken maddesinin yanı sıra alkol ve selüloz içeriğine sahip jel yerleştirilirken kontrol grubundaki implantların internal yüzeyi boş bırakıldıktan sonra dayanaklar takılmış ve sonrasında kronlar yeniden simante edilmiştir. 6 ay sonra kronlar ve dayanaklar çıkarılarak alınan mikrobiyolojik örneklerde, içine klorheksidin jel uygulanan test grubundaki implantların internal yüzeylerindeki bakteriyel üreme varlığı ve üreyen bakterilerin türleri PCR ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda jel uygulanan test grubunda üremenin daha az olduğu rapor edilmiştir (11).

Groenendijk ve diğ.(10), ise klorheksidin içeren jel yerine solüsyon kullanmıştır. 2004 yılındaki bu in vivo çalışmada 46 adet implantın yarısının içine ikinci aşama cerrahi esnasında % 0,2 klorheksidin içeren solüsyon, kalan yarısının içine ise fizyolojik salin solüsyonu uygulanmıştır. Sonrasında protetik dayanaklar takılarak 6 hafta beklenmiştir. Bu süre sonunda ilgili bölgenin dezenfeksiyonu ve izolasyonunu takiben dayanaklar çıkarılıp implantın içine kağıt koniler yerleştirilerek sıvıyı absorbe etmesi sağlanmış ve sonrasında uygun transport ortamında laboratuvara taşınarak kanlı agara

ekim yapılmıştır. Kültür sonucuna göre çalışma sonunda klorheksidinin implantın içinde üreyen bakteri miktarını kontrol grubundakine göre azalttığını rapor edilmiştir (10). Bu iki çalışma in vivo koşullarda dahi farklı dozaj formlarındaki klorheksidin içeren preparatın belli bir antibakteriyel etkinlik seviyesini 6 ay ve 6 haftalık sürelerde devam ettirebildiğini göstermektedir.

Yukarıda bahsedilen tüm çalışmalarda farklı formda ve farklı etken madde konsantrasyonundaki preparatlar ile belli bir süreye kadar, yükleme yapılmayan koşullarda antibakteriyel etkinliğini sürdürülebildiği görülmektedir. Biz de çalışmamızda antibakteriyel ajan olarak diş hekimliğinde sıklıkla tercih edilen klorheksidin glukonat kullandık. Bu amaçla periodontal rahatsızlıklarda kullanılabilen antibiyotik içeren bir formülasyon kullanımı da düşünülebilir. Ancak etken maddenin ortamda uzun süre bulunacağı ve mikroaralık yoluyla peri-implant dokulara sızma olasılığı düşünülürse antibiyotiğe karşı gelişebilecek bir direnç etkinin azalmasına neden olabilir. Literatürde peri-implant mikrofloradaki bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği gösterilmiştir (381). Ayrıca peri-implant floranın kompleks yapısı göz önüne alınırsa genelde belli bir türe spesifik etki gösteren bir ajan yerine geniş spektrumlu antimikrobiyal bir maddenin kullanılması daha uygun olacaktır. Klorheksidini jel formunda kullanmayı tercih etmemizin nedeni ise solüsyona göre uygulamasının daha kolay olması, ara yüzde bulunacak viskoz bir materyalin bakteri penetrasyonu için aynı zamanda fiziksel bir bariyer oluşturacağı düşünülmesi, daha yoğun olan kıvamı sayesinde etken maddenin ortamdaki fiziksel olarak uzaklaştırılmasının daha zor olması ve antibakteriyel etkinin daha uzun süre devam ettirilebileceğinin düşünülmesidir. Literatürde antimikrobiyal etkinlik için uygulanan formülasyonlarda etken maddenin antimikrobiyal etkinliğini, kullanılan diğer maddeler ile fiziksel ve kimyasal olarak arttırmaya yönelik bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle jellerde en uygun antibakteriyel etkiyi gösterebilmek ve polimer ile arasında herhangi bir antagonist ya da sinerjistik etki olup olmadığını belirleyebilmek için farklı konsantrasyonda klorheksidin glukonat kullanılmıştır. Viskozitenin ara yüzeyi hermetik olarak kapatabilme üzerine olan etkisini ve kitosanın antibakteriyel etkinliğini daha net olarak

değerlendirebilmek için ise farklı oranda polimer yani kitosan içerecek şekilde 4 farklı jel hazırlanmıştır. Bakteriyel kültür sonuçlarına bakıldığında klorheksidin glukonat oranı aynı, kitosan oranı farklı olan jeller kendi arasında karşılaştırıldığında bakteriyel üreme arasında fark olmadığı izlenmektedir. Bu sonuç da kitosanın fiziksel ve kimyasal olarak sağladığı antibakteriyel etkinliğin bizim çalışmamız için önemsiz olduğunu ve artan viskozitenin bakteriyel geçiş üzerine etkisinin olmadığını göstermektedir. Oluşturduğumuz formülasyonlar fiziksel bir etkiden daha çok kimyasal olarak antibakteriyel etki göstermiş; bu etkiyi klorheksidin konsantrasyonu belirlemiş; klorheksidin konsantrasyonu yüksek jellerde 12 haftaya kadar antibakteriyel etkinlik devam ettirilebilmiştir.

Literatürdeki in vitro çalışmaların zaman parametrelerine bakıldığında en uzun antibakteriyel etkinlik süresinin 11 hafta olduğu ve bu süreye kadar genellikle 1 ya da 2 hafta aralıklarla mikrobiyolojik değerlendirme için örnek alındığı görülmektedir. Paolantonio ve diğ. (11) ise, in vivo çalışmasında formülasyonun etkinliğini değerlendirmek için implantın içine uygulayıp dayanağı taktıktan sonra 6 ay beklemiştir. Biz çalışmamızdaki zaman parametrelerini belirlerken hem iki hem tek aşamalı implant cerrahisi uygulamalarını ve ileride yapılabilecek in vivo çalışmaları göz önüne aldık. Ağız ortamına açılan implantta kemik kaybının ilk 4 haftada daha hızlı olduğu (66) göz önüne alınarak 4 haftalık grup oluşturduk. Benzer şekilde 8 ve 12. haftaları da rutinde genellikle implantların protetik rehabilitasyon için hazır olduğu zamanlar olmasından dolayı seçtik. Tarafımızdan hazırlanan ve ticari bir preparat olmayan jellerin etkinliğinde zaman içinde görülen değişimi değerlendirebilmek için ise 1 haftalık grubu oluşturduk.

Mikroaralık yoluyla implantın internal yüzeyine penetre olan bakteriler üzerine klorheksidin içerikli jelin etkinliğini araştıran ulaşabildiğimiz kadarıyla literatürde bir çalışma bulunmaktadır (11). Paolantonio ve diğ.(11) tarafından yapılan bu çalışmada taşıyıcı olarak selülozun tercih edildiği alkol bazlı ticari bir klorheksidin preparatı kullanılmıştır. Biz ise formülasyonlarımızı hazırlarken polimer olarak kitosan kullanmayı tercih ettik. Glukozamin ve N-

asetil glukozamin kopolimerlerinden oluşan doğal bir polisakkarit olan kitosan doğada selülozdan sonra ikinci sıklıkta bulunan polisakkarittir (321). Farmakolojide sıklıkla kullanılan bu doğal polisakkarit, antibakteriyel etkinliğinden daha baskın antifungal özelliğe sahip olup literatürde klorheksidin içeren preparatların hazırlanmasında taşıyıcı olarak sıklıkla kullanılmaktadır (321). Böyle bir amaç için hazırlanacak formülasyonda kitosan tercih edilmesinin avantajları, kolay bulunur, biyobozunur ve metabolize edildiğinde açığa çıkan son ürünlerinin dokular için zararsız olmasıdır. Ayrıca klorheksidin kadar olmasa da kitosanın da antifungal ve antibakteriyel etkinliği bulunmaktadır ve literatürde rapor edilmiş ciddi bir yan etkisi bulunmamaktadır (382). Çalışmamızda kitosan ile viskozitenin artırılmasının yanı sıra antibakteriyel etkinliğinden faydalanılması hedeflenmiş ancak kitosanın, formülasyonun antibakteriyel özelliği üzerinde ya da viskozite artışına bağlı sızıntının fiziksel olarak engellenebilmesine etkisinin anlamlı olmadığı görülmüştür .

Kitosanın diş hekimliği alanında kullanımının yaygınlaşmasına neden olan özelliklerinden biri de biyofilm oluşumu üzerindeki inhibitör etkisidir. Kitosanın pozitif yüklü amino gruplarından kaynaklandığı düşünülen bu etki peri-implant enfeksiyonların biyofilm kaynaklı olduğu göz önüne alındığında bir avantaj sağlamaktadır. Kandimalla ve diğ.(383), ilaç taşınmasında kullanılan iki biyoadeziv polimer olan polikarbofil ve kitosanın, *Pseudomonas aeruginosa*'nın oluşturduğu biyofilm üzerine olan etkisini in vitro olarak değerlendirmiştir. Çalışma sonunda farklı konsantrasyon ve farklı pH'da uygulanan formülasyonlar arasında kitosan içerenlerin, düşük konsantrasyonda dahi biyofilmin bütünlüğünü bozarak bakterinin ölümüne neden olduğunu bildirmiştir. Kitosanın bu etkisinin pH değişiminden etkilenmediği de rapor edilmiştir (383). Decker ve diğ.'nin yaptığı başka bir in vitro çalışmada ise (345), kitosan ile klorheksidin beraber kullanılarak oluşturulan formülasyonda, iki maddenin gösterdiği sinerjistik etki sonucu tek başına klorheksidine göre daha güçlü antiplak etki izlendiği bildirilmiştir. Sahip olduğu antiplak etkinlik ve klorheksidin ile gösterdiği sinerjistik etki dikkate alındığında mikrosızıntının etkilerini ortadan kaldırmak için

hazırlanacak formülasyonda kitosan kullanımının avantajlı olduğu görülmektedir. Mikroaralık yoluyla implantın içine bakteriler ile beraber sıızan ya da cerrahi ve protetik işlemler esnasında implantın içinde hapsolan kan, tükürük gibi sıvılar biyofilm oluşumu için gerekli olan ortamı oluşturur. Biyofilmin fiziksel olarak dahi uzaklaştırılmasının ve implantın internal yüzeylerinin mekanik olarak temizlenmesinin zorluğu dikkate alınırsa klorheksidin gibi antiplak ve güçlü antibakteriyel özelliğe sahip ajanın etkinliğinin, sinerjistik etki gösterdiği kitosan ile artırılarak biyofilm oluşumunun erken evrede inhibe edilmesi doğru bir yaklaşım olacaktır. Çalışmamızdaki temel hedef jellerin antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi olup kitosanın biyofilm oluşumu üzerine olan etkisi değerlendirilmemiştir. Ancak polimer olarak kitosan kullanmanın biyofilm formasyonunu inhibe ederek jeller için bir avantaj yaratacağını düşünmekteyiz.

Kitosan, yukarıda sayılan özellikleri nedeniyle diş hekimliğinde en sık tercih edilen antiseptik ajan olan klorheksidinin taşınmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ballal ve diğ. (321), % 2 klorheksidin glukonat jel, % 2 kitosan jel ve ikisinin kombinasyonunun *Candida albicans* ve *Enterococcus faecalis* üzerine olan antimikrobiyal etkinliğini in vitro olarak değerlendirmiştir. Çalışma sonunda klorheksidin glukonat, kitosan ile kombine edildiğinde etken madde salımının yavaşladığı bildirilmiştir. Antimikrobiyal etkinliğin inhibitör bölge çapı ölçülerek değerlendirildiği çalışmada kitosan ve klorheksidin glukonat kombinasyonunun hem antifungal hem de antimikrobiyal etkinliğinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (321).

Klorheksidin ve kitosan kullanılarak hazırlanan jel formundaki çalışmalara diğer bir örnek ise İkinci ve diğ. tarafından hazırlanan jel ve filmin *Porphyromonas gingivalis* üzerine olan etkisinin değerlendirildiği çalışmadır (343). Çalışmada farklı moleküler ağırlık ve deasetilasyon derecesine sahip kitosan kullanarak jel ve film hazırlanmıştır. Yapılan viskozite ölçümleri sonunda kitosanın moleküler ağırlığı ve konsantrasyonu arttıkça jelin daha viskoz hale geldiği, klorheksidinin ise viskoziteyi değiştirmedeği gösterilmiştir.

