

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



**TİTANYUM İMPLANT YÜZEYLERİNİN HİPOKLORÖZ ASİT
İLE DETOKSİFİKASYONU SONRASI YÜZEY
MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

İLAYDA GÜNEY

TEZ DANIŞMANI
Dr.Öğr.Üyesi NURAY ERCAN

BOLU, EYLÜL - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

İLAYDA GÜNEY tarafından hazırlanan “TİTANYUM İMPLANT YÜZEYLERİNİN HİPOKLORÖZ ASİT İLE DETOKSİFİKASYONU SONRASI YÜZEY MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından PERİODONTOLOJİ Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 30/09/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Nuray ERCAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Üye
Doç.Dr. Gülbahar USTAOĞLU
Gülhane Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye
Dr.Öğr.Üyesi Bilge MERACI YILDIRAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,
- aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

İLAYDA GÜNEY

ÖZET

TİTANYUM İMPLANT YÜZEYLERİNİN HİPOKLORÖZ ASİT İLE DETOKSİFİKASYONU SONRASI YÜZEY MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI UZMANLIK TEZİ
İLAYDA GÜNEY**

**BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ DİŞ HEKİMLİĞİ
FAKÜLTESİ PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ NURAY ERCAN)**

BOLU, EYLÜL - 2024

XV + 104

Çalışmamızda abutment yüzeyini taklit eden cilalı titanyum diskler kullanılarak Hipokloröz Asit uygulamasının titanyum yüzey üzerindeki pürüzlülük ve morfolojiye etkisiyle beraber sitotoksikite ve yeni biyofilm oluşumu açısından değerlendirilmesi ve aynı zamanda biyofilm uzaklaştırma etkinliğinin diğer dekontaminasyon ajanlarıyla karşılaştırması amaçlanmıştır.

İn vitro olarak yapılan çalışma düzeneğinde 104 adet grade 4 saf titanyum disk kullanılmıştır. Çalışmada sürtme ve daldırma yöntemleri kullanılarak Hipokloröz Asit, Klorheksidin Diglukonat ve Sitrik Asit 8 dakika süresince diskler üzerine uygulanmıştır. Uygulama sonrası yüzeydeki pürüzlülük ve morfoloji değişimi Atomik Kuvvet Mikroskopisi ve Taramalı Elektron Mikroskopisi altında incelenmiştir. Ayrıca uygulanan solüsyonların titanyum yüzey üzerindeki sitotoksikiteye etkisi fibroblast hücreleri üzerinden analiz edilmiştir. Bununla birlikte biyofilmle kontamine olmuş disklerde dekontaminasyon protokolleri uygulanıp biyofilm uzaklaştırma etkinliğine bakılmış ve steril disklerde başlangıçta solüsyonlar uygulanarak sonrasında yeni biyofilm oluşumu Spektrofotometre Cihazıyla optik yoğunluk üzerinden değerlendirilmiştir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre en düşük pürüzlülük değeri Hipokloröz Asit grubunda gözlenmiştir. Yeni biyofilm oluşumu değerlendirildiğinde sürtme ve daldırma yöntemine göre HOCl Asit diğer kimyasallara göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında biyofilm oluşumunu azaltmada daha başarılı bulunmuştur. Biyofilm uzaklaştırma etkinliği daldırma yönteminde kontrole göre Hipokloröz Asit grubunda diğerlerinden daha iyi bulunup sürtme yönteminde Sitrik Asit daha başarılı bulunmuştur. Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar titanyum yüzey üzerinde sitotoksik etki yaratmayıp biyoyumlu oldukları görülmüştür.

Sonuç olarak hipokloröz asit, implant yüzeyine zarar vermeden mikrobiyal biyofilmleri ortadan kaldırarak titanyum yüzeyler için güvenilir bir dekontaminasyon protokolü olabilir.

ANAHTAR KELİMELER : Hipokloröz Asit, İmplant, Biyofilm, Pürüzlülük, Fibroblast

ABSTRACT

EVALUATION OF SURFACE MORPHOLOGY OF TITANIUM IMPLANT SURFACES AFTER DETOXIFICATION WITH HYPOCHLOROUS ACID

DEPARTMENT OF PERIODONTOLOGY SPECIALIZATION THESIS

İLAYDA GÜNEY

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY FACULTY OF DENTISTRY

DEPARTMENT OF PERIODONTOLOGY

(SUPERVISOR: ASSIST. PROF.DR.NURAY ERCAN)

BOLU,SEPTEMBER 2024

XV + 104

In our study, it was aimed to evaluate the effect of Hypochlorous Acid application on the roughness and morphology on the titanium surface using polished titanium discs imitating the abutment surface, together with cytotoxicity and new biofilm formation, and also to compare the biofilm removal efficiency with other decontamination agents.

In the in vitro study, 104 grade 4 pure titanium discs were used. In the study, Hypochlorous Acid, Chlorhexidine Digluconate and Citric Acid were applied to the discs for 8 minutes using the rubbing and immersion methods. The roughness and morphology changes on the surface after the application were examined under Atomic Force Microscopy and Scanning Electron Microscopy. In addition, the effect of the applied solutions on cytotoxicity on the titanium surface was analyzed on fibroblast cells. In addition, decontamination protocols were applied to biofilm-contaminated discs and the biofilm removal efficiency was examined, and new biofilm formation was evaluated via optical density with a Spectrophotometer Device after initially applying solutions to sterile discs.

According to the results of our study, the lowest roughness value was observed in the Hypochlorous Acid group. When new biofilm formation was evaluated, HOCl Acid was found to be more successful in reducing biofilm formation compared to the control group compared to other chemicals according to the rubbing and immersion method. Biofilm removal efficiency was found to be better in the Hypochlorous Acid group compared to the control in the immersion method, and Citric Acid was found to be more successful in the rubbing method. All chemicals used in the study were found to have no cytotoxic effect on the titanium surface and were biocompatible.

As a result, hypochlorous acid can be a reliable decontamination protocol for titanium surfaces by eliminating microbial biofilms without damaging the implant surface.

KEYWORDS: Hypochlorous Acid, Implant, Biofilm, Roughness, Fibroblast

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN.....	iii
ÖZET.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Dental İmplant Tarihçesi	3
2.2 Dental İmplant Biyomateryalleri	3
2.2.1 Metaller ve Metal Alaşımları.....	4
2.2.2 Seramikler.....	5
2.2.3 Polimerler ve Kompozitler	6
2.3 İmplant Yüzey Topoğrafisi Ve Yüzey Pürüzlülüğü	6
2.4 Dental İmplant Yüzey Farklılıkları.....	8
2.4.1 Titanyum Plazma Sprey	9
2.4.2 Kumlama	9
2.4.3 Asitle Aşındırma.....	9
2.4.4 Kumlanmış ve Asitle Aşındırılmış Yüzeyler	10
2.4.5 Anodize Yüzeyler	10
2.5 Osseointegrasyon.....	11
2.6 Sağlıklı İmplant Çevresi Dokular ile Periodontal Dokuların Karşılaştırılması	12
2.7 Peri-implantitis ve Peri-implant Mukozitis Nedir ?.....	13
2.8 Peri-implantitis, Gingivitis ve Periodontitis Benzerlikler	14
2.9 İmplant Yüzey Dekontaminasyon Metodları.....	15
2.9.1 Mekanik Tedavi Yöntemleri.....	15
2.9.2 Kimyasal Tedavi Yöntemleri.....	17
2.9.3 Antimikrobiyaller	24
2.9.4 Lazerler	25
2.10 Peri-İmplant Lezyonlarının Tedavisi.....	26
2.10.1 Peri-İmplant Hastalıkların Cerrahi Olmayan Tedavisi	26
2.10.2 Peri-İmplant Hastalıkların Cerrahi Tedavisi	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1 Çalışma Gruplarının oluşturulması.....	30
3.1.1 Sürtme ve Daldırma Prosedürleri	30

3.2 1.Aşama: Yüzey Analizleri.....	33
3.2.1 Titanyum Disklerin Atomik Kuvvet Mikroskopisi Cihazıyla Pürüzlülük Değerlerinin Analizi	33
3.2.2 Sürtme Ve Daldırma İşlemleri Yapılmış Disklerin Elektron Mikroskopuyla (SEM) Analizi	35
3.3 2.Aşama : Bakteriyel Analizler.....	37
3.3.1 1.Kısım: Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Yeni Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisinin Analizi.....	37
3.3.2 2.Kısım: Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Biyofilm Uzaklaştırılmasına Etkisinin Analizi	39
3.4 3.Aşama: Sitotoksosite (MTT) Analizi	42
3.4.1 Hücrelerin Çözünmesi, Pasajlanması ve Sayımı	43
3.4.2 MTT Testinin Uygulanması	44
3.5 Normalizasyon.....	45
3.6 İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1 1.Aşama: Yüzey Analizleri.....	47
4.1.1 Atomik Kuvvet Mikroskopisi Bulguları.....	47
4.1.2 Sürtme Ve Daldırma İşlemleri Yapılmış Disklerin Taramalı Elektron Mikroskopuyla (SEM) Analizi	52
4.2 2.Aşama: Bakteriyel Analizler.....	53
4.2.1 Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Yeni Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisinin Analizi	53
4.2.2 Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Biyofilm Uzaklaştırılmasına Etkisinin Analizi.....	57
4.3 3.Aşama: Sitotoksosite (MTT) Testi Analizi	60
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	84
7. KAYNAKLAR.....	85

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. İmplant Yüzey Dekontaminasyon Metodları.....	15
Şekil 3.1. AFM Analizi Yapılan Disklerin Sayısal Dağılımı.....	33
Şekil 3.2. SEM Analizi Yapılan Disklerin Sayısal Dağılımı	35
Şekil 3.3. Disklerin Yeni Biyofilm Oluşumundaki Sayısal Dağılımı	37
Şekil 3.4. Biyofilm uzaklaştırma etkinliği test edilen disklerin sayısal dağılımı.....	40
Şekil 3.5. Sitotoksisite analizinde kullanılan disklerin sayısal dağılımı	43
Şekil 4.1. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği.....	49
Şekil 4.2. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait grafik	49
Şekil 4.3. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği.....	50
Şekil 4.4. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait grafik	50
Şekil 4.5. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği.....	55
Şekil 4.6. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik	55
Şekil 4.7. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği.....	56
Şekil 4.8. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik	56
Şekil 4.9. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği	58
Şekil 4.10. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik	59
Şekil 4.11. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği	59
Şekil 4.12. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik	60
Şekil 4.13. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksisite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği	62
Şekil 4.14. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksisite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği	62
Şekil 4.15. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksisite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği	63

Şekil 4.16. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin dağılımına ait grafik 63



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. Test solüsyonlarının uygulandığı titanyum disklerinin AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri.	48
Tablo 4.2. Test solüsyonlarının titanyum disklere uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna göre optik yoğunluk değişim değerlerinin, test gruplarının daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri. Değerler test grubunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısını gösterir.	54
Tablo 4.3. Test solüsyonlarının titanyum disklerin üzerinde oluşturulmuş biyofilm uzaklaştırmadaki kontrol grubuna göre optik yoğunluk değişim değerlerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri. Değerler test grubunun kontrol grubuna karşı azalma katsayısını gösterir.	58
Tablo 4.4. Test solüsyonlarının uygulandığı titanyum disklerinin MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri.	61

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 2.1. Titanyum	4
Fotoğraf 2.2. Sitrik Asit	19
Fotoğraf 2.3. Klorheksidin	22
Fotoğraf 2.4. Hipokloröz Asit	24
Fotoğraf 3.1. Pamuk peletle sürtme işlemi yapılan titanyum disk.....	31
Fotoğraf 3.2. Daldırma işlemi yapılan diskler	32
Fotoğraf 3.3. Kontrol grubuna ait titanyum disk	32
Fotoğraf 3.4. AFM Cihazı.....	34
Fotoğraf 3.5. SEM Cihazı	36
Fotoğraf 4.1. Sürtme ve daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazından alınan görüntüleri	51
Fotoğraf 4.2. Sürtme ve daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının SEM cihazından alınan görüntüleri	53

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

%	: Yüzde
µm	: Mikrometre
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskopisi
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
BKİB	: Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu
BOP	: Sondlamada Kanama
CA	: Sitrik Asit
C.albicans	: Candida albicans
CHX	: Klorheksidin Diglukonat
Cm²	: Santimetrekaare
CO₂	: Karbondioksit
Cp-Ti	: Saf Titanyum
D	: Daldırma
DMEM	: Dublecco' s Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
ER:YAG	: Erbiyum Katkılı İttriyum Alüminyum Garnet
FBS	: Fetal Bovin Serum
G-BKİB	: Glikozlu Beyin Kalp İnfüzyon Buyyonu
GO	: Geometrik Ortalama
HF	: Hidroflorik Asit
HNO₃	: Nitrik Asit
HOCl	: Hipokloröz Asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
H₂SO₄	: Sülfirik Asit
K	: Kontrol
LAZER	: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
LPS	: Lipopolisakkarit
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre

mm	: Milimetre
MS	: Milattan Sonra
MTT	: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-Difenil- Tetrazolyum Bromür
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
nm	: Nanometre
OD	: Optik Yoğunluk
PBS	: Fosfat Tampon Salin
PDS	: Polidimetilsiloksan
PEEK	: Polietetereterketon
PET	: Polietilentereflatat
P.gingivalis	: Porphyromonas gingivalis
P-K	: Pozitif Kontrol
PMMA	: Polimetilmetakrilat
PP	: Polipropilen
PPD	: Sondlama Derinliği
Ppm	: Milyonda bir birim
PSF	: Polisülfon
PTFE	: Politetrafloroetilen
PVP	: Povidon
Ra	: Pürüzlülük aritmetik ortalama sapma değeri
RKÇ	: Randomize Kontrollü çalışma
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
S	: Sürtme
S.aureus	: Staphylococcus aureus
SLA	: Asitle Aşındırılmış ve Kumlanmış Yüzey
SS	: Standart Sapma
SR	: Silikon Kauçuk
Ti	: Titanyum
TiO	: Titanyum Oksit
TiO₂	: Titanyum Dioksit
TiO₃	: Titanyum Trioksit
TiOH	: Titanyum Hidroksit
Ti6Al-4V	: Titanyum 6-Alüminyum 4-Vanadyum

TPS : Titanyum Plazma Sprey



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca hem pratik gelişim hem de tez sürecimde yanımda olup beni destekleyen, kendisine danıştığım her konuda bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek adına elinden gelenin fazlasını sunan sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Nuray ERCAN'A sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitim sürecinde bilgi ve tecrübelerini seve seve paylaşan hem mesleki hem manevi desteğini esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra ATEŞ YILDIRIM, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bilge Meracı YILDIRAN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKGÜL'e;

Tezimi zenginleştiren ve geliştiren Prof.Dr. Gürcan YILDIRIM'a, motivasyonu ve tez sürecimdeki desteği için Dr.Öğr.Üyesi Şeyda KARABÖRK'e,

Asistanlık dönemim boyunca her anı dolu dolu kah ağlayarak kah çoğu zaman da gülerek paylaştığım, dostluklarıyla bendeki yerleri apayrı olan sevgili Fatmanur Ezgi DOĞAN'a, Hatice Aysim LEYMUN ERKİN'e, Işıl YALÇIN BİLKE'ye,

Asistanlık sürecimde keyifle çalıştığım Periodontoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, tez sürecimdeki desteği için Utku BÖCÜOĞLU'na; birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Tuğçe ÇAĞIRAN GÜRBÜZ'e, Tuğba BULUT'a, Hilal KEÇEL TURAN'a, Senem FİLİZ'e,

Hayatımın her alanında beni destekleyen, büyütüp yetiştiren ve bugün olduğum kişinin mimarı olan annem Vildan HATIRNAZ ve aileme,

Karakteri ve sevgisiyle iyi ve kötü her anımızda bana ışık olan desteğini esirgemeyip varlığıyla beni hep mutlu eden canım eşim İsmail Furkan GÜNEY'E teşekkürü bir borç bilirim.

1. GİRİŞ

Eksik dişlerin yerine dental implantların kullanımının, öngörülebilir ve uzun vadede iyi sonuçlar sağladığı bilinmektedir (1, 2). İmplant tedavilerinin giderek sayısının artmasıyla birlikte, kısa ve uzun vadeli komplikasyonların görülme sıklığı da artmaktadır. Yüksek başarı oranlarına rağmen implantların %5-10'u başarısız olmakta ve bu durum birçok hastaya ekonomik ve sağlık açısından yük oluşturmaktadır (3).

Peri-implanter hastalıklar, implantın kemik ile başarılı bir şekilde osseointegrasyonunu takiben bakteriler ile konak cevabı arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur. Bu tanımlama peri-implant mukozitis ve peri-implantitis içeren biyolojik komplikasyonlar için ortak bir terimdir. Peri-implant mukozitis, implant çevresindeki yumuşak dokuların herhangi bir kemik kaybı olmaksızın etkilendiği geri döndürülebilir enflamatuvar değişiklikler olarak tanımlanırken; peri-implantitis, osseointegre olmuş bir implant çevresindeki tüm dokuları etkileyen destek kemiğin kaybı ile sonuçlanan inflamatuvar bir süreç olarak tanımlanmaktadır (4).

İmplant üretiminde kullanılan ana malzeme olan titanyum mekanik, kimyasal ve fiziksel özellikleri ile osseointegrasyonun kolaylaştırılmasından ve tedavi ömrünün uzatılmasından sorumludur (5, 6). İmplantların abutment yüzeyi doğrudan bakterilere, biyolojik sıvılara ve çevre dokuların inflamatuvar tepkilerine açık ağız ortamının zorlu koşullarına maruz kalmaktadır. Abutment ve implant boynunun yüzey özelliklerinden etkilenen plak oluşumu ve bakteriyel kolonizasyonun enfeksiyonların patogenezinde önemli rol oynadığı düşünülmekte (7) ve uzun vadeli implant başarısı için düzenli destekleyici tedavi önemli olarak görülmektedir (8). Kapsamlı muayenelerin yanı sıra implant sisteminin çevresindeki plak ve diş taşlarının temizlenmesi de destekleyici tedavinin anahtarı olarak kabul edilmektedir.

Peri-implant hastalıkların tedavisi inflamasyon sürecini kontrol etmeyi amaçlar; bu nedenle biyofilmi ortadan kaldırmak için cerrahi veya cerrahi olmayan tedaviler kullanılmaktadır (9). Peri-implantitisten etkilenen implantları tedavi etmek için kimyasal, mekanik ve lazer tedavileri dahil olmak üzere birçok farklı yöntem bulunmaktadır. Mekanik debridmanda; küretler, air abraziv sistemler,

titanyum fırçalar, özel uçlu ultrasonikler kullanılmaktadır. İmplant yüzey tasarımı nedeniyle cerrahi olmayan mekanik tedavinin tek başına biyofilmi ortadan kaldırması mümkün olmadığından peri-implant hastalığının tedavisi zordur (10, 11). Bu tür dezavantajların üstesinden gelmek için, mikroorganizmaları azaltmak üzere kimyasal maddelerin kullanımı gibi yardımcı antimikrobiyaller önerilmiştir (9, 10). Kimyasal tedavi, titanyum implant yüzeyinde yalnızca minimum hasar riski oluşturmaktadır. Bununla birlikte in vivo çalışmalar, implant yüzeyi dekontaminasyonu için altın standart olarak bir kemoterapötik ajanı tanımlayamamıştır (12).

Mikroorganizma sayısını periodontal sağlıkla uyumlu bir düzeye indirmek için implant yüzeyinde genellikle mekanik debridmana yardımcı tedavi olarak klorheksidin (CHX), sodyum hipoklorit (NaOCl), sitrik asit (CA) gibi antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır (13). Bununla birlikte, tatmin edici terapötik stratejiler veya bilimsel temelli tedavi önerileri mevcut değildir (14). Biyofilmin uzaklaştırılmasının dekontaminasyondaki rolü ortaya konmuş olsa da tedavi uygulandıktan sonra yüzeyin yapısı değişebileceğinden titanyumun elektrokimyasal davranışını etkileyip korozyona yol açabilmekte (15) ve çevredeki dokuda ciddi sonuçlara neden olabilecek parçacıkların ve döküntülerin salınmasını kolaylaştırabilmektedir (16). Bu nedenle dekontaminasyonda kullanılan ajanın biyofilm uzaklaştırma etkinliği kadar, titanyum yüzeyinde negatif bir değişikliğe neden olmadan biyoyumluğunu koruması aranan özelliklerindendir. Çalışmamızda kullanılan hipokloröz asit (HOCl); pulpa irrigantı (17) ve periodontitis tedavisinde kemoterapötik bir ajan olarak bilinmektedir (18). Birkaç çalışma bu bileşiğin dezenfektan, antienflamatuar ve rejeneratif özellikler gibi çeşitli özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (19).

Bununla birlikte literatür araştırıldığında hipokloröz asidin implant dekontaminasyonunda kullanımı sonrasında titanyum yüzeyindeki etkisi üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızın hipotezi, implant yüzey dekontaminasyonunda kullanılan kimyasal ajanlar arasında %0.018'lik Hipokloröz Asidin titanyum topografisine zarar vermeden ve titanyumun hücresel biyoyumluluğunu bozmadan en az %0.2 'lik Klorheksidin Dişlukonat ile %40'lık Sitrik Asit kadar yeni biyofilm oluşumunu azaltmada ve biyofilm uzaklaştırmada etkili olabileceği yönündedir.

Çalışmamızın amacı, peri-implanter hastalıkların tedavisinde dekontaminasyon ajanı olarak kullanılmaya başlayan HOCl'nin titanyum yüzeyine olan etkisini sitotoksikite ve yeni biyofilm oluşumu açısından incelemek ve aynı zamanda biyofilm uzaklaştırma etkisini diğer dekontaminasyon ajanlarıyla karşılaştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Dental İmplant Tarihçesi

İlk dental implant uygulamasına kanıt olarak Milattan sonra (M.S.) 700'lü yıllarda Maya toplumunun deniz kabuklarından elde ettikleri hidroksiapatitten zengin bir materyali canlı bir bireyin mandibular kemiğine yerleştirerek uygulamaları gösterilmektedir (20). M.S. 800'lerde Honduras'ta taştan yapılan implantların mandibulada kullanıldığını gösteren bulgular vardır. Bu da dental implant uygulamalarının tarihçesinin oldukça eski olduğunu göstermektedir (21).

Dr. Per-Ingvar Branemark'ın 1952 yılında yaptığı çalışmayla titanyumun kemikle kaynaşma özelliğini keşfetmesi dental implant alanında önemli bir gelişmeyi başlatmıştır. Bu çalışma modern implant sistemlerinin geliştirilmesine önayak olmuş ve diş hekimliğinde bu alanda devrim niteliğinde bir buluş olmuştur (22).

2.2 Dental İmplant Biyomateryalleri

Dental implantlar ve ilgili bileşenleri dahil olmak üzere biyomateryaller, bireyin yaşam kalitesini korumak veya iyileştirmek için biyolojik sistemlerle herhangi bir süre boyunca etkileşime giren doğal veya sentetik malzemeler olarak tanımlanabilir (23).

Dental implantlardan beklenen özelliklerin başında biyoyuumluluk, aşınma ve korozyona karşı direnç, elastikiyet modülünün uygun ve stabil olması gibi özellikler gelmektedir (24, 25). İyi bir biyomateryal seçimi, implantın başarılı bir

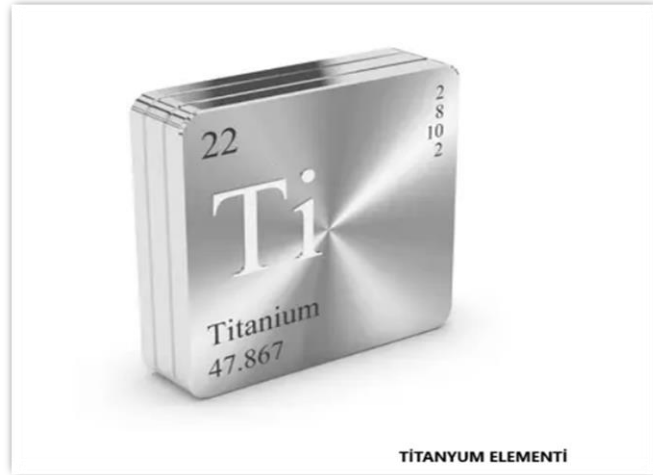
şekilde entegre olmasını ve uzun ömürlü olmasını sağlayarak hasta sağlığı açısından önem taşımaktadır.

Dental implant yapımında kullanılan materyaller içeriğindeki kimyasallar ve biyolojik yanıtlara göre kategorilere ayrılmaktadır (26). Bu materyaller genel olarak metal ve metal alaşımları, seramikler, kompozitler ve polimerlerden oluşmaktadır (27).

2.2.1 Metaller ve Metal Alaşımları

Metaller biyomekanik özellikleri ve kolay işlenebilirlikleri nedeniyle implant materyali olarak kullanıma uygun olabilirler. Ayrıca metal implantlar genel sterilizasyon prosedürleriyle sterilize edilebilirler, bu da kullanımlarını daha kolay hale getirebilir. Bu özellikler metalleri implant seçenekleri arasında popüler kılmaktadır (28).

Bu nedenle çoğu dental implant sistemi metal ve metal alaşımları kullanılarak yapılmaktadır. Bunlar titanyum ve titanyum alaşımları, alüminyum, kobalt, krom, nikel, vanadyum ve bunların alaşımlarıdır (29).



Fotoğraf 2.1. Titanyum

2.2.1.1 TITANYUM

Wilhelm Gregor tarafından 1789'da keşfedilen titanyum, tıbbi ve dental alanda kullanımı giderek artan bir öneme sahiptir (30). Bu artışın temel nedenleri arasında titanyumun üstün biyouyumluluğu, dayanıklılığı ve istenilen fiziksel özellikleri taşıması olup son yıllarda sağlık sektöründe yaygın bir tercih haline gelmesini sağlamıştır (31). Ek olarak titanyum ve alaşımlarının tercih edilme nedenleri arasında; korozyona karşı direnç sağlayan oksit tabakası, çevredeki kemik elastisitesine benzer özellikler sergilemeleri ve kemiğe yakın mekanik davranışlar göstermeleri bulunmaktadır (32-34).

Saf titanyum, oksijenle etkileşime girerek çeşitli titanyum oksit türevlerini oluşturur: titanyum oksit (TiO), titanyum dioksit (TiO₂) ve titanyum trioksit (TiO₃) (35). Kullanılan temel metal, ticari olarak saf titanyum (cp-Ti) olarak adlandırılmaktadır. Titanyumun saflığına ve işlenen oksijen içeriğine göre, 1'den 4'e kadar numaralandırılmış dört grade sınıflaması mevcuttur (36, 37). Bu dereceler korozyon direnci, esneklik ve mukavemet açısından farklılık gösterir. En yüksek oksijen içeriği (yaklaşık %0,4) ve en yüksek mekanik mukavemet ile dental implantlar için en yaygın olarak kullanılan Grade 4 Cp-Ti'dir. Ayrıca Grade 5 titanyum olarak adlandırılan Titanyum 6-Alüminyum 4-Vanadyum (Ti6Al-4V) alaşımı da vardır (36). Grade 5 titanyum biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (38, 39).

2.2.2 Seramikler

Seramikler, inorganik metallerin yüksek sıcaklıklarda sıkıştırılması ve sinterlenmesi yoluyla üretilir. Dental implantlarda kullanıldığında seramikler estetik, elastikiyet ve dayanıklılık gibi özellikler sunar; ancak kırılma sertliği ve doğal kırılma gibi zayıf yönleri de bulunmaktadır (40, 41).

Seramik materyali ilk olarak endoosseoz implantlarda osteointegrasyonu artırmak için yüzey kaplaması amacıyla kullanılmıştır. Kullanılan biyoaktif seramikler; hidroksiapatit, fluoroapatit, trikalsiyum fosfat, kalsiyum pirofosfat, bruşit, biyocam, alüminyum oksit ve zirkonyum oksitlerdir (42).

Hidroksiapatit, tüm seramik malzemeler arasında çoğunlukla tercih edilir; çünkü osteoblast adezyonunu, mineralizasyonu ve proliferasyonu artırarak osteoentegrasyonu güçlendirmektedir (43).

2.2.3 Polimerler ve Kompozitler

Sentetik polimerlerin ve kompozitlerin biyomateryal uygulamaları için kullanımı araştırılmaya devam etmektedir. Daha inert özelliklere sahip polimerik biyomateryaller arasında politetrafloroetilen (PTFE), polietilentereftalat (PET), polimetilmetakrilat (PMMA), ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen (UHMW-PE), polipropilen (PP), polisülfon (PSF) ve polidimetilsiloksan (PDS) veya silikon kauçuk (SR) yer almaktadır (31).

Polietereterketon (PEEK); metakrilat içermeyen, termoplastik ve yüksek performanslı bir polimerik malzeme olarak araştırmacıların ilgisini çeken birçok uygulamada kullanılabilen mükemmel özelliklere sahiptir. PEEK, yeterli güç, hafiflik, aşınma direnci ve elastik modül açısından doğal dişe yakın özellikler sunar. Oral implantolojide PEEK; implant dayanakları, implant protezlerinin altyapı malzemesi ve implant biyomateryali olarak kullanılabilir. PEEK, metal içermez ve titanyum implantlara alternatif bir seçenek sunmaktadır (44).

2.3 İmplant Yüzey Topoğrafisi Ve Yüzey Pürüzlülüğü

Biyomedikal implantların yüzey topoğrafisi; hücre bağlanması, farklılaşması ve çoğalması üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olarak kemik-implant bağlantısında kritik bir rol oynar. İmplantların biyouyumluluğu ve performansı, implant yüzeylerinin biyolojik ortamla olan ilk etkileşimiyle doğrudan ilişkilidir (45, 46).

Dental implantların topoğrafisi, ölçek bazında makro, mikro ve nano seviyelerine ayrılabilir. Bilimsel araştırmalar genellikle mikro ve nano geometriye odaklanmıştır. Yüzey topoğrafisi, osseointegrasyonun erken aşamalarında osteoblastların tutunması ve farklılaşması için kritik bir öneme sahiptir (47).

Mikrotopografi, mikrometre (μm) ölçeğindeki (1-100 μm) mikro pürüzlülük ile ilgilidir. Son birkaç on yılda dental implantların çoğu tornalama,

frezeleme veya cilalama gibi üretim süreciyle işlenmiş yüzeylere sahip olmuştur. Bu yüzeylerdeki düzensizlikler, osteojenik hücrelerin kemikle birleşimini ve birikimini kolaylaştırarak kemik-implant bağlantısını oluşturmaktadır. İşlenmiş yüzeye sahip implantların iyileşme süresi, anatomik konuma ve kemik kalitesine bağlı olarak genellikle 3 ila 6 ay arasındadır. İmplant yüzeyinin mikrotopografisi, osseointegrasyonu hücresel düzeyde etkilemektedir (48).

Pürüzlülük, osseointegrasyon için kritik bir faktördür ve pürüzlü yüzeyler, kemik-implant bağlantısındaki teması artırmaktadır (49). Dental implantın çevresindeki dokunun iyileşmesi sırasında kemik hücrelerinin tepkisini maksimize etmek için yüzey pürüzlülüğü üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Araştırmalar, yüzey pürüzlülüğü ile hücre davranışı arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir, ancak ideal osseointegrasyon için gereken optimum yüzey pürüzlülüğü hala belirsizliğini korumaktadır (50).