Antibakteriyel etkinlik, inhibisyon bölgesinin çapı ölçülerek değerlendirilmiş ve %1 yüksek moleküler ağırlıklı kitosan kullanılan formülasyonlarda % 2 yüksek moleküler ağırlıklı kitosan kullanılarak hazırlanan formülasyona göre inhibisyon bölgesinin çapının daha büyük olduğu yani antibakteriyel etkinliğin daha fazla olduğu görülmüştür. Düşük moleküler ağırlıklı kitosan ile hazırlanan formlarda ise genel olarak antibakteriyel etkinliğin daha düşük olduğu izlenirken aynı özelliklere sahip kitosanın konsantrasyonu sabit tutulup klorheksidin konsantrasyonu artırıldığında jelin antibakteriyel etkinliğinin de hafifçe arttığı ancak aradaki farkın anlamsız olduğu görülmüştür (343).

Şenel ve diğ.(320), kitosan kullanarak hazırladıkları, oral mukoza yoluyla uygulanacak jel ve filmlerin *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, % 1 kitosan ile hazırlanan jelde klorheksidin salımının % 2 kitosan ile hazırlanan jele göre daha az olduğunu göstermiştir. Ayrıca % 2 kitosan ve % 0.1 klorheksidin içeren jelin antimikrobiyal etkinliğinin %1 kitosan içeren jellerden ve %2 kitosan ve % 0.2 klorheksidin içeren jellerden daha yüksek olduğu saptanmış; kitosan konsantrasyonu arttıkça jellerin viskozitesinin de arttığı gözlenmiştir (320). Benzer şekilde Giunchedi ve diğ. (384), klorheksidini kitosan mikrokürelerine yükleyerek oluşturdukları bukkal tabletlerde, % 2 kitosan içeren ajana göre % 4 kitosan içeren ajandaki etken maddenin, salım ortamında daha fazla çözündüğünü ve yüksek miktarda kitosan içeren ajanın antimikrobiyal etkinliğinin tek başına klorheksidin ile benzer olduğunu bildirmiştir. Klorheksidinin yüksek oranda kitosan içeren tablet ile benzer antimikrobiyal etki göstermesi, çalışmanın yapıldığı şartlara ve kullanılan klorheksidin çözeltisine bağlanmıştır(384). Bizim çalışmamızın salım profillerine ve antibakteriyel etkinliklerine bakıldığında yukarıdaki çalışmalardan farklılık gösterdiği görülmektedir. Sadece kitosan ve klorheksidin kullanılarak hazırlanan jellerin salım profillerine bakıldığında kitosanın etken madde salımı üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmektedir. Sonuçlar arasındaki bu farkın kitosanın ve klorheksidinin kimyasal özellikleri, salım profillerinin değerlendirilmesinde

kullanılan tekniklerin, kitosan ve klorheksidin içeriğinin farklı olmasından kaynaklanması muhtemeldir. Çalışmamıza antibakteriyel etkinlik açısından bakıldığında kitosan konsantrasyonundaki artışın etkisiz olduğu ve etkinlik düzeyini belirleyen ajanın klorheksidin olduğu görülmektedir. Bu farkın çalışmalarda farklı mikroorganizmalar kullanılmış olmasından kaynaklanması muhtemeldir. Ayrıca klorheksidinin antibakteriyel etkisinin kitosandan daha fazla olması (385, 386), kitosanın antifungal etkinliğinin antibakteriyel etkinliğinden daha belirgin olması ve bu etkinliğin kitosanın polimerizasyon derecesi, moleküler ağırlığı, konak, ortamda besin varlığı, substratın kimyasal ve besin maddesi kompozisyonu, substratın su içeriği, nem, pH gibi faktörler ile değişmesi çalışmaların sonuçları arasındaki farkı açıklamaktadır (387, 388). Çalışmamıza antibakteriyel etkinlik açısından bakıldığında kendi arasında tutarlılık gösterdiği izlenmektedir. Ancak % 2 klorheksidin glukonat içeren jellerde 12 hafta sonunda hiçbir implantta üreme görülmemesi nedeniyle jellerin maksimum etkinlik süresinin belirleyebilmek için kontaminasyonun görüldüğü zamana kadar sürecek daha uzun süreli bir çalışma yapılması uygun olacaktır. Jellerin viskozitelerinin ise literatürdekine benzer şekilde kitosan konsantrasyonu arttıkça arttığı izlenmiştir.

Kitosan ve klorheksidin kullanılarak oluşturulan sistemlerde etken maddenin salım etkisi formülasyonun viskoz yapısından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle daha etkin kontrollü salım yapabilmek için kitosanın yanında başka bağlayıcı ajanlar da kullanılmaktadır. Ji ve diğ. (389), periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere kitosan, kuaternize kitosan ve α,β -gliserofosfat ile hazırladıkları sıcaklığa duyarlı jellerde artan klorheksidin miktarı ile beraber salım hızının da arttığını, artan α,β -gliserofosfat miktarının ise klorheksidin salımını yavaşlattığını göstermişlerdir. α,β -gliserofosfat miktarının artışı ile beraber klorheksidin salımının yavaşlamasını, bağlayıcı maddenin artışıyla hidrojelin daha kompakt hale gelmesi sonucu etken maddenin daha zor salınmasına bağlamışlardır (389). Çalışmamızı temel olarak yapılacak ileri çalışmalarda, bu çalışmaya benzer şekilde etken maddenin salımı üzerinde daha iyi kontrol sağlayacak bir sistem üzerinde çalışılarak etkisi 6 ay ve daha fazla sürecek formülasyonlar elde edilebilir.

Çalışmamızda etken madde olan klorheksidin glukonatın salımının tüm preparatlarda yaklaşık 2. saatte plato seviyesine ulaştığı görülmektedir. Literatüre bakıldığında ise Şenel ve diğ.'nin çalışmasında (320), hazırlanan klorheksidin glukonat ve kitosan içeren jellerde etken madde salımının 1,5 saat sonunda maksimum seviyeye ulaşarak sonrasında sabit kaldığı görülmektedir. Başka bir çalışmada ise tablet formunda hazırlanmış kitosan ve klorheksidin içeren formülasyonlardan yaklaşık 30 dakika sonunda maksimum etken madde salımının olduğu izlenmiştir (384). Ji ve diğ.'nin kitosan, kuaternize kitosan ve α,β -gliserofosfat kullanarak hazırladıkları klorheksidin içeren sıcaklığa duyarlı jellerden ise salımın 15 saate kadar devam ettiği görülmektedir (389). Literatürdeki bu çalışmalardan farklı olarak Ballal ve diğ. (321), kitosan kullanılarak hazırlanan klorheksidin glukonat içeren jelden 800 saate kadar salımın devam edebildiğini göstermiştir. Sadece klorheksidin glukonattan ise etken maddenin tamamının 1 saat içinde salındığı gösterilmiştir (321). Maksimum etken madde salım süresine bakıldığında bizim çalışmamızın Şenel ve diğ.'nin çalışmasına(320) benzer olduğu görülmektedir. Bu açıdan bakıldığında Ballal ve diğ.'nin çalışmasının (321) oldukça farklı sonuçlar rapor ettiği görülmektedir. Ji ve diğ.'nin çalışmasında(389) salım süresini arttırmak için hazırlanan daha kompleks sistemlerde dahi 15 saate kadar salım rapor edilirken sadece kitosan ve klorheksidin kullanılarak hazırlanan ve oldukça basit olan böyle bir formülasyonda 800 saate kadar salım muhtemel görünmemektedir.

Rutin dental implant tedavilerinde ilk yıl görülen hızlı kemik kaybından mikrosızıntı ve mikroaralığın sorumlu olması muhtemeldir. Monoblok olmayan implantlarda mikroaralığın önüne geçmek mekanik olarak mümkün olmasa da uygulanacak antimikrobiyal bir ajan ile internal mikrofloranın etkisiz hale getirilmesi erken dönemde prognoza olumlu etkilerde bulunacak; özellikle estetik beklentinin yüksek olduğu anterior bölge restorasyonlarında krater şeklindeki defektin eliminasyonu, tedavinin başarısını arttıracaktır. Bunun dışında implantın internal kavitesinin kontamine olarak mikrosızıntı oluşmasının önüne geçilmesi, peri-implantitis gibi tedavisi zor ve zahmetli

durumların oluşması ihtimalini azaltmaktadır. Bu durum kendi başına implant başarısını arttıran bir faktördür.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında klorheksidin glukonat içeren jellerden herhangi birinin kullanımının hiç jel kullanılmamasına göre implant içi bakteriyel etkinliği azalttığı ve antibakteriyel etkinliğin süresinin klorheksidin glukonat konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Kitosan miktarındaki artışın, viskozitede artış nedeniyle sızıntıyı fiziksel olarak engelleyerek ya da kendi başına sahip olduğu antibakteriyel etki nedeniyle formülasyonların antimikrobiyal potansiyelini arttırmadığı izlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda kullanılan jellerden % 2 klorheksidin içeren jellerin özellikle tek aşamalı implant cerrahisinden sonra osseointegrasyon için gerekli görülen 8-12 haftalık süre boyunca kullanılan bakteri üzerinde antibakteriyel etkinlik sağladığı gösterilmiştir. Bu etki sayesinde, implantlar ağız ortamına açıldıktan sonra mikrosızıntı nedeniyle ilk 4 haftada daha hızlı gerçekleşen kemik kaybının azaltılması ve ya engellenmesi hedeflenmektedir. 12 hafta sonunda halen üremenin görülmediği % 2 klorheksidin glukonat içeren jellerin maksimum etkinlik sürelerini belirleyecek daha uzun süreli bir çalışma sonrasında elde edilen sonuçlara göre jellerin ilk 1 yıllık süre boyunca protetik dayanak altına uygulanması ve bu süreçte mikrosızıntı kaynaklı kemik kaybının minimuma indirilmesi de bu çalışmayı temel alan ileri bir çalışmanın konusu olabilir. Jeller sayesinde engellenen marjinal kemik kaybı özellikle estetik gereksinimin fazla olduğu anterior bölge implant destekli sabit restorasyonlarda hasta memnuniyeti dolayısıyla tedavinin başarısını arttıracaktır. Bunun yanında peri-implant enfeksiyon durumunda da kullanılabilecek bu ajanlar ile özellikle implant tedavisi için herhangi bir risk faktörü bulunan hastalarda, implantın internal boşluğu dezenfekte edilerek tedavi süresince implantın internal kavitesindeki mikrobiyal aktivite engellenmiş olacak; enfeksiyona yönelik tedavinin başarı ve implantın sağ kalım şansı böylece artırılmış olacaktır. Bu konuda yapılacak ileri

Çalışmalarda; daha fazla örnek, daha uzun çalışma süresi farklı etken madde ve polimer madde konsantrasyonunun değerlendirilmesi mikrosızıntının önlenmesinde kullanılacak jellerin kalitesini arttıracaktır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Kontrol grubunun tamamında bakteriyel üremenin görülmesi, iyileşme başlığı ile implant arasında hermetik bir kapama elde edilemediğini göstermektedir.
- 1 haftalık grupta, jellerden herhangi birinin uygulanması antibakteriyel etki sağlamış; istatistiksel olarak fark yaratan grubun kontrol grubu olduğu görülmüştür.
- 4 haftalık grupta da 1 haftalık gruptakine benzer şekilde formülasyonların hepsi bakteriyel üremeyi engellemiş; sadece kontrol grubundaki implantlarda üreme izlenmiştir.
- 8 haftalık grupta ise %1 klorheksidin glukonat ve %,1,5 kitosan içeren jelin etkinliği diğer jellere göre anlamlı şekilde azalmıştır..
- 12 haftaya gelindiğinde % 2 klorheksidin glukonat içeren iki jelin antibakteriyel etkinliğinin % 1 klorheksidin glukonat içeren jellerden anlamlı şekilde fazla olduğu izlenmiştir.
- Jellere zaman parametresinden bağımsız olarak bakıldığında, % 2 klorheksidin glukonat içeren formülasyonların % 1 klorheksidin glukonat içeren jellerden daha üstün antibakteriyel etki gösterdiği izlenmiş; artan klorheksidin konsantrasyonu ile antibakteriyel etkinin de arttığı görülmüştür.
- %1 klorheksidin glukonat ve % 1,5 kitosan içeren jelin etkinliği 4. haftadan sonra azalırken diğer jellerin etkinliği zaman içinde değişmemiştir.
- Kitosan miktarındaki değişim antibakteriyel aktiviteyi etkilemezken formülasyonlardaki antibakteriyel etkiyi klorheksidin glukonat konsantrasyonu belirlemiştir.
- Mümkün olan durumlarda monoblok implantların kullanılması ve ya mikroaralığın kemikten mümkün olduğunca uzakta konumlanmasını sağlayacak şekilde dizayn edilmiş implantların kullanımı marjinal kemik kaybını azaltabilir.

- İki parçadan oluşan implantların kullanım zorunluluğunun olduğu durumlarda ise hazırlanan ajanlardan herhangi birinin implantın içine uygulanması kemik kaybının en hızlı olduğu ilk 4 haftalık süreçte bakteriyel üremeyi engelleyebilir ve implantın içinde, biyofilm oluşumu engellenerek mikroaralık seviyesinde bakterisiz bir ortam sağlanmasına katkıda bulunabilir.
- Yara iyileşmesinin sorunlu olduğu ya da yönlendirilmiş doku rejenerasyonu gibi ileri cerrahi işlemlerin kullanılması gereken mikroorganizmalara daha hassas olunan durumlarda, yüksek etken madde konsantrasyonuna sahip jeller ile implanttan kaynaklanacak bakteriyel mikrosızıntının önüne geçilebilir. Ancak etken madde konsantrasyonundaki artışın, hücresel düzeydeki etkilerinin araştırılması uygun olacaktır.
- Daha uzun süreli ve daha fazla örnek kullanılarak yapılacak çalışmalar ile jellerin maksimum etki süresi belirlenebilecektir. Yapılacak in vivo bir çalışma ise jellerin kompleks bakteriyel ortamdaki aktivitesini ortaya koyacaktır.
- Protetik dayanak altına uygulanarak çok daha uzun süre etki gösterecek yeni formülasyonlar üzerinde çalışılabilir.
- Geliştirilebilecek olan jellerin implantın üretim aşamasında uygulanması kolaylık sağlayacaktır.
- Geniş antimikrobiyal etkiye sahip klorheksidin periodontopatojenler üzerinde de etkilidir. Bu nedenle hazırlanan jellerin peri-implantitis tedavisindeki etkinliği araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Tonetti MS, Schmid J. (1994). Pathogenesis of implant failures. *Periodontology 2000*. 4:127-38.
2. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH ve diğ erleri. (2010). The human oral microbiome. *Journal of Bacteriology*. 192(19):5002-17.
3. Furst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. (2007) Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clinical Oral Implants Research*. 18(4):501-8.
4. do Nascimento C, Miani PK, Watanabe E, Pedrazzi V, de Albuquerque RF Jr. (2011). In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of an external-hex implant after saliva incubation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 26(4):782-7.
5. Hermann JS, Schoolfield JD, Schenk RK, Buser D, Cochran DL. (2001). Influence of the size of the microgap on crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. 72(10):1372-83.
6. Persson LG, Ericsson I, Berglundh T, Lindhe J. (2001) Osseointegration following treatment of peri-implantitis and replacement of implant components. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology*. 28(3):258-63.
7. Busscher HJ, Rinastiti M, Siswomihardjo W, van der Mei HC. (2010). Biofilm formation on dental restorative and implant materials. *Journal of Dental Research*. 89(7):657-65.
8. Cortizo MC, Oberti TG, Cortizo MS, Cortizo AM, Fernandez Lorenzo de Mele MA. (2012). Chlorhexidine delivery system from titanium/polybenzyl acrylate coating: evaluation of cytotoxicity and early bacterial adhesion. *Journal of Dentistry*. 40(4):329-37.

9. Duarte AR, Rossetti PH, Rossetti LM, Torres SA, Bonachela WC. (2006) *In vitro* sealing ability of two materials at five different implant-abutment surfaces. *Journal of Periodontology*. 77(11):1828-32.
10. Groenendijk E, Dominicus JJ, Moorer WR, Aartman IH, van Waas, M A. (2004) Microbiological and clinical effects of chlorhexidine enclosed in fixtures of 3I-Titamed implants. *Clinical Oral Implants Research*. 15(2):174-9.
11. Paolantonio M, Perinetti G, D'Ercole S, Graziani F, Catamo G, Sammartino G ve diğeri. (2008). Internal decontamination of dental implants: an *in vivo* randomized microbiologic 6-month trial on the effects of a chlorhexidine gel. *Journal of Periodontology*. 79(8):1419-25.
12. Türker M, Yücetaş Ş. (1997). *Oral implantoloji: Ağız, diş, çene hastalıkları ve cerrahisi*. Ankara: Atlas kitapçılık.
13. Abraham CM. (2014). A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. *The Open Dentistry Journal*. 8: 50-5.
14. Atilla G. (1993). A rare find in Anatolia--a tooth implant (mid-sixth century B.C.). *Journal of Oral Implantology*. 19(1):54-7.
15. Crubezy E, Murail P, Girard L, Bernadou JP. (1998). False teeth of the Roman world. *Nature*. 391(6662):29-30.
16. Becker MJ. (1999). Ancient "dental implants": a recently proposed example from France evaluated with other spurious examples. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 14(1):19-29.
17. Becker MJ. (1994). Spurious examples of ancient dental implants or appliances. Part two of a series. *Dental Anthropology Newsletter*. 9(1):5-10.

18. Irish JD. (2004). A 5,500 year old artificial human tooth from Egypt: a historical note. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 19(5):645-7.
19. Rudy RJ, Levi PA, Bonacci FJ, Weisgold AS, Engler-Hamm D. (2008). Intraosseous anchorage of dental prostheses: an early 20th century contribution. *Compendium Continuing Education Dentistry*. 29(4):220-2.
20. Block SM, Achong RM. (2004). Osseointegration. M. Miloro (Ed.). *Peterson's principles of oral and maxillofacial surgery* (s. 189-203). India: BC Decker Incorporation.
21. Schou S, Pallesen L, Hjorting-Hansen E, Pedersen CS, Fibaek B. (2000). A 41-year history of a mandibular subperiosteal implant. *Clinical Oral Implants Research*. 11(2):171-8.
22. Mioduski TE Jr ve Guinn NJ. (1990). Dental implants. Permanent replacement for lost teeth. *Association of periOperative Registered Nurses Journal*. 51(3):733-4.
23. Evasic RW. (1983). Intramucosal implants: a review of concepts and techniques--single inserts and tandem denserts. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 49(5):695-701.
24. Branemark P-I. (1985). Introduction to osseointegration. P.-I. Branemark, GA Zarb, T. Albrektsson (Ed.). *Tissue-Integrated Prostheses* (s. 11-77). Chicago: Quintessence Publishing.
25. Carlo LD, Pasqualini ME, Carinci F, Corradini M, Vannini F, Nardone M ve diğeri. (2013). A brief history and guidelines of blade implant technique: a retrospective study on 522 implants. *Annals of Oral and Maxillofacial Surgery*. 1(1):1-15.
26. Versteegh PA, van Beek G J, Slagter AP, Ottervanger JP. (1995). Clinical evaluation of mandibular overdentures supported by multiple-bar fabrication: a follow-up study of two implant systems. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 10(5):595-603.

27. Merickse-Stern R, Aerni D, Geering AH, Buser D. (2001). Long-term evaluation of non-submerged hollow cylinder implants. Clinical and radiographic results. *Clinical Oral Implants Research*. 12(3):252-9.
28. Takeshita F, Suetsugu T, Higuchi Y, Oishi M. (1996). Histologic study of failed hollow implants. *International Journal Oral and Maxillofacial Implants*. 11(2):245-50.
29. Carinci F. (2012). Effectiveness of one-piece implants inserted in cuspid sites. *Dental Research Journal*. 9(Ek 2): 147-50.
30. Barrachina-Diez JM, Tashkandi E, Stampf S, Att W. (2013). Long-term outcome of one-piece implants. Part II: Prosthetic outcomes. A systematic literature review with meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 28(6):1470-82.
31. Baer RA, Shanaman R, Clark PK, Medley M. (2013). A 3-year multicenter study of marginal bone level and soft tissue health of a 1-piece implant. *Implant Dentistry*. 22(4):366-73.
32. Barrachina-Diez JM, Tashkandi E, Stampf S, Att W. (2013). Long-term outcome of one-piece implants. Part I: implant characteristics and loading protocols. A systematic literature review with meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 28(2):503-18.
33. Petersson A, Rangert B, Randow K, Ericsson I. (2001). Marginal bone resorption at different treatment concepts using Branemark dental implants in anterior mandibles. *Clinical Implant Dentistry Related Research*. 3(3):142-7.
34. Erdogan O, Ucar Y, Tatli U, Sert M, Benlidayi ME, Evlice B. (2014). A clinical prospective study on alveolar bone augmentation and dental implant success in patients with type 2 diabetes. *Clinical Oral Implants Research*.
35. Quirynen M, Bollen CM, Eyssen H, van Steenberghe D. (1994). Microbial penetration along the implant components of the Branemark

- system. An in vitro study. *Clinical Oral Implants Research*. 5(4):239-44.
36. Boggan RS, Strong JT, Misch CE, Bidez MW. (1999). Influence of hex geometry and prosthetic table width on static and fatigue strength of dental implants. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 82(4):436-40.
 37. Binon PP, Weir DJ, Marshall SJ. (1992). Surface analysis of an original Branemark implant and three related clones. *International Journal of Oral and Maxillofac Implants*. 7(2):168-75.
 38. Rismanchian M, Hatami M, Badrian H, Khalighinejad N, Goroohi H. (2012). Evaluation of microgap size and microbial leakage in the connection area of 4 abutments with Straumann (ITI) implant. *Journal of Oral Implantology*. 38(6):677-85.
 39. Tsuge T, Hagiwara Y, Matsumura H. (2008). Marginal fit and microgaps of implant-abutment interface with internal anti-rotation configuration. *Dental Materials Journal*. 27(1):29-34.
 40. Fiorellini JP, Buser D, Paquette DW, Williams RC, Haghghi D, Weber HP. (1999). A radiographic evaluation of bone healing around submerged and non-submerged dental implants in beagle dogs. *Journal of Periodontology*. 70(3):248-54.
 41. Jansen VK, Conrads G, Richter EJ. (1997). Microbial leakage and marginal fit of the implant-abutment interface. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 12(4):527-40.
 42. Binon PP. (1996). The effect of implant/abutment hexagonal misfit on screw joint stability. *International Journal of Prosthodontics*. 9(2):149-60.
 43. Binon PP. (2000). Implants and components: entering the new millennium. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 15(1):76-94.

44. Abrahamsson I, Berglundh T, Lindhe J. (1998). Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 9(2):73-9.
45. Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. (2002). Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clinical Oral Implants Research*. 13(1):1-19.
46. Rimondini L, Marin C, Brunella F, Fini M. (2001). Internal contamination of a 2-component implant system after occlusal loading and provisionally luted reconstruction with or without a washer device. *Journal of Periodontology*. 72(12):1652-7.
47. Quirynen, M. and D. van Steenberghe, *Bacterial colonization of the internal part of two-stage implants. An in vivo study*. Clin Oral Implants Res, 1993. 4(3): p. 158-61.
48. Persson LG, Lekholm U, Leonhardt A, Dahlén G, Lindhe J. (1996). Bacterial colonization on internal surfaces of Branemark system implant components. *Clinical Oral Implants Research*. 7(2): 90-5.
49. Guindy JS, Besimo CE, Besimo R, Schiel H, Meyer J.(1998). Bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained implant-borne crowns in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*. 25(6):403-8.
50. Teixeira W, Ribeiro RF, Sato S, Pedrazzi V. (2011). Microleakage into and from two-stage implants: an in vitro comparative study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 26(1):56-62.
51. Piattelli A, Scarano A, Paolantonio M, Assenza B, Leghissa GC, Di Bonaventura G ve diğerleri. (2001). Fluids and microbial penetration in the internal part of cement-retained versus screw-retained implant-abutment connections. *Journal of Periodontology*. 72(9):1146-50.
52. Gross M, Abramovich I, Weiss EI. (1999). Microleakage at the abutment-implant interface of osseointegrated implants: a comparative study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 14(1):94-100.