Yapılan birçok araştırmada, pürüzsüz/düz yüzeyli implantlara kıyasla mikro düzeyde pürüzlü implantlarda osteoblast uyarımının daha yüksek olduğu ve hücre hareketliliğinin daha hızlı olduğu belirtilmiştir (51, 52). Bazı çalışmalar ise pürüzlü yüzeylerde matriks mineralizasyonunun daha hızlı ve daha fazla olduğunu göstermektedir (53). Yapılan çalışmalar, yüzey pürüzlülüğünün artmasının osseointegrasyonu olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Ancak aynı zamanda bu artışın bakteri tutulumunu artırabileceği ve dolayısıyla peri-implant hastalıklarının riskini artırabileceği de belirtilmektedir (51-53).

Albrektsson ve Wennerberg'e dayanarak, çeşitli yüzey modifikasyonlarına bağlı olarak farklılık gösteren yüzeyler, "pürüzsüz yüzeyler (Sa: Ortalama pürüzlülük değeri: $<0.5 \mu\text{m}$), az pürüzlü yüzeyler (Sa $0.5-1.0 \mu\text{m}$), orta pürüzlü yüzeyler (Sa $1.0-2.0 \mu\text{m}$), pürüzlü yüzeyler (Sa $>2.0 \mu\text{m}$)" şeklinde sınıflandırılabilir (5).

Yüzey pürüzlülüğünün değerlendirilmesi için AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ve mekanik/optik profilometre cihazları kullanılabilir. Bir çalışmada, bu üç cihaz değerlendirildiğinde AFM'nin yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinde en uygun olduğu bulunmuş ve diğer cihazlarla arasında yapılan karşılaştırmada, yüzeylerin boyutsal ölçümlerinde detaylı sonuçlar verdiği ve daha hızlı ölçüm sonuçları elde edildiği bildirilmiştir (54).

Atomik kuvvet mikroskobu, katı veya sıvı ortamlarda yüzey pürüzlülüğünü ve topografyasını nanometre (nm) düzeyinde inceleyen yüksek çözünürlüklü bir cihazdır (55). AFM'lerin bir avantajı, sıvı ve gaz ortamlarında ölçüm yapabilme yeteneğidir, bu da çalışılan ortamın kendi doğal koşullarında incelenmesine olanak tanımaktadır.

Yüzey pürüzlülüğü ölçümlerinde en sık kullanılan değerler arasında Ra, Rq, Rt, Rz ve Rp bulunmaktadır. Ra, çalışmalarda en sık tercih edilen ölçüm parametresidir. Ra, referans çizgisindeki profil sapmalarının aritmetik ortalama sapma değerini ifade eder ; ancak en derin yarık veya en yüksek tepe değerlerini yansıtmaz. Rz değeri ise en büyük pürüzlülük derinliğinin aritmetik ortalamasıdır. Ra, Rz'den genellikle daha küçük bir değerdir. Rq değeri, yüzey pürüzlülüğünün ortalama sapmasının karekökü olarak hesaplanır ve istatistiksel analizlerde sıklıkla kullanılır. Rt ölçümü ise en yüksek tepe ve en derin çukur noktaları arasındaki mesafeyi ifade eder. Rp değeri, maksimum yükseklik ölçümünde kullanılır (56).

2.4 Dental İmplant Yüzey Farklılıkları

İmplantların yüzeyinin çeşitlendirilmesi, osseointegrasyonu artırarak implantın başarısını etkileyebilir. İmplant yüzey modifikasyonu, osseointegrasyonu ve iyileşme sürecini hızlandırmak amacıyla yüzey topografyası ve yüzey enerjisini değiştirerek hücre proliferasyonunu teşvik etmeyi hedefler (57).

İmplantların başarısı, kemik içine yerleştirildiklerinde erken dönemde kemik yıkım faaliyetlerinin ardından kemik yapımı ve osseointegrasyona bağlıdır. Yüzey değişikliği genellikle fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olarak üç ana başlık altında incelenmektedir. Bu değişiklikler, implantın kemik içine yerleştirildiğinde kemik yapımını teşvik etmeyi, aşınma ve korozyon direncini artırmayı amaçlamaktadır (56).

Dental implantlarda fiziksel (mekanik), kimyasal, termal ve bunların çeşitli kombinasyonuyla farklı yüzey özellikleri oluşturulabilmektedir (58).

2.4.1 Titanyum Plazma Sprey

Titanyum plazma sprej (TPS) , implant yüzeyine yoğun bir şekilde titanyum tozlarının püskürtülmesiyle 7 µm'lik bir pürüzlülük oluşturarak yüzey alanını artırmaya dayanan bir yöntemdir. Bu oluşturulan alanda implantın kemikle birleşme sürecinde çekme kuvvetinin arttığı gösterilmiştir (59).

TPS yöntemiyle modifiye edilmiş implantlar üzerinde yapılan çalışmalarla pürüzsüz yüzeyli implantlarla karşılaştırıldığında daha iyi osseointegrasyon, kemik-implant etkileşimi gibi daha yüksek değerler elde edilmiştir (60).

2.4.2 Kumlama

Yüzeyi pürüzlendirmenin bir başka yolu, implant yüzeyi üzerine seramik malzemeler veya silika kullanılarak basınçlı partikül projeksiyonu yoluyla kum püskürtmedir. Bunun için genellikle kum, hidroksiapatit, alümina veya TiO₂ parçacıkları gibi malzemeler kullanılmaktadır (61, 62). Kum püskürtmeyi her zaman, kalan püskürtme parçacıklarını çıkarmak için asitle aşındırma takip eder. Bu nedenle, kum püskürtme aynı zamanda yüzeydeki kirletici maddeleri alt katmanlara gömme yollarından biri olarak da kabul edilir (63). Kumlanmış titanyum yüzeyindeki zirkonya parçacıklarının yüzey mikro sertliğinin, cilalanmış bir titanyum yüzeyinden çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (59).

On yıllık bir takip klinik çalışmasında (64), TiO₂ kum püskürtmeli titanyum implantların %96,9 hayatta kalma oranına sahip olduğu bulunmuş ve özellikle düşük yoğunluklu kemiklerde nispeten pürüzsüz işlenmiş yüzeye sahip olanlara göre daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla bu tip yüzey modifikasyonu hem maksillada hem de mandibulada daha öngörülebilir uzun vadeli klinik sonuçlara yol açmaktadır.

2.4.3 Asitle Aşındırma

Asitle aşındırma yöntemi sadece metal yüzeyi temizlemek için değil aynı zamanda yüzey pürüzlülüğünü değiştirmek için de kullanılmaktadır. Bu teknikte yaygın olarak hidroflorik (HF), nitrik (HNO₃) ve sülfürik (H₂SO₄) gibi güçlü bir

asit veya bu asitlerin bir kombinasyonu uygulanmaktadır (65). Asitle aşındırılmış yüzeylerde hücre yapışması ve kemik oluşumu artmaktadır, böylece osseointegrasyon güçlenmektedir (63, 66-70). Çözünme kabiliyeti nedeniyle HF (71, 72), yapıştırma ajanlarının bağlanma yüzeyini arttırmak amacıyla restoratif seramik malzemelerin aşındırılmasında kullanılmıştır. Bu tekniğin önemi aynı zamanda alt tabakanın boyutları ve şekilleri ne olursa olsun homojen bir pürüzlendirme sağlamasıdır (72).

Yapılan çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda H_2SO_4 ile aşındırılan titanyum örnekleri, yüzey pürüzlülüğünde bir artış göstermiştir (73). Konsantre H_2SO_4 'ün özellikle biyolojik uygulamalarda yüzeyleri pürüzlendirmek için etkili bir çözüm olduğu kanıtlanmıştır (74).

2.4.4 Kumlanmış ve Asitle Aşındırılmış Yüzeyler

Kumlanmış asitle aşındırılmış (SLA) implant yüzeyleri, implantın makro yapısını yeniden modellemek için yüzeyin büyük tanecikli parçacıklarla (250-500 μm) kumlanması ve ardından mikro düzensizlikler oluşturmak için yüzeyin bir asitle aşındırılmasıyla üretilir (75). Genellikle HNO_3 / HF karışımı veya kral suyu gibi güçlü asit çözeltileri, titanyum implant yüzeyinden oksit tabakasını ve altta yatan bazı malzemelerle kirletici maddeleri çıkarmak için kullanılır; bunun sonucunda çukurlar ve kraterler oluşur (76). Asitle aşındırma adımı sonrasında yüzey homojen düzensizliklere sahip olur, bu da fonksiyonel yüzey alanının artmasını sağlar ve adezyonu artırır (75). Bu teknik osteoblastların bağlanmasını hızlandırır ve osteoblastik tutulumu artırır. Sonuç olarak başarılı osseointegrasyonu ve daha fazla kemik apozisyonunu kolaylaştırır.

2.4.5 Anodize Yüzeyler

Anodik oksidasyon, daha kalın bir TiO_2 tabakası oluşturmak için titanyum implant yüzeyini elektrokimyasal olarak değiştiren bir işlemdir ve genellikle değiştirilmemiş bir titanyum implantın yüzeyinde TiO_2 katmanı 17-200 nm kalınlığında iken, anodik oksidasyon işlemi TiO_2 katmanını 600-1000 nm'ye kadar genişletebilir (77). Ayrıca bu anodik oksidasyonla indüklenen daha kalın TiO_2

tabakası çeşitli gözenekler içerir ve gingival fibroblast birikimini, adezyonu, proliferasyonu ve osteoblast adezyonunu teşvik etmektedir (47, 75). Dolayısıyla değiştirilmiş yüzey osteokondüktiftir (47).

Anodize yüzeyler, tornalanmış yüzeylere göre kemik cevabının biyomekanik ve histomorfometrik testler açısından daha başarılı sonuç vermesini sağlamaktadır (78-80).

2.5 Osseointegrasyon

İmplant yerleştirmenin birincil amacı, stabil bir kemik-implant bağlantısı elde etmek ve bunu sürdürmektir. Branemark osseointegrasyonu histolojik olarak, “düzgün, canlı kemik ile yük taşıyan bir implantın yüzeyi arasında fibröz dokular olmaksızın doğrudan yapısal ve fonksiyonel bağlantı” ; klinik olarak ise, “bir alloplastik materyalin (implant) oklüzal kuvvetlere dayanma kabiliyeti ile kemiğe asemptomatik rijit fiksasyonu” olarak tanımlamıştır (81-83). Titanyum implant yüzeylerinin osseointegrasyonu hem fiziksel hem de kimyasal özelliklere bağlıdır (79). İmplantın vital kemikle bu yapısal ve fonksiyonel birleşimi, titanyum implantın yüzey özelliklerinden önemli bir şekilde etkilenir. Titanyum ve alaşımları canlı kemiğe doğrudan bağlanamadığından, osseointegrasyonu arttırmaya yönelik bir yöntem olarak implant yüzey modifikasyonları önerilmiştir.

Dental implantlarda yüzey işlemi yüzey topografisini ve yüzey enerjisini değiştirmek için kullanılır; bunun sonucunda iyileştirilmiş ıslanabilirlik (66, 84, 85), artan hücre çoğalması (66) ve hızlandırılmış osseointegrasyon süreci (86) elde edilir. Doku ve osseointegrasyonun iyi bir etkileşimine sahip olmak için, malzemelerin biyouyumluluğu ve yüzey pürüzlülüğü önemli bir rol oynamıştır. Goyal ve çalışma arkadaşları (87), artan pürüzlülüğün aynı anda implantın yüzey alanını artırabileceğini, hücre göçünü ve implanta bağlanmasını iyileştirebileceğini ve osseointegrasyon sürecini geliştirebileceğini gözlemlemiştir.

Osseointegrasyonun hızını ve gücünü etkileyen implantın yüzey özellikleri arasında yüzey kimyası, topografya, ıslanabilirlik, yük, yüzey enerjisi, kristal yapı ve kristallik, pürüzlülük, kimyasal potansiyel, gerinim sertleşmesi, yabancı maddelerin varlığı, TiO tabakasının kalınlığı, metal ve metal olmayan kompozitlerin varlığı bulunmaktadır. Bunlar arasında implant yüzeyinin

ıslanabilirliği ve serbest yüzey enerjisinin çok önemli olduğu düşünülmektedir. Topografi, kimya, yüzey yükü ve ıslanabilirlik de dahil olmak üzere implant yüzeyi osseointegrasyonu etkileyen önemli bir faktör olarak tanımlanmıştır (82).

2.6 Sağlıklı İmplant Çevresi Dokular ile Periodontal Dokuların Karşılaştırılması

Dental implantın etrafındaki yumuşak doku yani implant çevresi mukoza birçok açıdan dişin etrafında bulunan diş etiyle benzerlik göstermektedir (88). Dişlerde olduğu gibi, dental implantlarda da alveol kemiği içinde yer alan ve yapısal ankraj sağlayan kemik içi bir bileşen ve restorasyonun tutunmasını kolaylaştıran transmukozal bir bileşen bulunur. Periodonsiyum ve implant çevresi destekleyici yapılar benzer histolojik ve klinik özellikleri paylaşırsa da, dişlerin ve implantların ankrajı ve tutturulması arasında birkaç temel fark vardır. Bunlardan biri dental implantların çevresinde periodontal ligament ve sement bulunmaması, alveolar kemiğin implant yüzeyi ile doğrudan temas halinde olmasıdır (89).

Diş eti birleşim epiteli diş ile diş eti arasındaki bağlantının bir parçasıdır. Birleşim epitelinin en içteki hücreleri, diş yüzeyine (90) karşı sıkı bir sızdırmazlık sağlayan epitelyal bağlantıyı oluşturur. Diş yüzeyine bu bağlanma, birleşim epitelinin doku homeostazisinde ve mikroorganizmalara ve bunların bileşenlerine karşı savunmada kritik bir rol oynadığı anlamına gelir. Benzer şekilde, implant ile peri-implant mukoza arasındaki epitelyal bağlantının bütünlüğünün osseointegrasyonun sürdürülmesinde kritik öneme sahip olduğu evrensel olarak kabul edilmektedir (89, 91).

Doğal dişlenmenin epitel yapısı ve düzeniyle uyumlu olarak peri-implant mukoza, diş eti oluşunun dış yüzünü kaplayan sulkus epiteli ile devam eden iyi keratinize olmuş bir oral epitelden oluşur (88). Peri-implant mukozanın bu iç epitelyal bağlanması, histolojik özellikleri bakımından dişlerin birleşim epiteline benzemektedir. Bununla birlikte doğal dişlerde, keratinize olmayan birleşim epiteli internal bazal lamina yoluyla mine yüzeyine bağlanır ve birleşim epitelinin tümü boyunca uzanır; ancak peri-implant epitelinin implant yüzeyine bağlanması yalnızca apikal bölgeyle sınırlıdır. Lifler, yapılan çalışmalarda gözlemlendiği gibi implant yüzeyine paralel bir yol izler (92).

İmplant çevresi mukozal bağ dokusu bağlantısı dişlerinkine benzer klinik ve histolojik özelliklere sahiptir. Ancak asıl fark hücresel bileşimde ve lif yöneliminde görülmektedir. Dental implantı çevreleyen bağ dokusu, TiO₂ yüzeyi ile doğrudan temas halindedir ve büyük demetler halinde alveolar kemik krestinin periosteumundan köken alan ve mukozal kenara kadar uzanan yoğun bir kollajen lifleri ağı içerir (93). Bu lifler implant/dayanak yüzeyine paralel bir şekilde yönelir. Bu durum bağ dokusunun dişlere bağlanmasının tersidir, burada kollajen lifleri kök sementine dik bir yönde yerleşir (93).

İnsan diş eti dokusu oldukça vasküler bir komplekstir. Diş etindeki kan dolaşımı yapısının ana kaynakları büyük suprapariostal kan damarları ve periodontal ligamentin vasküler pleksusudur. Periodonsiyumun kan desteğiyle karşılaştırıldığında, peri-implant mukozanın vasküler yapısı yalnızca alveoler kretin dış (vestibüler) kısmından gelen suprapariosteumun daha büyük damarlarının terminal dallarından kaynaklanmaktadır (94).

2.7 Peri-implantitis ve Peri-implant Mukozitis Nedir ?

Peri-implant dokular; dental implantların etrafını saran yumuşak doku, peri-implant mukoza olarak adlandırılmaktadır. Sağlıklı peri-implant doku sıkı kıvamlı ve mercan pembesidir (95). Peri-implant mukozit, marjinal kemik kaybı olmaksızın peri-implant mukozanın iltihaplanması olarak tanımlanmaktadır (9, 96). Hayvan ve insan çalışmalarına göre, mikrobiyal dental plağın peri-implant mukozitisin ana etiyolojik faktörü olduğu konusunda güçlü kanıtlar bulunmaktadır (97). Plak birikiminin önlenmesinin ardından peri-implant mukozitisin gerileyebileceği, ancak klinik inflamasyon belirtilerinin 3 haftadan uzun sürebileceği belirtilmiştir (98). Mevcut araştırmalar, peri-implant mukozitisin kolayca peri-implantitise ilerleyebileceğini ve özellikle idame tedavisine uyumsuzluğun bu riski artırdığını göstermektedir.

Peri-implantitis terimi, destekleyici marjinal kemik kaybı (≥ 2 mm) ile birlikte sondlama kanama, inflamasyon, mukozal marjinde çekilme ve süpürasyon dahil olmak üzere klinik inflamasyon belirtileri ile osseointegre implantların etrafındaki dokuların enfeksiyöz bir durumu olarak tanımlanır (96, 99, 100). Peri-implant mukozitisten peri-implantitise geçişe yol açan histopatolojik ve klinik durumlar tam olarak tespit edilememiştir. Peri-implanter mukozitisin, hastaların

%79-90'ında ve implantların %50'sinde görüldüğü; peri-implantitisin ise hastaların %28-56'sında ve implantların %12-43'ünde görüldüğü saptanmıştır (96).

Peri-implantitis için potansiyel risk faktörleri/göstergeleri olarak sigara ve diyabeti tanımlayan veriler yetersizdir. Peri-implantitisi diğer faktörlerle ilişkilendiren bazı sınırlı kanıtlar vardır. Örneğin; oral hijyen ve bakımı zorlaştıran post-restoratif submukozal siman varlığı, peri-implant keratinize mukozanın olmaması, implantların konumlandırılması gibi. Kronik periodontitis öyküsü olan, plak kontrol becerileri zayıf olan ve implant tedavisinden sonra düzenli idame tedavisi almayan hastalarda periimplantitis gelişme riskinin artmış olduğu görülmüştür (101).

2.8 Peri-implantitis, Gingivitis ve Periodontitis Benzerlikler

Peri-implant mukozitis ve gingivitisin klinik özellikleri birbirine benzemektedir. Her iki durumda da enflamasyonun karakteristik belirtileri gözlemlenebilir. Ancak peri-implant mukozitisin belirtileri, implantın çevresindeki dokulardaki ışık geçirgenliğinin olmaması nedeniyle bazen görülmesi daha zor olabilir. Peri-implant mukozitisin teşhisi genellikle sondlama sırasında kanamanın görülmesiyle konulur (95).

Mevcut literatür, periodontal ve peri-implant hastalıklar arasında etiyoloji, patogenezi, risk faktörleri ve klinik prezentasyon açısından benzerliklere işaret etmektedir. İki hastalığın başlangıcı plak biyofilminin varlığına bağlıdır; periodontitis ve peri-implantitis lezyonlarında bulunan biyofilm arasında çok az kalitatif fark bildirilmiştir (102). Her iki hastalık varlığında da, etkilenen bölgelerde benzer bir mikrobiyota bileşimi (gram-negatif anaeroblar) bulunmuştur (22, 103-105). Birkaç çalışma, peri-implantitis bölgelerinde normalde periodontitis ile ilişkili olmayan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Candida albicans* (*C.albicans*) gibi bazı mikroorganizmaların varlığını bildirmiştir (106-109). Bu durum peri-implantitis gelişiminde gram pozitif fakültatif kokların ve diğer varsayılan patojenlerin potansiyel bir rolünü gösterebilir.

Peri-implant mukozitte biyofilm birikimine karşı oluşan konakçı inflamatuvar cevap gingivitistekiyle aynıdır; ancak kalıcı biyofilm birikimi peri-implant mukozal dokularda, dentogingival doku ünitesine kıyasla daha belirgin bir inflamatuvar yanıt oluşturabilir (102).

Plak, hem periodontitis hem de peri-implantitisin gelişiminde önemli bir patojenik faktör olarak kabul edilir, ancak peri-implantitisin oluşumunda etiyoloji çok yönlüdür ve bakteriyel patojenlerin büyümesini destekleyen yerel ekolojik koşullardaki değişiklikler, peri-implant hastalığının ortaya çıkmasında kritik bir rol oynamaktadır (110).

Bu bağlamda implant-abutment bağlantısının subgingival konumu önemli bir husustur; bununla birlikte bu arayüzün farklı üreticiler arasında önemli farklılıklar göstermesi dikkat çekicidir. Dolayısıyla özellikle duyarlı hastalar için implant tasarımının seçimi büyük önem taşımaktadır. İmplant tasarımının çoklu özelliklerinin ve uygulayıcıların bunları uygun şekilde yönetme yeteneğinin, peri-implant hastalığının gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (111, 112).

İmplant çevresi hastalığının gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynayan implantla ilgili faktörler, implant-abutment/restorasyon bağlantısı ve implant yüzeyi olarak belirtilebilir.

2.9 İmplant Yüzey Dekontaminasyon Metodları

Mekanik Yöntemler	Kimyasal Yöntemler	Lazer
•Küretler •Ultrasonik Kazıyıcılar •Air-abrasivler	•Salin •Sitrik Asit •Klorheksidin •Hidrojen Peroksit •Hipokloröz Asit •Antimikrobiyaller	•ER:YAG (Erbium Katkılı İttriyum Alüminyum Garnet) •CO₂ (Karbondioksit) •Diyot

Şekil 2.1. İmplant Yüzey Dekontaminasyon Metodları

2.9.1 Mekanik Tedavi Yöntemleri

Mekanik tedavi ile implant yüzeyi dekontaminasyonu genellikle metal ve metal olmayan küretler, farklı uçlara sahip (polieter vb.) ultrasonik kazıyıcılar,

hava-toz püskürtme sistemleri, titanyum fırçalar, lastikler ve patlar gibi araçlarla gerçekleştirilir. Ayrıca, bazı özel uçlu frezlerle yapılan implant yüzeyinin pürüzsüzleştirme işlemi (implantoplasti) de mekanik dekontaminasyon yöntemlerinden biridir (3). Mekanik dekontaminasyonda implant yüzeyindeki birikintileri temizleyerek sert ve yumuşak dokuların yeniden organizasyonunu sağlamak hedeflenmektedir (113, 114).

2.9.1.1 KÜRETLER

İmplant yüzeyinin temizliğinde çelik, titanyum kaplı, karbon fiber, teflon ve plastik gibi çeşitli küret tipleri kullanılabilir. Ancak, çelik küretler titanyum yüzeye zarar verebileceğinden implant yüzeyinde çelik küretlerin yerine titanyum kaplı küretlerin kullanımının uygun olacağı belirtilmiştir (113, 115).

Karbon fiber ve teflon küretler kolay kırılabilirmeleri nedeniyle dezavantajlı bulunmaktadır (116, 117). Literatürde genel olarak paslanmaz çelik küretlerin implant yüzeyine daha fazla zarar verdiği kabul edilse de, titanyum ve plastik küretlerin de implant yüzeyinde pürüzlenmeye neden olduğu ve bu pürüzlenmenin paslanmaz çelik küretlerin yol açtığı hasardan önemli ölçüde farklı olmadığı bildirilmiştir (118, 119).

2.9.1.2 ULTRASONİK KAZIYICILAR

İmplant yüzeyi debridmanı için ultrasonik cihazlar da yaygın olarak kullanılmaktadır ve mikrobiyal biyofilmin uzaklaştırılmasında el aletleri kadar etkilidir (120). Karbon fiber, silikon veya plastikten yapılmış ultrasonik uçlar, implant yüzeyleri ile uyumlu malzemelerden üretilmiş özel ultrasonik materyallerdir (121).

Huang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, karbon fiber uçlu ultrasoniklerle temizlenen titanyum yüzeylerde hidrofilite ve yüzey enerjisinin arttığı, ancak yüzey pürüzlülüğünde önemli bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (122). Yapılan bir başka çalışmada ise, metal uçlu ultrasoniklerin plastik uçlulara kıyasla biyofilmi parçalamada daha etkili olduğu, ancak titanyum yüzeylerde hasara yol açtığı gösterilmiştir (118).

2.9.1.3 AIR-ABRAZİVLER

Hava toz aşındırıcı sistemleri; aminoasit glisin, sodyum bikarbonat gibi partikül halindeki aşındırıcıların basınçlı su ve hava ile yüzeylere uygulandığı sistemlerdir. Bu yöntemler ilk olarak dişler üzerinde kullanılmış, daha sonra implant yüzeylerinin temizliğinde de yaygın bir şekilde klinik pratikte yer bulmuştur (123).

İmplant yüzeylerinin dekontaminasyonunda air-abraziv cihazlar sıklıkla uygulanmakla birlikte, özellikle subgingival uygulamalarda dokuda amfizem oluşturmamak veya yumuşak dokuya zarar vermemek için dikkatli kullanılmalıdır (124, 125). Araştırmalar, düşük aşındırıcı amino asitli glisin tozunun subgingival dekontaminasyon için uygun olduğunu göstermektedir (125). Ultrasonik cihaz ile eritritol air-polisaj dekontaminasyonunun karşılaştırıldığı çalışmalarda, air-abraziv sistemlerin ultrasonikler kadar etkili olduğu ancak gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı rapor edilmiştir (126). Glisin tozuyla yapılan abrazyonun, el aletleri ve ultrasonik cihazlara kıyasla daha etkin bir yüzey temizleme sağladığı ve implant yüzeylerine daha az zarar verdiği gösterilmiştir (127).

2.9.2 Kimyasal Tedavi Yöntemleri

Peri-implanter hastalıkları tedavi etmek için kullanılan mekanik yöntemler implant yüzeyinde hasar meydana getirmekte olup ortamdaki mikrobiyal filmi parçalamak ve uzaklaştırmak için tedaviye ek olarak kimyasal ajanların kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir. İmplant yüzeyinin pürüzlülüğü ve kimyasal kompozisyonunun, biyofilm miktarını ve içeriğini etkilediği bilinmektedir (128). Kimyasal ajanlar; mikrobiyal biyofilm yapısını bozma, bakteriyel konsantrasyonu değiştirme, sub-inflamatuar seviyeleri azaltma, bakterilerin organik yapısını parçalama ve kalan bakterilerin hücre duvarı endotoksinlerini parçalama gibi görevleri yerine getirmektedir (129).

2.9.2.1 SALIN

Steril salin peri-implantitis tedavisi için oldukça fazla kullanılmakta olup etkili olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Kontamine titanyum yüzeyin 1 dakika

boyunca steril saline batırılmış bir pamuk pelet ile uygulanması, tedavi edilmemiş implantların lipopolisakkarit seviyelerinde önemli ölçüde altında bir azalma sağlamıştır (130).

Alhag ve arkadaşları deneysel bir prelinik çalışmada, steril salini mekanik ve/veya kimyasal yöntemlerle birleştirerek farklı stratejileri karşılaştırmışlardır; ancak mekanik yöntemlerle birlikte kullanıldığında reosseointegrasyon açısından diğer kimyasal yöntemlerin salinden daha iyi etkinlik gösteremediğini açıklamışlardır (131).

2.9.2.2 SİTRİK ASİT

Sitrik asidin antimikrobiyal etkisiyle diş yüzeyinde oluşan biyofilmi uzaklaştırdığı ve periodontal hastalık tedavisinde kullanıldığı çalışmalarda gösterilmiştir (132, 133).

CA bakteri hücresinin içine girdikten sonra ayrışır, hücre içi bileşenlerin asitlenmesine, hücrenin yapısının ve fonksiyonunun değişmesine neden olur (134). CA uygulamasının periodontal hastalık sonucu açığa çıkan sement yüzeyinde fibrin bağlantısını iyileştirip radiküler dentinden gelen kollajeni kısmen açığa çıkardığı (135) ve ayrıca güçlü bir antibakteriyel ajan (136) olarak işlev gördüğü rapor edilmiştir.

CA gibi asit kemoterapötik ajanlar, uzun süre boyunca dişetine temas halinde uygulanırsa tahriş edici bir etkiye sahip olabilmektedir. Seymour ve ark. CA'nın (pH 1) 3 dakika boyunca lokal uygulanmasından sonra dişetinde histolojik lezyonların olmadığını doğrulamıştır (137). Buna karşılık yapılan bir çalışmada periodontal hastalığı olan kişilerde 5 ve 10 dakika boyunca diş etine CA (pH 1) uygulanmasının sitolojik değişikliklerle birlikte yaygın ödeme neden olduğu gösterilmiştir (138). Bu nedenle ağız içerisinde CA ile çalışılırken oldukça dikkat edilmesi gerekmektedir.

CA'nın implant yüzeyinin ıslanabilirliğini (139) ve pıhtı adezyonunu iyileştirebildiği rapor edilmiştir. Peri-implantitis tedavisi için klinik uygulamayla ilgili olarak tek başına sitrik asidin kullanılmasını destekleyen araştırmalar sınırlı olsa da, CA'nın titanyum yüzeylerde biriken mikroorganizmaların toplam miktarını azaltma ve biyofilm uzaklaştırmada çok iyi dekontaminasyon kapasitesine sahip

olduğu gösterilmiştir (11). Aynı sistematik incelemede sitrik asidin kontamine edilmiş titanyum yüzeylerden biyofilmleri çıkarmada en yüksek potansiyele sahip kemoterapötik ajan olduğu sonucuna varılmıştır.

Souza ve arkadaşlarının yürüttüğü çalışmada (140) kontamine olan implantlarda sitrik asidin biyofilmi kaldırmada kontrol grubu olan saline göre göre anlamlı bir fark gösterdiği bulunmuştur. Dennison ve ark. (141) deiyonize su, CA çözeltisi ve %0.12 CHX kullanarak *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) ile kontamine TPS implantlar için dekontaminasyon tedavilerinde antibakteriyel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Biyofilm kaplı titanyum disklerin dekontaminasyonuna ilişkin başka bir çalışmada; titanyum fırça, ultrasonik cihaz veya saline batırılmış gazlı bez kullanan yöntemlere kıyasla sitrik asidin biyofilmin giderilmesinde ve hücre tutunması için biyoyumlulukta daha iyi sonuçlar gösterdiği belirtilmiştir (142).



Fotoğraf 2.2. Sitrik Asit

2.9.2.3 HİDROJEN PEROKSİT

Hidrojen peroksit (H_2O_2), geniş spektrumlu aktivite gösterip güvenli bulunmasıyla çok sayıda avantaj sunduğundan tıp alanında yaygın olarak

kullanılmaktadır. Aynı zamanda kliniklerde de kolaylıkla bulunabilir ve düşük bir maliyete sahiptir. Konsantrasyonları %3 ila %10 arasında değişmektedir.

Antimikrobiyal aktivitenin mekanizması, hidroksil radikali gibi yüksek derecede reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine dayanmaktadır. ROS, hücre zarının ana bileşenleri olan nükleik asit, lipitler ve proteinlerle reaksiyona girebilir ve bu reaksiyonlar sonuçta hücre ölümüne yol açabilir (143, 144).

Bürgers ve ekibi (14) çeşitli kemoterapötik ajanların *Candida albicans*, *Streptococcus sanguinis* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı antimikrobiyal etkilerini inceleyip araştırmalarında %3 H₂O₂ 'nin yalnızca *Candida albicans*'a karşı önemli bir bakterisidal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Ancak, başka bir çalışmada %3 H₂O₂ 'nin oral biyofilm modelinde bulunan bakterilerin %43 ile %92'sini öldürebildiği bildirilmiştir (145).