53. Steinebrunner L, Wolfart S, Bössmann K, Kern M.(2005). In vitro evaluation of bacterial leakage along the implant-abutment interface of different implant systems. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 20(6):875-81.
54. do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, Albuquerque RF Jr. (2008). Bacterial leakage along the implant-abutment interface of premachined or cast components. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 37(2):177-80.
55. do Nascimento C, Barbosa RE, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque Junior RF. (2009). Use of checkerboard DNA-DNA hybridization to evaluate the internal contamination of dental implants and comparison of bacterial leakage with cast or pre-machined abutments. *Clinical Oral Implants Research*. 20(6):571-7.
56. do Nascimento C, Pedrazzi V, Miani PK, Moreira LD, de Albuquerque RF Jr. (2009). Influence of repeated screw tightening on bacterial leakage along the implant-abutment interface. *Clinical Oral Implants Research*. 20(12):1394-7.
57. Barbosa RE, do Nascimento C, Issa JP, Watanabe E, Ito IY, de Albuquerque RF Jr. (2009). Bacterial culture and DNA Checkerboard for the detection of internal contamination in dental implants. *Journal of Prosthodontics*. 18(5):376-81.
58. King GN, Hermann JS, Schoolfield JD, Buser D, Cochran DL. (2002). Influence of the size of the microgap on crestal bone levels in non-submerged dental implants: a radiographic study in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. 73(10):1111-7.
59. Callan DP, Cobb CM, Williams KB. (2005). DNA probe identification of bacteria colonizing internal surfaces of the implant-abutment interface: a preliminary study. *Journal of Periodontology*. 76(1):115-20.
60. Cosyn J, Van Aelst L, Collaert B, Persson GR, De Bruyn H. (2011). The peri-implant sulcus compared with internal implant and

- suprastructure components: a microbiological analysis. *Clinical Implant Dentistry Related Research*. 13(4):286-95.
61. Weng D¹, Nagata MJ, Bell M, Bosco AF, de Melo LG, Richter EJ. (2008). Influence of microgap location and configuration on the periimplant bone morphology in submerged implants. An experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. 19(11):1141-7.
 62. Keller W, Bragger U, Mombelli A. (1998). Peri-implant microflora of implants with cemented and screw retained suprastructures. *Clinical Oral Implants Research*. 9(4):209-17.
 63. Ericsson I, Persson LG, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J, Klinge B. (1995). Different types of inflammatory reactions in peri-implant soft tissues. *Journal of Clinical Periodontology*. 22(3):255-61.
 64. Ericsson I, Nilner K, Klinge B, Glantz PO. (1996). Radiographical and histological characteristics of submerged and nonsubmerged titanium implants. An experimental study in the Labrador dog. *Clinical Oral Implants Research*. 7(1): 20-6.
 65. Broggin N, McManus LM, Hermann JS, Medina RU, Oates TW, Schenk RK ve diğerleri. (2003). Persistent acute inflammation at the implant-abutment interface. *Journal of Dental Research*. 82(3):232-7.
 66. Hermann JS, Cochran DL, Nummikoski PV, Buser D. (1997). Crestal bone changes around titanium implants. A radiographic evaluation of unloaded nonsubmerged and submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. 68(11):1117-30.
 67. Tatarakis N, Bashutski J, Wang HL, Oh TJ. (2012). Early implant bone loss: preventable or inevitable? *Implant Dentistry*. 21(5):379-86.
 68. Piattelli A, Vrespa G, Petrone G, Iezzi G, Annibaldi S, Scarano A. (2003). Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *Journal of Periodontology*. 74(3):346-52.

69. Hermann JS, Buser D, Schenk RK, Cochran DL. (2000). Crestal bone changes around titanium implants. A histometric evaluation of unloaded non-submerged and submerged implants in the canine mandible. *Journal of Periodontology*. 71(9):1412-24.
70. Dixon DL, Breeding LC, Sadler JP, McKay ML. (1995). Comparison of screw loosening, rotation, and deflection among three implant designs. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 74(3):270-8.
71. Smith NA, Turkyilmaz I. (2014). Evaluation of the sealing capability of implants to titanium and zirconia abutments against *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Fusobacterium nucleatum* under different screw torque values. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 112(3):561-7.
72. Rangert B, Gunne J, Sullivan DY. (1991). Mechanical aspects of a Branemark implant connected to a natural tooth: an in vitro study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 6(2):177-86.
73. Larrucea Verdugo C, Jaramillo Núñez G, Acevedo Avila A, Larrucea San Martín C. (2013). Microleakage of the prosthetic abutment/implant interface with internal and external connection: In vitro study. *Clinical Oral Implants Research*.
74. Dibart S, Warbington M, Su MF, Skobe Z. (2005). In vitro evaluation of the implant-abutment bacterial seal: the locking taper system. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 20(5):732-7.
75. Jaworski ME, Melo AC, Picheth CM, Sartori IA. (2012). Analysis of the bacterial seal at the implant-abutment interface in external-hexagon and Morse taper-connection implants: an in vitro study using a new methodology. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 27(5):1091-5.
76. Tesmer M, Wallet S, Koutouzis T, Lundgren T. (2009). Bacterial colonization of the dental implant fixture-abutment interface: an in vitro study. *Journal of Periodontology*. 80(12):1991-7.

77. Breeding LC, Dixon DL, Nelson EW, Tietge JD. (1993). Torque required to loosen single-tooth implant abutment screws before and after simulated function. *International Journal of Prosthodontics*. 6(5):435-9.
78. Besimo CE, Guindy JS, Lewetag D, Meyer J. (1999). Prevention of bacterial leakage into and from prefabricated screw-retained crowns on implants in vitro. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 14(5):654-60.
79. Kalavathy N, Sridevi J, Gehlot R, Kumar S. (2014). "Platform switching": Serendipity. *Indian Journal of Dental Research*. 25(2):254-9.
80. Frenkel SR, Simon J, Alexander H, Dennis M, Ricci JL. (2002). Osseointegration on metallic implant surfaces: effects of microgeometry and growth factor treatment. *Journal of Biomedical Material Research*. 63(6):706-13.
81. Heitz-Mayfield, L.J.(2008). Peri-implant diseases: diagnosis and risk indicators. *Journal of Clinical Periodontology*. 35(Ek 8):292-304.
82. Lindhe J, Meyle J, D.o.E.W.o.P. Group. (2008). Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 35(Ek 8):282-5.
83. Lang NP, Tonetti MS. (2010). Peri-implantitis: etiology, pathogenesis, prevention, and therapy. S.J. Froum (Ed.). *Dental implant complications: etiology, prevention, and treatment* (s. 119-133). West Sussex: Wiley-Blackwell.
84. The American Academy of Periodontology. (2013). Peri-implant mucositis and peri-implantitis: a current understanding of their diagnoses and clinical implications. *Journal of Periodontology*. 84(4):436-43.
85. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. (1986). The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed

- criteria of success. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 1(1):11-25.
86. Quirynen M, Gijbels F, Jacobs R. (2003). An infected jawbone site compromising successful osseointegration. *Periodontology 2000*. 33:129-44.
87. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. (1998). Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (I). Success criteria and epidemiology. *European Journal of Oral Sciences*. 106(1):527-51.
88. Kohavi D, Klinger A, Steinberg D, Sela MN. (1995). Adsorption of salivary proteins onto prosthetic titanium components. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 74(5):531-4.
89. Salvi GE, Fürst MM, Lang NP, Persson GR. (2008). One-year bacterial colonization patterns of *Staphylococcus aureus* and other bacteria at implants and adjacent teeth. *Clinical Oral Implants Research*. 19(3):242-8.
90. Mombelli A, ve Lang NP. (2000). The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontology 2000*. 17:63-76.
91. Pontoriero R, Tonelli MP, Carnevale G, Mombelli A, Nyman SR, Lang NP. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clinical Oral Implants Research*. 5(4):254-9.
92. Lee A, Wang HL. (2010). Biofilm related to dental implants. *Implant Dentistry*. 19(5):387-93.
93. Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. (2005). Biofilm in implant infections: its production and regulation. *International Journal of Artificial Organs*. 28(11):1062-8.
94. Altun UH, Şener B. (2008). Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 39:82-88.

95. Agerbaek MR, Lang NP, Persson GR. (2006). Comparisons of bacterial patterns present at implant and tooth sites in subjects on supportive periodontal therapy. I. Impact of clinical variables, gender and smoking. *Clinical Oral Implants Research*. 17(1):18-24.
96. Casado PL, Otazu IB, Balduino A, de Mello W, Barboza EP, Duarte ME. (2011). Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Implant Dentistry*. 20(3):226-35.
97. Leonhardt A, Bergstrom C, Lekholm U. (2003). Microbiologic diagnostics at titanium implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 5(4):226-32.
98. Heydenrijk K, Meijer HJ, van der Reijden WA, Raghoobar GM, Vissink A, Stegenga B. (2002). Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 17(6): 829-38.
99. Mombelli A, Buser D, Lang NP. (1988). Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral Microbiology and Immunology*. 3(3):113-20.
100. Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. (2005). Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *Journal of Periodontology*. 76(9):1490-5.
101. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. (2008). Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clinical Oral Implants Research*. 19(10):975-82.
102. Tabanella G, Nowzari H, Slots J. (2009). Clinical and microbiological determinants of ailing dental implants. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 11(1):24-36.
103. Persson GR, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. (2006). Antimicrobial therapy using a local drug delivery system (Arestin) in

- the treatment of peri-implantitis. I: Microbiological outcomes. *Clinical Oral Implants Research*. 17(4):386-93.
104. Albertini M, López-Cerero L, O'Sullivan MG, Chereguini CF, Ballesta S, Ríos V ve diğerleri. (2014). Assessment of periodontal and opportunistic flora in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Reserach*.
 105. Danser MM, van Winkelhoff AJ, van der Velden U. (1997). Periodontal bacteria colonizing oral mucous membranes in edentulous patients wearing dental implants. *J Periodontology*. 68(3):209-16.
 106. Quirynen M ve Van Assche N. (2011). Microbial changes after full-mouth tooth extraction, followed by 2-stage implant placement. *Journal of Clinical Periodontology*. 38(6):581-9.
 107. van Winkelhoff AJ ve Wolf JW. (2000). Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated peri-implantitis in an edentulous patient. A case report. *Journal of Clinical Periodontology*. 27(7):531-5.
 108. Koyanagi T, Sakamoto M, Takeuchi Y, Ohkuma M, Izumi Y. (2010). Analysis of microbiota associated with peri-implantitis using 16S rRNA gene clone library. *Journal of Oral Microbiology*. 24(2).
 109. Alcoforado GA, Rams TE, Feik D, Slots J. (1990). Microbial aspects of failing osseointegrated dental implants in humans. *Journal de Parodontologie* 10: p. 11-18.
 110. Verdugo F, Castillo A, Castillo F, Uribarri A. (2014). Epstein-Barr virus associated peri-implantitis: a split-mouth study. *Clinical Oral Investigation*.
 111. Papaioannou W, Quirynen M, Van Steenberghe D. (1996). The influence of periodontitis on the subgingival flora around implants in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*. 7(4):405-9.

112. Quirynen M, Papaioannou W, van Steenberghe D. (1996). Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *Journal of Periodontology*. 67(10):986-93.
113. Zitzmann NU, Berglundh T, Marinello CP, Lindhe J. (2001). Experimental peri-implant mucositis in man. *Journal of Clinical Periodontology*. 28(6):517-23.
114. Berglundh T, Zitzmann NU, Donati M. (2011). Are peri-implantitis lesions different from periodontitis lesions? *Journal of Clinical Periodontology*. 38 (Ek 11):188-202.
115. Javed F, Al-Hezaimi K, Salameh Z, Almas K, Romanos GE. (2011). Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. *Cytokine*. 53(1):8-12.
116. Gualini F, Berglundh T. (2003). Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *Journal of Clinical Periodontology*. 30(1):14-8.
117. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello CP, Liljenberg B, Thomsen P. (1991). The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical Oral Implants Research*. 2(2):81-90.
118. Bobia F, Pop RV. (2010). Periimplantitis. Aetiology, diagnosis, treatment. A review from the literature. *Current Health Sciences Journal*. 36(3):171-175.
119. Schou S, Holmstrup P, Stoltze K, Hjørting-Hansen E, Kornman KS. (1993). Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth. *Clinical Oral Implants Research*. 4(1):12-22.
120. Schou S, Holmstrup P, Reibel J, Juhl M, Hjørting-Hansen E, Kornman KS. (1993). Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth: stereologic and histologic observations in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of Periodontology*. 64(6):529-37.

121. Ramanauskaite A, Baseviciene N, Wang HL, Tözüm TF. (2014). Effect of History of Periodontitis on Implant Success: Meta-Analysis and Systematic Review. *Implant Dentistry*.
122. Schou S, Holmstrup P, Worthington HV, Esposito M. (2006). Outcome of implant therapy in patients with previous tooth loss due to periodontitis. *Clinical Oral Implants Research*. 17 (Ek 2):104-23.
123. Karoussis IK, Kotsovilis S, Fourmouis I. (2007). A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*. 18(6):669-79.
124. Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJ, Brägger U, Hämmerle CH, Lang NP. (2003). Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clinical Oral Implants Research*. 14(3):329-39.
125. Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. (1997) Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: a 10-year follow-up study. *Journal of Dental Research*. 76(10):1667-74.
126. Karbach J, Callaway A, Kwon YD, d'Hoedt B, Al-Nawas B. (2009). Comparison of five parameters as risk factors for peri-mucositis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 24(3):491-6.
127. Klokkevold PR, Han TJ. (2007). How do smoking, diabetes, and periodontitis affect outcomes of implant treatment? *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 22 (Ek):173-202.
128. Heitz-Mayfield LJ ve Huynh-Ba G. (2009). History of treated periodontitis and smoking as risks for implant therapy. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 24 (Ek): 39-68.

129. Rinke S, Ohl S, Ziebolz D, Lange K, Eickholz P. (2011). Prevalence of periimplant disease in partially edentulous patients: a practice-based cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research*. 22(8):826-33.
130. Fransson C, Wennstrom J, Berglundh T. (2008). Clinical characteristics at implants with a history of progressive bone loss. *Clinical Oral Implants Research*. 19(2):142-7.
131. Clementini M, Rossetti PH, Penarrocha D, Micarelli C, Bonachela WC, Canullo L. (2014). Systemic risk factors for peri-implant bone loss: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 43(3):323-34.
132. Bormann KH, Stühmer C, Z'Graggen M, Kokemöller H, Rücker M, Gellrich NC. (2010). IL-1 polymorphism and periimplantitis. A literature review. *Schweiz Monatsschr Zahnmed Journal*. 120(6):510-20.
133. Aalam AA. ve Nowzari H. (2005). Clinical evaluation of dental implants with surfaces roughened by anodic oxidation, dual acid-etched implants, and machined implants. *International Journal of Oral Maxillofacial Implants*. 20(5):793-8.
134. Máximo MB, de Mendonça AC, Alves JF, Cortelli SC, Peruzzo DC, Duarte PM. (2008). Peri-implant diseases may be associated with increased time loading and generalized periodontal bone loss: preliminary results. *Journal of Oral Implantology*. 34(5):268-73.
135. Laine, M.L., et al., *IL-1RN gene polymorphism is associated with peri-implantitis*. *Clin Oral Implants Res*, 2006. 17(4): p. 380-5.
136. Laine ML, Leonhardt A, Roos-Jansåker AM, Peña AS, van Winkelhoff AJ, Winkel EG ve diğerleri. (2005). Clinical consequences of IL-1 genotype on early implant failures in patients under periodontal maintenance. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 7(1):51-9.

137. Rungsiyakull C, Rungsiyakull P, Li Q, Li W, Swain M. (2011). Effects of occlusal inclination and loading on mandibular bone remodeling: a finite element study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 26(3):527-37.
138. Bornstein MM, Cionca N, Mombelli A. (2009). Systemic conditions and treatments as risks for implant therapy. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 24 (Ek):. 12-27.
139. Salvi GE, Carollo-Bittel B, Lang NP. (2008). Effects of diabetes mellitus on periodontal and peri-implant conditions: update on associations and risks. *Journal of Clinical Periodontology* 35(Ek 8):398-409.
140. Krennmair G, Seemann R, Piehslinger E. (2010). Dental implants in patients with rheumatoid arthritis: clinical outcome and peri-implant findings. *Journal of Clinical Periodontology*. 37(10):928-36.
141. Galindo-Moreno P, Fauri M, Avila-Ortiz G, Fernández-Barbero JE, Cabrera-León A, Sánchez-Fernández E. (2005). Influence of alcohol and tobacco habits on peri-implant marginal bone loss: a prospective study. *Clinical Oral Implants Research*. 16(5):579-86.
142. Deco CP, Marchini AM, Marchini L, Rocha RF. (2014). Extended periods of alcohol intake negatively affects osseointegration in rats. *Journal of Oral Implantology*.
143. Mombelli A, Marxer M, Gaberthüel T, Grunder U, Lang NP. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 22(2):124-30.
144. Roccuzzo M, Bonino F, Aglietta M, Dalmaso P. (2012). Ten-year results of a three arms prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients. Part 2: clinical results. *Clinical Oral Implants Research*. 23(4):389-95.

145. Ferreira SD, Silva GL, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of Clinical Periodontology*. 33(12):929-35.
146. Lang NP, Berglundh T, and Working Group 4 of Seventh European Workshop on Periodontology. (2011). Periimplant diseases: where are we now?--Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*. 38 (Ek 11):178-81.
147. Leonhardt A, Renvert S, Dahlen G. (1999). Microbial findings at failing implants. *Clinical Oral Implants Research*. 10(5):339-45.
148. Salcetti JM, Moriarty JD, Cooper LF, Smith FW, Collins JG, Socransky SS ve diğerleri. (1997).The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 12(1):32-42.
149. Ha KY, Chung YG, Ryoo SJ. (2005). Adherence and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* and *Mycobacterium tuberculosis* on various spinal implants. *Spine (Phila Pa 1976)*. 30(1):38-43.
150. Harris LG, Foster SJ, Richards RG. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *European Cell Material*. 4:39-60.
151. Rams TE, Feik D, Slots J. (1990). *Staphylococci* in human periodontal diseases. *Oral Microbiology and Immunology*. 5(1):29-32.
152. Harris LG¹, Mead L, Müller-Oberländer E, Richards RG. (2006). Bacteria and cell cytocompatibility studies on coated medical grade titanium surfaces. *Journal of Biomedical Material Research Part A*. 78(1):50-8.
153. Renvert S, Lindahl C, Renvert H, Persson GR. (2008). Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Branemark or AstraTech implants: a 7-year follow-up study. *Clinical Oral Implants Research*. 19(4):342-7.

154. Cook GS, Costerton JW, Lamont RJ. (1998). Biofilm formation by *Porphyromonas gingivalis* and *Streptococcus gordonii*. *Journal of Periodontal Research*. 33(6):323-7.
155. Rosan B ve Lamont RJ. (2000). Dental plaque formation. *Microbes Infect Journal*. 2(13):1599-607.
156. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in Microbiology*. 13(1):34-40.
157. Drenkard E. (2003). Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes and Infection*. 5(13):1213-9.
158. Sbordone L ve Bortolaia C. (2003). Oral microbial biofilms and plaque-related diseases: microbial communities and their role in the shift from oral health to disease. *Clinical Oral Investigation*. 7(4):181-8.
159. Mombelli A. ve Decaillet F. (2011). The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 38 (Ek 11):203-13.
160. Saini R, Saini S ve Sharma S. (2011). Biofilm: A dental microbial infection. *Journal of National Science, Biology and Medicine*. 2(1):71-5.
161. Socransky SS ve Haffajee AD. (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000*. 28:12-55.
162. Graziani F, Figuero E, Herrera D. (2012). Systematic review of quality of reporting, outcome measurements and methods to study efficacy of preventive and therapeutic approaches to peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology*. 39 (Ek 12):224-44.
163. Hallström H, Persson GR, Lindgren S, Olofsson M, Renvert S. (2012). Systemic antibiotics and debridement of peri-implant mucositis. A randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 39(6):574-81.

164. Augthun M, Tinschert J, Huber A. (1998). In vitro studies on the effect of cleaning methods on different implant surfaces. *Journal of Periodontology*. 69(8):857-64.
165. Unursaikhan O, Lee JS, Cha JK, Park JC, Jung UW, Kim CS ve diğ erleri. (2012).Comparative evaluation of roughness of titanium surfaces treated by different hygiene instruments. *Journal of Periodontal Implant Science*. 42(3): 88-94.
166. Figuero E, Graziani F, Sanz I, Herrera D, Sanz M. (2014). Management of peri-implant mucositis and peri-implantitis.*Periodontology 2000*. 66(1):255-73.
167. Louropoulou A, Slot DE, Van der Weijden FA. (2012). Titanium surface alterations following the use of different mechanical instruments: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*. 23(6):643-58.
168. Persson GR, Samuelsson E, Lindahl C, Renvert S. (2010). Mechanical non-surgical treatment of peri-implantitis: a single-blinded randomized longitudinal clinical study. II. Microbiological results. *Journal of Clinical Periodontology*. 37(6):563-73.
169. Schwarz F, Rothamel D, Sculean A, Georg T, Scherbaum W, Becker J. (2003). *Effects of an Er:YAG laser and the Vector ultrasonic system on the biocompatibility of titanium implants in cultures of human osteoblast-like cells*.*Clinical Oral Implants Research*. 14(6):784-92.
170. Porras R, Anderson GB, Caffesse R, Narendran S, Trejo PM. (2002). Clinical response to 2 different therapeutic regimens to treat peri-implant mucositis. *Journal of Periodontology*. 73(10):1118-25.
171. Schenk G, Flemmig TF, Betz T, Reuther J, Klaiber B. (1997). Controlled local delivery of tetracycline HCl in the treatment of periimplant mucosal hyperplasia and mucositis. A controlled case series. *Clinical Oral Implants Research*. 8(5):427-33.

172. Claffey N, Clarke E, Polyzois I, Renvert S. (2008). Surgical treatment of peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*. 35(Ek 8):316-32.
173. Mishler OP ve Shiau HJ. (2014). Management of peri-implant disease: a current appraisal. *Journal of Evidence Based Dental Practice*. 14 (Ek):53-9.
174. Tastepe CS, van Waas R, Liu Y, Wismeijer D. (2012). Air powder abrasive treatment as an implant surface cleaning method: a literature review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 27(6):1461-73.
175. Chairay JP, Boulekbache H, Jean A, Soyer A, Bouchard P. (1997). Scanning electron microscopic evaluation of the effects of an air-abrasive system on dental implants: a comparative in vitro study between machined and plasma-sprayed titanium surfaces. *Journal of Periodontology*. 68(12):1215-22.
176. Bergendal T, Forsgren L, Kvint S, Löwstedt E. (1990).The effect of an airbrasive instrument on soft and hard tissues around osseointegrated implants. A case report. *Swedish Dental Journal*. 14(5):219-23.
177. Finlayson RS, Stevens FD. (1988). Subcutaneous facial emphysema secondary to use of the Cavi-Jet. *Journal of Periodontology*. 59(5):315-7.
178. Valderrama P, Blansett JA, Gonzalez MG, Cantu MG, Wilson TG. (2014). Detoxification of Implant Surfaces Affected by Peri-Implant Disease: An Overview of Non-surgical Methods. *The Open Dentistry Journal*. 8:77-84.
179. Persson GR, Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert S. (2011). Microbiologic results after non-surgical erbium-doped:yttrium, aluminum, and garnet laser or air-abrasive treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*. 82(9):1267-78.

180. Kotsakis GA, Konstantinidis I, Karoussis IK, Ma X, Chu H. (2014). Systematic review and meta-analysis of the effect of various laser wavelengths in the treatment of peri-implantitis. *Journal of Periodontology*. 85(9):1203-13.
181. Mailoa J, Lin GH, Chan HL, MacEachern M, Wang HL. (2014). Clinical outcomes of using lasers for peri-implantitis surface detoxification: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*. 85(9):1194-202.
182. Yamamoto A. ve Tanabe T. (2013). Treatment of peri-implantitis around TiUnite-surface implants using Er:YAG laser microexplosions. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 33(1):21-30.
183. Kreisler M, Gotz H, Duschner H. (2002). Effect of Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, CO₂, and GaAlAs laser irradiation on surface properties of endosseous dental implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 17(2):202-11.
184. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY ve diğerleri. (2009). Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontology 2000*. 51:109-40.
185. Haas R, Dörtbudak O, Mensdorff-Pouilly N, Mailath G. (1997). Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. An in vitro study. *Clinical Oral Implants Research*. 8(4):249-54.
186. Meisel P. ve Kocher T. (2005). Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*. 79(2):159-70.
187. Al-Ahmad A, Tennert C, Karygianni L, Wrbas KT, Hellwig E, Altenburger MJ. (2013). Antimicrobial photodynamic therapy using

- visible light plus water-filtered infrared-A (wIRA). *Journal of Medical Microbiology*. 62(3):467-73.
188. Büchter A, Kleinheinz J, Meyer U, Joos U. (2004). Treatment of severe peri-implant bone loss using autogenous bone and a bioabsorbable polymer that delivered doxycycline (Atridox). *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 42(5):454-6.
189. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. (2006). Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 33(5):362-9.
190. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Renvert H, Lindahl C. (2008). Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*. 79(5):836-44.
191. Schwarz F, Jepsen S, Herten M, Sager M, Rothamel D, Becker J. (2006). Influence of different treatment approaches on non-submerged and submerged healing of ligature induced peri-implantitis lesions: an experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*. 33(8):584-95.
192. Schwarz F, Sahm N, Bieling K, Becker J. (2009). Schwarz, F., et al., *Surgical regenerative treatment of peri-implantitis lesions using a nanocrystalline hydroxyapatite or a natural bone mineral in combination with a collagen membrane: a four-year clinical follow-up report.* *Journal of Clinical Periodontology*. 36(9):807-14.
193. Khoury F ve Buchmann R. (2001). Surgical therapy of peri-implant disease: a 3-year follow-up study of cases treated with 3 different techniques of bone regeneration. *Journal of Periodontology*. 72(11):1498-508.