Diş eti üzerinde yapılan bir deneyde, %1'lik H₂O₂ 'nin sürekli temasının 6 saat sonra epitel tabakada ödem, 24 saat sonra vakuolizasyon ve 48 saat sonunda destrüksiyona neden olduğu rapor edilmiştir (131). Başka bir çalışmada, H₂O₂ 'nin uzun süreli ve yüksek konsantrasyonlarda kullanımının ülserasyonlara yol açtığı ve solunum veya temas yoluyla akut toksik etkiler oluşturduğu belirtilmiştir (146).

2.9.2.4 KLORHEKSİDİN

Klorheksidinin periodontal tedavideki klinik etkinliği iyi bir şekilde belgelenmiştir. Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler, mantarlar ve bazı virüsler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etkiye sahip geniş spektrumlu bir antiseptik olarak kabul edilmektedir (147-149). Ayrıca, antibakteriyel etkisi enflamasyonu azaltır ve subgingival plağı kontrol altında tutar (150).

CHX, konsantrasyonuna bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisidal etki gösterebilen spesifik olmayan bir ajandır (151, 152). Bakteri hücre duvarlarına doğrudan müdahale ederek hücre zarlarını bozup lizis oluşturur (152, 153). Ayrıca yüksek substantivitesi sayesinde sert ve yumuşak dokular tarafından emilerek zamanla salınabilir (154).

CHX peri-implant hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Klorheksidinin mekanik tedaviyle kombine uygulanmasının peri-implantitis tedavisinde ise etkili olmadığı bildirilmiştir (10, 155, 156). Machtei ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği kontrollü çalışmaya göre, iki haftada bir

supragingival plak temizliği ve lokal CHX ip uygulanan hastalarda, sadece iki haftada bir supragingival plak temizliği yapılan hastalara kıyasla implant sondlama derinliklerinde 2 mm'den fazla azalma gözlenmiştir (157). CHX'in olumsuz etkileri arasında diş taşı oluşumunda artış, tat alma bozukluğu ve diş yüzeylerinin renklenmesi yer almaktadır (158).

Hücre biyouyumluluğu konusunda Brunello ve arkadaşları, üç CHX bazlı ağız gargarasının (%0,05 CHX + %0,05 setilpiridinyum klorür [CPC], %0,1 CHX ve %0,2 CHX) insan osteoblast benzeri Saos-2 hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Test edilen tüm ağız gargaralarının kontrol grubuna göre daha az apoptozu tetiklediği, ancak %0,2 CHX grubunun diğerlerine kıyasla önemli ölçüde daha yüksek sitotoksosite gösterdiği bulunmuştur (159). Diğer alışmalar da CHX'in osteoblastlara karşı sitotoksik olduğu göstermiştir (160, 161). Kotsakis ve arkadaşları, CHX'in olumsuz biyolojik tepkisinin CA, EDTA'ya (Etilendiamin Tetraasetik Asit) göre daha fazla olduğu gözlemlemişlerdir (139).

Dennison ve ark. deiyonize su, CA özeltisi ve %0.12 CHX kullanarak P. gingivalis ile kontamine TPS implantlar için dekontaminasyon tedavileri üzerinde çalışmıştır (162). CA ve CHX uygulaması, deiyonize su ile karşılaştırıldığında implant yüzeylerinde antibakteriyel etkinlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir.



Fotoğraf 2.3. Klorheksidin

2.9.2.5 HIPOKLORÖZ ASİT

Hipokloröz asit, nötrofiller, eozinofiller ve B lenfositleri tarafından fagositoz sırasında sentezlenen ve mikroorganizmaların yok edilmesinde önemli bir rol oynayan fizyolojik bir moleküldür (163).

Diş hekimliğinde HOCl, pulpa irrigantı (17) ve periodontitis tedavisinde kemoterapötik bir ajan olarak bilinmektedir (18). Periodontal hastalıkta ve implant yüzeylerinin kimyasal tedavisinde kullanılan antiseptik bir bileşiktir. HOCl'nin antimikrobiyal etkisinin, gram negatif bakterilere karşı gram pozitif bakterilere kıyasla daha güçlü olduğu görülmektedir. Kükürt içeren bileşikler HOCl'ye duyarlıdır ve gram negatif bakterilerin zarında kükürt ve demir açısından zengin hem grupları bulunur. HOCl'nin bu membran proteinleriyle geri dönüşümsüz reaksiyona girmesi, gram negatif bakterilerde yapısal hasara neden olarak hücre geçirgenliğini değiştirir ve bakteriyel yaşamı olumsuz etkiler (164, 165). Periodontal olarak sağlıklı bireylerde subgingival floranın çoğunluğu gram pozitif

bakterilerden oluşurken, güçlü periodontal patojenler genellikle gram negatif bakterilerdir (166). HOCl'nin gram negatif bakterilere karşı daha gelişmiş savunma etkisi, immün sistemin periodontal dokuların normal fizyolojik durumunu korumasına katkı sağlayabilir.

Birkaç çalışma, bu bileşiğin dezenfektan, antienflamatuar ve rejeneratif özellikler gibi çeşitli özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (19). Yüksek oksitleyici kapasitesi nedeniyle çeşitli mikroorganizmalara karşı mükemmel bir antibakteriyel özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (167) ve hastanelerde, gıda endüstrisinde pratik uygulanabilirliğe sahiptir (168). HOCl'nin aynı zamanda fagositoz sırasında bağışıklık sistemi tarafından sentezlenen endojen bir madde olması (19) bileşiğin biyogüvenlik açısından olumlu olduğunu göstermektedir. HOCl, CHX gibi diğer etkili antiseptiklere atfedilen dişlerde renklenme gibi istenmeyen yan etkiler göstermemektedir (169). Bileşiğin en büyük dezavantajı ise stabilitesidir. Oda sıcaklığında, güneş ve hava teması minimum olacak şekilde saklanması gerekmektedir.

HOCl'nin konsantrasyonu ppm (parts per million) olarak ifade edilmekte ve bu da çözeltideki aktif klor miktarını belirtmektedir (170). Sam ve ark. (171) HOCl'nin konsantrasyona bağlı olarak enflamatuar yanıtı modüle edebildiğini, hem proenflamatuar hem de antienflamatuar özellikler gösterdiğini ancak bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu belirtmiştir.

Castillo ve ark. (172) %0,05 ve %0,025 konsantrasyona sahip HOCl gargalarının antimikrobiyal özelliklerine ilişkin kapsamlı bir araştırma yapmış ve HOCl'nin *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus* ve *Klebsiella oxytoca*'ya karşı CHX'ten (%0,2) daha etkili olduğunu belirlemiştir. Ayrıca ağız gargara maddesi olarak HOCl'nin sistemik bir etkiye sahip olduğu gösterilmemiştir ve insanlarda kullanım için güvenli olduğu görülmektedir (173).

Shinn-Jyh Ding ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 180 ppm HOCl'nin biyofilm ile kontamine titanyum implant yüzeylerinin detoksifikasyonunda etkili bulunduğu gösterilmiştir (174).



Fotoğraf 2.4. Hipokloröz Asit

2.9.3 Antimikrobiyaller

İmplant yüzeyinin dekontaminasyonunu sağlamak için ek bir strateji olarak, lokal antibiyotikler veya antiseptikler kullanılabilir. En yaygın olarak kullanılanlardan bazıları metronidazol, minosiklin, doksisiklin ve tetrasiklin olup periodontitis tedavisinde kullanılan yöntemlerle birlikte uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (175, 176).

Tetrasiklinin etkinliğini diğer dekontaminasyon ajanlarıyla karşılaştıran bir in vitro çalışma, 2 dakika boyunca uygulanan tetrasiklinin diğer kimyasallara göre üstün olmadığını ve ölü hücre oranının %3,9 olduğunu bulmuştur (177).

Ramos ve arkadaşları, deneysel ligatür kaynaklı bir modelde tetrasiklinin genel bakteri sayısını azaltmada etkili olduğunu göstermiştir (178). Peri-implantitis tedavisine ilişkin mevcut randomize kontrollü çalışmalar (RKÇ), temel olarak mikroküreler (179, 180) ve merhem (181, 182) gibi farklı minosiklin

formülasyonlarına odaklanmış; genellikle mekanik debridmanla karşılaştırıldığında sondlama derinliği (PPD) ve sondlamada kanama (BOP) azalmayla tedavi başarısı açısından olumlu kısa vadeli sonuçlar elde edilmiştir. Doksisisiklin jelinin kullanımı, 4 aylık bir RKÇ' de test ve kontrol grupları arasında PPD ve BOP açısından önemli farklılıklar göstermiştir; bu bulgu lokal antibiyotiklerin kullanımını desteklemektedir (183).

2.9.4 Lazerler

Lazerler anti-bakteriyel ve biyostimülatör etkilerinden dolayı peri-implantitis tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (184). Yıllar geçtikçe tamamen farklı özelliklere sahip birçok farklı lazer ve dalga boyu kullanıma sunulmuş ve çeşitli güç ayarları önerilmiştir.

Peri-implantitisin cerrahi olmayan tedavisinde lazer uygulamalarıyla ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur. Lazer cihazlarının tek başına kullanıldığı çalışmalar, air-abraziv cihazlarla benzer sonuçlar vermiştir (185). Peri-implantitis tedavisinde mekanik debridman ile lazerin kombinasyonunun, sadece mekanik tedaviye kıyasla anlamlı düzeyde daha olumlu sonuçlar sağladığı bildirilmiştir (186).

Bazı lazer uygulamalarının, implant yüzeyinde deformasyonlara neden olarak faydadan çok zarar verebileceği de rapor edilmiştir (187). Lazer uygulaması sonrasında implant yüzeyinin pürüzlülüğünün artabileceği ve bunun da plak birikimini arttırabileceği belirtilmiştir (188). Günümüzde peri-implantitis tedavisinde en güvenli şekilde kullanılan lazer türü Er:YAG lazerlerdir ve bu lazerin diştaşını güvenli bir biçimde uzaklaştırabildiği ifade edilmiştir (189).

Kotsakis ve arkadaşları lazer uygulamalarının tedavinin cerrahisiz aşamasında kullanılabilecek bir araç olabileceğine dair araştırmaların faydalı olabileceğini belirtmişlerdir (190). Son yıllarda yayımlanan araştırmalarda peri-implantitis tedavisinde cerrahisiz tedaviye ek olarak uygulanan fotodinamik tedavinin, minosiklin mikrokürecikleri ile birlikte uygulanan cerrahisiz periodontal tedavi ile benzer sonuçlar verdiği bildirilmiştir (191).

2.10 Peri-İmplant Lezyonlarının Tedavisi

Peri-implant hastalıkların tedavisinde amaç, tıpkı periodontal tedavide olduğu gibi, bakteriyel yükü en aza indirmek ve biyofilmi uzaklaştırmaktır. Biyofilmin implant yüzeyinden temizlenmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tedavi yöntemleri genel olarak cerrahi olmayan ve cerrahi tedavi teknikleri olarak ikiye ayrılabilir. Öncelikle cerrahi olmayan tedavi teknikleri tercih edilmektedir. Bu tedavi, mekanik temizleme, lokal ve sistemik antibiyotikler, antiseptikler ve kimyasal ajanları içermektedir. Cerrahi tedavi yöntemleri olarak da rezektif ve rejeneratif işlemler uygulanmaktadır.

2.10.1 Peri-İmplant Hastalıkların Cerrahi Olmayan Tedavisi

Mikroorganizmaların bir araya gelmesiyle oluşan biyofilm, peri-implant dokularda da periodontal dokularda olduğu gibi enflamasyona yol açabilmektedir. İmplant yüzeyinde biriken biyofilmin gelişimi, peri-implant hastalıkların başlamasına ve ilerlemesine neden olmaktadır (189). Bu nedenle peri-implant mukozitis ve peri-implantitis tedavisindeki esas amaç, bu biyofilm tabakasının uzaklaştırılmasıdır.

6. Avrupa Periodontoloji Çalıştayı'nda, cerrahisiz tedavinin peri-implant mukozitis lezyonlarının tedavisinde etkili olduğu, ancak peri-implantitis lezyonlarının tedavisinde yeterince etkili olmadığı bildirilmiştir (192). Cerrahi olmayan uygulamaların, peri-implantitisten etkilenen dokulardaki lokal etkenleri gidermede olumlu sonuçlar sağladığı ancak kemik kaybını önlemede etkili olmadığı bildirilmiştir (193).

Peri-implanter hastalıkların tedavisinde implant yüzeyi debridmanı kullanılmakla birlikte implant tasarımı, implant yüzey özellikleri ve implant üst yapısı gibi faktörler cerrahisiz mekanik tedaviyi olumsuz yönde etkileyebilmektedir (189).

Peri-implant mukozitisin tedavisinde mekanik ve antimikrobiyal yöntemler kullanılmaktadır. Mekanik tedavinin amacı, implant yüzeyindeki ve implant ile abutment arasındaki supragingival ve subgingival birikintilerin uzaklaştırılarak sağlıklı bir peri-implant mukoza elde edilmesidir. Mekanik tedavi yöntemleri

olarak küretler ve ultrasonik aletler kullanılmakta olup paslanmaz çeliğin titanyumdan daha sert bir malzeme olması nedeniyle implant yüzeyinde kullanımı önerilmemektedir. (115). Mekanik tedavi sonrasında bakterilerin yeniden kolonizasyonunu önlemek amacıyla CHX içerikli antimikrobiyal ajanlar birçok çalışmada kullanılmıştır (180, 194, 195). Heitz-Mayfield ve ark. (114) peri-implant mukozitisli implantlara sahip 29 hastada yaptıkları çalışmada, mekanik tedaviye ek olarak %0,5'lik CHX jelin 4 hafta boyunca kullanımının tek başına mekanik tedaviye üstünlüğü sağlamadığını göstermiştir.

Mekanik tedavi ile elde edilen antibakteriyel etkiyi arttırmak amacıyla lokal ve sistemik antibiyotikler de antimikrobiyal tedavi olarak kullanılmaktadır. Ancak Schwarz ve ark.'nın (196) yaptığı sistematik derleme, antibiyotik kullanımının peri-implant mukozitis tedavisine olumlu bir katkısının olmadığını ortaya koymuştur. Hastalara yapılan profesyonel debridman sonrasında, implant üstü protezlerin de ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir. Hastanın oral hijyenini engelleyen dışbükey olmayan protez alanları, kapalı embraşürler ve yumuşak dokuya baskı yapan bölgeler ortadan kaldırılmalıdır. Ardından oklüzyon yeniden değerlendirilmeli ve gerektiğinde okluzal uyumlama yapılmalıdır (197).

Sonuç olarak, antimikrobiyal tedaviden bağımsız olarak, mekanik tedavi ve hastanın ağız hijyeni peri-implant mukozitis hastalığının tedavisinde yeterli olmaktadır (121).

Peri-implantitisin cerrahi olmayan tedavisinde peri-implant mukozitiste olduğu gibi küret ve ultrasonik cihazlarla mekanik tedavi, lazer kullanımı ve antimikrobiyal tedavi gibi çeşitli alternatifler bulunmaktadır (185, 198). Son 10 yıl içinde peri-implantitis lezyonlarını cerrahi olmayan yöntemlerle tedavi etmek için çeşitli protokoller uygulanmasına rağmen en etkili seçeneğin hangisi olduğu hala netlik kazanmamıştır (126).

Ancak tüm bu tedavi yöntemleri peri-implantitisin tam tedavisinde yeterli olmadığından ileri cerrahi tedavi önerilmektedir (121).

2.10.2 Peri-İmplant Hastalıkların Cerrahi Tedavisi

Cerrahi olmayan tedavilerde implant yüzeyine erişim sınırlı olduğundan yüzeyin etkili bir şekilde temizlenmesi ve enfeksiyonun ortadan kaldırılması

zordur; bu nedenle hastalığın nüks etmesi ve peri-implantitisin ilerlemesi önlenememektedir. Bu sebeple genellikle cerrahi müdahaleler gerekmektedir (199). Peri-implantitisin cerrahi tedavisinde açık flep debridmanı, rezektif ve rejeneratif yaklaşımlar uygulanmaktadır (95, 200).

Cerrahi tedavinin faydaları arasında, implant yüzeyinin dekontaminasyonu ile temizlenebilirliği destekleyen sert ve yumuşak doku oluşumu ile mümkünse kemik defektlerinin rekonstrüksiyonu yer almaktadır (200). Peri-implant dokuların iyileşmesini hızlandırıp biyofilmi uzaklaştırmak için mekanik dekontaminasyon, özel uçlara sahip küretler ve ultrasonik cihazlar yardımıyla ya da implant yüzeyinin frezlerle düzeltilmesi (implantoplasti) yoluyla gerçekleştirilir (201). Dekontaminasyon ayrıca klorheksidin, sitrik asit ve hidrojen peroksit gibi kimyasallarla ya da lazer kullanılarak yapılabilir (202). Ancak, bu farklı tekniklerin birbirlerine olan üstünlüğü henüz kanıtlanmamıştır (121).

Peri-implantitisli implantlara sahip 17 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada rezektif tedavi ve implantoplastinin implantların hayatta kalma oranlarını artırdığı saptamıştır (201). Albouy ve arkadaşları (203) ise peri-implantitisli dört farklı implant tipi üzerinde uyguladıkları rezektif tedavinin klinik ve radyografik açıdan başarılı sonuçlar verdiğini belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada (204), 36 implant etrafında ksenojen ve otojen greft kombinasyonu kullanılıp 1 yıl sonunda ortalama 3,5 mm kemik kazancı ve 4 mm PPD'de azalma gözlemlenmiştir. Öte yandan Roos Jansaker ve arkadaşlarının yürüttüğü ve 5 yıl takipli çalışmada peri-implantitisli implantların rejeneratif tedavisinde greft ve membran kullanımının tek başına greft uygulamasına göre bir üstünlüğü olmadığını ifade etmişlerdir (205).

Peri-implantitisin cerrahi tedavisinde çeşitli teknikler ve malzemeler kullanılmasına rağmen, tedavi yönteminin belirlenmesinde peri-implant defekt morfolojisinin de önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir. Çevresel ve kemik içi defektler söz konusu olduğunda rejeneratif tedavi önerilirken, kemik üstü defektler için rezektif tedavi yöntemlerinin tercih edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (121).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda; peri-implantitis tedavisinde yaygın olarak kullanılan bazı kimyasal bileşiklerin, iki ayrı dekontaminasyon yöntemi altında (sürtme ve daldırma) saf titanyum grade IV diskler (DTI® Implant Systems) üzerinde oluşturduğu yüzey değişiklikleri analiz edilmiştir. Bu amaçla sürtme (S) grubunda; %0.018 konstrasyonda HOCl, %40'lık CA, %0.2'lik CHX içerikli solüsyonlara pamuk peletler batırılıp diskler üzerinde sürtme işlemi yapılmış; daldırma (D) grubunda ise diskler; HOCl, CHX, CA solüsyonlarına batırılıp daldırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Yüzey değişikliği analizi için steril diskler solüsyonlar uygulanıp (sürtme ve daldırma) herhangi bir bakteriyel kontaminasyon oluşturmaksızın AFM cihazıyla pürüzlülük değerlendirilmesi yapılmıştır. Ayrıca bir grup olarak steril diskler solüsyonlarla muamele edilmiştir ve Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) altında incelemesi yapılmıştır.

Solüsyonların dekontaminasyon etkinliklerini karşılaştırmak adına çalışmamızda biyofilm oluşturduğumuz titanyum disklerde iki ayrı dekontaminasyon yöntemi (sürtme ve daldırma) kullanılarak 3 farklı solüsyonla işlem yapılmış ve işlem sonrası tüm disklerde spektrofotometre cihazı ile diskler üzerindeki biyofilm miktarı optik yoğunluk (OD) üzerinden hesaplanmıştır.

Solüsyonlar ile muamele edilmiş titanyum disklerin üzerinde yeni biyofilm tutunmasını değerlendirmek için ayrı bir grup olarak steril diskler solüsyonlar uygulanıp (sürtme ve daldırma işlemleri) sonrasında bakteriyel kontaminasyon oluşturulmuş ve spektrofotometre cihazıyla optik yoğunluğu değerlendirilmiştir.

Farklı solüsyonlar ile yine sürtme ve daldırma işlemleri yapılan titanyum disklerin fare gingival fibroblastları üzerindeki sitotoksik etkisini değerlendirmek adına 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile biyoyumumluluğuna bakılmıştır.

Çalışmada toplam 104 adet 6mm çapında 2 mm kalınlığında pürüzsüz yapıda grade 4 saf titanyum disk (DTI Implant Systems) kullanılmıştır. Her bir disk sırasıyla aseton, absolut etanol ve deiyonize suda 15 dakika boyunca sonikasyona tabi tutulup sonrasında otoklavda 121 °C de 15 dakikada steril edilmiştir ve tek tek paketlenmiştir.

İn vitro olarak yapılan çalışmamızda disklere uygulanan sürtme ve daldırma işlemleri Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji ABD Laboratuvarında; bakteriyel kontaminasyon uygulamaları, dekontaminasyon sonrası ölçümler, sitotoksisite testleri Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında; AFM Cihazı ile pürüzlülük değerlendirilmesi Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında; SEM cihazındaki analizler Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

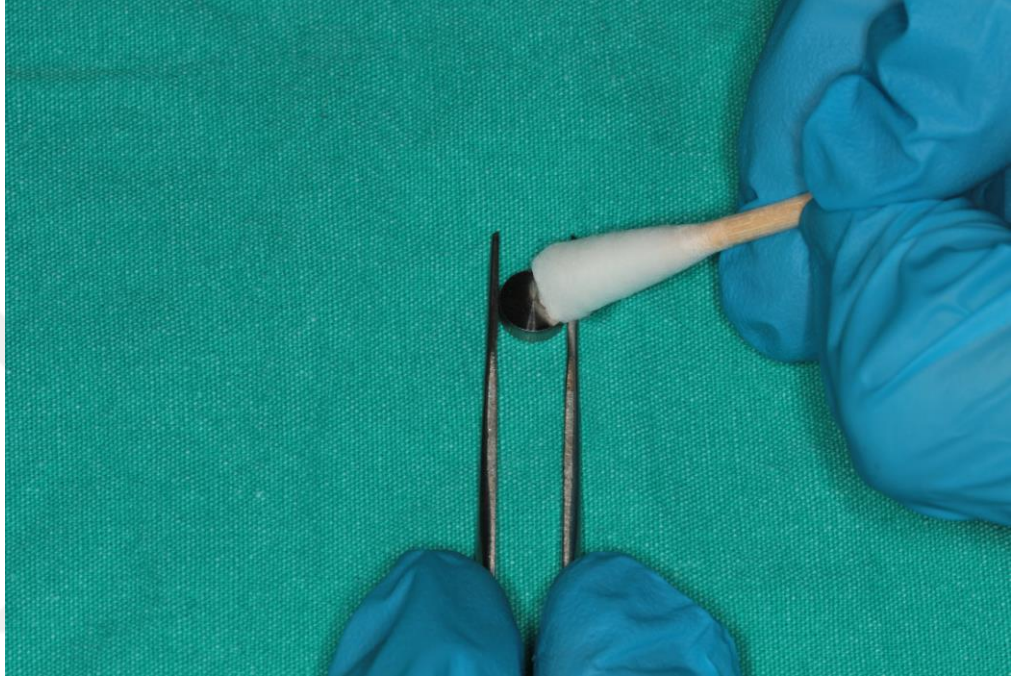
3.1 Çalışma Gruplarının oluşturulması

Çalışmamız; yüzey pürüzlülüğü incelemesi, bakteriyel analiz ve hücre sitotoksisite analizi olmak üzere 3 ayrı aşamada yürütülmüştür. Her bir aşama için ayrı titanyum diskler kullanılmıştır. Bakteriyel analiz kısmında ayrıca bakteriyel kontaminasyon öncesinde ve sonrasında olacak şekilde 2 farklı işlem yapılmıştır. Çalışmamızda kullanılan titanyum disklere Wheelis ve arkadaşları (2006), Souza ve arkadaşlarının (140) çalışmalarında dekontaminasyon yöntemi olarak uyguladığı sürtme ve daldırma prosedürleri uygulanmıştır. Sürtme ve daldırma işlemleri 3 farklı solüsyon (CHX, CA, HOCl) için de kullanılmıştır. Çalışmamızda CHX, CA, HOCl solüsyonlarının olduğu 3 ana grup ve her bir grup için sürtme ve daldırma alt grubu ve ayrıca her bir aşama için hiçbir işlem yapmadığımız kontrol (K) grubumuz bulunmaktadır.

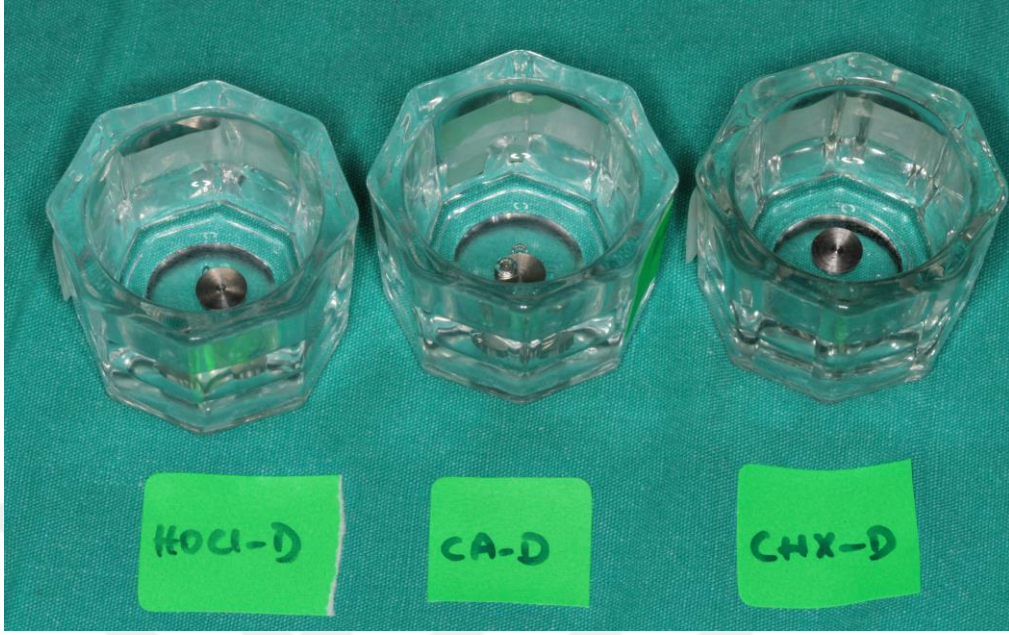
3.1.1 Sürtme ve Daldırma Prosedürleri

Daldırma prosedüründe; steril titanyum diskler içerisinde test edilecek solüsyon (CHX, HOCl, CA) bulunan cam godelere konulup 8 dakika boyunca daldırma işlemine tabi tutulmuştur. Çalışmamızda toplamda 42 adet saf titanyum diske her solüsyonun içinde 8 dakika batırılarak daldırma işlemi uygulanmıştır. Bu disklerin 9 tanesi AFM yüzey pürüzlülüğü analizi için kullanılmış, 12 tanesi hücre analizinde, 18 tanesi bakteri analizinde, 3 tanesi SEM analizi kısmında kullanılmıştır.

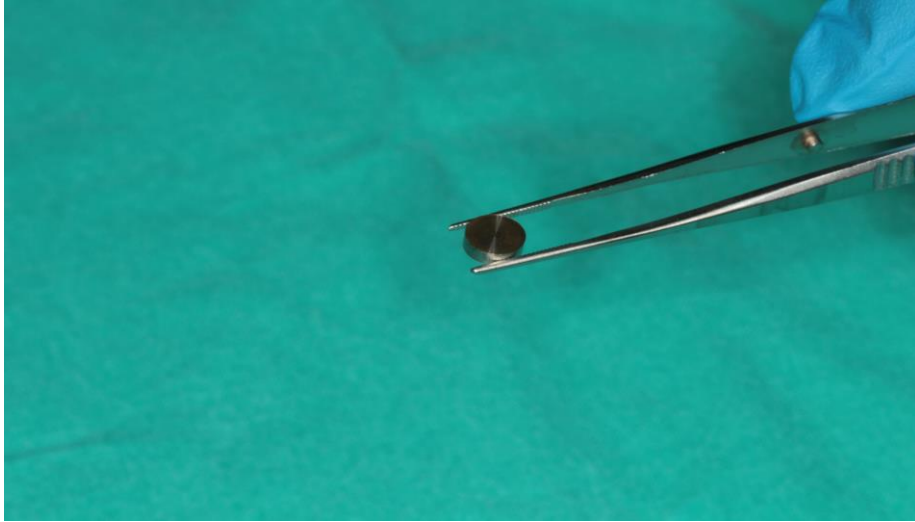
Sürtme prosedüründe; test edilecek solüsyona (CHX, HOCl, CA) batırılmış pamuk peletler yardımıyla 8 dakika boyunca 42 adet titanyum diske sürtme işlemi uygulanmıştır. Bu disklerin 9 tanesi AFM yüzey pürüzlülüğü analizi için kullanılmış, 12 tanesi hücre analizinde, 18 tanesi bakteri analizinde, 3 tanesi SEM analizi kısmında kullanılmıştır.



Fotoğraf 3.1. Pamuk peletle sürtme işlemi yapılan titanyum disk



Fotoğraf 3.2. Daldırma işlemi yapılan diskler



Fotoğraf 3.3. Kontrol grubuna ait titanyum disk

3.2 1.Aşama: Yüzey Analizleri

3.2.1 Titanyum Disklerin Atomik Kuvvet Mikroskopisi Cihazıyla Pürüzlülük Değerlerinin Analizi

Steril titanyum diskler HOCl, CHX, CA solüsyonlarıyla belirlenen gruplara göre sürtme ve daldırma işlemlerine tabi tutulmuştur. Araştırma gruplarımız aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

HOCl-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl'ye daldırılma işlemi

HOCl-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

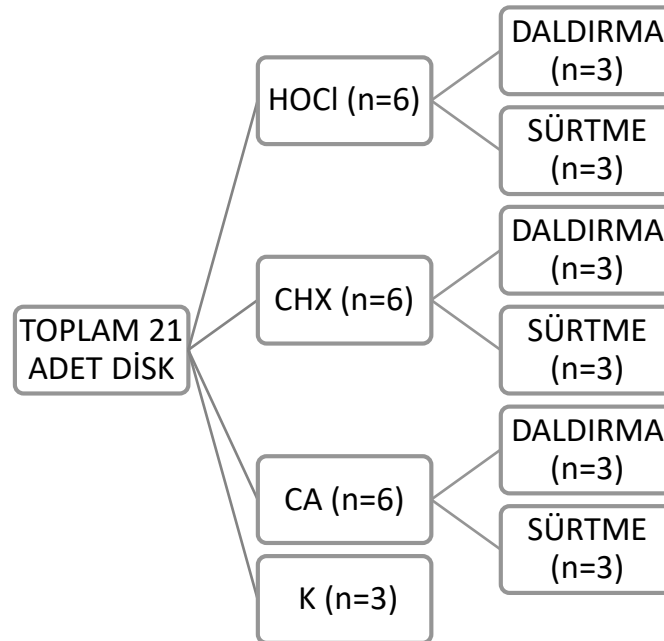
CA-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA'ya daldırılma işlemi

CA-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CHX-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX'e daldırılma işlemi

CHX-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

K (n=3): İşlem yapılmamış diskler (Negatif kontrol)

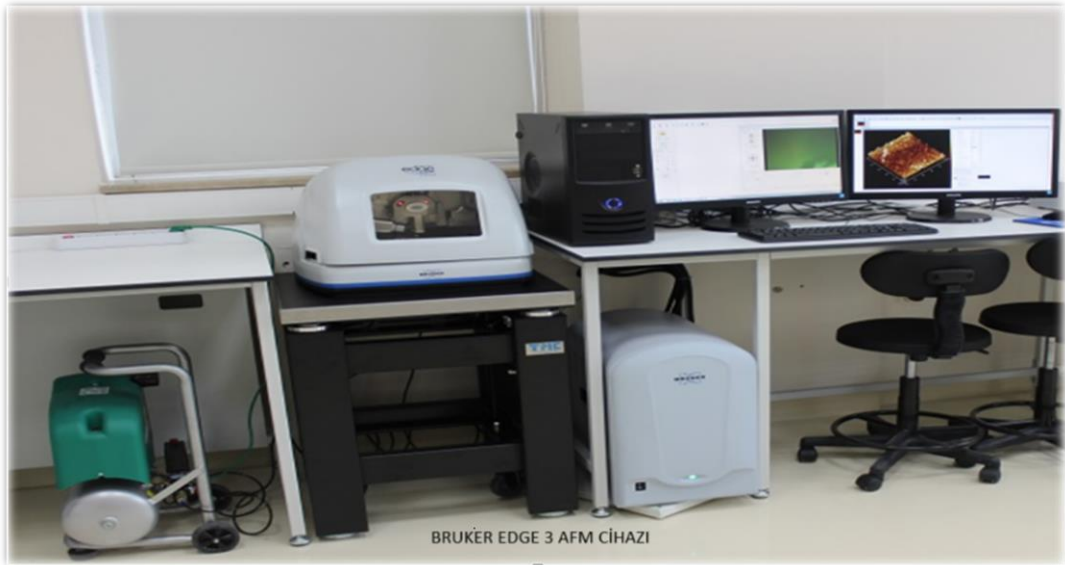


Şekil 3.1. AFM Analizi Yapılan Disklerin Sayısal Dağılımı

Sonrasında diskler tek tek hava sızdırmaz cam tüplere yerleştirilip pürüzlülük durumlarının değerlendirilmesi için Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarına gönderilmiştir.

Kontrol ve tedavi gruplarının daha önce açıklanan prosedürleri tamamlandıktan sonra yüzey pürüzlülüğü atomik kuvvet mikroskobuyla (Bruker-Edge 3) değerlendirilmiştir. Bu mikroskobun çalışma prensibi, yüzey ve prob arasındaki etkileşim sonucunda atomik düzeyde üç boyutlu yüzey topoğrafyasını görüntülemeye dayanır. Cihazın elde ettiği sonuçlar, dahili yazılım tarafından yükseklik ve konum verilerine dönüştürülebilen bir kuvvet alanı haritasından oluşmaktadır.

Analiz detayları şu şekildedir: Numune, mikroskoba yerleştirildikten sonra taramalar gerçekleştirildi. İstatistiksel doğruluk sağlamak amacıyla yüzeyden $10 \times 10 \mu\text{m}$ 'lik alan için okuma elde edildi. Cihazda bir cantilever üzerine monte edilmiş ve birkaç nm ölçeğinde eğrilik yarıçapına sahip olan tip ile örnek yüzeyi arasındaki etkileşimleri kaydederek yüksek çözünürlüklü yüzey topografisi elde edilmiştir (207). AFM analizi, Nanoscope'da Peakforce Tapping Modunda gerçekleştirildi. Alınan görüntüler kaydedilip program üzerinden yüzey pürüzlülüğü modülünde yüzey düzensizlikleri R_a (pürüzlülük aritmetik ortalama sapma değeri) olarak μm cinsinden kaydedildi.



Fotoğraf 3.4. AFM Cihazı

3.2.2 Sürtme Ve Daldırma İşlemleri Yapılmış Disklerin Elektron Mikroskopuyla (SEM) Analizi

Steril titanyum diskler HOCl, CHX, CA solüsyonlarıyla, belirlenen gruplara göre sürtme ve daldırma işlemlerine tabi tutulmuştur. Araştırma gruplarımız aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

HOCl-D (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl'ye daldırılma işlemi

HOCl-S (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

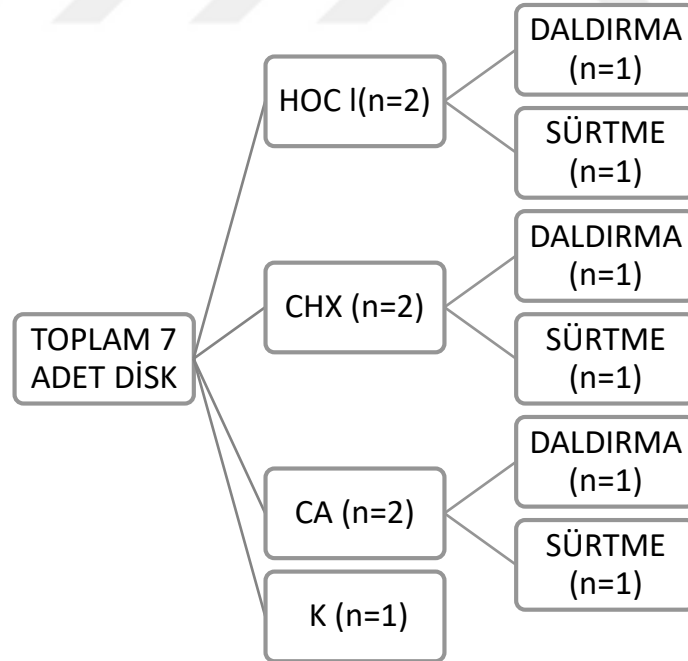
CA-D (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA'ya daldırılma işlemi

CA-S (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CHX-D (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX'e daldırılma işlemi

CHX-S (n=1): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

K (n=1): İşlem yapılmamış diskler (Negatif kontrol)



Şekil 3.2. SEM Analizi Yapılan Disklerin Sayısal Dağılımı

Sonrasında diskler tek tek hava sızdırmaz cam tüplere yerleştirilip yüzey morfolojilerinin değerlendirilmesi için Kırıkkale Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarına gönderilmiştir.

Numunelerin topografik analizlerinin belirlenebilmesi için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM JEOL JSM 5600) kullanılmıştır. Bu mikroskobun çalışma prensibi, katı numunelerin yüzeyinde farklı sinyaller oluşturmak için yüksek enerjili elektronlardan oluşan odaklanmış bir ışın demeti kullanmasına dayanmaktadır. Elektronların numuneyle etkileşimi sonucunda oluşan sinyaller, numunenin dış yapısı (morfolojisi), kimyasal bileşimi ve kristal yapısı gibi özellikleri hakkında bilgi sağlamaktadır. Cihazdan elde edilen görüntüler 20 kilowatta 1000X büyütme altında incelenmiştir.



Fotoğraf 3.5. SEM Cihazı

3.3 2.Aşama : Bakteriyel Analizler

3.3.1 1.Kısım: Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Yeni Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisinin Analizi

Steril titanyum diskler HOCl, CHX, CA solüsyonlarıyla belirlenen gruplara göre sürtme ve daldırma işlemlerine tabi tutulmuştur. Araştırma gruplarımız aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

HOCl-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl'ye daldırılma işlemi

HOCl-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CA-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA'ya daldırılma işlemi

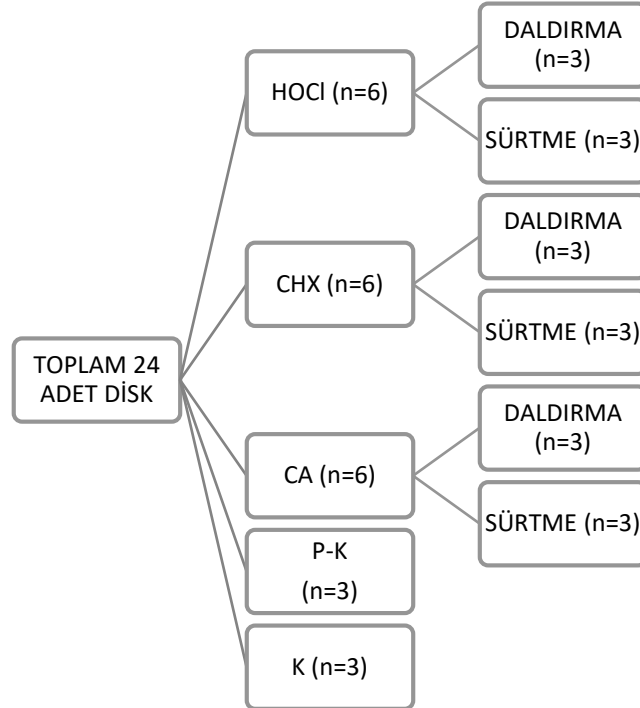
CA-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CHX-D (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX'e daldırılma işlemi

CHX-S (n=3): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

P-K (n=3): İşlem yapılmamış kontamine diskler (Pozitif kontrol)

K (n=3): İşlem yapılmamış steril diskler (Negatif kontrol)



Şekil 3.3. Disklerin Yeni Biyofilm Oluşumundaki Sayısal Dağılımı

Sonrasında diskler tek tek hava sızdırmaz cam tüplere yerleştirilip biyofilm oluşum durumlarının değerlendirilmesi için Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.3.1.1 BAKTERİ SEÇİMİ VE TEMİNİ

Başarısız olan implantlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, sıklıkla *S. aureus* türleri peri-implanter dokularda izlenmiştir (108). Çalışmamızda biyofilm formasyonu için laboratuvar ortamında izole edilen *S. aureus* ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu) 25923 bakteri türü kullanılmıştır.

3.3.1.2 BESIYERİNİN HAZIRLANMASI

Bakteri üretiminde kullanılan besiyerinin hazırlanması, üretici firmanın protokolüne göre yapılmıştır. Beyin kalp infüzyon buyyonu (BKİB, Condalab, Cat no: 1400.00) 500 gram 1 litre distile su içerisinde çözölmüş ve 120 °C’de 15 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavlama işleminin ardından 50 mililitre (ml) steril falkon tüplere bölünerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Çalışmada kullanılan %2’lik glikozlu beyin kalp infüzyon buyyonu (G-BKİB) besiyerinin oluşturulması için kuru toz halindeki besiyerinden 37 gram tartılmış ve 1000 ml (mililitre) distile suda çözdürölmüştür. 20 gram saf glikoz karışıma eklenmiş iyice çözülp 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Besiyeri soğuduktan sonra sterilizasyon kontrolü için 37°C derecede 24 saat inkübe edilmiştir. Ertesi gün üreme olmamış besiyeri +4°C’de buzdolabında saklanmıştır.

3.3.1.3 BAKTERİ SÜSPANSİYONLARININ HAZIRLANMASI VE BİYOFİLM TABAKASININ MİKROPLAK YÖNTEMİYLE OLUŞTURULMASI

Saklama besiyerinde muhafaza edilen *S. aureus* ATCC 25923 suşu, agara tek koloni şeklinde ekilmiş, 37°C’de 24 saatlik inkübasyondan sonra besiyerinde üreyen koloniler içinden alınan tek koloni G-BKİB besiyerine ekilerek 37°C’de 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün içerisinde bakteri üremiş besiyeri 1/20 oranda steril G-BKİB ile sulandırılmıştır (208). Bu bakteri süspansiyonları,

içerisinde işlem yapılmış titanyum disklerin yani test gruplarının olduğu steril hücre kültür flasklarına 10 ml olarak dağıtılmıştır.

Pozitif kontroller için işlem yapılmamış titanyum diskler her bir solüsyon grubundan ayrı ayrı 1 adet olacak şekilde (toplam 3 adet) bakteri süspansiyonu içeren flasklara konulmuştur. Negatif kontroller için işlem yapılmamış diskler yine her gruptan ayrı ayrı 1 adet olacak şekilde (toplam 3 adet) temiz G-BKİB içeren flasklara konulmuştur.

Bakterilerin üremesinin kontrolü amacıyla ayrı bir flaska sadece bakteri süspansiyonu konulmuştur. Yapılan bütün ekimler 37°C’de 48 saat çalkalayıcı inkübatörde inkübe edilmiştir. Bütün ekim örneklerindeki üreme yoğunluğu, bakterilerin kontrol üremesi ile kıyaslanmış, negatif örneğin dışında bütün flasklarda yoğun bir şekilde üreme olduğu tespit edilmiştir.

Flasklardaki diskler temiz 50 ml’lik flakona alınmış ve Fosfat Tampon Salin ile (PBS) 3 kez yıkanmış ve kurutulmuştur. Oda sıcaklığında her disk üzerine %1’lik kristal viole boyası uygulanıp 20 dk bekletilmiştir. Her disk bol PBS ile 3 kere yıkanmış, oda sıcaklığında 20 dk. kurutulmuştur. Kristal viole boya uygulanarak disklerde biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir. Her disk üzerine 500 µl etanol/aseton solüsyonu (80/20 volum) uygulanmış ve ikişer olarak 96 kuyucuklu polistren plaklara 200µl aktarılmıştır. Spektrofotometre cihazında (Molecular Devices SpectraMax 190) 590 nm dalga boyutunda OD değerleri elde edilmiştir.

Titanyum disklerin doğal yapısının kristal viyole solüsyonunu bir miktar içine hapsetme özelliği olduğu için, elde edilen ortalama OD değerlerinden negatif örneklerin OD değerinin çıkarılması ile sürtme ve daldırma işlemi yapılan disklerin net OD değeri hesaplanmıştır.

3.3.2 2.Kısım: Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Biyofilm Uzaklaştırılmasına Etkisinin Analizi

Biyofilm oluşturulan diskler HOCl, CHX, CA solüsyonlarıyla, belirlenen gruplara göre sürtme ve daldırma işlemlerine tabi tutulmuştur. Araştırma gruplarımız aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

HOCl-D (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCL'ye daldırılma işlemi

HOCl-S (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCL solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CA-D (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA'ya daldırılma işlemi

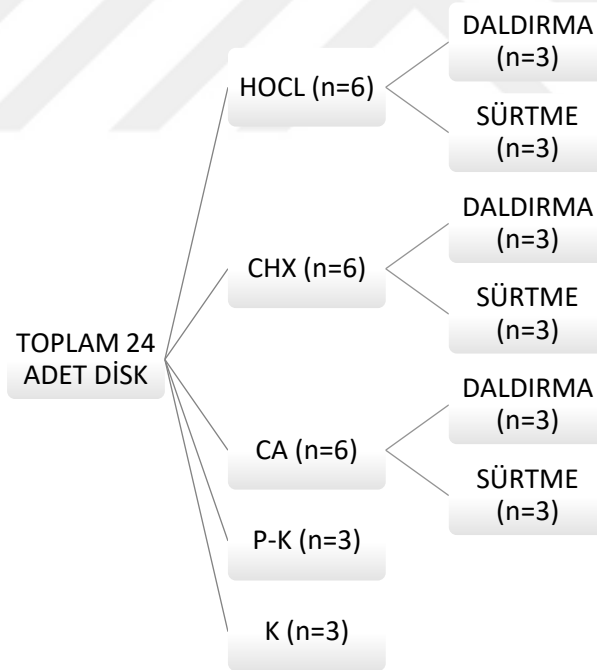
CA-S (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CHX-D (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX'e daldırılma işlemi

CHX-S (n=3): Kontamine titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

P-K (n=3): İşlem yapılmamış kontamine diskler (Pozitif kontrol)

K (n=3): İşlem yapılmamış steril diskler (Negatif kontrol)



Şekil 3.4. Biyofilm uzaklaştırma etkinliği test edilen disklerin sayısal dağılımı

3.3.2.1 BAKTERİ SÜSPANSİYONLARININ HAZIRLANMASI VE DISKLERE UYGULANMASI

3.3.1.1 ve 3.3.1.2 'de açıklanan aşamalar uygulandıktan sonra saklama besiyerinde muhafaza edilen *S. aureus* ATCC 25923 suşu, agara tek koloni şeklinde ekilmiş, 37°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra besiyerinde üreyen koloniler içinden alınan tek koloni G-BKİB besiyerine ekilerek 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün içerisinde bakteri üremiş besiyeri 1/20 oranda steril G-BKİB ile sulandırılmıştır (208). Bu bakteri süspansiyonları, içerisinde işlem yapılmamış titanyum disklerin olduğu steril hücre kültür flasklarına 10 ml olarak dağıtılmıştır.

Pozitif kontroller için işlem yapılmamış titanyum diskler her bir solüsyon grubundan ayrı ayrı 1 adet olacak şekilde (toplam 3 adet) bakteri süspansiyonu içeren flasklara konulmuştur. Negatif kontroller için işlem yapılmamış diskler yine her gruptan ayrı ayrı 1 adet olacak şekilde (toplam 3 adet) temiz G-BKİB içeren flasklara konulmuştur.

Bakterilerin üremesinin kontrolü amacıyla ayrı bir flaska sadece bakteri süspansiyonu konulmuştur. Yapılan bütün ekimler 37°C'de 48 saat çalkalayıcı inkübatörde inkübe edilmiştir. Flasklardaki dekontamine edilmiş diskler temiz 50 ml'lik flakona alınmış ve PBS ile 3 kez yıkanmış ve kurutulmuştur.

3.3.2.2 DEKONTAMINASYON AŞAMASI

Kimyasal dekontaminasyon olarak bakteriyle kontamine titanyum diskler 8 dakika boyunca solüsyon içine batırılmış ve böylece daldırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Mekanik dekontaminasyonu taklit edecek şekilde pamuk peletler solüsyonlara batırılıp kontamine disklerle 8 dakika boyunca uygulanmış ve sürtme işlemi gerçekleştirilmiştir. Disklerde kalan biyofilm miktarı Hitit Üniversitesi Merkezi Araştırma laboratuvarında analiz edilmiştir.

3.3.2.3 MIKROTITRASYON PLAĞI YÖNTEMIYLE TITANYUM DISKLER ÜZERİNDE KALAN BİYOFİLM MİKTARININ BELİRLENMESİ

3.3.1.3'te açıklanan aşamalar diskler üzerine uygulandıktan sonra spektrofotometre cihazıyla disklerin üzerinde kalan biyofilm miktarı ölçülmüştür.

3.4 3.Aşama: Sitotoksisite (MTT) Analizi

Steril titanyum diskler HOCl, CHX, CA solüsyonlarıyla, belirlenen gruplara göre sürtme ve daldırma işlemlerine tabi tutulmuştur. Araştırma gruplarımız aşağıdaki gibi oluşturulmuştur:

HOCl-D (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl'ye daldırılma işlemi

HOCl-S (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca HOCl solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

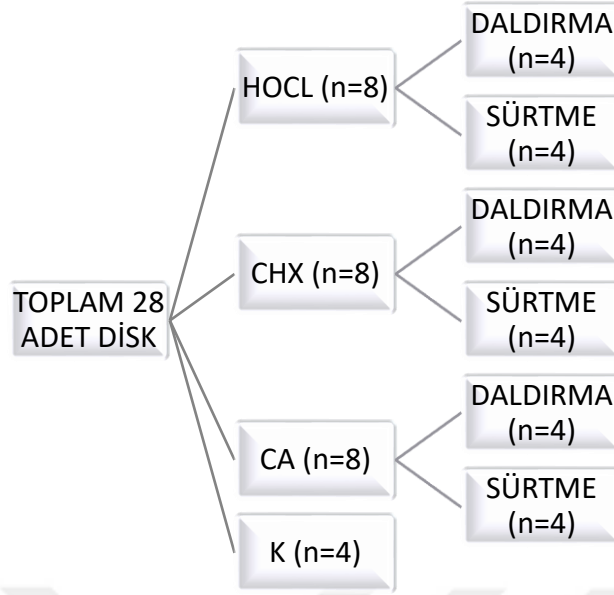
CA-D (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA'ya daldırılma işlemi

CA-S (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CA solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

CHX-D (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX'e daldırılma işlemi

CHX-S (n=4): Titanyum disklerin 8 dakika boyunca CHX solüsyonuna batırılmış pamuk peletlerle sürtme işlemi

K (n=4): İşlem yapılmamış diskler (Kontrol)



Şekil 3.5. Sitotoksiste analizinde kullanılan disklerin sayısal dağılımı

Sonrasında diskler tek tek hava sızdırmaz cam tüplere yerleştirilip hücrel sitotoksiste değerlendirmesi için Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Laboratuvarına gönderilmiştir.

3.4.1 Hücrelerin Çözünmesi, Pasajlanması ve Sayımı

Çalışmamızın sitotoksiste analizinde ATCC üretici firmasından temin edilen L-929 fare fibroblast hücre hattı kullanıldı. Hücre hattı üretici firma önerileri doğrultusunda hazırlanmış olan besiyeri kullanılarak canlandırıldı.

3.4.1.1 HÜCRELERİN ÇÖZÜNMESİ

Azot tankında kryo tüp içerisinde muhafaza edilen donmuş haldeki L-929 hücreleri uygun besiyeri hazırlanarak su banyosu kullanılarak 37°C’de kryo tüp hafifçe sallanarak kısa sürede çözüldü. Çözdürülen hücreler steril Class II Laminar flow kabin içerisinde 15 mL’lik falkon tüpe aktarıldı. Falkon tüp 250 G’de 5 dakika santrifüjlendi. Bu santrifüj sayesinde hücrelerin dondurulması sırasında kullanılmış olan Dimetil sülfoksit (DMSO, Sigma Aldrich) solüsyonu hücrelerden uzaklaştırıldı. Santrifüj sonrasında hücre peleti bulunan 15 mL’lik falkon tüpüne 3 ml komplet kültür ortamı %89 Dublecco’ s Modified Eagle Medium (DMEM, Capricorn) , %10 Fetal Bovin Serum (FBS, Capricorn), %1 L-glutamin (Capricorn),

%1 Penisilin/Streptomisin (Biological Industries) konuldu ve homojen hale getirildikten sonra 25cm²'lik flasklara ekim yapıldı.

Flasklar 37 °C'de % 5 CO₂'li inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Hücreler belirli aralıklarla (2-3 günde 1 kez) mikroskop altında kontrol edildi, %80 konfluent (yoğunluk) olan hücreler pasajlandı.

3.4.1.2 HÜCRELERİN PASAJLANMASI VE SAYIMI

İnkübasyon sonrasında flask inkübatörden alındı ve steril ortamda laminar kabin içerisinde flask içerisindeki medyum uzaklaştırıldı ve 1 ml PBS ile yıkandı. Daha sonra 1 ml Tripsin–Etilendiamin Tetraasetik Asit (Tripsin-EDTA, Capricorn) ilave edilerek flask 3-4 dakika inkübatörde bekletildi. Tripsinli inkübasyon sonrasında mikroskopik olarak hücrelerin yapışık oldukları flask yüzeyinden ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edildi. Hücrelerin yüzeyden ayrıldıkları mikroskopik olarak gözlendikten sonra, flask içerisine medyum eklenip hücreler falkon tüpe aktarıldı ve 2500 rpm hızında 2 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı uzaklaştırıldı, tüpün dibinde kalan hücre pelletinin üzerine 1 ml (%10 FBS ve %1 Antibiyotik içeren) DMEM ilave edildi. Pipet yardımıyla pellet ve DMEM süspanse edildi ve süspanse karışımdan 10 µl alınıp mikrosantrifüj tüpüne koyuldu, üzerine 10 µl tripan mavisi boyası eklenip homojenize edildi. Elde edilen karışımdan 10 µl alınıp hemositometri lamına koyuldu. Lam hemosimetri cihazına yerleştirildikten sonra sayım yapıldı.

Hücre sayımı için;

ml'deki hücre sayısı=sayılan hücre x2 (seyreltme faktörü) x10⁴ formülü kullanılarak ml'deki hücre sayısı hesaplandı.

3.4.2 MTT Testinin Uygulanması

L-929 fibroblast hücreleri üzerine çalışmamızda hazırlanan diskler kullanılarak hücre canlılık analizleri gerçekleştirildi. Hücre canlılıklarının belirlendiği, malzemelerin hücrelerin canlılıkları üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan bu deney yöntemi için tıbbi malzemelere referans standart olan “EN ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity” de geçen MTT yöntemi standartta belirtilen şekilde uygulandı (209).

Hücre sayımından sonra canlı hücre sayısına göre her kuyucukta 10×10^3 hücre olacak şekilde hesaplama yapıldı. 96 kuyucuklu plakada her kuyucuğa 100 µl tam besiyeri içinde hücreler eklendi ve 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. 24 saatin sonunda hücrelerin well plate yüzeyine tutunup tutunmadığı, morfolojik görüntüleri ve canlılık durumları kontrol edildi. Uygun kriterlere sahip olduğu belirlenen kuyucuklardaki medyum boşaltıldı. Negatif kontrol grubuna yalnızca komplet kültür ortamı konuldu.

Hücreler üzerine uygulama yapılmış titanyum disk malzemeleri eklenerek 24 saat daha inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda plakalardaki medyum uzaklaştırıldı ve kuyucuklara 50 µl MTT (Serva,İsrail) solüsyonu eklendi. 37 °C’de 2-2,5 saat inkübasyondan sonra kuyucuklardaki MTT solüsyonu boşaltıldı ve yerine 100 µl MTT çözücüsü (izopropanol) eklendi.

Hücre canlılığını belirlemek amacıyla, 96 kuyucuklu plakanın absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda spektrofotometrede (multiplaka okuyucuda) ölçüldü. Her grubun hücre canlılığı yüzdesi, kontrol hücresi canlılığı %100 kabul edilerek aşağıda verilen denkleme göre yapıldı (210).

$$\text{Hücre canlılığı}\% = \frac{OD570 (\text{numune})}{OD570 (\text{kontrol})} \times 100$$

3.5 Normalizasyon

Biyofilm değerleri istatistiksel analiz öncesi eşitlik 1’e göre normalize edilmiştir.

$$\frac{1}{\text{Biyofilm değeri}/\bar{K}} \quad \text{Eşitlik 1}$$

Eşitlik 1’de $\bar{K} = \bar{K}^+ - \bar{K}^-$ şeklinde hesaplanmıştır. Burada $\bar{K}^+$: Pozitif kontrol grubu ortalaması, $\bar{K}^-$: Negatif kontrol grup ortalamasıdır.

Solüsyon sonrası biyofilm normalizasyonunda K^- grubu değerlerinin (K^- : 0,08, 0,09, ve 0,09) K^+ grubu değerleri (K^+ : 3,121, 3,153, ve 3,061) ile kıyaslandığında gözardı edilecek kadar küçük olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, Solüsyon öncesi biyofilm normalizasyonunda K^- grubu değerlerinin (K^- : 0,10, 0,09, ve 0,09) K^+ grubu değerleri (K^+ : 3,19, 3,17, ve 3,19) ile kıyaslandığında gözardı edilecek kadar küçük olduğu gözlemlenmiştir.

Bütün test gruplarında biyofilm değerlerinin kontrol grubu biyofilm değerlerinden küçük olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, istatistiksel analizlerde kullanılan eşitlik 1 sonucu elde edilen değerler test grubunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısını göstermektedir.

3.6 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler öncesi biyofilm değerleri Normalizasyon bölümünde belirtildiği gibi normalizasyon işlemine tabi tutulmuş ve biyofilm değerlerine ait istatistiksel analizler normalize edilmiş değerler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile tespit edildi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin yöntem (daldırma ya da sürtme) içinde çoklu grup (madde/test maddesi) karşılaştırmalarında tek faktörlü varyans analizi (ONE WAY ANOVA) yöntemi kullanıldı. Farklı grup ya da grupların tespitinde (post – hoc test) Tukey testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenler $\log_e$ transformasyonuna tabi tutuldu, ardından tek faktörlü varyans analizi (ONE WAY ANOVA) yöntemi ile çoklu grup karşılaştırmaları gerçekleştirildi. Her bir test maddesinin yöntem (daldırmaya karşı sürtme) karşılaştırması normal dağılım gösteren değişkenlerde bağımsız gruplar t-testi ile normal dağılım göstermeyen değişkenlerde ise $\log_e$ transformasyonuna tabi tutulmuş değerler bağımsız gruplar t-testi ile karşılaştırıldı. $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık seviyesi olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde R (version 4.3.0) yazılımı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1 1.Aşama: Yüzey Analizleri

Yüzey analizi için titanyum diskler üzerinde SEM ve AFM cihazları kullanılmıştır.

4.1.1 Atomik Kuvvet Mikroskopisi Bulguları

18 adet titanyum diske işlemler yapıldıktan sonra kontrol grubuna göre yüzey pürüzlülük değişimini incelemek amacıyla AFM cihazı kullanılmıştır.

Steril titanyum disklerle farklı iki yöntemle (daldırma ve sürtme) uygulanan test solüsyonlarının, uygulama sonrası AFM cihazı ile ölçülen pürüzlülük değerlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. Hem daldırma hem de sürtme yöntemi için yapılan tek yönlü varyans analizi sonucu en az bir zamandaki geometrik ortalama (GO) değerinin diğerlerinden farklı olduğu tespit edildi (sırasıyla, $p<0,05$, $p<0,05$). Farklı zaman ya da zamanları tespit etmek amacıyla yapılan Tukey testi sonucu sürtme yöntemine göre gruplar arası karşılaştırmada; en düşük değerler kontrol grubunda gözlenirken, anlamlı farklılığın kontrol grubu ile CHX ($p:0,007$) ve CA ($p:0,001$) grupları arasında olduğu görüldü. En yüksek pürüzlülük değeri CA grubunda gözlenirken, bu değer CHX grubu ile anlamlı bulunmazken ($p:0,84$) HOCl grubu ile anlamlı bulundu ($p:0,01$). Sürtme yöntemine ait yüzey pürüzlülük değerlerinin veri dağılımları Şekil 4.3, 4.4'te; pürüzlülük değerlerinin geometrik ortalama (GO) sonuçları Tablo 4.1'de, analiz görseli Fotoğraf 4.1'de görülmektedir.

Daldırma yönteminde de sürtme yöntemine benzer olarak en yüksek pürüzlülük değeri CA grubunda gözlenirken, bu değer CHX grubu ile anlamlı bulunmazken ($p:0,89$); HOCl ve kontrol grubu ile anlamlı bulundu ($p<0,05$). Gruplar arası en düşük değer ise kontrol grubunda gözlenirken, bu farkın CHX ($p:0,001$) ve CA ($p:0,0003$) grupları ile anlamlı olduğu saptandı. Daldırma yöntemine ait pürüzlülük değerlerinin GO sonuçları Tablo 4.1'de; yüzey pürüzlülük değerlerinin veri dağılımları Şekil 4.1, 4.2'de, analiz görseli Fotoğraf 4.1'de görülmektedir.

Daldırma ve sürtme yöntemlerinin; CA ve CHX gruplarındaki log değerleri, HOCl grubunun ise gerçek değerleri üzerinden yapılan two sample t testi ile karşılaştırılması sonucu hiçbir grupta anlamlı farklılık bulunmamıştır.