194. Schou S, Berglundh T, Lang NP. (2004). Surgical treatment of peri-implantitis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 19 (Ek):140-9.
195. Dennison DK, Huerzeler MB, Quinones C, Caffesse RG. (1994). Contaminated implant surfaces: an in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *Journal of Periodontology*. 65(10):942-8.
196. de Waal YC, Raghoobar GM, Huddleston Slater JJ, Meijer HJ, Winkel EG, van Winkelhoff AJ. (2013). Implant decontamination during surgical peri-implantitis treatment: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 40(2):186-95.
197. Lan WC, Lan WH, Chan CP, Hsieh CC, Chang MC, Jeng JH. (1999). The effects of extracellular citric acid acidosis on the viability, cellular adhesion capacity and protein synthesis of cultured human gingival fibroblasts. *Australian Dental Journal*. 44(2):123-30.
198. Javed F, Alghamdi AS, Ahmed A, Mikami T, Ahmed HB, Tenenbaum HC. (2013). Clinical efficacy of antibiotics in the treatment of peri-implantitis. *International Dental Journal*. 63(4):169-76.
199. Renvert S, Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Rutger Persson G. (2007). Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. *Clinical Oral Implants Research*. 18(4):509-16.
200. Carcuac O, Abrahamsson I, Charalampakis G, Berglundh T. (2014). The effect of the local use of chlorhexidine in surgical treatment of experimental peri-implantitis in dogs. *Journal of Clinical Periodontology*.
201. Parma-Benfenati S, Roncati M, Tinti C. (2013). Treatment of peri-implantitis: surgical therapeutic approaches based on peri-implantitis

- defects. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 33(5):627-33.
202. Leonhardt A, Dahlen G, Renvert S. (2003). Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *Journal of Periodontology*. 74(10):1415-22.
203. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein JM. (2014). Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis--a review. *Head and Face Medicine*. 10:34.
204. Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, Vogel G. (2005). Therapy of peri-implantitis with resective surgery. A 3-year clinical trial on rough screw-shaped oral implants. Part I: clinical outcome. *Clinical Oral Implants Research*. 16(1):9-18.
205. Rimondini L, Cicognani Simoncini F, Carrassi A. (2000). Micro-morphometric assessment of titanium plasma-sprayed coating removal using burs for the treatment of peri-implant disease. *Clinical Oral Implants Research*. 11(2):129-38.
206. Rodrigues DC, Urban RM, Jacobs JJ, Gilbert JL. (2009). In vivo severe corrosion and hydrogen embrittlement of retrieved modular body titanium alloy hip-implants. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 88(1):206-19.
207. Kutlu HB, Genc T, Tozum TF. (2014). Treatment of Refractory Apical Peri-implantitis: A Case Report. *Journal of Oral Implantology*.
208. Khoshkam V, Chan HL, Lin GH, MacEachern MP, Monje A, Suarez F, Giannobile WV ve diğerleri. (2013). Reconstructive procedures for treating peri-implantitis: a systematic review. *Journal of Dental Research*. 92(Ek 12):131S-8S.
209. Nociti FH Jr, Caffesse RG, Sallum EA, Machado MA, Stefani CM, Sallum AW. (2000). Evaluation of guided bone regeneration and/or bone grafts in the treatment of ligature-induced peri-implantitis

- defects: a morphometric study in dogs. *Journal of Oral Implantology*. 26(4):244-9.
210. Roos-Jansaker, A.M., et al., *Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a 5-year follow-up*. *J Clin Periodontol*, 2014. 41(11): p. 1108-14.
 211. Roos-Jansåker AM, Renvert H, Lindahl C, Renvert S. (2007). *Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: a prospective cohort study*. *Journal of Clinical Periodontology*. 34(7):625-32.
 212. Wetzel AC, Vlassis J, Caffesse RG, Hämmerle CH, Lang NP. (1999). Attempts to obtain re-osseointegration following experimental peri-implantitis in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. 10(2):111-9.
 213. Schwarz F, Sahm N, Iglhaut G, Becker J. (2011). Impact of the method of surface debridement and decontamination on the clinical outcome following combined surgical therapy of peri-implantitis: a randomized controlled clinical study. *Journal of Clinical Periodontology*. 38(3):276-84.
 214. Matarasso S, Iorio Siciliano V, Aglietta M, Andreuccetti G, Salvi GE. (2014). Clinical and radiographic outcomes of a combined resective and regenerative approach in the treatment of peri-implantitis: a prospective case series. *Clinical Oral Implants Research*. 25(7):761-7.
 215. Lang NP, Wilson TG, Corbet EF. (2000). Biological complications with dental implants: their prevention, diagnosis and treatment. *Clinical Oral Implants Research*. 11 (Ekl 1):146-55.
 216. Lang NP, Berglundh T, Heitz-Mayfield LJ, Pjetursson BE, Salvi GE, Sanz M.(2004). Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 19 (Ek):150-4.

217. Frisch E, Ziebolz D, Vach K, Ratka-Krüger P. (2014). Supportive post-implant therapy: patient compliance rates and impacting factors: 3-year follow-up. *Journal of Clinical Periodontology*. 41(10):1007-14.
218. Padial-Molina M, Suarez F, Rios HF, Galindo-Moreno P, Wang HL. (2014). Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Peri-implant Diseases. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 34(6): e102-11.
219. Block SS. (2001). Historical review. SS Block (Ed.). *Disinfection, sterilization and preservation* (s. 3-18). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
220. Özer M. (2003). Dişhekimliğinde farklı anabilim dallarında dezenfeksiyon ve sterilizasyon. M. Günaydın ve Sünbül, M (Ed.). *3. sterilizasyon ve dezenfeksiyon kongresi* (s. 462-474). Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi.
221. Cengiz AT. (2004). Tıp ve dişhekimliği mikrobiyolojisine giriş. A.T. Cengiz ve A. Aydın (Ed.). *Tıp ve dişhekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji* (s. 4-15). Ankara: Güneş Kitabevi
222. Töreci K. (2003). Düünden bugüne sterilizasyon, dezenfeksiyon, antisepti. M. Günaydın ve M. Sünbül (Ed.). *3. sterilizasyon ve dezenfeksiyon kongresi* (s. 23-36). Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi.
223. Fraise AP. (2004) Historical introduction. A.P. Fraise, P.A. Lambert ve J-Y Maillard (Ed.). *Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization* (s. 3-8) UK: Blackwell Publishing:
224. Salman FT. (2010). İnfeksiyon ve cerrahlar. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*. 24((Ek 2)):1-11.
225. Thrash RJ, Reich RR. (2001) Physical factors influencing the activity of antimicrobial agents. S.S. Block (Ed.). *Disinfection, Sterilization and Preservation* (s. 57-65). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins

226. Russell AD. (2004). Factors influencing the efficacy of antimicrobial agents. A.P. Fraise, P.A. Lambert ve J-Y Maillard (Ed.). *Russel, Hugo and Ayliffe's Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization* (s. 98-128).Oxford: Blackwell Publishing.
227. Eryılmaz M, Akın A. (2008). Dezenfeksiyon ve antisepsi. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 37 (4):311-331.
228. Sultan N. (2009). Dezenfektan Aktivitesini Etkileyen Faktörler ve Dezenfektan Etkinliğinin Değerlendirilmesi. 6. *Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi* (s.121-137). Ankara: Bilimsal Tıp Yayınevi.
229. Moore LS, Payne DN. (2004). Types of antimicrobial agents. A.P. Fraise, P.A. Lambert, J-Y Maillard. (Ed.). *Russel, Hugo and Ayliffe's Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization* (s. 8-98). Oxford: Blackwell Publishing.
230. Power EGM. (1997). Aldehydes as biocides. G.P. Ellis, D.K. Luscombe (Ed.). *Progress in medicinal chemistry* (s.149-201). Hollanda: Elsevier Science BV.
231. Gorman S, Scott E. (2004). Chemical disinfectants, antiseptics and preservatives. S.P. Denyer, N.A. Hodges, S.P. Gorman. (Ed.). *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology* (s. 285-305). Oxford: Blackwell Publishing.
232. Özdemir D. (2002). Dezenfektanlara Direnç. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*. 4(3):39-44.
233. McDonnell G ve Russell AD. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiol Reviews*. 12(1):147-79.
234. Greenstein G, Berman C, Jaffin R. (1986). Chlorhexidine. An adjunct to periodontal therapy. *Journal of Periodontology*. 57(6): 370-7.
235. Denton G.(2001). *Chlorhexidine*. S.S. Block (Ed.). *Disinfection, Sterilization and Preservation* (s. 321-337). Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins.

236. Krautheim AB, Jermann TH, Bircher AJ.(2004). Chlorhexidine anaphylaxis: case report and review of the literature. *Contact Dermatitis*. 50(3):113-6.
237. Longworth AR. (1971). *Chlorhexidine*. W.B. Hugo (Ed.). *Inhibition and destruction of the microbial cell* (s.95-106). London: Academic Press.
238. World Health Organization. (2003), 4-Chloroaniline. *Concise International Chemical Assessment Document no.48*. 2003. Geneva.
239. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L ve diğerleri. (2003). Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *International Endodontic Journal*. 36(4):267-75.
240. Beighton D, Decker J, Homer KA. (1991). Effects of chlorhexidine on proteolytic and glycosidic enzyme activities of dental plaque bacteria. *Journal of Clinical Periodontology*. 18(2): 85-9.
241. Hennessey TS. (1973).Some antibacterial properties of chlorhexidine. *Journal of Periodontal Research*. 12(Ek): 61-7.
242. Netuschil L, Reich E, Brex M. (1989). Direct measurement of the bactericidal effect of chlorhexidine on human dental plaque. *Journal of Clinical Periodontology*. 16(8): 484-8.
243. Schiott CR, Löe H, Jensen SB, Kilian M, Davies RM, Glavind K. (1970).The effect of chlorhexidine mouthrinses on the human oral flora. *Journal of Periodontal Research*. 5(2): 84-9.
244. Mohammadi Z, ve Abbott PV.(2009). The properties and applications of chlorhexidine in endodontics.*International Endodontic Journal*. 42(4): 288-302.
245. Pucher JJ ve Daniel JC. (1992). The effects of chlorhexidine digluconate on human fibroblasts in vitro. *Journal of Periodontology*. 63(6): 526-32.

246. Mariotti AJ ve Rumpf DA. (1999). Chlorhexidine-induced changes to human gingival fibroblast collagen and non-collagen protein production. *Journal of Periodontology*. 70(12):1443-8.
247. Jones DS, Gorman SP, McCafferty DF, Woolfson AD. (1991). The effects of three non-antibiotic, antimicrobial agents on the surface hydrophobicity of certain micro-organisms evaluated by different methods. *Journal of Applied Bacteriology*. 71(3): 218-27.
248. Schroeder HE. (1969). Formation and inhibition of dental calculus. *Journal of Periodontology*. 40(11): 643-6.
249. Loe H ve Schiott CR. (1970). The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *Journal of Periodontal Research*. 5(2): 79-83.
250. Loe H, Schiött CR, Karring G, Karring T. (1976). Two years oral use of chlorhexidine in man. I. General design and clinical effects. *Journal of Periodontal Research*. 11(3):135-44.
251. al-Tannir MA ve Goodman HS. (1994). A review of chlorhexidine and its use in special populations. *Special Care Dentistry*. 14(3):116-22.
252. Pilloni A, Zeza B, Mongardini C, Dominici F, Cassini MA, Polimeni A. (2013). A preliminary comparison of the effect of 0.3% versus 0.2% chlorhexidine mouth rinse on de novo plaque formation: a monocentre randomized double-blind crossover trial. *International Journal of Dental Hygienist*. 11(3):198-202.
253. Rolla G, Loe H, Schiott CR. (1970). The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *Journal of Periodontal Research*. 5(2): 90-5.
254. Bonesvoll P, Lokken P, Rolla G. (1974). Influence of concentration, time, temperature and pH on the retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. *Archive of Oral Biology*. 19(11):1025-9.

255. Gjeremo P.(1974). Chlorhexidine in dental practice. *Journal of Clinical Periodontology*. 1(3):143-52.
256. Bonesvoll P. (1977). Oral pharmacology of chlorhexidine. *Journal of Clinical Periodontology*. 4(5):49-65.
257. Grenier D.(1996). Effect of chlorhexidine on the adherence properties of *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Periodontology*. 23(2):140-2.
258. Gendron R, Grenier D, Sorsa T, Mayrand D. (1999). Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 6(3): 437-9.
259. Cronan CA, Potempa J, Travis J, Mayo JA. (2006). Inhibition of *Porphyromonas gingivalis* proteinases (gingipains) by chlorhexidine: synergistic effect of Zn(II). *Oral Microbiology and Immunology*. 21(4): 212-7.
260. Machtei EE, Frankenthal S, Levi G, Elimelech R, Shoshani E, Rosenfeld O. (2012). Treatment of peri-implantitis using multiple applications of chlorhexidine chips: a double-blind, randomized multi-centre clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*. 39(12): 1198-205.
261. Kozlovsky A, Artzi Z, Moses O, Kamin-Belsky N, Greenstein RB. (2006). Interaction of chlorhexidine with smooth and rough types of titanium surfaces. *Journal of Periodontology*. 77(7): 1194-200.
262. Paradiso P, Galante R, Santos L, Alves de Matos AP, Colaço R, Serro AP ve diğerleri. (2014). Comparison of two hydrogel formulations for drug release in ophthalmic lenses. *Journal of Biomedical Mater Research B Applied Biomaterials*.
263. Stanislawczuk R, Reis A, Malaquias P, Pereira F, Farago PV, Meier MM, Loguercio AD. (2014). Mechanical properties and modeling of drug release from chlorhexidine-containing etch-and-rinse adhesives. *Dental Materials*. 30(4): 392-9.