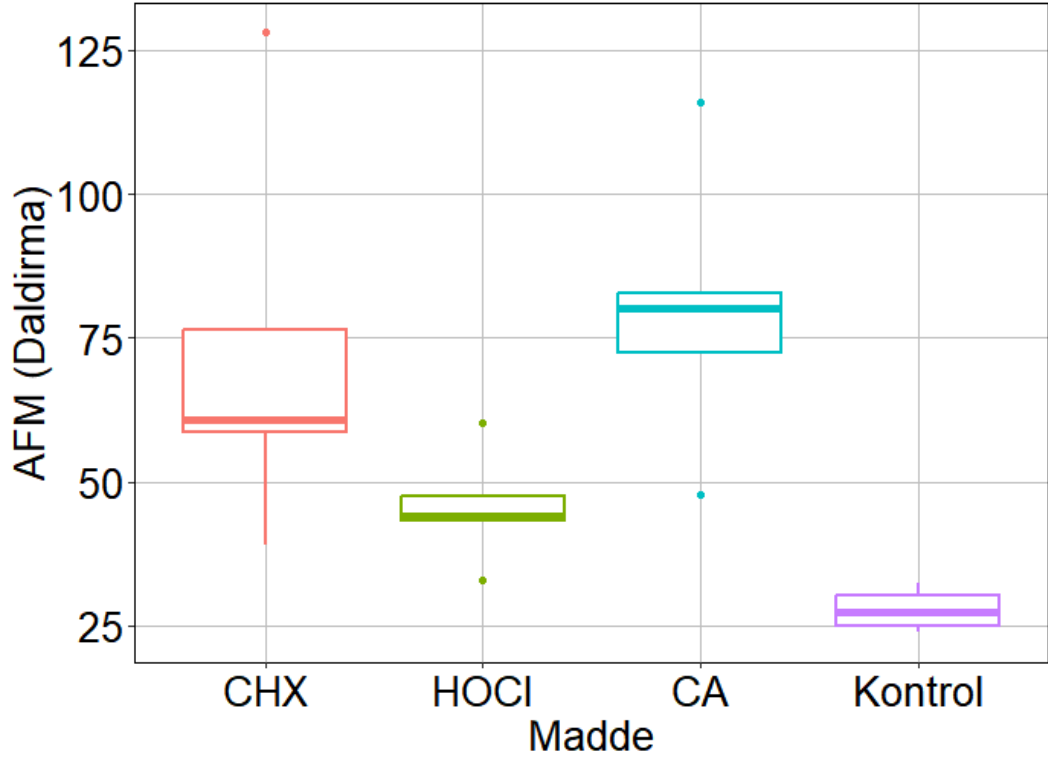
Tablo 4.1. Test solüsyonlarının uygulandığı titanyum disklerinin AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri.

Yöntem	Test grubu				P değeri ^{&}
	HOCl GO (-1SS / +1SS)	CHX GO (-1SS / +1SS)	CA GO (-1SS / +1SS)	Kontrol GO (-1SS / +1SS)	
Daldırma	44,71 (35,95 / 55,60) ^{ac}	67,06 (43,44 / 103,52) ^{ab}	76,73 (55,80 / 105,50) ^b	27,58 (24,25 / 31,36) ^c	<0,05
Sürtme	34,34 (28,18 / 41,86) ^{ac}	61,14 (37,97 / 98,43) ^{ab}	72,62 (49,22 / 107,17) ^b	27,58 (24,25 / 31,36) ^c	<0,05
P değeri ^{&&}	0,07	0,76	0,81	-	

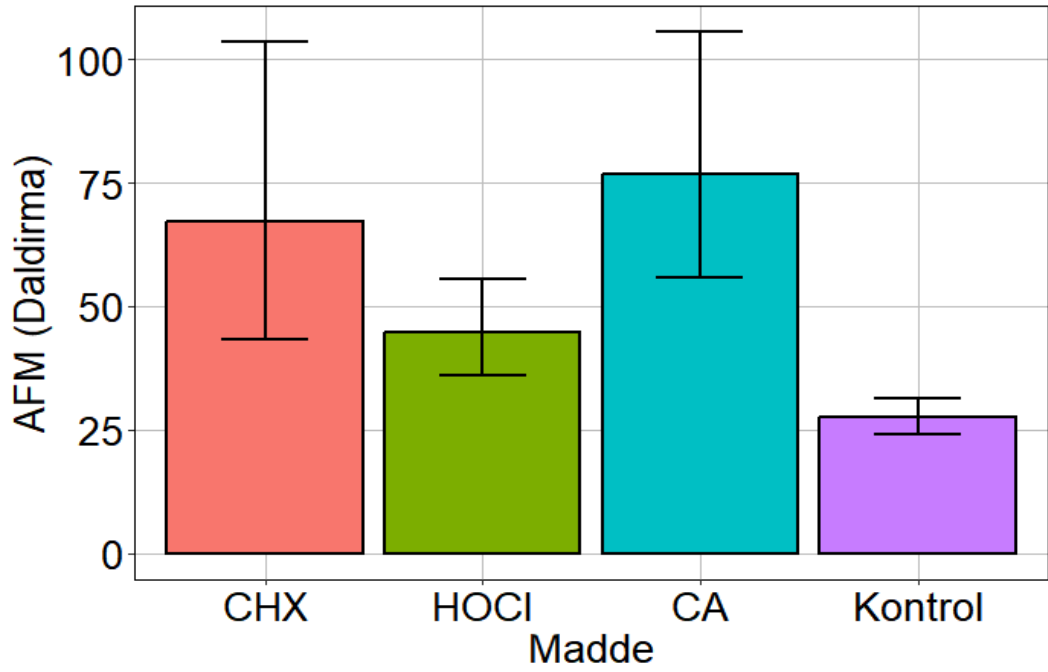
Değerler: geometrik ortalama (–1 standart sapma / +1 standart sapma aralığı; GO (-1SS / +1SS); istatistiksel analiz log değerleri üzerinden yapılmıştır.

[&]; Daldırma ve sürtme yöntemlerinin farklı test gruplarındaki değerlerinin karşılaştırılmalarına ait p değerleri değerleri tek yönlü varyans analizi ile elde edildi. Test grupları arasındaki ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı. Aynı satırdaki ortak simgeye sahip olmayan farklı gruplardaki ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır (P<0,05).

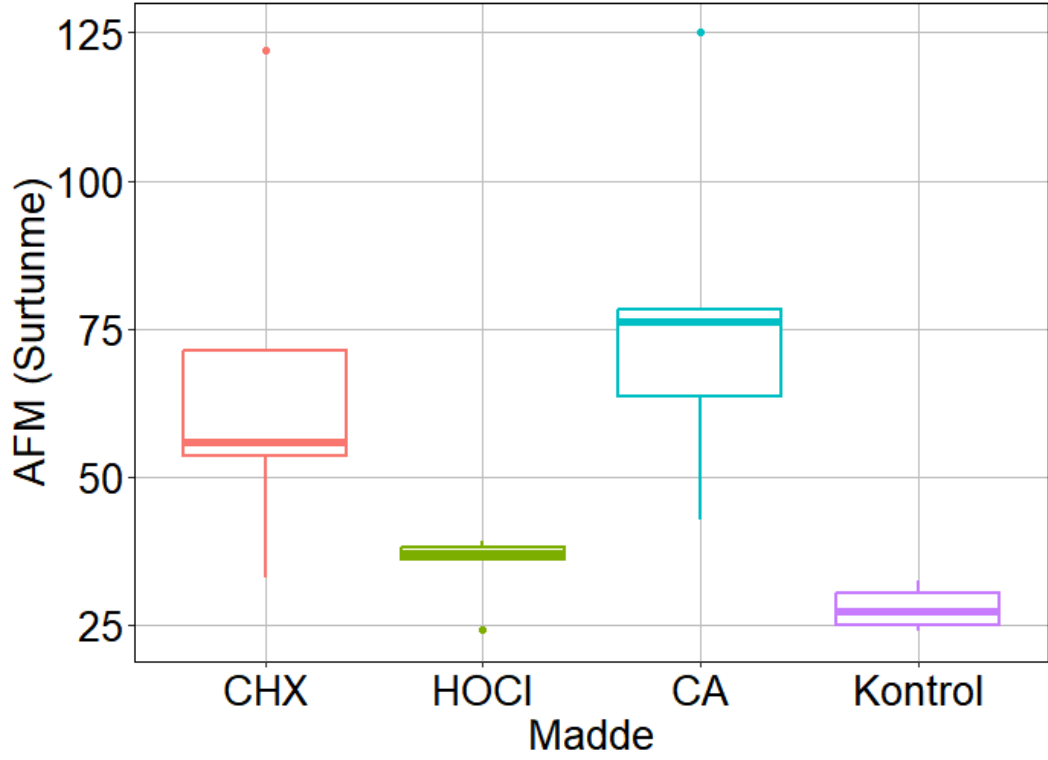
^{&&}Test grubu içindeki (kesitsel) daldırma ve sürtme yöntemlerinin GO değerlerinin karşılaştırmalarına ait p değerleri bağımsız gruplarda t-testi ile elde edildi.



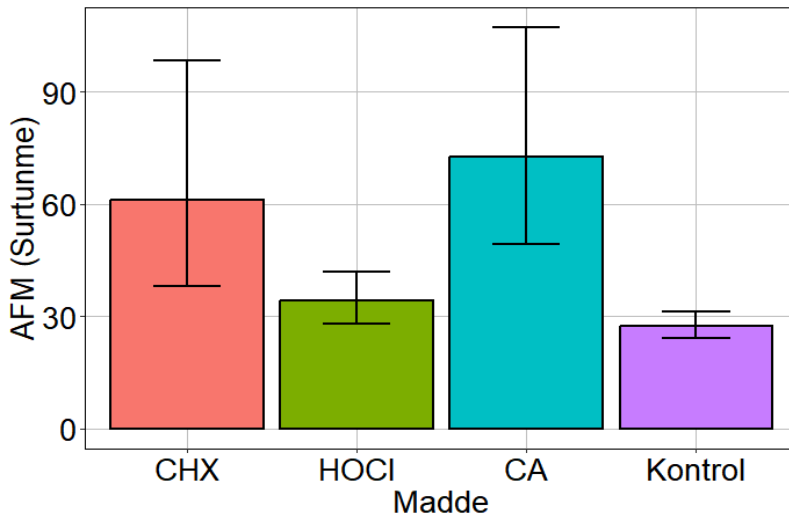
Şekil 4.1. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



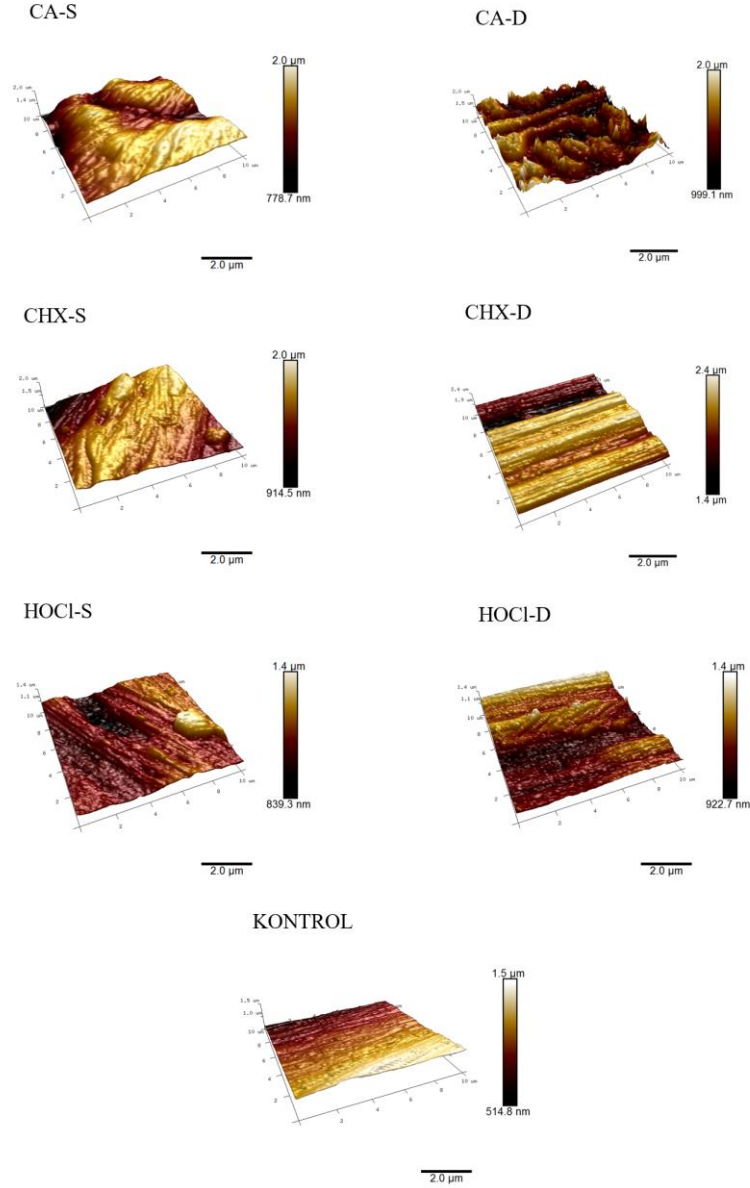
Şekil 4.2. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait grafik



Şekil 4.3. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.4. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazında ölçülen yüzey pürüzlülük değerlerinin dağılımına ait grafik



Fotoğraf 4.1. Sürtme ve daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının AFM cihazından alınan görüntüleri

Grade IV titanyum disklerin morfolojik özelliklerinin desteklenmesi ve yüzey pürüzlülüğünün belirlenebilmesi amacıyla atomik kuvvet mikroskopuyla (Bruker-Edge 3) ile yapılan değerlendirmede kontrol grubunun yüzey düzensizliklerinin minimum düzeyde olduğu belirlenmiştir. Yüzeyin işlem görmemiş hali pürüzsüzlük değerine oldukça yakındır. CA-S ve CA-D gruplarında ise işlemler sonrasında yüzey düzensizliklerinin arttığı gözlemlenmiştir. CHX-D, CHX-S gruplarında da benzer yüzey düzensizlikleri görülmektedir. HOCl-S, HOCl-D

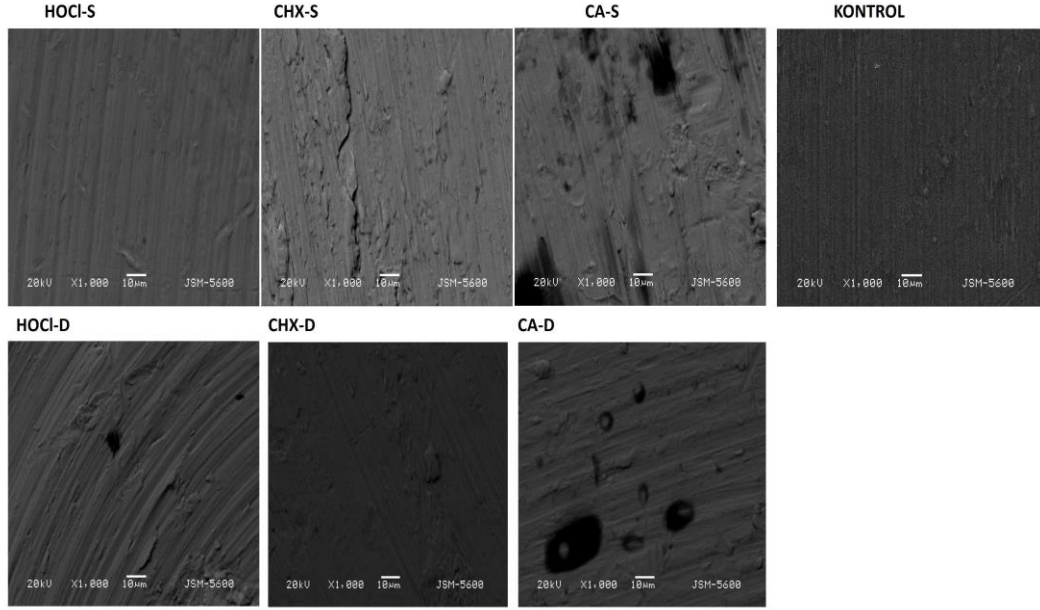
gruplarında işlemlerin yüzey üzerindeki etkileri tanımlanabilecek bir belirginlikte değildir.

4.1.2 Sürtme Ve Daldırma İşlemleri Yapılmış Disklerin Taramalı Elektron Mikroskobuyla (SEM) Analizi

Solüsyon uygulama işlemlerine tabi tutulan 6 adet disk üzerinde yüzey morfoloji değişimleri SEM cihazıyla analiz edilmiştir. 1 adet disk kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Kontrol grubuna ait titanyum disklerin SEM analizleri 20 kilowatt altında 1000x büyütme altında incelenmiştir ve görüntüsü alınan bölgeler rastgele seçilmiştir. İşlem yapılmayan titanyum yüzeylerde pürüzsüz bir yapı gözlenmiştir. Sürtme işlemi yapılan diskler incelendiğinde HOCl grubunda kontrole göre değişim çok az gözlenmiş olup CHX grubunda çizikler ve düzleşmiş alanlar daha fazla görülmektedir. Kontrol gruplarıyla kıyaslandığında CA grubunda en belirgin değişim görülüp yer yer erime alanlarıyla yoğun çizikler görülmektedir.

Daldırma işlemi yapılan diskler incelendiğinde HOCl grubunda kontrol grubuna göre çizik alanlar görülmüştür ve sürtme işlemi yapılan gruba göre bu durum daha belirgindir. CHX ve CA gruplarının sürtme ve daldırma gruplarındaki SEM görüntülerindeki değişim benzer görülmektedir. CHX daldırma grubu HOCl grubuna benzer olup yüzey değişimi kontrole göre daha fazla görülmektedir. CA grubunda diğer gruplara göre yüzeyde çizik ve bozulmalarla erimiş alanlar daha fazla belirgindir. Fotoğraf 4.2’de 1000 kat büyütmede test ve kontrol grubundaki disklerin SEM görüntüleri verilmiştir.



Fotoğraf 4.2. Sürtme ve daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının SEM cihazından alınan görüntüleri

4.2 2.Aşama: Bakteriyel Analizler

4.2.1 Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Yeni Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisinin Analizi

24 adet titanyum disk üzerinde yeniden bakteri oluşumunu incelemek amacıyla spektrofotometre cihazı kullanılarak OD değeri belirlenmiştir.

Dekontaminasyon solüsyonlarının titanyum disklere uygulanması sonrası biofilm oluşumunun; farklı solüsyonların daldırma ve sürtme yöntemleri ile elde edilen OD ölçümlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi yapıldı.

Hem daldırma hem de sürtme yöntemi için yapılan tek yönlü varyans analizi sonucu en az bir zamandaki OD'nin diğerlerinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Farklı zaman ya da zamanları tespit etmek amacıyla yapılan Tukey testi sonucu hem sürtme hem de daldırma yöntemlerinde test gruplarının OD ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p<0,01$).

Sürtme yöntemine göre gruplar arası karşılaştırmada; CA ve HOCl grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken ($p:0,26$), CHX grubu verilerinin ile HOCl

ve CA gruplarından anlamlı olarak daha düşük olduğu bulundu ($p<0.01$). Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımı Şekil 4.7, 4.8’de; test gruplarının kontrol grubuna göre sürtme yöntemine ait azalma katsayı verileri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Daldırma yöntemine göre ise CA değeri; istatistiksel olarak HOCl ve CHX gruplarından daha düşük bulunurken ($p<0.01$), HOCl ve CHX grupları arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı ($p:0.75$). Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımı Şekil 4.5, 4.6’da; test gruplarının kontrol grubuna göre daldırma yöntemine ait azalma katsayı verileri Tablo 4.2’de verilmiştir.

Daldırma ve sürtme yöntemlerinin CA, HOCl ve CHX gruplarındaki ortalama değerlerinin Two Sample T testi ile karşılaştırılması sonucu CHX grubunda sürtme ve daldırma yöntemi arasında anlamlı farklılık bulunmazken ($P:0.36$); HOCl ve CA grubunun sürtme verilerinin daldırma verilerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p<0.01$).

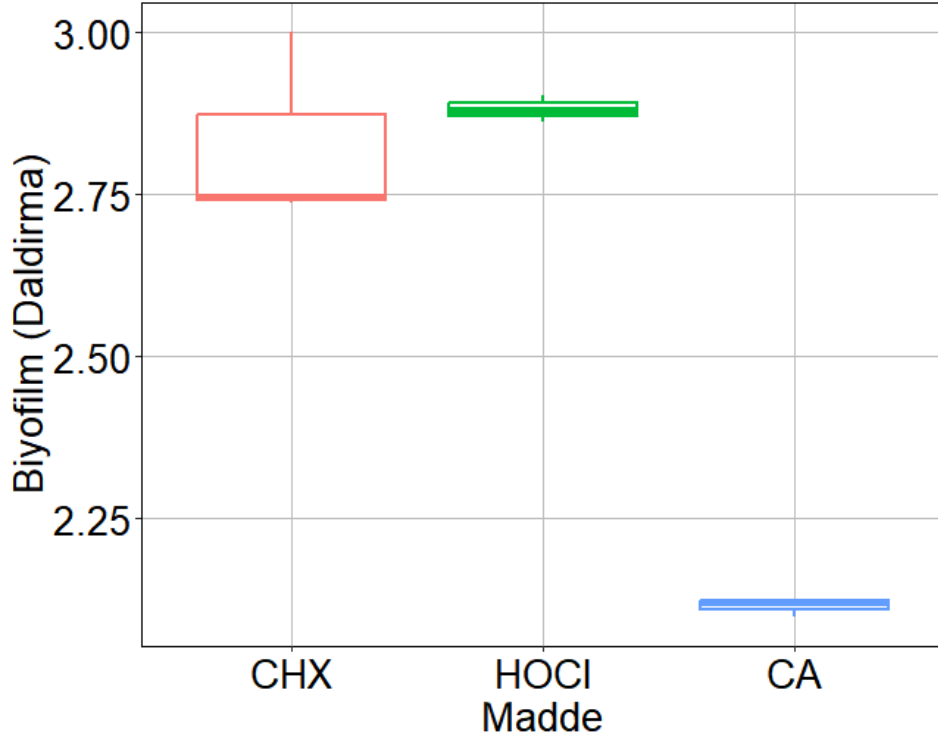
Tablo 4.2. Test solüsyonlarının titanyum disklere uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna göre optik yoğunluk değişim değerlerinin, test gruplarının daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri. Değerler test grubunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısını gösterir.

Yöntem	Test grubu			P değeri ^{&}
	HOCl ($\bar{X} \pm SS$)	CHX ($\bar{X} \pm SS$)	CA ($\bar{X} \pm SS$)	
Daldırma	2,88±0,02 ^a	2,83±0,15 ^a	2,12±0,01 ^b	<0.01
Sürtme	4,18±0,17 ^a	2,66±0,23 ^b	3,86±0,28 ^a	<0.01
P değeri ^{&&}	<0,01	0.36	<0,01	

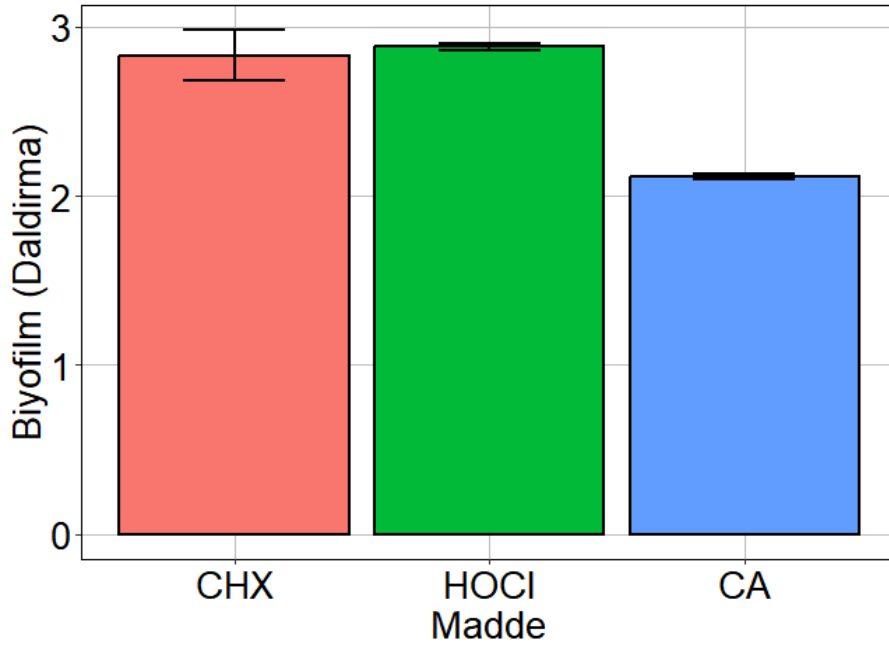
Değerler: ortalama ± standart sapma ($\bar{X} \pm SS$)

[&]; Daldırma ve sürtme yöntemlerinin farklı test gruplarındaki ortalama değerlerinin karşılaştırılmalarına ait p değerleri tek yönlü varyans analizi ile elde edildi. Test grupları arasındaki ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı. Aynı satırdaki ortak simgeye sahip olmayan farklı gruplardaki ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($P<0,05$).

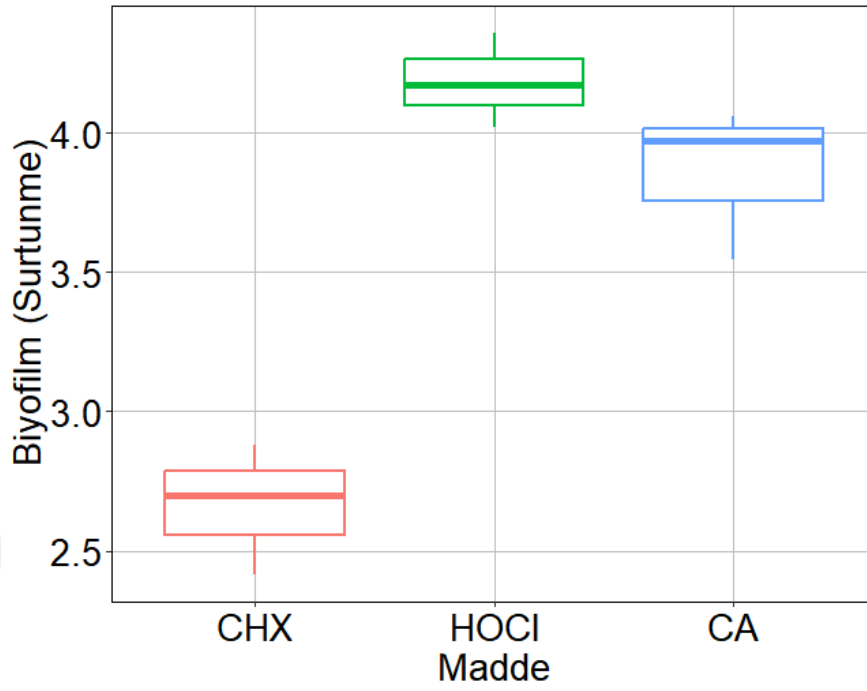
^{&&}Test grubu içindeki (kesitsel) daldırma ve sürtme yöntemlerinin ortalama değerlerinin karşılaştırmalarına ait p değerleri bağımsız gruplarda t-testi ile elde edildi.



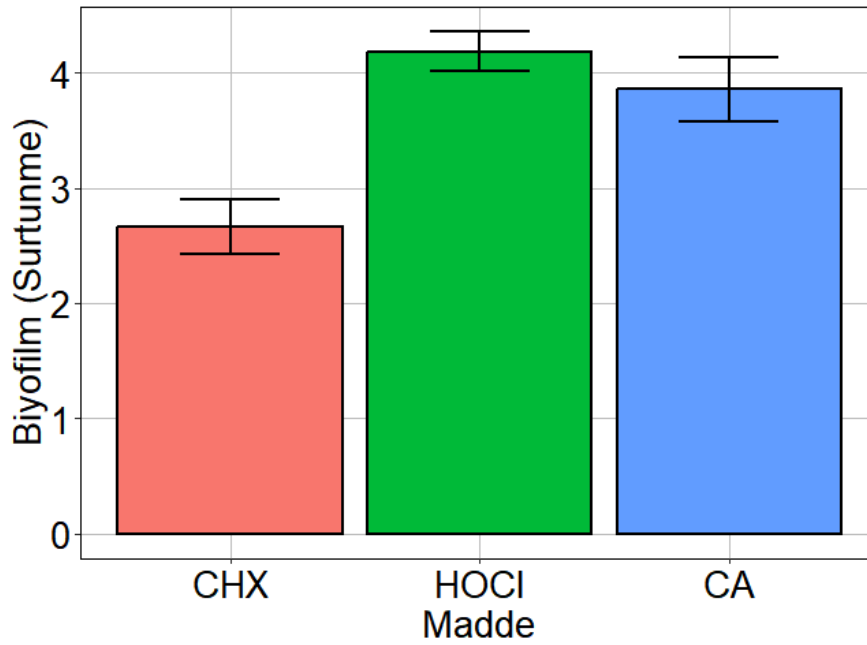
Şekil 4.5. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.6. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik



Şekil 4.7. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.8. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarına solüsyonlar uygulandıktan sonraki biyofilm oluşumunun kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik

4.2.2 Dekontaminasyon Solüsyonlarının Titanyum Diskler Üzerindeki Biyofilm Uzaklaştırılmasına Etkisinin Analizi

24 adet titanyum disk üzerinde bakteri uzaklaştırılmasını incelemek amacıyla spektrofotometre cihazında OD ölçümü yapılmıştır.

Biyofilm oluşturulan disklerde dekontaminasyon solüsyonlarının uygulanması sonrası biyofilm uzaklaştırılmasının; farklı solüsyonların daldırma ve sürtme yöntemlerine ait OD ölçümlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı.

Hem daldırma hem de sürtme yöntemi için yapılan tek yönlü varyans analizi sonucu en az bir zamandaki ortalama değerin diğerlerinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Farklı zaman ya da zamanları tespit etmek amacıyla yapılan Tukey testi sonucu hem sürtme hem de daldırma yöntemlerinde test gruplarının OD ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu ($p<0,01$). Sürtme yöntemine göre gruplar arası karşılaştırmada; CHX ve HOCl grupları arasında farklılık bulunmazken ($p:0.21$), CA grubu verilerinin istatistiksel olarak HOCl ve CHX verilerinden daha yüksek olduğu bulundu ($p<0.01$). Test gruplarının kontrol grubuna göre sürtme yöntemine ait azalma katsayı verileri Tablo 4.3'te ; çalışma gruplarındaki solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımı Şekil 4.11, 4.12 'de gösterilmiştir.

Daldırma yönteminde ise CA grubu verilerinin HOCl ve CHX grubu verilerinden anlamlı olarak daha düşük olduğu saptandı ($p:0.01$), HOCl ve CHX grupları arasında anlamlı farklılığa rastlanmadı ($p:0.59$). Test gruplarının kontrol grubuna göre daldırma yöntemine ait azalma katsayı verileri Tablo 4.3'te; çalışma gruplarındaki solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısının değerlerinin dağılımı Şekil 4.9, 4.10 'da gösterilmiştir.

Test gruplarının kendi içinde yöntemine göre biyofilm uzaklaştırmadaki etkisinin karşılaştırılmasında Two Sample t-test kullanılmıştır. CHX ve HOCl gruplarında daldırma ve sürtme arasında anlamlı farklılık bulunmazken (sırasıyla; $p:0.31$, $p:0.46$); CA grubunda anlamlı farklılık bulundu ($p<0.01$). CA grubundaki sürtme yönteminin ortalama değerlerinin daldırma yöntemine göre daha yüksek olduğu bulundu.

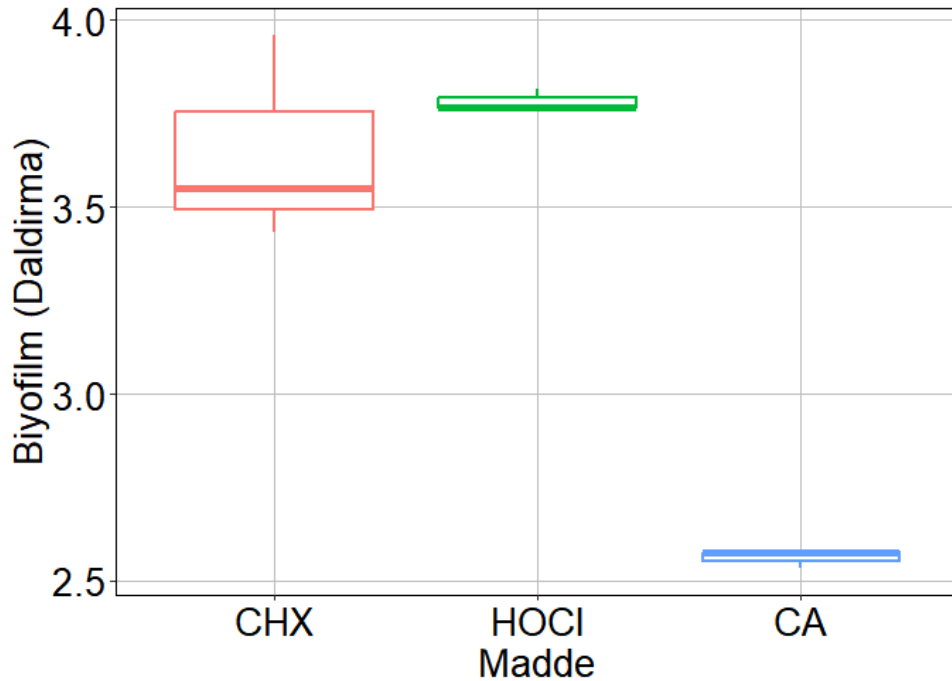
Tablo 4.3. Test solüsyonlarının titanyum disklerin üzerinde oluşturulmuş biyofilm uzaklaştırmadaki kontrol grubuna göre optik yoğunluk değişim değerlerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri. Değerler test grubunun kontrol grubuna karşı azalma katsayısını gösterir.

Yöntem	Test grubu			P değeri ^{&}
	HOCl ($\bar{X} \pm SS$)	CHX ($\bar{X} \pm SS$)	CA ($\bar{X} \pm SS$)	
Daldırma	3,78($\pm 0,03$) ^a	3,65($\pm 0,28$) ^a	2,56($\pm 0,02$) ^b	<0.01
Sürtme	3,99($\pm 0,44$) ^a	3,46($\pm 0,05$) ^a	14,49($\pm 0,39$) ^b	<0.01
P değeri ^{&&}	0,46	0,31	<0,01	

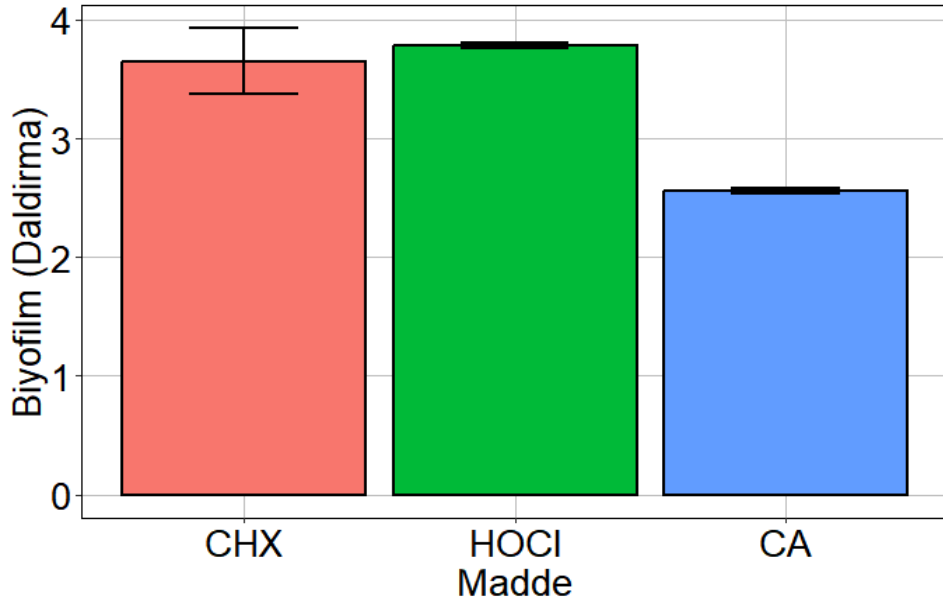
Değerler: ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{X} \pm SS$)

[&]; Daldırma ve sürtme yöntemlerinin farklı test gruplarındaki ortalama değerlerinin karşılaştırılmasına ait p değerleri tek yönlü varyans analizi ile elde edildi. Test grupları arasındaki ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı. Aynı satırdaki ortak simgeye sahip olmayan farklı gruplardaki ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($P < 0,05$).

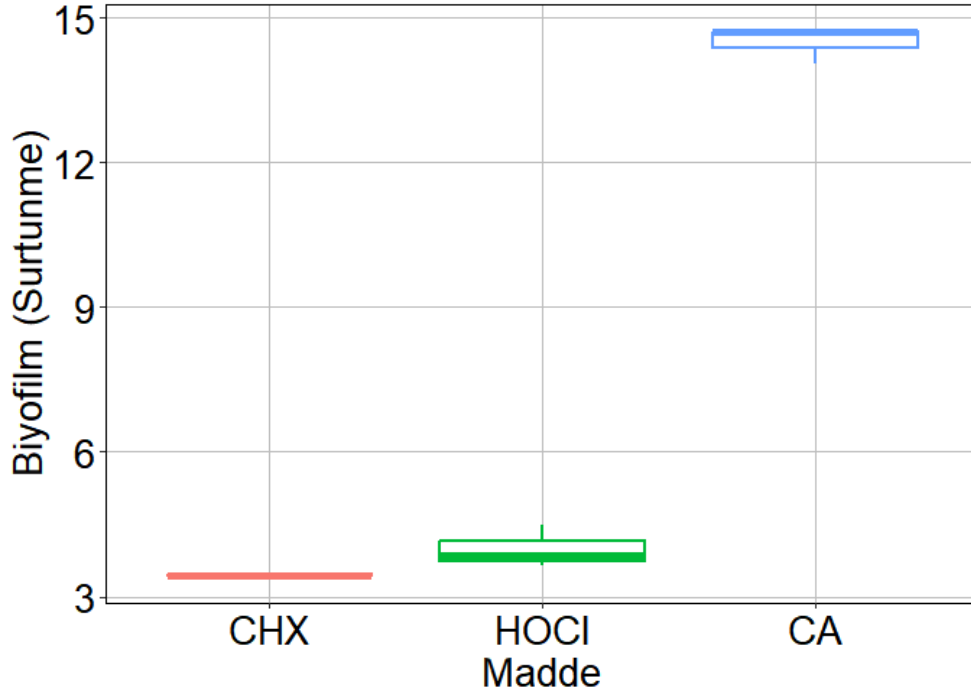
^{&&}Test grubu içindeki (kesitsel) daldırma ve sürtme yöntemlerinin ortalama değerlerinin karşılaştırmalarına ait p değerleri bağımsız gruplarda t-testi ile elde edildi.



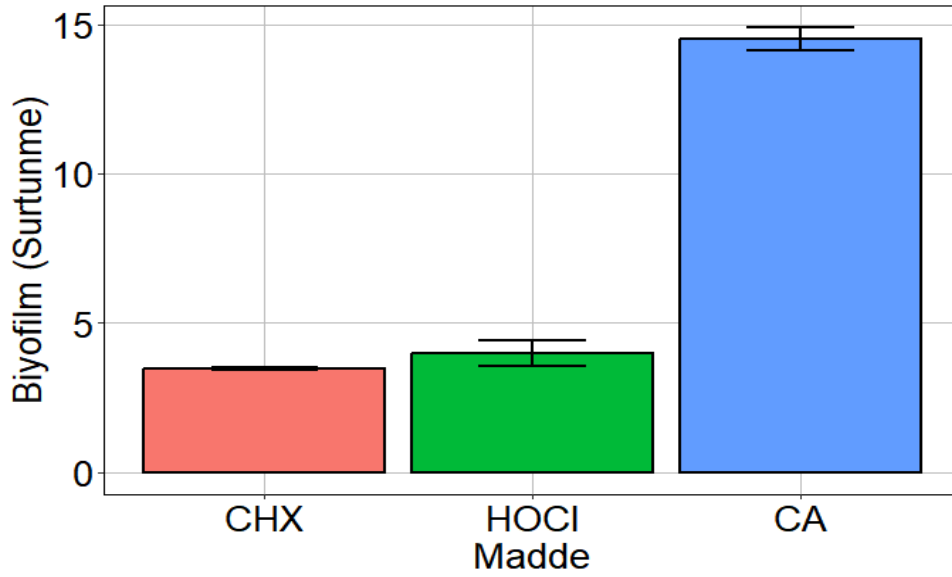
Şekil 4.9. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.10. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik



Şekil 4.11. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.12. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarında solüsyonların biyofilm uzaklaştırmada kontrol grubuna karşı azalma kat sayısı değerlerinin dağılımına ait grafik

4.3 3.Aşama: Sitotoksosite (MTT) Testi Analizi

Solüsyon uygulama işlemlerine tabi tutulan 24 adet disk üzerinde hücresel canlılık MTT testi uygulanarak analiz edilmiştir

MTT testinin değerlendirme kriterlerinde %70 üzerindeki canlılık biyoyumlu olarak değerlendirilmektedir. Kullanılan %0,018 HOCl, %40 CA ve %0,2 konsantrasyona sahip CHX solüsyonları yapılan analiz sonucunda biyoyumlu olarak bulunmuştur.

Dekontaminasyon solüsyonlarının daldırma ve sürtme yöntemleri kullanılarak titanyum disklere uygulanması sonrası diskler üzerine ekilen fibroblast hücrelerinin MTT testi ile sitotoksosite değerlendirme sonuçlarının test grupları arasında karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi yapıldı.

Hem daldırma hem de sürtme yöntemi için yapılan tek yönlü varyans analizi sonucu en az bir zamandaki ortalama değer diğerlerinden farklı olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Farklı zaman ya da zamanları tespit etmek amacıyla yapılan Tukey testi sonucu hem sürtme hem de daldırma yöntemlerinde test gruplarının sitotoksosite ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulundu

($p<0,01$). Daldırma yöntemine göre gruplar arası karşılaştırmada; tüm gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p<0,01$), sırasıyla en yüksek değerler CHX, CA, kontrol ve HOCl gruplarında gözlemlendi. Test ve kontrol gruplarının daldırma yöntemine ait MTT ölçümü ortalama değerleri (S.S.) Tablo 4.4'te; test ve kontrol gruplarının MTT ölçümlerine daldırma yöntemine ait veri dağılımları Şekil 4.13, 4.14 'te gösterilmiştir.

Sürtme yöntemine göre ise CA ve CHX grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken ($p:0,44$); diğer gruplar arasında anlamlı farklılığa rastlandı ($p<0,01$). Gruplar arası en yüksek değerler sırasıyla CA, CHX, Kontrol ve HOCl gruplarında izlendi. Test ve kontrol gruplarının sürtme yöntemine ait MTT ölçümü ortalama değerleri (S.S.) tablo 4.4'te; test ve kontrol gruplarının MTT ölçümlerine ait veri dağılımları sürtme için Şekil 4.15, 4.16 'da verilmiştir.

Daldırma ve sürtme yöntemlerinin CA, HOCl ve CHX gruplarındaki ortalama değerlerinin bağımsız gruplarda t testi ile karşılaştırılması sonucu CHX ve HOCl grubunda sürtme ve daldırma yöntemi arasında anlamlı farklılık bulunmazken (sırasıyla, $p:0,07$, $p:0,32$); CA grubunun sürtme verilerinin daldırma verilerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulundu ($p<0,01$).

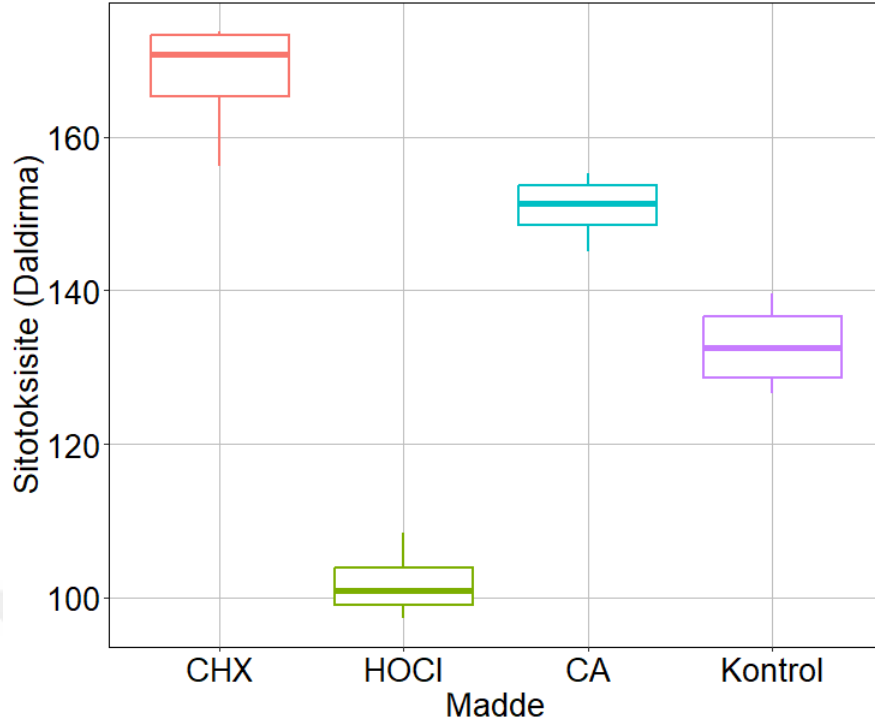
Tablo 4.4. Test solüsyonlarının uygulandığı titanyum disklerinin MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin, daldırma ve sürtme yöntemlerine ait tanıtıcı istatistikleri.

Yöntem	Test grubu				P değeri ^{&}
	HOCl ($\bar{X} \pm SS$)	CHX ($\bar{X} \pm SS$)	CA ($\bar{X} \pm SS$)	Kontrol ($\bar{X} \pm SS$)	
Daldırma	101,94 $\pm$ 4,77 ^a	167,83 $\pm$ 8,11 ^b	150,76 $\pm$ 4,47 ^c	132,78 $\pm$ 5,93 ^d	<0,01
Sürtme	104,97 $\pm$ 2,86 ^b	178,24 $\pm$ 5,28 ^a	186,29 $\pm$ 7,93 ^a	132,78 $\pm$ 5,93 ^c	<0,01
P değeri ^{&&}	0,32	0,07	<0.01	-	

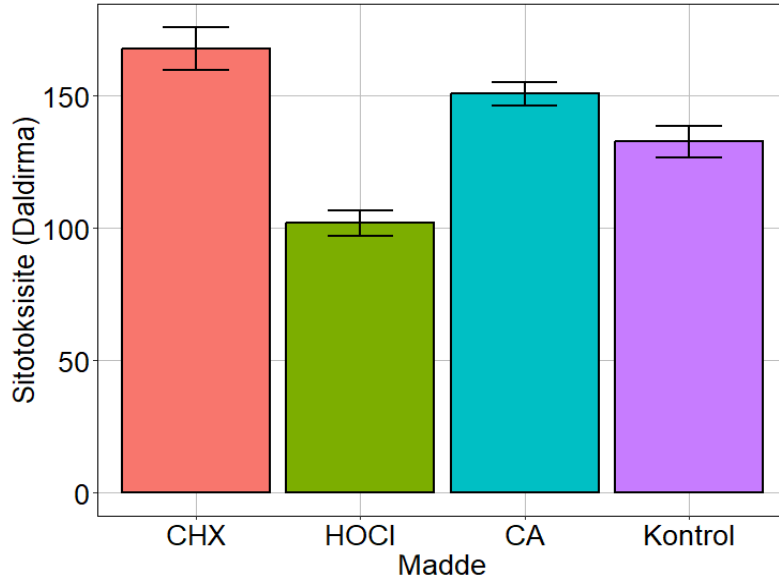
Değerler: ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{X} \pm SS$)

[&]; Daldırma ve sürtme yöntemlerinin farklı test gruplarındaki ortalama değerlerinin karşılaştırılmalarına ait p değerleri tek yönlü varyans analizi ile elde edildi. Test grupları arasındaki ikili karşılaştırmalar için Tukey testi kullanıldı. Aynı satırdaki ortak simgeye sahip olmayan farklı gruplardaki ortalama değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($P<0,05$).

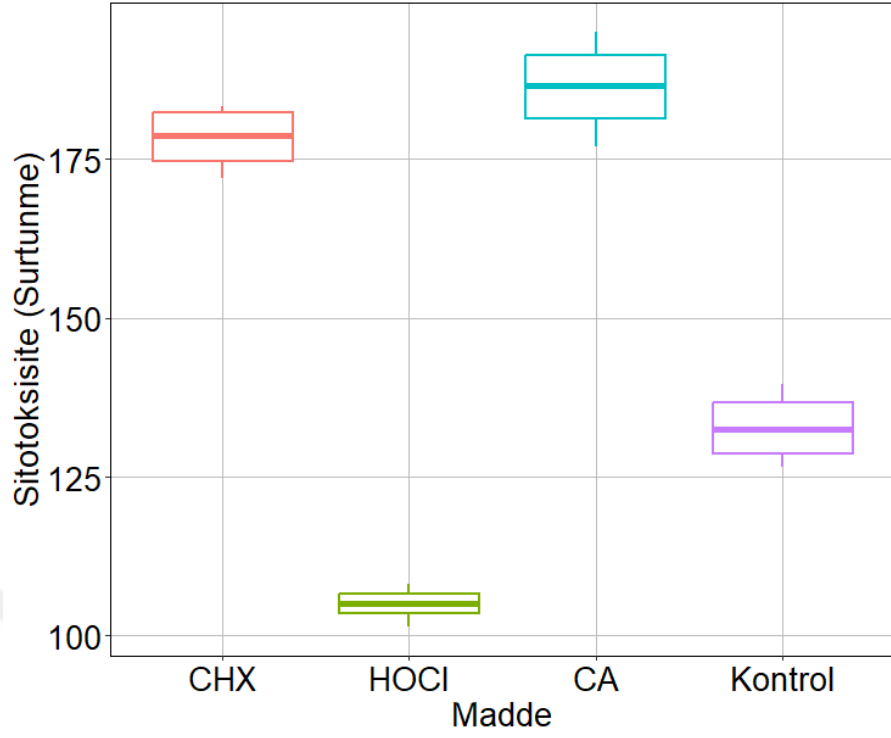
^{&&}Test grubu içindeki (kesitsel) daldırma ve sürtme yöntemlerinin ortalama değerlerinin karşılaştırmalarına ait p değerleri bağımsız gruplarda t-testi ile elde edildi.



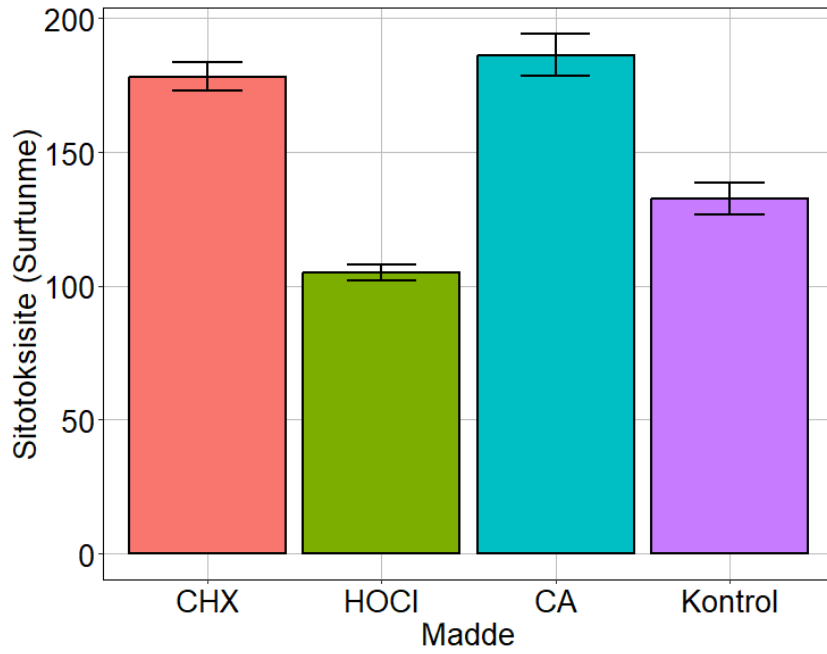
Şekil 4.13. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.14. Daldırma yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.15. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin dağılımına ait kutu grafiği



Şekil 4.16. Sürtme yöntemine göre çalışma gruplarının MTT testi ile ölçülen sitotoksosite verilerinin dağılımına ait grafik

5. TARTIŞMA

Dental implantlar genellikle eksik dişlerin restorasyonu için kullanılmaktadır. Uygun tedavi planlaması ve uygulamasıyla implantların ağızda uzun süre işlev görmesi beklenmektedir (211). Bununla birlikte, implantların günümüzdeki kullanım sıklığının artması komplikasyon raporlarının yükselmesine yol açmıştır (212). Bunların arasında enfeksiyona bağlı peri-implanter hastalıklar da en sık bildirilen komplikasyonlardan biri haline gelmiştir (213).

Dental implantların üretiminde kullanılan ana malzeme olan titanyum; mekanik, kimyasal ve fiziksel özellikleri osseointegrasyonun kolaylaştırılmasından ve tedavinin ömrünün uzatılmasından sorumludur (5, 6). Ancak pürüzlülük ve ıslanabilirlik gibi bazı yüzey özellikleri mikrobiyal yapışmayı kolaylaştırabilmektedir (214, 215). Aslında doğal dişlerde olduğu gibi oral bakteriler, titanyum yüzeyler de dahil olmak üzere ağza yerleştirilen her türlü malzemeye de yapışabilmektedir (216). Titanyum implantlar üzerinde biyofilm oluşumu, peri-implant mukozit ve peri-implantitisin ortaya çıkması nedeniyle dental implant başarısızlığının ana faktörlerinden biri olarak kabul edilmektedir (97, 217). Oral biyofilmlerin kimyasal-fiziksel bir faktör olarak hareket ederek periodontal dokularda inflamatuvar süreçleri ve buna bağlı olarak hastalık gelişimini tetiklediği rapor edilmiştir (216).

Uzun vadeli implant başarısı için düzenli destekleyici tedavi önemli olarak görülmektedir (8). Yumuşak dokuyla sınırlı olan peri-implant mukozitin tespit ve tedavisindeki başarısızlık, bunun sert dokuyu tahrip eden peri-implantitise dönüşmesine yol açabilmektedir (218). İlerleyen enfeksiyonlar implant ve kemik kaybına yol açarak yeniden implantasyon girişimlerini engelleyebilmektedir. Bu nedenle enfeksiyonun başlangıçta tespit edilmesi ve yönetilmesi çok önemlidir. Ancak destekleyici tedaviler sırasında yapılması gereken işlemler henüz kesin olarak belirlenmemiştir. Kapsamlı muayenelerin yanı sıra implant sisteminin çevresindeki plak ve diş taşlarının temizlenmesi de destekleyici tedavinin anahtarı olarak kabul edilmektedir. Bunun için hem kimyasal hem de mekanik yöntemler geliştirilmiştir. Mekanik ve kimyasal dekontaminasyonun bir arada uygulanması, yalnızca mekanik temizlemeye kıyasla daha öngörülebilir sonuçlar sağlayabilmektedir (219).

Dekontaminasyonda kullanılan farklı kemoterapötik ajanların etkinliğinin değerlendirildiği bir sistematik derlemede, en sık kullanılan kemoterapötik ajanların CHX (%0,2, %0,12), CA (%40) ve NaOCl (%1) olduğu bildirilmiştir. İmplant yüzey özelliklerinde minimum/hiç değişiklik yapmadan biyofilmi gidermede etkili oldukları ve bu nedenle enfekte olmuş titanyum implant yüzeylerinin dekontaminasyonu için önerilebileceği belirtilmiştir (13). Bu nedenle çalışmamızda da HOCl'nin etkinliğini kıyaslamak amacıyla CA ve CHX ajanları tercih edilmiş ve dekontaminasyon prosedürü olarak kimyasal dekontaminasyon yöntemini temsil etmesi için titanyum diskler 8 dakika boyunca HOCl, CA, CHX solüsyonlarına daldırılmış ve mekanik dekontaminasyonu taklit etmesi amacıyla 8 dakika boyunca diskler solüsyonla muamale edilmiş pamuk peletlerle sürtme işlemi yapılmıştır. İmplant yüzey dekontaminasyonunun, titanyum yüzeyine etkilerini inceleyen çalışmamız ile benzer yöntemi kullanan birçok farklı çalışma bulunmaktadır (15, 140, 206).

Çalışmamızda, klinikte kullanılan dental abutmentler ile benzer minimal pürüzlülükte olan (R_a) < 0.2 µm grade 4 saf titanyum diskler tercih edilmiştir (122, 220, 221). En yaygın kullanılan abutment malzemesi, uzun vadeli klinik başarısı kanıtlanmış titanyum olarak bilinmektedir (222). Korozyona karşı yüksek direncinin yanı sıra iyi bir biyouyumluluğa sahiptir (223). Abutment yüzeyi doğrudan bakterilere, biyolojik sıvılara ve çevre dokuların inflamatuvar tepkileri gibi ağız ortamının zorlu koşullarına maruz kalmaktadır. Abutment ve implant boynunun yüzey özelliklerinden etkilenen plak oluşumu ve bakteriyel kolonizasyonun enfeksiyonların patogeneğinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (7). Oral biyofilmlerin cpTi yüzeyinde koroziv yani aşındırıcı etkileri olduğu bilinmektedir (224). Bu nedenle çalışmamızda, sadece uygulanan dekontaminasyon işlemlerinin titanyum yüzeyi üzerindeki doğrudan etkisini test edebilmek için bakteri ile enfekte olmamış, steril titanyum diskler kullanılmıştır.

Yapılan bir sistematik incelemede implant yüzeylerinin pürüzlülüğünün, dental biofilm miktarı ve kimyasal bileşimi üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir (128). Yapılan bir çalışmada pürüzsüz üretilen implant yüzeylerinde bile (dayanak gibi) plağın doğal dişlere göre daha hızlı biriktiği ve pürüzlü implant yüzeylerinde pürüzsüz olanlara kıyasla 25 kat daha fazla bakterinin yüzeylere yapıştığı belirtilmiştir (225). Titanyum gibi pürüzlü yüzeyler, daha yüksek serbest

yüzey enerjisine sahip oldukları için plak birikimine daha yatkındır (11). Ayrıca ilk bakteri adezyonu, yüksek ıslanabilirliğe sahip pürüzlü yüzeylerdeki çukur ve oyuklarda başlamaktadır (128). Bu retansiyona yatkın alanların temizlenmesi zor olduğundan dekontaminasyonu güçleştirmektedir. Birçok çalışmada, çeşitli dekontaminasyon yöntemlerinin temizleme etkinlikleri ve implant yüzeyi ile protetik materyallerin yüzey özelliklerini değiştirme potansiyelleri değerlendirilmiş ve dekontaminasyon işlemlerinin implant topografisini ve yüzey pürüzlülüğünü değiştirebileceği gösterilmiştir (3, 226, 227).

Çalışmamızda sürtme ve daldırma işlemleri uygulanan titanyum disklerin yüzey pürüzlülüğündeki değişimi AFM cihazıyla incelenmiştir. Atomik kuvvet mikroskobu, yüzey topografisini ölçmek için güçlü ve çok yönlü bir araçtır (228). Kullanım kolaylığı ve geniş uygulama alanı nedeniyle AFM, yüzey pürüzlülüğünün ölçümü için giderek daha önemli bir araç haline gelmiştir. Nanometrik boyutlardaki düzensizlikleri ölçmek ve daha detaylı yüzey pürüzlülüğünün değerlendirileceği durumlarda atomik kuvvet mikroskopları yardımcı olabilmektedir (206). Çalışmamızda kullanılan titanyum disklerin pürüzlülük değerleri 20-30 nm arasında olduğu için AFM cihazı tercih edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda uygulanan işlemler sonucu titanyum disk yüzeyindeki değişimleri gözlemleyebilmek için yüzey morfolojisinin incelenmesinde temel bir araç olan SEM Cihazı kullanılmıştır (229). İmplant yüzeyine yapılan işlemlerin incelenip değerlendirilmesinde bu cihaz çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (230-232).

Çalışmamızda AFM cihazıyla elde edilen pürüzlülük ölçümlerine göre, sitrik asidin ve klorheksidinin titanyum yüzeyinin pürüzlülüğünü kontrol grubuna göre anlamlı olarak artırdığı ve hipokloröz asidin çalışmamızda en az pürüzlülük değişimine sebep olduğu görülmüştür. Grup içi karşılaştırmada ise daldırma ve sürtme yöntemleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır. SEM cihazından elde edilen görüntüler de AFM sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

Literatüre bakıldığında HOCl'nin titanyum yüzey yapısı üzerine etkisine çalışmamızda uyguladığımız prosedürler ile değerlendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. İmplantoplasti yapılmış grade 3 titanyum diskler üzerinde yapılan bir çalışmada; HOCl'nin tek başına ve H₂O₂ ile kombine kullanılması sonrasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında HOCl'nin tek başına kullanıldığı grupta pürüzlülük değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken, H₂O₂ ile kombine

kullanıldığında yüzey pürüzlülüğünü arttırdığı görülmüştür (233). Çalışmamızda da HOCl uygulamasının kontrol grubuyla kıyaslandığında titanyum pürüzlülüğünü istatistiksel olarak artırmadığı görülmüştür. Ayrıca çalışmadaki diskler SEM altında incelendiğinde kontrol grubuna göre yüzey değişiminin minimal olması çalışmamızın sonuçlarıyla tutarlı olarak bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada %40'lık CA grade 2 titanyum disklerde sürtme ve daldırma prosedürleriyle test edildiğinde; işlem yapılan disklerde kontrol grubuna kıyasla pürüzlülüğün arttığını, CA-S ve CA-D arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (140). Çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu bulunurken; başka bir çalışmada biyofilmle kontamine edilmiş grade 2 titanyum disklerde %30 CA, %0.12 CHX, %0.9 PBS, %50 doksisisiklin kullanılarak bu solüsyonların çalışmamızda kullandığımız dekontaminasyon yöntemleriyle titanyum diskler üzerindeki pürüzlendirme etkisi SEM VE OM ile araştırılmış ve sürtme gruplarındaki yüzey değişimine etkisinin daldırma gruplarına göre fazla olduğu belirtilmiştir (15). Çalışmamızda pürüzlülük değişimi AFM cihazıyla desteklendiğinde sayısal parametre (Ra) bazında sürtme ve daldırma grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır, karşılaştırılan çalışmada ise SEM ve OM gibi cihazlarla niteliksel bir ölçüm yapılması çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilmemesine sebep olmuş olabilir. Ayrıca yine bu çalışmada sürtme ve daldırma işlemlerinin; sitrik asitle yapıldığında diskler üzerinde daha fazla, CHX grubunda ise daha az yüzey bozulmasına neden olması çalışmamızın sonucu ile tutarlıdır (15). Elde ettiğimiz bu sonuç ile uyumlu olan, çalışmamız ile benzer metodolojiye sahip bir başka çalışmada %35'lik peroksiasetik asit, %40'lık sitrik asit, sodyum florür (%0.2, %0.12, %1.1), CHX (%0.12, %1), H₂O₂ (%3, %15), doksisisiklin (%50), tetrasiklin (%50) solüsyonlarının titanyum disk üzerindeki etkinliğini incelemişler ve peroksiasetik asit, sitrik asit, %15 hidrojen peroksit, tetrasiklin ve doksisisiklinin daldırma yapıldığında yüzey üzerinde değişikliğe neden oldukları saptanırken, CHX'in yüzey değişimine neden olmadığını optik mikroskopide gözlemlemişlerdir (206). Yine aynı çalışmada sitrik asit, hidrojen peroksit (%15), klorheksidin (%0,12, %1), doksisisiklin (%50), tetrasiklin (%50) ve peroksiasetik asit (%35) uygulanan numunelerin sürtme yüzeylerinde şiddetli renk bozulması ve çukurlaşma gösterdiği görülmüş ve numuneler AFM ile incelendiğinde CA ile işlem yapılan grubun en belirgin olarak yüzey

pürüzlülüğünde artışa sebep verdiği görülmüştür (206). Bizim çalışmamızda da AFM ile değerlendirilen pürüzlülük ölçümlerinde CA grubunun hem sürtme hem de daldırma kısmında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark bulunmuş; CA ve CHX uygulanan sürtme gruplarında yüzey değişimi SEM altında incelendiğinde CA'nın daha fazla yüzey bozunmasına neden olduğu görülmüştür.