264. Cheung HY, Wong MM, Cheung SH, Liang LY, Lam YW, Chiu SK. (2012). Differential actions of chlorhexidine on the cell wall of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *PLoS One*. 7(5): e36659.
265. Johansen JR, Gjermo P, Eriksen HM. (1975). Effect of 2-years' use of chlorhexidine-containing dentifrices on plaque, gingivitis, and caries. *Scandinavian Journal of Dental Research*. 83(5): 288-92.
266. Mackenzie IC, Nuki K, L e H, Schi ott CR. (1976). Two years oral use of chlorhexidine in man. V. Effects on stratum corneum of oral mucosa. *Journal of Periodontal Research*. 11(3):165-71.
267. Nuki K, Schlenker R, L e H, Schi ott CR. (1976). Two years oral use of chlorhexidine in man. VI. Effect on oxidative enzymes in oral epithelia. *Journal of Periodontal Research*. 11(3):172-5.
268. Case DE. (1977). Safety of Hibitane. I. Laboratory experiments. *Journal of Clinical Periodontology*. 4(5):66-,2.
269. Winrow MJ. (1973). Metabolic studies with radiolabelled chlorhexidine in animals and man. *Journal of Periodontal Research*. 12(Ek): 45-8.
270. Fardal Ove Turnbull RS. (1986). A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *Journal of American Dental Association*. 112(6): 863-9.
271. Flotra L.(1973). Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *Journal of Periodontal Research*. 12(Ek):41-4.
272. Van der Weijden GA, Ten Heggeler JM, Slot DE, Rosema NA, Van der Velden U. (2010). Parotid gland swelling following mouthrinse use. *International Journal of Dental Hygienist*. 8(4): 276-9.
273. Christian MM, Cox DO, Smith CV, Onouye T, Moy RL. (2001). Ocular damage due to chlorhexidine versus eyeshield thermal injury. *Dermatologic Surgery*. 27(2):153-7.

274. Klimm W, Janz S, Gabert A. (1989). Experimental research on the genotoxicity of various root canal antiseptics in the SOS chromotest (Özet). *Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl.* 77(2):128-30.
275. Moghadam BK, Drisko CL, Gier RE. (1991). Chlorhexidine mouthwash-induced fixed drug eruption. Case report and review of the literature. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology.* 71(4): 431-4.
276. Faria G, Cardoso CR, Larson RE, Silva JS, Rossi MA. (2009). Chlorhexidine-induced apoptosis or necrosis in L929 fibroblasts: A role for endoplasmic reticulum stress. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 234(2): 256-65.
277. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. (2008). Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicology In Vitro.* 22(2): 308-17.
278. Chang YC, Huang FM, Tai KW, Chou MY. (2001). *The effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine on cultured human periodontal ligament cells.* *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics.* 92(4):446-50.
279. Cabral CT ve Fernandes MH. (2007). In vitro comparison of chlorhexidine and povidone-iodine on the long-term proliferation and functional activity of human alveolar bone cells. *Clinical Oral Investigation.* 11(2):155-64.
280. Li YC, Kuan YH, Lee SS, Huang FM, Chang YC. (2014). Cytotoxicity and genotoxicity of chlorhexidine on macrophages in vitro. *Environmental Toxicology.* 29(4):452-8.
281. Alleyn CD, O'Neal RB, Strong SL, Scheidt MJ, Van Dyke TE, McPherson JC. (1991). The effect of chlorhexidine treatment of root surfaces on the attachment of human gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Periodontology.* 62(7): 434-8.
282. Sanchez IR, Nusbaum KE, Swaim SF, Hale AS, Henderson RA, McGuire JA. (1988). Chlorhexidine diacetate and povidone-iodine

- cytotoxicity to canine embryonic fibroblasts and *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Surgery*. 17(4):182-5.
283. Saatman RA, Carlton WW, Hubben K, Streett CS, Tuckosh JR, DeBaecke PJ. (1986) A wound healing study of chlorhexidine digluconate in guinea pigs. (Özet) *Fundamental and Applied Toxicology*. 6(1):1-6.
284. Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Løe H, Schiott CR. (1970). Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. *Journal of Periodontal Research*. 5(3):177-82.
285. Eren K, Özmeric N, Sardas S. (2002). Monitoring of buccal epithelial cells by alkaline comet assay (single cell gel electrophoresis technique) in cytogenetic evaluation of chlorhexidine. *Clinical Oral Investigation*. 6(3):150-4.
286. Ribeiro DA, Bazo AP, da Silva Franchi CA, Marques ME, Salvadori DM. (2004). Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. *Journal of Periodontal Research*. 39(5):358-61.
287. Grassi TF, Camargo EA, Salvadori DM, Marques ME, Ribeiro DA. (2007). DNA damage in multiple organs after exposure to chlorhexidine in Wistar rats. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 210(2):163-7.
288. Hikiba H, Watanabe E, Barrett JC, Tsutsui T. (2005). Ability of fourteen chemical agents used in dental practice to induce chromosome aberrations in Syrian hamster embryo cells. *Journal of Pharmacological Sciences*. 97(1):146-52.
289. Patel VF, Liu F, Brown MB. (2011). Advances in oral transmucosal drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 153(2):106-16.
290. Aktas A, Giray B. (2009). Oral kaviteye uygulanan ilaç taşıyıcı sistemler. *Türkiye Klinikleri*. 15(2):109-117.

291. Salamat-Miller N, Chittchang M, Johnston TP. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 57(11):1666-91.
292. Galey WR, Lonsdale HK, Nacht S. (1976). The in vitro permeability of skin and buccal mucosa to selected drugs and tritiated water. *Journal of Investigative Dermatology*. 67(6):713-7.
293. Sankar V, Hearnden V, Hull K, Juras DV, Greenberg MS, Kerr AR ve diğeri. (2011). Local drug delivery for oral mucosal diseases: challenges and opportunities. *Oral Diseases*. 17(Ek 1):73-84.
294. Sudhakar Y, Kuotsu K, Bandyopadhyay AK. (2006). Buccal bioadhesive drug delivery--a promising option for orally less efficient drugs. *Journal of Controlled Release*. 114(1):15-40.
295. Irwin CR, McCullough KC, Jones DS. (2003). Chlorhexidine-containing mucoadhesive polymeric compacts designed for use in the oral cavity: an examination of their physical properties, in vitro/in vivo drug release properties and clinical acceptability. *Journal of Material Sciences: Materials in Medicine*. 14(10): 825-32.
296. Siddiqui MDN, Garg G, Sharma PK,. (2011). A Short Review on "A Novel Approach in Oral Fast Dissolving Drug Delivery System and Their Patents".*Advances in Biological Research*. 5(6): 291-303.
297. Bala R, Pawar P, Khanna S, Arora S. (2013). Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system.*International Journal of Pharmaceutical Investigation*. 3(2): 67-76.
298. Marwaha M ve Bhat M. (2010). Antimicrobial effectiveness of chlorhexidine chewing gums on Streptococcus mutans counts--an in vivo microbiological study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 35(1): 31-5.
299. Ly KA, Milgrom P, Rothen M. (2008). The potential of dental-protective chewing gum in oral health interventions.*Journal of American Dental Association*. 139(5): 553-63.

300. Sadaf N, Anoop B, Dakshina B, Shweta B. (2012). Evaluation of efficacy of tetracycline fibers in conjunction with scaling and root planing in patients with chronic periodontitis. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 16(3):392-7.
301. Aktas A, Giray B. (2009). Oral Kaviteye Uygulanan İlaç Taşıyıcı Sistemler. *Türkiye Klinikleri*. 15(2):109-117.
302. Mortazavi SA. (1995). An in vitro assessment of mucus/mucoadhesive interactions. *International Journal of Pharmaceutics*. 124(2):173-182.
303. Wong CF, Yuen KH, Peh KK. (1999). Formulation and evaluation of controlled release Eudragit buccal patches. *International Journal of Pharmacology*. 178(1):11-22.
304. Coessens P, Herrebout F, De Boever JA, Voorspoels J, Remon JP. (2002). Plaque-inhibiting effect of bioadhesive mucosal tablets containing chlorhexidine in a 4-day plaque regrowth model. *Clinical Oral Investigation*. 6(4): 217-22.
305. Perioli L, Ambrogi V, Giovagnoli S, Ricci M, Blasi P, Rossi C. (2007). Mucoadhesive bilayered tablets for buccal sustained release of flurbiprofen. *AAPS PharmSciTech*. 8(3): E54.
306. Paderni C, Compilato D, Giannola LI, Campisi G. (2012). Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*. 114(3): e25-34.
307. Ishida M, Machida Y, Nambu N, Nagai T. (1981). New mucosal dosage form of insulin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)*. 29(3): 810-6.
308. Needleman IG, Martin GP, Smales FC. (1998). Characterisation of bioadhesives for periodontal and oral mucosal drug delivery. *Journal of Clinical Periodontology*. 25(1):74-82.
309. Patel MP, Churchman ST, Cruchley AT, Braden M, Williams DM. (2013). Delivery of macromolecules across oral mucosa from

polymeric hydrogels is enhanced by electrophoresis (iontophoresis). *Dental Materials*.

310. Kiremitçi AS, Ciftçi A, Ozalp M, Gümüşderelioğlu M. (2007). Novel chlorhexidine releasing system developed from thermosensitive vinyl ether-based hydrogels. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 83(2):609-14.
311. Lam, J.K., et al., *Oral transmucosal drug delivery for pediatric use*. *Advanced Drug Delivery Rev*, 2014. 73: p. 50-62.
312. Mirth DB, Shern RJ, Emilson CG, Adderly DD, Li SH, Gomez IM, Bowen WH. (1982). Clinical evaluation of an intraoral device for the controlled release of fluoride. *Journal of American Dental Association*. 105(5):791-7.
313. Harary D ve Friedman M. (1984). Enhancement of fluoride concentration in saliva after topical application of fluoride sustained-release dosage form on orthodontic plates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 73(1):135-6.
314. Hallan SS, Kaur V, Mishra N, Vaidya B. (2014). Lipid polymer hybrid as emerging tool in nanocarriers for oral drug delivery. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*. (19):1-16.
315. Taraballi F, Minardi S, Corradetti B, Yazdi IK, Balliano MA, Van Eps JL ve diğerler. (2014). Potential avoidance of adverse analgesic effects using a biologically "smart" hydrogel capable of controlled bupivacaine release. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 103(11):3724-32.
316. Marasini N, Skwarczynski M, Toth I. (2014). Oral delivery of nanoparticle-based vaccines. *Expert Review of Vaccines*. 13(11):1361-76.
317. Franz-Montan M, Silva AL, Cogo K, Bergamaschi Cde C, Volpato MC, Ranali J ve diğerleri. (2007). Liposome-encapsulated ropivacaine for topical anesthesia of human oral mucosa. *Anesthesia & Analgesia*. 104(6):1528-31.

318. Lin DM, Kalachandra S, Valiyaparambil J, Offenbacher S. (2003). A polymeric device for delivery of anti-microbial and anti-fungal drugs in the oral environment: effect of temperature and medium on the rate of drug release. *Dental Materials*. 19(7):589-96.
319. Peppas, N.A. and J.J. Sahlin, *Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review*. *Biomaterials*, 1996. 17(16): p. 1553-61.
320. Senel S, İkinci G, Kaş S, Yousefi-Rad A, Sargon MF, Hincal AA. (2000). Chitosan films and hydrogels of chlorhexidine gluconate for oral mucosal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 193(2): 197-203.
321. Ballal N, Kundabala M, Bhat K, Acharya S, Ballal M, Kumar R ve diğerleri.(2009). Susceptibility of *Candida albicans* and *Enterococcus faecalis* to Chitosan, Chlorhexidine gluconate and their combination in vitro. *Australian Endodontics Journal*. 35(1); 29-33.
322. Singla AK ve Chawla M. (2001). Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects--an update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 53(8):1047-67.
323. Teng, W.L., et al., *Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi*. *Carbohydr Res*, 2001. 332(3): p. 305-16.
324. Rabea EI BM, Stevens CV, Smaghe G, Steurbaut W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 4(6):1457-1465.
325. Lim SH ve Hudson SM. (2004). Synthesis and antimicrobial activity of a water-soluble chitosan derivative with a fiber-reactive group. *Carbohydrate Research*. 339(2):313-9.
326. Kuzgun NK, İnanlı AG. (2013). Kitosan üretimi ve özellikleri İle kitosanın kullanım alanları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 6(2):16-21.