Çalışmamız ile çelişkili sonuçlar elde eden bir çalışmada, %3 H₂O₂ ve %1 CHX jel 5 dakika süreyle, doymuş CA (ph=1) ise 1 dakika süreyle grade 4 saf titanyum disklere uygulanıp yüzey AFM cihazı kullanılarak incelenmiş ve kimyasal uygulanan gruplar ve kontrol grubu arasında yüzey pürüzlülüğü açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (220). Benzer sonuçlar elde edemememizin sebebi, çalışmamızda solüsyon uygulama sürelerinin daha uzun olması ve kullandığımız CHX'nin form ve konstrasyon açısından farklılık göstermesi olabilir.

Titanyum yüzeyindeki pürüzlülük artışının, bakterilerin kolonizasyonunu ve biyofilm oluşumunu kolaylaştırdığı bildirilmekte (234, 235) ve bazı kullanılan dekontaminasyon solüsyonlarının da pürüzlülüğü artırdığı gösterilmektedir (233). Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre CA ve CHX gruplarında her ne kadar kontrol grubuna göre yüzey pürüzlülüğünü artırmış olduğu görülsede, Ra değerlerinin bakteriyel yapışmayı etkilemediği düşünülen 0,2 µm'lik eşik değerinin altında kaldığı görülmüştür. Bakteriyel yapışmanın 0,2 µm'nin altındaki yüzey pürüzlülüğünden etkilenemeyeceği çalışmalarda ortaya konmuştur (225).

Peri-implant mukozit, implant-mukoza arayüzünde konak-mikrop homeostazını bozan ve inflamatuvar bir lezyona neden olan biyofilm birikiminden kaynaklanmaktadır; bu nedenle optimum biyofilm uzaklaştırılmasının peri-implant mukozitin önlenmesi ve yönetimi için bir ön koşul olduğu düşünülmektedir. Biyofilmin uzaklaştırılması ile birlikte düzenli destekleyici peri-implant tedavisi, sağlıklı dokunun peri-implant mukozite dönüşmesini ve peri-implant mukozitin peri-implantitise ilerlemesini önleyen önemli bir stratejidir (236). İmplant etrafında oluşan iltihap ve enfeksiyon, peri-implantitise ve destekleyici kemiğin kaybına yol açabilmekte ve bu da sonunda implantın başarısızlığına neden olabilmektedir. İmplantın yüzey kimyası ve hastanın implant bölgesini yeterince iyi temizleyememesi peri-implantitis ile ilişkilendirilmekte ve bu enfeksiyondan kurtulmanın tek yolunun dental implantların dekontaminasyonu olduğu düşünülmektedir (237).

İmplant dekontaminasyonu iki farklı ancak sinerjik stratejiye dayanmaktadır; implant yüzeyinin mekanik debridmanı ve ardından kimyasal dezenfeksiyonu. Bu kombine yaklaşım, yapışan biyofilmi bozma ve kalan organik kirleticileri uzaklaştırma gereksinimini yansıtmaktadır ve daha önce enfekte olmuş yüzeylerin yeniden osseointegrasyonuna izin vermeyi amaçlamaktadır. Ancak mekanik tedaviler implant tasarımı, yüzey pürüzlülüğü ve enfekte olmuş yüzeye sınırlı erişim nedeniyle biyofilmin tamamen çıkarılmasını sağlayamaz (238) ; bu nedenle mekanik tedavilerin etkisiz kaldığı erişilemeyen alanlara ulaşmak için yardımcı tedavi olarak çeşitli antiseptik ajanlar önerilmiştir. İmplant yüzey dekontaminasyonu için en uygun ajanın hangisi olduğu konusunda hala bir fikir birliği bulunmamakla beraber; yapılan sistematik bir derlemede, yaygın olarak kullanılan kimyasallar CA (%40), CHX (%0,2, %0,12), ve NaOCl (%1) olarak gösterilmiş ve bunlar arasında sitrik asidin, kontamine implant yüzeyinden biyofilm uzaklaştırmada en yüksek potansiyeli gösterdiği bildirilmiştir (13).

Çalışmamızda biyofilm ile kaplı titanyum disklerle % 0.018'lik HOCl , %40'luk CA ve %0.2'lik CHX solüsyonları ile sürtme ve daldırma yapılarak dekontaminasyon işlemi yapılmış ve sonucunda CA grubu daldırma yönteminde biyofilm uzaklaştırmada en az etkili olurken, sürtme yöntemi uygulandığında ise CA grubunun en etkili olduğu görülmüştür.

Souza ve ark. (140) biyofilmle kontamine edilmiş minimal pürüzlü grade 2 saf titanyum diskler, çalışma prosedürümüzle benzer şekilde %40 CA ile hem daldırma hem de sürtme işlemlerine 8 dakika boyunca tabi tutulmuş ve CA'nın biyofilm uzaklaştırmada salın uygulanan kontrol grubuna göre oldukça etkili olduğu görülmüş; fakat uygulama yöntemleri (daldırma ve sürtme) arasında farklılık bulunmamıştır ve bu durum, bakteriyi uzaklaştırmada veya öldürmede sitrik asidin esas olarak kimyasal etkisinden kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. Bizim çalışmamızda ise CHX ve HOCl gruplarında sürtme ve daldırma yöntemlerinin arasında bir fark görülmezken, CA grubunun sürtme işlemi, daldırma işlemine göre istatistiksel olarak biyofilm uzaklaştırmada daha etkili bulunmuştur. Elde edilen bu çelişkili sonucun nedeninin çalışmalarda kullanılan farklı biyofilm modellerinden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz. Souza ve ark (140) in-situ elde edilmiş multitür biyofilm kullanırken, bizim çalışmamızda tek bakteri türü ile biyofilm oluşturulmuştur. Çalışmamızda gram pozitif bir bakteri

olan ve peri-implanter hastalık gelişen dokularda sıklıkla bulunan *S.aureus* bakteri türü kullanılmıştır (239). CA'ın *S.aureus* bakterisi üzerine etkisinin, CHX ve HOCl kadar etkili olmama ihtimalinden; daldırmada yetersiz kalırken, sürtme yönteminin bu durumu iyileştirdiği yorumu yapılabilir.

Aslında, mikroorganizmaların diş yüzeyinde kolonileşme biçimleri ile titanyum implantların etrafında kolonileşme biçimleri arasında farklılıklar olabilmektedir. Periodontal mikrobiyolojik araştırmalarda genellikle dikkate alınmayan bir patojen olan *Staphylococcus aureus'un* (240) hemen hemen her türlü titanyum yüzeye tutunma yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir (241).

S. aureus'un dental titanyum implantların enfeksiyon sürecinde erken kolonizasyonda rol oynayan önemli bir faktör olabileceği düşünülmektedir (242). Çalışmamız ile benzer şekilde kontaminasyon için *S. aureus* suşunun kullanıldığı bir çalışmada, SLA yüzey mini implantlarda dekontaminasyon prosedürleri karşılaştırılmış ve tek başına CA'ın bakteri uzaklaştırmada etkili olmadığı mekanik tedavi ile birlikte kullanıldığında etkili olduğu gösterilmiş ve aynı çalışmada tek başına CHX uygulamasının bakteri uzaklaştırmasında en etkili olduğu bulunmuştur (243).

Benzer sonuç elde eden bir diğer çalışmada grade 4 titanyum diskler pürüzsüz, aşındırılmış ve SLA yüzey gibi farklı yüzey pürüzlülüğüne sahip gruplar arasında biyofilmle kontamine edildikten sonra glisin, sodyum bikarbonat ve kalsiyum karbonat tozları ile air-polishing işlemi; ultrasonik, paslanmaz çelik scaler kullanımı ve pamuk pelete emdirilmiş %40 CA 60 saniye uygulanması gibi farklı debridman protokolleri uygulanmış ve glisin tozuyla air-polishing ve %40 CA sürtme uygulamasının tüm implant yüzeylerinde minimal değişikliklere neden olduğu ve biyofilmi uzaklaştırmada da etkili olduğu gösterilmiştir. Tüm debridman tekniklerinin yüzey tipinden bağımsız olarak, başlangıç seviyesine kıyasla biyofilimde %80'den fazla azalma ile sonuçlandığı görülüp CA ile sürtme işleminin biyofilm giderme etkinliği açısından mekanik debridman aletleriyle karşılaştırılabilir olduğu çalışmanın bir diğer sonucudur (244).

Yine yapılan başka bir çalışmada biyofilm oluşturulan pürüzlü implant yüzeyine sahip disklere dekontaminasyonu için %0,12 CHX, %20 CA jel, %24 EDTA ve %1,5 , %0,9 steril tuzlu su ile steril pamuk peletlerle 20 saniye boyunca

uygulama yapılmış ve CA grubunun, CHX, NaOCl-EDTA ve kontrolle karşılaştırıldığında antimikrobiyal etkinliğinin daha iyi olduğu gösterilmiştir (139).

Çalışmamızda da benzer olarak kullanılan %40 CA pamuk peletle sürtülerek uygulandığında anlamlı olarak biyofilm uzaklaştırma etkinliğinde diğerlerinden daha yüksek bulunmuştur. Buna dayanarak CA'nın sürtme gibi mekanik etkilerle titanyum yüzeyinde dekontaminasyon etkinliğinin artırılabilceği söylenebilir.

CHX'in klinik etkinliği periodontal tedavide iyi bir şekilde belgelenmiştir. Gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin yanı sıra mantarlar ve bazı virüsler üzerinde belirgin bir antimikrobiyal etkiye sahip geniş spektrumlu bir antiseptik olarak kabul edilmektedir (147-149). Dahası, antibakteriyel aktivitesi inflamasyonu azaltıp subgingival plağı kontrol edebilmektedir (150).

Orta pürüzlü yapıya sahip *P. gingivalis* ve *Streptococcus mutans* biyofilmleriyle kontamine titanyum grade 4 diskler üzerinde yapılan bir çalışmada 5.25% NaOCl sıvı ve jel, %40 CA sıvı, %1 CHX jel ve %0.2 CHX sıvı formülasyonları 2 dakika süreyle uygulandığında tüm antiseptiklerin kontrolle karşılaştırıldığında belirgin antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ek olarak NaOCl, CA ve CHX spektroskopik analizle kanıtlandığı üzere TiO yüzey tabakasının kimyasal yapısını değiştirmemiştir (245). Ayrıca başka bir çalışmada machine (işlenmemiş) mikro-implantlar kullanılıp (246) biyofilmle kaplanan yüzeyler 1 dk boyunca %0,2 klorheksidin diglukonat ve %0,055 sodyum florür içeren solüsyonlara daldırıldığında implantlar üzerinde oluşan biyofilmi uzaklaştırmada CHX'nin önemli bir antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Çalışmamızda %0.2 konstrasyonda kullanılan CHX de benzer şekilde daldırma yönteminde biyofilm uzaklaştırmada etkili bulunmuştur.

Sadece tek bir çalışmada CHX'in dekontaminasyon etkisi çalışmamız ile çelişkili bulunmuştur; bu çalışmada, %3 H₂O₂, %0,2, %24 EDTA jel, %3 H₂O₂ ve 1,6 g/L TiO₂ ve steril salinin *Staphylococcus epidermidis* ile kontamine olmuş pürüzsüz saf titanyum disklerde spektrofotometre kullanılarak OD analizi ve kalan biyofilmin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri değerlendirilmiş ve CHX biyofilmi uzaklaştırmada etkili bulunmamıştır (247). Bizim çalışmamızda CHX ile karşılaştırılan grupların ve biyofilm oluşturmada kullanılan suşun farklı olması benzer sonuç elde edemememize neden olmuş olabilir.

İn vitro olarak titanyum disklerin dört farklı bakteri suşuyla kontamine edildiği bir çalışmada dekontaminasyon için %0.2'lik CHX, %0.018 HOCl ve %1.3 NaOCl kullanılmıştır (174). HOCl'nin bakteri çözeltisine hacimce 4:1 oranda kullanılmasıyla bakterileri tamamen öldürdüğü ve 1:1 hacim oranında kullanılan %1,3 NaOCl ve %0,2 CHX'in antibakteriyel etkinliğine benzer olduğu bulunmuştur. Ayrıca HOCl; NaOCl ve CHX ile karşılaştırıldığında *P. gingivalis*'in lipopolisakkarit (LPS) konsantrasyonunu önemli ölçüde düşürdüğü de çalışmada gösterilmiştir. Çalışmamızda da benzer olarak aynı konsantrasyonda HOCl uygulamasının CHX grubuyla benzer biyofilm uzaklaştırma potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. HOCl'nin konsantrasyonu ppm olarak ifade edilmekte ve bu da çözeltideki aktif klor miktarını belirtmektedir (170). Çalışmamızda 180 ppm HOCl solüsyonu kullanılmıştır. Sakarya ve ark (2014) HOCl solüsyonunun 2,75 ppm ve 192 ppm arası konsantrasyonlarının antimikrobiyal ve olgun biyofilm uzaklaştırması üzerine etkinliğini araştırmış ve çok düşük konsantrasyonlarda (2,75 ppm) bile kısa süre içerisinde HOCl'nin *S.aureus* ve test edilen diğer bakteriler için öldürücü olduğunu ortaya koymuştur (168). Ayrıca çalışmada kullanılan 190 ppm HOCl bakteri yapışmasını diğer düşük konsantrasyonlara göre oldukça azaltmıştır, bu HOCl konsantrasyonu çalışmamızda kullanılanla uyumludur.

Yapılan başka bir çalışmada antimikrobiyal ajanların etkinlikleri test edilmiş ve HOCl solüsyonunun konsantrasyonu 5 farklı şekilde (%0,01-0,05) kullanılıp NaOCl (%1,5) ve CHX (%0,2) 1 ve 10 dakika süreyle uygulanmıştır. Çalışmada HOCl'nin dört bakteri türüne karşı antimikrobiyal etkinliğinin NaOCl ve CHX'ten daha düşük olduğu gösterilmiştir (248). Castillo ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada %0.2 CHX ile %0.025 ve %0.05 HOCl'nin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinliği karşılaştırıldığında 30 saniyelik uygulama süresince HOCl'nin gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinliği CHX'den daha yüksek bulunurken, gram pozitif bakterilerde CHX grubunun etkinliği HOCl'den yüksek bulunmuştur. Ayrıca HOCl'nin konsantrasyon artışında antibakteriyel etkinliğinin de yükseldiği gözlemlenmiştir (172). Fakat bu çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı türlerde bakteri suşları kullanılmıştır. Ve aynı zamanda bizim çalışmamızda solüsyonların titanyum diskler üzerindeki biyofilm uzaklaştırma etkinlikleri değerlendirilmiş, direkt bakteri üzerine solüsyonun etkinliğine bakılmamıştır.

Dennison ve ark. (141)'nın yaptığı çalışmada; *P. gingivalis* LPS ile kontamine edilmiş machine ve TPS yüzey implantlar 2 dakika boyunca deiyonize su, doymuş CA çözeltisi veya %0,12 CHX ile pamuk peletlerle muamele edildiğinde machine yüzeylerde CA ve CHX arasında fark bulunmazken; ikisi de biyofilm uzaklaştırmada önemli ölçüde etkili bulunmuştur. Çalışmamızda kullanılan titanyum diskler de machine yüzeye sahip olup tüm test solüsyonlarının kontrole göre biyofilm yoğunluğunu azalttığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda pürüzlü implant yüzeylerinden biyofilm uzaklaştırılmasının, pürüzsüz olanlara göre daha zor olduğu belirtilmektedir (10, 11). Bu nedenle çalışmamızda elde ettiğimiz sonucun pürüzlü yüzeylerde geçerli olamayacağı söylenebilir.

Bakteriler implant malzemelerine kolayca yapışmakta ve mikrobiyal enfeksiyon implantın korozyonuna ve kaybına neden olabilmektedir. Diş hekimliğinde, beş yıllık takipte yapılan klinik çalışmalar, implantların %14,4'ünün implant enfeksiyonlarıyla çevrili olduğunu ve bu oranın zamanla arttığını göstermiştir (249).

Bakteriyel adezyon genellikle olgun biyofilm oluşumuyla sonuçlanan iki aşama ile tanımlanmaktadır, ilk aşamada, bakteri hücre yüzeyleri ile malzeme yüzeyleri arasında hızlı ve geri dönüşümlü olan ilk etkileşim gerçekleşmekte, ikinci aşamada ise bakteri yüzey yapıları (fimbria veya pili) üzerindeki proteinler ile malzeme yüzeyindeki bağlayıcı moleküller arasındaki spesifik ve nonspesifik etkileşimleri içermektedir. İkinci aşama genellikle geri dönüşümsüz olarak adlandırılmaktadır. Bu nedenle, implantla ilişkili enfeksiyonları baskılamak ve tamamen ortadan kaldırmak kritik öneme sahiptir (250). Bakterilerin implant yüzeyine adezyonu doku onarım süreci bitmeden önce meydana gelirse, konak savunması yüzey kolonizasyonunu ve biyofilm oluşumunu önleyememektedir (251). Hücrenin biyomalzemeyle temasının ilk birkaç saati boyunca bakteriyel adezyon, kemik iyileşmesinin tüm sürecini bozabilmektedir (252).

Ağız ortamına açık titanyum yüzeylerde, yani transmukozal titanyum protez elemanları ve iyileşme abutmentlerinde plak birikimini önlemek önemlidir (253). Dental implantların yerleştirilmesinden hemen sonra bakteri rekolonizasyonunu değerlendiren bir çalışmada, 30 dakika içinde bakteriyel kolonizasyonun olabildiği gösterilmiştir (254). Erken kolonizasyonun periimplant lezyon oluşumuna katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (146). Bu nedenle bakteriyel tutunmayı önleyecek

tedavilerin geliştirilmesinin, periimplantitis tedavisinin erken iyileşme safhalarında özellikle büyük öneme sahip olduğu düşünülebilir.

İmplant-mukoza arayüzünde bakteriyel birikimin postoperatif olarak azaltılması, enfeksiyöz komplikasyonları önleyebilmekte ve implant başarı oranını artırabilmektedir (253, 255).

Çalışmamızda steril titanyum diskler CA, CHX ve HOCl uygulandıktan sonra yeni biyofilm oluşumu değerlendirilmiş ve tüm test solüsyonlarında kontrol grubuna göre biyofilm oluşumunun daha az olduğu görülmüştür. Daldırma yönteminde kontrol diske göre en fazla biyofilm oluşumu CA'da görülürken, HOCl ve CHX arasında bir fark görülmemiştir. Sürtmeye ise en fazla biyofilm oluşumu CHX'de görülürken, HOCl ve CA arasında fark görülmemiştir. Daldırma ve sürme yöntemleri arasında fark CHX grubunda gözlemlenmezken, HOCl ve CA gruplarında sürme yöntemindeki yeni biyofilm oluşumunun daldırmaya göre daha az olduğu saptanmıştır.

Souza ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada saf titanyum diskler öncesinde ağız içinde oluşturulan biyofilme maruz bırakılıp sonrasında %40 CA ile sürme ve daldırma işlemleri yapıp steril edildikten sonra *Streptococcus sanguinis*'in yeni bakteriyel tutunmadaki etkinliğini analiz ettiklerinde CA'nın bakteriyel re-kolonizasyonu engellemediğini fakat biyofilmleri uzaklaştırmada etkili olduğunu söylemişlerdir (140). Bizim çalışmamızda ise CA ile hem daldırma hem de sürme işleminin yeni biyofilm oluşumunu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında engelleyebildiği gösterilmiştir. Buradaki farklılığın nedeni Souza ve ark.'nın daha önce kontamine edilmiş diskleri rekolonizasyon testinde kullanmalarından ve farklı bir bakteri suşuyla incelemesinden kaynaklı olabileceği söylenebilir.

Çalışmamızın sonuçlarına göre sürme işlemi hem HOCl hem de CA grubunda bakteri rekolonizasyonunu engellemede daldırmaya göre anlamlı olarak etkinliği artırmıştır.

Kimyasal ve mekanik debridman yöntemlerinin birleştirilmesinin etkisini araştıran bir çalışmada; *Staphylococcus epidermidis* suşu kullanılarak biyofilmle kaplı üç farklı düzeyde pürüzlülüğe sahip titanyum yüzeyde Sodyum Klorür (%0,9 hacim), EDTA (%12 hacim), H₂O₂ (%3 hacim) veya H₂O₂ + TiO₂ nanopartikülleri kimyasal debridman ajanları olarak kullanılırken, TiBrush

mekanik debridman aracı olarak kullanılıp OD üzerinden biyofilm miktarı değerlendirilmiş ve tek başına kimyasal debridmanla karşılaştırıp sonrasında disklerde bakteriyel yeniden canlılığı değerlendirmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında kimyasal ve mekanik debridman birleştirildiğinde, en pürüzsüz yüzeyde en iyi etkiyle biyofilm yükünü azalttığını ve yeni biyofilm oluşumunu engellediğini bulmuşlardır (256). Bizim çalışmamızda da düşük pürüzlülükteki disklerde, yeni biyofilm oluşumunda HOCl ve CA sürtme grubu için benzer şekilde daldırma yani sadece kimyasalın uygulandığı gruba göre daha az yeni biyofilm oluşumu gözlenmiştir.

Çalışmamızdaki test solüsyonlarının, titanyum yüzey topografisinde değişikliklere yol açarak yüzey pürüzlülüğünü artırdıkları görülmüş; ancak bu topografik değişikliklerin titanyum yüzeyinde bakteri re-kolonizasyonunu artırmadığı aksine azalttıkları izlenmiştir. Daha yüksek yüzey pürüzlülüğünün bakteri yapışmasını artırabileceği bilinmektedir (215) ancak, çalışmamızdaki tüm gruplar için Ra değerleri, bakteri yapışmasının etkilenemeyeceği 0,2 µm'lik eşik yüzey pürüzlülüğünden daha düşüktür (257). Yapılan bir çalışmada saf titanyum grade 3 disklerde implantoplasti yapıldıktan sonra HOCl tek başına ya da HOCl ve H₂O₂ beraber kullanılıp sonrasında diskler *Streptococcus gordonii* ve *Streptococcus oralis* bakterileri ile kontamine edilmiştir. H₂O₂ ve HOCl'nin birlikte uygulanmasının bakteriyel re-kolonizasyonu, tek başına HOCl ile yapılan tedaviye göre daha fazla artırdığı bulunmuştur. Bunun nedeninin implantoplasti sonrası uygulanan solüsyonların yüzey pürüzlülüğünü artırması ve bu durumun bakteri proliferasyonunu kolaylaştırması olarak yorumlamışlardır (233). Fakat bu çalışmadaki Ra değerleri 0,2 µm'nin üstündedir. Bizim çalışmamızda daha düşük yüzey pürüzlülüğüne sahip titanyum diskler kullanılmış olup test solüsyonlarının uygulanmasından sonra da bakteriyel yapışmayı etkileyecek düzeyde bir pürüzlülük değeri elde edilmemiştir. Bu nedenle test solüsyonlarının yeni biyofilm oluşumuna etkileri yüzey pürüzlülüğünden ziyade, titanyum yüzeyinde elektrokimyasal değişikliklere neden olarak veya kullanılan ajanların substantif özelliklerinden kaynaklı olabileceği söylenebilir. CHX ve CA gibi kemoterapötik ajanlar ile yapılan dekontaminasyon işlemleri sonrası bu ajanlara ait artıkların titanyum yüzeyinde kaldığı ve fiziksel özelliklerini etkilediği bildirilmiştir (139).

Çalışma sonuçlarımıza göre disklerin CHX ile daldırma işlemi sonrası kontrol grubuna kıyasla yeni biyofilm oluşumunu engelleyebildiği ve HOCl'inde CHX'e benzer etkide olduğu görülmüştür.

Titanyum yüzeylerde, kemoterapik ajanların mekanik debridmana ek olarak kullanımının implant yüzeylerini orijinal hallerine geri döndürmek için yararlı olabileceği hipotezi öne sürülmektedir (258).

Dezenfeksiyon protokollerinin dekontaminasyonda etkili olması kadar; özellikle biyolojik düzeyde, komşu yumuşak dokularda toksik etkiye neden olma veya yeniden bakteri oluşumunu kolaylaştırma gibi herhangi bir olumsuz etkilerinden kaçınılması da implantın uzun vadeli stabilitesinde önem arz etmektedir. Dezenfeksiyonun meydana geldiği ve yüzeyde titanyumun yeniden pasifleştirilmesini sağladığı bir protokol oluşturularak, implantın boynunda bakterilerin filtrelenmesini önleyen bir tıkaç görevi gören yumuşak doku için biyoyumlu titanyum yüzeyin sürdürülebilirliğinin önemli olduğu düşünülmektedir (233).

CHX'in pozitif yüklü bir biguanid bileşiği olması nedeniyle titanyum yüzeyi tarafından adsorbe edilebileceği bildirilmektedir (259). Barbour ve ark. (260) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada CHX ile muamele edilmiş grade 2 titanyum disklerin *Streptococcus gordonii* üzerindeki bakterisidal etkisi gösterilmiştir. Titanyum yüzeyler 1 dakika boyunca CHX (100 mg/L) çözeltisine daldırılmış, bu süreden sonra CHX adsorpsiyonunun maksimum olduğu görülmüştür. CHX ile adsorpsiyon, bakteriyel rekolonizasyonda daha yüksek oranda bir azalma ile sonuçlanmıştır.

Titanyum yüzeyinde %0,2'lik CHX solüsyonunun kullanımının, %0,1 CHX'e göre %70 daha yüksek adsorpsiyon seviyesinde artışa neden olduğunu gösteren bir çalışmada; CHX kullanımının pürüzsüz titanyum abutment yüzeyinde antibakteriyel etkinin üstün kalıcılığıyla sonuçlanabileceğinden oral ortama maruz kalan titanyum yüzeylerde, yani transmukozal titanyum protez elemanları ve iyileşme abutmentlerinde plak birikimini önlemek için %0,2 CHX kullanımı önerilmiştir. Bu çalışmada, %0,1 ve %0,2 CHX solüsyonu tükürükle kaplanmış pürüzlü ve pürüzsüz titanyum disklere 1 dk boyunca daldırılarak uygulandıktan sonra antibakteriyel aktivite, *Streptococcus mutans* kolonisinde bakteriyel inhibisyon bölgelerinin ölçülmesiyle değerlendirilmiş; adsorpsiyon seviyesinin ve bakteri

oluşumunun engellenmesinin, CHX konsantrasyonu ve titanyum yüzey özelliklerinden etkilendiği; %0,2 CHX ve pürüzlü titanyum yüzeyde daha yüksek adsorpsiyon ve antibakteriyel aktivite seviyeleri gösterilmiştir. Yavaş CHX salınım hızı ile, bu ajanın titanyum-pellikül yüzeyinde kalıcılığını artırdığı ve uzun süreli antiplak etki sağlayabileceği düşünülmüştür (261). CHX kullanımı, ajanın sert ve yumuşak oral dokulara emilmesi ve zamanla salınmasını sağlayan substantif özelliği nedeniyle avantajlıdır ve bu etki 12 saate kadar sürebilmektedir (262).

Başka bir çalışmada cilalı yüzeye sahip ticari olarak saf Ti sınıf 4 diskler, CHX (%0,1), povidon-iyot (PVP-iyot) solüsyonu (%10) veya CA (%40) içeren bir solüsyonla muamele edilmiş ve akabinde bakteri büyüme ve canlılığının nitel ve nicel değerlendirmesi MTT testi ve SEM ile bakıldığında, *P. Gingivalis* ile 6 günlük inkübasyondan sonra PVP-iyot ve CA (%40) solüsyonu ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna kıyasla canlı bakteri miktarında sayısal ancak istatistiksel olarak önemli olmayan azalma gözlemlenmiştir. CHX ile tedavi edilen grup, PVP-iyot ile tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bakteri sayılarına sahip olduğu görülüp kontrol grubu ve CA ile tedavi edilen grupla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gözlenmediği bulunmuştur (263). Bizim çalışmamızda ise CHX solüsyonu kontrole ve CA grubuna göre yeni biyofilm oluşumunu engellemede daha etkili bulunmuştur bu farklılık çalışmamızda CHX'inin %0.2 konsantrasyonda kullanılması ve farklı bakteri suşlarının olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda CA uygulamasının hem daldırma hem sürtmeye kontrol diske göre biyofilm oluşumunu engelleyebildiği görülmüştür; bu durum, belirli pH'larda titanyum yüzeyinde CA'nın adsorbe olması ve "asit kümeleri" (yani moleküllerin kümelenmesi) oluşturmamasından kaynaklanıyor olabilir (264).

CA uygulaması, titanyum üzerinde temas açısını azaltmakta ve yüksek polarizasyon ve oksitleyici karaktere sahip yüzey enerjisinde artışa neden olmaktadır. CA ile elde edilen bu yüzeyin fiziko-kimyasal özelliklerinin bakterisidal davranışa neden olduğu bildirilmektedir (265). Titanyum yüzeyini sitrik asitle pasifleştirmenin; hidrofilik karakteri, korozyon direncini iyileştirdiğini ve hidrojen klorür işlemine kıyasla bakterisit bir karakter sunduğunu göstermektedir. CA konsantrasyonunun artırılmasının bakterisit etkiyi iyileştirdiği ancak korozyon direnci parametrelerini azalttığı gösterilmiş fakat daldırma

süresinin yüzey özelliklerine herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. CA pasivizasyonu, daha hidrofilik bir yüzey ve daha yüksek yüzey enerjisiyle sonuçlanarak titanyum yüzeyleri, biyolojik olarak bakteri adezyonuna karşı daha reaktif hale getirmektedir. Bakteriyel yapışmadaki azalma, yüzey hidrofilitesindeki artışla ilişkilendirilmekte ve aynı zamanda asidik karakterin, yüzeyde bakteri yapışmasını önlediği bildirilmektedir (266).

Son yıllarda, implantlarda süperhidrofilik yüzeyler üzerinde giderek daha fazla çalışma yürütülmektedir. Çok sayıda antibakteriyel yöntem arasında, süperhidrofilik yüzeyler mükemmel biyouyumluluk elde ederken antibakteriyel etkiler göstermektedir (267). Bazı çalışmalar yüzey hidrofobisitesi ile bakteriyel adezyon arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Hidrofobik metal yüzeyler hidrofobik bakterilerin yapışmasını desteklemekte ve bu nedenle bakteriyel yapışmadaki bir azalma yüzey hidrofilitesindeki bir artışla ilişkilendirilebilmektedir (266, 268).