327. Yang Y, Wang S, Wang Y, Wang X, Wang Q, Chen M. (2014). Advances in self-assembled chitosan nanomaterials for drug delivery. *Biotechnology Advances*. 32(7):1301-1316.
328. Needleman IG, Smales FC, Martin GP. An investigation of bioadhesion for periodontal and oral mucosal drug delivery. *Journal of Clinical Periodontology*. 24(6):394-400.
329. Dodane V, Amin Khan M, Merwin JR. (1999). Effect of chitosan on epithelial permeability and structure. *International Journal of Pharmaceutics*. 182(1): 21-32.
330. Hamman JH, Stander M, Kotze AF. (2002). Effect of the degree of quaternisation of N-trimethyl chitosan chloride on absorption enhancement: in vivo evaluation in rat nasal epithelia. *International Journal of Pharmaceutics*. 232(1-2):235-42.
331. Senel S, Kremer MJ, Kaş S, Wertz PW, Hincal AA, Squier CA. (2000). Enhancing effect of chitosan on peptide drug delivery across buccal mucosa. *Biomaterials*. 21(20): 2067-71.
332. Rossi S, Sandri G, Ferrari F, Bonferoni MC, Caramella C. (2003). Buccal delivery of acyclovir from films based on chitosan and polyacrylic acid. *Pharmaceutical Development and Technology*. 8(2):199-208.
333. Sandri G, Rossi S, Ferrari F, Bonferoni MC, Muzzarelli C, Caramella C. (2004). Assessment of chitosan derivatives as buccal and vaginal penetration enhancers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 21(2-3):351-9.
334. Di Colo G, Burgalassi S, Zambito Y, Monti D, Chetoni P. (2004). Effects of different N-trimethyl chitosans on in vitro/in vivo ofloxacin transcorneal permeation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 93(11): 2851-62.

335. Singla AK, Chawla M. (2001). Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects – an update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 53:1047–1067.
336. Costa EM, Silva S, Madureira AR, Cardelle-Cobas A, Tavaría FK, Pintado MM. (2014). A comprehensive study into the impact of a chitosan mouthwash upon oral microorganism's biofilm formation in vitro. *Carbohydrate Polymers*. 101:1081-6.
337. Pangburn SH, Trescony PV, Heller J. (1982). Lysozyme degradation of partially deacetylated chitin, its films and hydrogels. *Biomaterials*. 3(2):105-8.
338. Yoshihiko O, Mayumi S, Takahiro A, Hiroyuki S, Yoshihiro S, Ichiro N, Tetsuaki T. (2003). Antimicrobial activity of chitosan with different degrees of acetylation and molecular weights. *Biocontrol Science*. (1):25-30.
339. Aksungur P, Sungur A, Unal S, Iskit AB, Squier CA, Senel S. (2004). Chitosan delivery systems for the treatment of oral mucositis: in vitro and in vivo studies. *Journal of Controlled Release*. 98(2):269-79.
340. Helander IM, Nurmiäho-Lassila EL, Ahvenainen R, Rhoades J, Roller S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 71(2-3): 235-44.
341. Knapczyk J, Macura AB, Pawlik B. (1992). Simple tests demonstrating the antimycotic effect of chitosan. *International Journal of Pharmaceutics*. 80: 33-38.
342. Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY. (2001). In vitro antimicrobial activity of a chitooligosaccharide mixture against *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Streptococcus mutans*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 18(6):553-7.

343. İkinci G, Senel S, Akincibay H, Kaş S, Erciş S, Wilson CG, Hincal AA. (2002). Effect of chitosan on a periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *International Journal of Pharmaceutics*. 235(1-2):121-7.
344. Mohire NC ve Yadav AV. (2010). Chitosan-based polyherbal toothpaste: as novel oral hygiene product. *Indian Journal of Dental Research*. 21(3):380-4.
345. Decker EM, von Ohle C, Weiger R, Wiech I, Brex M. (2005). A synergistic chlorhexidine/chitosan combination for improved antiplaque strategies. *Journal of Periodontal Research*. 40(5): 373-7.
346. Costa EM, Silva S, Tavaría FK, Pintado MM. (2013). Study of the effects of chitosan upon *Streptococcus mutans* adherence and biofilm formation. *Anaerobe*. 20: 27-31.
347. Silva-Dias A, Palmeira-de-Oliveira A, Miranda IM, Branco J, Cobrado L, Monteiro-Soares M ve diğerleri. (2014). Anti-biofilm activity of low-molecular weight chitosan hydrogel against *Candida* species. *Medical Microbiology and Immunology*. 203(1): 25-33.
348. Fang IM, Yang CH, Yang CM. (2014). Chitosan oligosaccharides attenuate ocular inflammation in rats with experimental autoimmune anterior uveitis. *Mediators of Inflammation*. 2014: 827847.
349. Xiao D, Wang Y, Liu G, He J, Qiu W, Hu X ve diğerleri. (2014). Effects of chitosan on intestinal inflammation in weaned pigs challenged by enterotoxigenic *Escherichia coli*. *PLoS One*. 9(8): e104192.
350. Arancibia R, Maturana C, Silva D, Tobar N, Tapia C, Salazar JC ve diğerleri. (2013). Effects of chitosan particles in periodontal pathogens and gingival fibroblasts. *Journal of Dental Research*. 92(8):740-5.
351. Ueno H, Mori T, Fujinaga T. (2001). *Topical formulations and wound healing applications of chitosan*. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 52(2):105-15.
352. Caetano GF, Frade MA, Andrade TA, Leite MN, Bueno CZ, Moraes AM, Ribeiro-Paes JT. (2014). Chitosan-alginate membranes

accelerate wound healing. *Journal of Biomedical Materials Research B Applied Biomaterials*.

353. Park JS, Choi SH, Moon IS, Cho KS, Chai JK, Kim CK. (2003). Eight-week histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle dogs. *Journal of Clinical Periodontology*. 30(5): 443-53.
354. Muzzarelli RA, Biagini G, Bellardini M, Simonelli L, Castaldini C, Fratto G. (1993). Osteoconduction exerted by methylpyrrolidinone chitosan used in dental surgery. *Biomaterials*. 14(1): 39-43.
355. Muzzarelli RA, Zucchini C, Ilari P, Pugnaroni A, Mattioli Belmonte M, Biagini G ve diğerleri. (1993). Osteoconductive properties of methylpyrrolidinone chitosan in an animal model. *Biomaterials*. 14(12): 925-9.
356. Chang HH, Wang YL, Chiang YC, Chen YL, Chuang YH, Tsai SJ, Heish KH ve diğerleri. (2014). A novel chitosan-gammaPGA polyelectrolyte complex hydrogel promotes early new bone formation in the alveolar socket following tooth extraction. *PLoS One*. 9(3): e92362.
357. Rao SB ve Sharma CP. (1997). Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. *Journal of Biomedical Material Research*. 34(1): 21-8.
358. Klokkevold PR, Fukayama H, Sung EC, Bertolami CN. (1999). The effect of chitosan (poly-N-acetyl glucosamine) on lingual hemostasis in heparinized rabbits. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 57(1): 49-52.
359. Felt O, Furrer P, Mayer JM, Plazonnet B, Buri P, Gurny R. (1999). Topical use of chitosan in ophthalmology: tolerance assessment and evaluation of precorneal retention. *International Journal of Pharmaceutics*. 180(2):185-93.

360. Karagozlu MZ ve Kim SK. (2014). Anticancer effects of chitin and chitosan derivatives. *Advances in Food and Nutrition Research*. 72:215-25.
361. Yalinca Z, Yilmaz E, Taneri B, Bullici F, Tuzmen S. (2013). Blood contact properties of ascorbyl chitosan. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*. 24(17):1969-87.
362. Tanaka Y, Tanioka S, Tanaka M, Tanigawa T, Kitamura Y, Minami S, Okamoto Y ve diğ erleri. (1997). Effects of chitin and chitosan particles on BALB/c mice by oral and parenteral administration. *Biomaterials*. 18(8): 591-5.
363. Costa EM, Silva S, Costa MR, Pereira M, Campos DA, Odila Jve diğ erleri. (2014). Chitosan mouthwash: toxicity and in vivo validation. *Carbohydrate Polymers*. 111: 385-92.
364. Gil FJ, Herrero-Climent M, Lázaro P, Rios JV. (2014). Implant-abutment connections: influence of the design on the microgap and their fatigue and fracture behavior of dental implants. *Journal of Material Science: Material in Medicine*. 25(7):1825-30.
365. O'Mahony A, MacNeill SR, Cobb CM. (2000). Design features that may influence bacterial plaque retention: a retrospective analysis of failed implants. *Quintessence International*. 31(4):249-56.
366. Wahl G ve Lang H. (2004). Deformation at the implant interface to prosthetic superstructure: an interferometric approach. *Clinical Oral Implants Research*. 15(2):233-8.
367. Zambon JJ. (1985). Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 12(1):1-20.
368. Samaranayake, L.P., Jones, B. M., *Essential microbiology for dentistry*. 2002, Edinburgh Churchill Livingstone.
369. Jervøe-Storm PM, Jepsen S, Jöhren P, Mericske-Stern R, Enkling N. (2014). Internal bacterial colonization of implants: association with peri-implant bone loss. *Clinical Oral Implants Research*.

370. Coelho PG, Sudack P, Suzuki M, Kurtz KS, Romanos GE, Silva NR. (2008). In vitro evaluation of the implant abutment connection sealing capability of different implant systems. *Journal of Oral Rehabilitation*. 35(12): 917-24.
371. Pimentel AC, Manzi MR, Sartori SG, da Graça Naclério-Homem M, Sendyk WR. (2014). In vivo effectiveness of silicone gel sheets as barriers at the inner microgap between a prosthetic abutment and an external-hexagon implant platform. *International Journal of Oral and Maxillofac Implants*. 29(1):121-6.
372. Harder S, Quabius ES, Ossenkop L, Kern M. (2012). Assessment of lipopolysaccharide microleakage at conical implant-abutment connections. *Clinical Oral Investigation*. 16(5):1377-84.
373. Harris LG ve Richards RG. (2006). Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury*. 37 (Ek 2): S3-14.
374. Herrmann M, Vaudaux PE, Pittet D, Auckenthaler R, Lew PD, Schumacher-Perdreau F, Peters G ve diğerler. (1988). Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. *Journal of Infectious Disease*. 158(4): 693-701.
375. Gross M, Cramton SE, Götz F, Peschel A. (2001). Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infection and Immunity*. 69(5): 3423-6.
376. Cramton SE, Gerke C, Schnell NF, Nichols WW, Götz F. (1999). The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infection and Immunity*. 67(10): 5427-33.
377. Caiazza NC ve O'Toole GA. (2003). Alpha-toxin is required for biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 185(10): 3214-7.

378. Harris, L.G. ve Richards RG. (2004). Staphylococcus aureus adhesion to different treated titanium surfaces. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 15(4):311-4.
379. Oh TJ, Yoon J, Misch CE, Wang HL. (2002). The causes of early implant bone loss: myth or science? *Journal of Periodontology*. 73(3): 322-33.
380. Lekholm U, Adell R, Brånemark P-I. (1985). Possible complications. P-I. Brånemark, G.A. Zarb, T. Albrektsson (Ed.). *Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry (s233-241)*. Chicago: Quintessence Publishing.
381. Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. (2014). Antibiotic resistance in human peri-implantitis microbiota. *Clinical Oral Implants Research*. 25(1): 82-90.
382. Pittler MH, Abbot NC, Harkness EF, Ernst E. (1999). Randomized, double-blind trial of chitosan for body weight reduction. *European Journal of Clinical Nutrition*. 53(5):379-81.
383. Kandimalla KK, Borden E, Omtri RS, Boyapati SP, Smith M, Lebbay K ve diğerleri. (2013). Ability of chitosan gels to disrupt bacterial biofilms and their applications in the treatment of bacterial vaginosis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 102(7): 2096-101.
384. Giunchedi P, Juliano C, Gavini E, Cossu M, Sorrenti M. (2002). Formulation and in vivo evaluation of chlorhexidine buccal tablets prepared using drug-loaded chitosan microspheres. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 53(2): 233-9.
385. Bae K, Jun EJ, Lee SM, Paik DI, Kim JB. (2006). Effect of water-soluble reduced chitosan on Streptococcus mutans, plaque regrowth and biofilm vitality. *Clinical Oral Investigation*. 10(2):102-7.
386. Decker EM, Weiger R, Wiech I, Heide PE, Brex M.(2003). Comparison of antiadhesive and antibacterial effects of antiseptics on

- Streptococcus sanguinis. *European Journal of Oral Sciences*. 111(2): 144-8.
387. Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smagghe G, Steurbaut W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 4(6):1457-65.
388. Yang TC, Chou CC, Li CF. (2005). Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *International Journal of Food Microbiology*. 97(3): 237-45.
389. Ji QX, Zhao QS, Deng J, Lü R. (2010). A novel injectable chlorhexidine thermosensitive hydrogel for periodontal application: preparation, antibacterial activity and toxicity evaluation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 21(8): 2435-42.