Çeşitli araştırmalar, hidrofilik bakteriler için abiyotik yüzeylerin hidrofobisitesinin artması ve yüzey enerjisinin azalmasıyla bakteriyel adezyon derecesinin genel olarak arttığını bildirmektedir (269-271).

Çalışmamızda biyofilm oluşumunu engellemede en etkili ajanın HOCl olduğu izlenmiştir. Bu durum daldırmada CA ile anlamlı bulunurken, sürtmede CHX ile anlamlı bulunmuştur.

Periodontal cerrahi sonrası antiplak ajan olarak HOCl ve CHX'nin karşılaştırıldığı bir çalışmada, HOCl'in antiplak etkisinin CHX ile benzer olduğu ve HOCl'nin postoperatif periyotta periodontopatojenik bakterilerin rekolonizasyonunu azalttığı gösterilmiştir (272). HOCl'nin başlangıç plak oluşumunun inhibisyonu üzerindeki etkisinin, substantif özelliğinden kaynaklanmadığı; oksitleyici etki gibi faktörler ile bakteriyel adezyon mekanizmaları üzerinde bir etki gösterebileceği yorumu yapılmıştır (172, 273, 274).

HOCl'nin proteolitik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (275). Hipoklorit iyonu ($-OCl$) ve HOCl içeren alkali elektrolize suyun, sert katı yüzeylerdeki organik debrisı ayrıştırmak ve gidermek için yararlı olabilecek bir oksitleyici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (276). Karbon kontaminasyonu gibi organik debrislerin titanyum yüzeyini hidrofobik hale getirdiği ve böylece osteoblastik işlevlerle ilgili

biyoaktiviteyi azalttığı iyi bilinmektedir (277, 278). Bu organik birikintilerinin uzaklaştırılmasının hidrofilikliğı artırarak başlangıçtaki sito-uyumluluğu yeniden sağlamada önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (258).

Genel olarak, hücre yapışması ve çoğalmasının hidrofilik yüzeylerde arttığı bildirilmektedir. Özellikle fibroblastlar ıslanabilirlikteki değişikliklere duyarlıdır; hücre proliferasyonu yüzey ne kadar hidrofilik olursa o kadar artmaktadır (279, 280). Bakteriyel adezyon durumunda, bu ilişki o kadar belirgin değildir çünkü bakteri suşu türü de dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (266). Bununla birlikte yüzey topografisi ve pürüzlülüğünün yanı sıra, hidrofobik yüzeylerin hidrofilik yüzeylere kıyasla tutunan bakteri sayısını artırdığı bildirilmektedir (281-283). *S. aureus* adezyonu üzerinde yüzey kimyasının etkisini incelemek için farklı fonksiyonel uç gruplara sahip tiyol yüzeyleri kullanılan bir çalışmada bakteriyel adezyonun hidrofobik yüzeylerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir (284). Bu nedenle her ne kadar bizim çalışmamızda yüzeyin hidrofilite ölçümleri yapılmamış olsada, HOCl'nin titanyum yüzeyinde hidrofiliteyi artırmasıyla ve oksitleyici etkisiyle biyofilm oluşumunu engellediği söylenebilir.

HOCl'nin titanyum yüzeyi ile kimyasal etkileşimini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat Sodyum klorür solüsyonunun titanyum ile etkileşiminin sonrasında HOCl'nin bir sonuç ürünü olarak ortaya çıktığı bildirilmektedir. Titanyum implantının yüzeyinin sodyum klorür solüsyonu ile muamelesi sonrası yüzeyel bir titanyum klorit tabakası oluşmakta ve titanyum yüzeyini anodize etmektedir. Daha sonra, modifiye edilmiş yüzey kademeli olarak hidrolize olmakta ve bu da titanyum hidroksit (Ti-OH) ve bakteri öldürücü HOCl oluşumuna yol açmaktadır. Hidrolizle ilişkili olarak, titanyum implantın hidrofilitesi yüzeyde Ti-OH oluşumuyla artmaktadır. Yavaş salınan HOCl, modifiye edilmiş titanyum yüzeye antibakteriyel özellikler kazandırırken, kalan Ti-OH hidrofiliteyi artırmaktadır (250).

İleriki çalışmalarda HOCl'nin hangi mekanizmayla titanyum yüzeyinde bakteri oluşumunu engellediğinin araştırılması önerilebilir.

Dekontaminasyon protokollerinin sitotoksiteden kaçınmak ve bakteriyel kolonizasyonu engellerken yeniden osseointegrasyona izin veren bir implant yüzey

durumu elde etmek için titanyumun tekrar pasifleştirilmesine izin veren bir kimyasal çözeltinin araştırılmasının oldukça önemli olduğu düşünülmektedir (233). Kontamine olmuş implant yüzeylerinde dekontaminasyon işlemleri bakteri uzaklaştırmada başarılı olabilmekte fakat titanyum yüzeyinin biyouyumluluğunu bozabilmektedir (206, 285-287).

Önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bakteri yükünü azaltmada etkili olabilecek belirli dekontaminasyon yaklaşımlarının bir implantın element bileşimini geri kazandıramayabileceğini hatta titanyum malzeme özelliklerini daha da tehlikeye atabileceğini göstermiştir (206, 286). Abutment materyalinin ve onun mekanik, fiziksel ve kimyasal modifikasyonunun, özellikle abutment yüzeyiyle temasın erken evrelerinde, fibroblast yanıtını in vitro etkilediği düşünülmektedir (288).

Kullandığımız solüsyonların titanyum yüzeylerin biyouyumluluğuna etkilerini değerlendirmek amacıyla; solüsyonlarla sürtme ve daldırma işlemleri yapıldıktan sonra L-929 sıçan fibroblast hücre hattı kullanılarak sitotoksitesi değerlendirilmiş ve titanyum disk üzerinde hiçbir solüsyonun sitotoksik etki göstermediği görülmüştür. Çalışma sonuçlarına göre daldırma yöntemine göre gruplar arası karşılaştırmada hücre canlılığı yüzdesi olarak sırasıyla en yüksek değerler CHX, CA, kontrol ve HOCl gruplarında gözlenmiştir.

Sürtme yöntemine göre ise CA ve CHX grupları arasında anlamlı farklılık bulunmazken; gruplar arası en yüksek değerler sırasıyla CA, CHX, kontrol ve HOCl gruplarında izlenmiştir.

CHX ve HOCl grubunda sürtme ve daldırma yöntemi arasında anlamlı farklılık bulunmazken; CA grubunun sürtme verilerinin daldırma verilerine göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur.

L-929 fare fibroblast hücre hattı üzerinde 100, 200, 300, 400, 500 ppm HOCl, %0.2 CHX, %1.5 NaOCl; 1 ve 10 dakikalık sürelerde uygulandığında HOCl'deki hücre canlılığı 10 dakikalık tedavide %98 ile %88 arasında bulunup yapılan çalışmadaki bu sonuç HOCl'nin sitotoksik olmadığını göstermiştir (248). Özellikle, 10 dakikalık tedaviden sonra, 500 ppm HOCL için canlılık sırasıyla CHX ve NaOCl'den 2,7 ve 2,3 kat daha yüksek bulunmuştur. Çalışma sonuçları HOCl'nin sitotoksik olmadığını mevcut sonuçlarımızla doğrularken; CHX

grubundaki bu farklılık bizim çalışmamızda titanyum yüzey üzerinde uygulanıp çalışmada doğrudan fibroblast üzerinde uygulanmış olmasıyla açıklanabilir.

İn vitro olarak yapılan bir çalışmada (289) %0.12 klorheksidin, %1.64 kalay florür veya steril tuzlu su ile tedavi edilen farklı yüzey karakterli dental implantlar üzerinde gingival fibroblastların tutunması değerlendirilmiş ve sonuçların analizi, kalay florür ile tedavi edilenlere kıyasla salin veya klorheksidin ile tedavi edilen numunelerde önemli ölçüde daha fazla sayıda fibroblast tutunduğunu göstermiştir. Sonuçlar CHX grubunda çalışmamızla uyumlu olarak bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada grade 4 saf titanyum diskler üzerinde %3'lük H₂O₂ ve CHX jel 5 dakika süreyle CA ise 1 dk süreyle uygulandıktan sonra epitel hücre tutunması MTT testiyle araştırdığında CA, CHX ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Titanyum yüzeyindeki epitel hücre tutunmasının farklı temizleme solüsyonları tarafından önemli ölçüde bozulmadığı çalışmada belirtilmiştir (220). Bizim çalışmamızda sürtme işlemi ile CHX ve CA uygulamasının arasında hücre canlılığı açısından fark bulunmazken, daldırma işlemi uygulanan CHX grubunun CA'ye göre titanyum yüzey üzerinde daha fazla hücre canlılığına neden olduğu görülmüştür.

Ramesh ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada (15) saf titanyum disklerde bakteriyel kontaminasyon oluşturup sürtme ve daldırma yöntemleriyle diskleri %30 CA,%0,12 CHX ile detoksifike ettikten sonra hücre canlılığının değişimini incelediklerinde işlem yapılmayan kontrol grubuna göre CA ve CHX'nin daha düşük hücre canlılığına yol açtığını bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise CA ve CHX kullanılan gruplar kontrole göre daha yüksek hücre canlılık göstermiştir. Çalışmamızda diskler üzerinde kontaminasyon oluşturmadığımız için hücre canlılığının daha yüksek bulunmuş olması muhtemeldir. Bununla birlikte çalışmada CA-S'nin CA-D'den istatistiksel olarak daha yüksek hücre canlılık gösterip CHX-D ile CHX-S arasında fark bulunmaması çalışma sonuçlarımızla uyumludur. Bizim çalışmamızda da sürtme işleminin CA grubunda anlamlı olmak üzere, hücre canlılığını tüm test gruplarında artırdığı görülmüştür.

Sitrik asidin detoksifikasyon için kullanımı iyi bir şekilde araştırılmıştır ve bu kimyasalın olumlu etkisi, kök yüzeylerinde yeni hücre bağlanma şansını artırabileceğini ortaya koymuştur (290). Bir çalışmada (291) saf titanyum diskler aerobik ve anerobik koşullar altında bakteriyel ortama daldırılıp %40'luk CA ile 8

dakika pamuk peletle tedavi edildikten sonra hücresel proliferasyon incelendiğinde pre-osteoblast canlılığı aerobik ortama 4 saat boyunca daldırılan ve sonrasında CA ile işlem gören numunelerde kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca sadece besiyeri veya sadece bakterilere maruz bırakılan örneklerde ortalama canlılık değerlerinin %70'in altında olması detoksifikasyon ile kemik hücresi büyümesinin iyileştirebileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda sürtme işlemi yapılan durumda CA grubu için en yüksek hücresel canlılık değerinin elde edilip kontrol grubundan yüksek bulunması çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur.

Zablotsky ve arkadaşları (292) CA ile muamele edilen Ti yüzeylerinin diğer kimyasallarla karşılaştırıldığında daha fazla fibroblast ürettiğini öne sürmüşlerdir. Ferreira ve arkadaşları (293) CA ile tedavi edilen dış kök yüzeylerinin osteoblastlara kıyasla daha fazla fibroblasta sahip olduğunu göstermiştir.

Sitrik asidin, uygulandığı yüzeyin pürüzlülüğünü artırarak hücre tutunmasını artırdığı düşünülmektedir (131, 294).

Nano düzeydeki pürüzlülük, doğal doku morfolojisine benzemekte ve hücre tutunması, büyümesi ve olgunlaşması üzerinde olumlu bir etkiye sahip ideal bir faktör olarak kabul edilmektedir (295-297). Çalışmamızda da CA ve CHX gruplarında daha fazla hücre canlılığı görülmesinin, elde edilen AFM verilerine göre bu iki gruptaki nano düzeydeki yüksek pürüzlülük değerlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Ramesh ve ark.'nın yaptığı çalışmada da (15) diğer gruplara göre CA-S grubunda daha yüksek hücre canlılığı, yüksek yüzey pürüzlülüğüne atfedilmiştir. Bununla beraber yine aynı çalışmada, elektrokimyasal test sonuçları CA-S işleminin kontrol ile karşılaştırıldığında korozyona yatkınlığı istatistiksel olarak artırdığını göstermişlerdir. İşlem görmüş numuneler arasında, daldırılmış numunelerin sürtülmüş numunelere kıyasla daha yüksek korozyon direncine sahip olduğu bulunmuş ve bu sonuç, mekanik debridmanın oksit tabakasına fiziksel olarak temas etmesi ve zarar vermesiyle açıklanmıştır. Bu çalışmayla çelişkili olarak; CA uygulamasının saf titanyum diskler üzerinde pasivasyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmada %40 CA uygulamasının pürüzlülük artışıyla beraber hidrofilik karakterinin ve korozyon direncinin arttığı ortaya koyulmuştur (266). Pasivasyon işlemi genel olarak, koruyucu tabakaların oluşumunu ve kalınlığının artmasını destekleyen kimyasal veya elektrokimyasal bir işlemle elde edilen bir

oksidasyon reaksiyonu olarak açıklanabilir (298-300). Bu işlem, oksit tabakasının kalınlığını artırmaya ve titanyum yüzeyinde bütünsel bir temizlik uygulamaya yaramaktadır. CA'nın asidik etkisiyle ortamdaki hidrojen gradyanını değiştirip önce titanyumdaki doğal oksit filmi parçalayarak etki etmesi ve ardından yüzeyle etkileşime girerek bir titanyum hidrit tabakası oluşturması ve daha sonra TiO_2 tabakasını yeniden oluşturması mümkündür (140, 265, 301).

Bazı araştırmacılar, oksidasyon sürecinin TiO_2 tabakasının özelliklerini değiştirerek onu daha biyouyumlu hale getirdiğini belirtmişlerdir (302). Çalışmamızda kullanılan CA solüsyonunun titanyum yüzeyindeki hücresel canlılıkta en yüksek değerlerde bulunmuş olması bu mekanizmaya da atfedilebilir, fakat çalışmamızda bu hipotezi doğrulayacak korozyon özelliklerinin değerlendirildiği bir elektrokimyasal analiz yapılmamıştır.

Titanyum yüzeylerin parlatılması sırasında CA, H_2O_2 ve diğer ajanların kimyasal etkisini değerlendiren bir in vitro çalışmada, mevcut yazarlar bu dekontaminasyon protokollerinin pH ile ilişkili bir şekilde oksit tabakası hasarı belirtilerine yol açtığını bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada, dekontaminasyondan sonra pamuklu çubuklarda titanyum çözünmesini gösteren titanyum izleri bulunmuştur (206).

Dekontaminasyon protokollerinin bakteriyel kolonizasyonu engellerken aynı zamanda sitotoksiteden kaçınmak için titanyumun tekrar pasifleştirilmesine izin veren bir kimyasal çözelti olması gerektiği belirtilmektedir (233). Aynı çalışmada (233) saf titanyum grade 3 disklerde implantoplasti yapıldıktan sonra 5 saniye ve 1 dakika süreyle $HOCl$ tek başına ya da $HOCl$ ve H_2O_2 beraber kullanılıp osteoblastik hücreler üzerinde sitotoksitesi araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre $HOCl$ sitotoksik bulunmayıp %100'ün üzerinde hücresel canlılık göstermesi sonuçlarımızla uyumludur. $HOCl$ 'nin kontrolle benzer hücre canlılığı gösterdiği belirtilmiş olup bizim çalışmamızda kontrole göre düşük bulunmasının sebebi daha uzun çalışma süresi olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde; %0.018 HOCl, implant abutment yüzeylerini taklit eden cilalı yapıya sahip titanyum disklerde uygulandığında en az pürüzlük artışı göstermiştir. Yeni biyofilm oluşumunda kullandığımız sürtme ve daldırma prosedürlerinde CA ve CHX solüsyonlarından daha iyi etkinlik göstermiş ve biyofilm uzaklaştırmada CA ve CHX solüsyonlarıyla benzer başarıda bulunup sitotoksik etki göstermemiştir.

Çalışmamızın sınırlamaları olup daha sonraki çalışmalarda titanyum yüzeylerde etkinliğin polimikrobiyal çevrenin de eklenmesiyle değerlendirilip daha fazla numune üzerinde test edilmesini önermekteyiz. Ayrıca solüsyonları uygulamada kullandığımız metodolojinin klinik pratikteki uygulamasında farklı entegrasyonlar geliştirilerek araştırılabilir. HOCl'nin titanyum yüzey üzerindeki etkisi tam bilinmemektedir; hidrofilite ve elektrokimyasal testlerle bu mekanizma araştırılabilir. Daha farklı pürüzlülük değerine sahip titanyum yüzeylerde etkinliği test edilip farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulama pratiği geliştirilebilir.

Sonuç olarak çalışmamızın sonuçlarından elde ettiğimiz verilere dayanarak HOCl uygulamasının cilalı titanyum yüzey üzerinde hem morfolojiyi değiştirmeyip hem de hücrel biyouyumluluğu bozmadan idame tedavilerinde biyofilmi uzaklaştırmada kullanılabileceği sonucuna varılabilir.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *Journal of clinical periodontology*. 2002;29:197-212.
2. Lang NP, Pjetursson BE, Tan K, Brgger U, Egger M, Zwahlen M. A systematic review of the survival and complication rates of fixed partial dentures (FPDs) after an observation period of at least 5 years: II. Combined tooth-implant- supported FPDs. *Clinical oral implants research*. 2004;15(6):643-53.
3. Mellado-Valero A, Buitrago-Vera P, Sol-Ruiz MF, Ferrer-García JC. Decontamination of dental implant surface in peri-implantitis treatment: a literature review. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2013;18(6):e869.
4. Albrektsson T, editor Consensus report session IV. IN Proceedings of the 1st European workshop on periodontology/Quintessence Publ Co; 1994.
5. Albrektsson T, Wennerberg A. Oral implant surfaces: Part 1--review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *International Journal of Prosthodontics*. 2004;17(5).
6. Lambert FE, Weber HP, Susarla SM, Belser UC, Gallucci GO. Descriptive analysis of implant and prosthodontic survival rates with fixed implant-supported rehabilitations in the edentulous maxilla. *Journal of periodontology*. 2009;80(8):1220-30.
7. Quirynen M, Bollen CM, Papaioannou W, Van Eldere J, van Steenberghe D. The influence of titanium abutment surface roughness on plaque accumulation and gingivitis: short-term observations. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1996;11(2).
8. Monje A, Wang HL, Nart J. Association of preventive maintenance therapy compliance and peri- implant diseases: a cross- sectional study. *Journal of periodontology*. 2017;88(10):1030-41.
9. Lindhe J, Meyle J, Periodontology GDoEWo. Peri- implant diseases: consensus report of the sixth European workshop on periodontology. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35:282-5.
10. Renvert S, Roos- Jansaker AM, Claffey N. Non- surgical treatment of peri- implant mucositis and peri- implantitis: a literature review. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35:305-15.
11. Ntrouka VI, Slot DE, Louropoulou A, Van der Weijden F. The effect of chemotherapeutic agents on contaminated titanium surfaces: a systematic review. *Clinical oral implants research*. 2011;22(7):681-90.
12. Claffey N, Clarke E, Polyzois I, Renvert S. Surgical treatment of peri- implantitis. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35:316-32.
13. Patil C, Agrawal A, Abullais SS, Arora S, Khateeb SU, Fadul A, Elagib M. Effectiveness of Different Chemotherapeutic Agents for Decontamination of Infected Dental Implant Surface: A Systematic Review. *Antibiotics*. 2022;11(5):593.
14. Brgers R, Witte C, Hahnel S, Gosau M. The effect of various topical peri-implantitis antiseptics on *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, and *Streptococcus sanguinis*. *Archives of oral biology*. 2012;57(7):940-7.

15. Ramesh D, Sridhar S, Siddiqui DA, Valderrama P, Rodrigues DC. Detoxification of titanium implant surfaces: Evaluation of surface morphology and bone-forming cell compatibility. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*. 2017;3:1-13.
16. Noronha Oliveira M, Schunemann W, Mathew M, Henriques B, Magini R, Teughels W, et al. Can degradation products released from dental implants affect peri- implant tissues? *Journal of periodontal research*. 2018;53(1):1-11.
17. Rossi- Fedele G, Guastalli AR, Doğramacı E, Steier L, De Figueiredo JAP. Influence of pH changes on chlorine- containing endodontic irrigating solutions. *International endodontic journal*. 2011;44(9):792-9.
18. Mainnemare A, Mégarbane B, Soueidan A, Daniel A, Chapple I. Hypochlorous acid and taurine-N-monochloramine in periodontal diseases. *Journal of dental research*. 2004;83(11):823-31.
19. i Roig EP, Padullés-Gaspar C, Sesma JMA. Periimplantitis, protocolo de tratamiento clínico. A propósito de un caso. *Revista española odontoestomatológica de implantes*. 2009;17(1):18-22.
20. Misch C. Prosthetic options in implant dentistry. *The International journal of oral implantology: implantologist*. 1991;7(2):17-21.
21. Abraham CM. Suppl 1: A brief historical perspective on dental implants, their surface coatings and treatments. *The open dentistry journal*. 2014;8:50.
22. Brånemark P-I, Breine U, Adell R, Hansson B, Lindström J, Ohlsson Å. Intra-osseous anchorage of dental prostheses: I. Experimental studies. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery*. 1969;3(2):81-100.
23. de Avila ED, van Oirschot BA, van den Beucken JJ. Biomaterial- based possibilities for managing peri- implantitis. *Journal of periodontal research*. 2020;55(2):165-73.
24. Bruschi M, Steinmüller-Nethl D, Goriwoda W, Rasse M. Composition and modifications of dental implant surfaces. *Journal of oral implants*. 2015;2015.
25. Parr GR, Gardner LK, Toth RW. Titanium: the mystery metal of implant dentistry. *Dental materials aspects. The Journal of prosthetic dentistry*. 1985;54(3):410-4.
26. Sykaras N, Iacopino AM, Marker VA, Triplett RG, Woody RD. Implant materials, designs, and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2000;15(5).
27. Olmedo DG, Tasat D, Duffö GS, Cabrini R, Guglielmotti MB. Systemic and local tissue response to titanium corrosion: *IntechOpen*; 2012.
28. Hämmerle CH, Glauser R. Clinical evaluation of dental implant treatment. *Periodontology* 2000. 2004;34(1):230-9.
29. Rupp F, Liang L, Geis-Gerstorfer J, Scheideler L, Hüttig F. Surface characteristics of dental implants: A review. *Dental materials*. 2018;34(1):40-57.
30. Duymuş ZY, Güngör H. Dental implant materyalleri. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 2013;23(1):145-52.
31. Amarnath G, Muddugangadhar B, Tripathi S, Dikshit S, MS D. Biomaterials for dental implants: An overview. *International Journal of Oral Implantology & Clinical Research*. 2011;2(1):13-24.

32. Adya N, Alam M, Ravindranath T, Mubeen A, Saluja B. Corrosion in titanium dental implants: literature review. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*. 2005;5(3):126-31.
33. Jokstad A, Braegger U, Brunski JB, Carr AB, Naert I, Wennerberg A. Quality of dental implants. *International dental journal*. 2003;53(S6P2):409-43.
34. Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering: A*. 1998;243(1-2):231-6.
35. Irudhayam SJ, Hariram V. WITHDRAWN: Dental implant biomaterials, design and importance of FEA—A brief review. Elsevier; 2021.
36. W. Nicholson J. Titanium alloys for dental implants: A review. *Prosthesis*. 2020;2(2):11.
37. Elias C, Lima J, Valiev R, Meyers M. Biomedical applications of titanium and its alloys. *Jom*. 2008;60:46-9.
38. Niinomi M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 2008;1(1):30-42.
39. Elias CN, Fernandes DJ, de Souza FM, dos Santos Monteiro E, de Biasi RS. Mechanical and clinical properties of titanium and titanium-based alloys (Ti G2, Ti G4 cold worked nanostructured and Ti G5) for biomedical applications. *Journal of Materials Research and Technology*. 2019;8(1):1060-9.
40. Lacefield WR. Current status of ceramic coatings for dental implants. *Implant dentistry*. 1998;7(4):315-22.
41. Webster TJ, Siegel RW, Bizios R. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics. *Biomaterials*. 1999;20(13):1221-7.
42. Osman RB, Swain MV. A critical review of dental implant materials with an emphasis on titanium versus zirconia. *Materials*. 2015;8(3):932-58.
43. Catledge SA, Fries MD, Vohra YK, Lacefield WR, Lemons JE, Woodard S, et al. Nanostructured ceramics for biomedical implants. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2002;2(3-4):293-312.
44. Alqurashi H, Khurshid Z, Syed AU, Habib SR, Rokaya D, Zafar MS. Polyetherketoneketone (PEKK): An emerging biomaterial for oral implants and dental prostheses. *Journal of Advanced Research*. 2021;28:87-95.
45. Sidambe AT. Biocompatibility of advanced manufactured titanium implants—A review. *Materials*. 2014;7(12):8168-88.
46. Ponader S, Vairaktaris E, Heinl P, Wilmowsky Cv, Rottmair A, Körner C, et al. Effects of topographical surface modifications of electron beam melted Ti- 6Al- 4V titanium on human fetal osteoblasts. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2008;84(4):1111-9.
47. Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, Beck-Broichsitter B, Jung O, Precht C, et al. Impact of dental implant surface modifications on osseointegration. *BioMed research international*. 2016;2016.
48. Sharma A, Rahul G, Poduval S, Sharma R. Implant surface micro-design. *Glob J Med Res J Dent Otolaryngol*. 2014;14(4).

49. Zhu X, Chen J, Scheideler L, Reichl R, Geis-Gerstorfer J. Effects of topography and composition of titanium surface oxides on osteoblast responses. *Biomaterials*. 2004;25(18):4087-103.
50. Matos GRM. Surface roughness of dental implant and osseointegration. *Journal of maxillofacial and oral surgery*. 2021;20:1-4.
51. Schneider G, Perinpanayagam H, Clegg M, Zaharias R, Seabold D, Keller J, et al. Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *Journal of dental research*. 2003;82(5):372-6.
52. Lincks J, Boyan BD, Blanchard C, Lohmann C, Liu Y, Cochran D, et al. Response of MG63 osteoblast-like cells to titanium and titanium alloy is dependent on surface roughness and composition. *Biomaterials*. 1998;19(23):2219-32.
53. Deligianni DD, Katsala N, Ladas S, Sotiropoulou D, Amedee J, Missirlis Y. Effect of surface roughness of the titanium alloy Ti-6Al-4V on human bone marrow cell response and on protein adsorption. *Biomaterials*. 2001;22(11):1241-51.
54. Poon CY, Bhushan B. Comparison of surface roughness measurements by stylus profiler, AFM and non-contact optical profiler. *Wear*. 1995;190(1):76-88.
55. Vancso GJ, Schön PM, Duvinneau J. What's new in atomic force microscopy of polymers? an update. *Microscopy and analysis (UK Edition)*. 2009;23:5-11.
56. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. *Clinical oral implants research*. 2009;20:172-84.
57. Jemat A, Ghazali MJ, Razali M, Otsuka Y. Surface modifications and their effects on titanium dental implants. *BioMed research international*. 2015;2015(1):791725.
58. Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas SP. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontology 2000*. 2006;41(1).
59. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dental materials*. 2007;23(7):844-54.
60. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2000;15(1).
61. Velasco-Ortega E, Jos A, Cameán AM, Pato-Mourelo J, Segura-Egea JJ. In vitro evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implantology. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2010;702(1):17-23.
62. Ban S, Iwaya Y, Kono H, Sato H. Surface modification of titanium by etching in concentrated sulfuric acid. *Dental materials*. 2006;22(12):1115-20.
63. Cho S-A, Park K-T. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials*. 2003;24(20):3611-7.
64. Rasmusson L, Roos J, Bystedt H. A 10- Year Follow- Up Study of Titanium Dioxide-Blasted Implants. *Clinical implant dentistry and related research*. 2005;7(1):36-42.
65. Smeets R, Stadlinger B, Schwarz F, Beck-Broichsitter B, Jung O, Precht C, et al. Impact of dental implant surface modifications on osseointegration. *BioMed research international*. 2016;2016(1):6285620.
66. Rosales-Leal JI, Rodríguez-Valverde MA, Mazzaglia G, Ramón-Torregrosa PJ, Díaz-Rodríguez L, García-Martínez O, et al. Effect of roughness, wettability and morphology of

engineered titanium surfaces on osteoblast-like cell adhesion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010;365(1-3):222-9.

67. Liu X, Poon RW, Kwok SC, Chu PK, Ding C. Plasma surface modification of titanium for hard tissue replacements. *Surface and Coatings Technology*. 2004;186(1-2):227-33.
68. Chang E, Chang W, Wang B, Yang C. Plasma spraying of zirconia-reinforced hydroxyapatite composite coatings on titanium: Part I Phase, microstructure and bonding strength. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 1997;8:193-200.
69. Al-Radha ASD, Dymock D, Younes C, O'Sullivan D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. *Journal of dentistry*. 2012;40(2):146-53.
70. Bacchelli B, Giavaresi G, Franchi M, Martini D, De Pasquale V, Trirè A, et al. Influence of a zirconia sandblasting treated surface on peri-implant bone healing: An experimental study in sheep. *Acta biomaterialia*. 2009;5(6):2246-57.
71. Rautray TR, Narayanan R, Kim K-H. Ion implantation of titanium based biomaterials. *Progress in Materials Science*. 2011;56(8):1137-77.
72. Guo CY, Matinlinna JP, Tang ATH. Effects of surface charges on dental implants: past, present, and future. *International journal of biomaterials*. 2012;2012.
73. Iwaya Y, Machigashira M, Kanbara K, Miyamoto M, Noguchi K, Izumi Y, et al. Surface properties and biocompatibility of acid-etched titanium. *Dental materials journal*. 2008;27(3):415-21.
74. Alla RK, Ginjupalli K, Upadhya N, Shammam M, Ravi RK, Sekhar R. Surface roughness of implants: a review. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*. 2011;25(3):112-8.
75. Barfeie A, Wilson J, Rees J. Implant surface characteristics and their effect on osseointegration. *British dental journal*. 2015;218(5):E9-E.
76. Garg H, Bedi G, Garg A. Implant surface modifications: a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2012;6(2):319-24.
77. Sul Y-T, Johansson CB, Röser K, Albrektsson T. Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants. *Biomaterials*. 2002;23(8):1809-17.
78. Sul Y, Johansson C, Jeong Y, Röser K, Wennerberg A, Albrektsson T. Oxidized implants and their influence on the bone response. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2001;12:1025-31.
79. Sul Y-T, Johansson C, Wennerberg A, Cho L-R, Chang B-S, Albrektsson T. Optimum Surface Properties of Oxidized Implants for Reinforcement of Osseointegration: Surface Chemistry, Oxide Thickness, Porosity, Roughness, and Crystal Structure. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2005;20(3).
80. Xiropaidis AV, Qahash M, Lim WH, Shanaman RH, Rohrer MD, Wikesjö UM, et al. Bone-implant contact at calcium phosphate-coated and porous titanium oxide (TiUnite™)-modified oral implants. *Clinical oral implants research*. 2005;16(5):532-9.
81. Newman MG, Takei H, Klokkevoold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology: Newman and Carranza's Clinical Periodontology E-Book: Elsevier Health Sciences; 2018.

82. Albrektsson T, Brånemark P-I, Hansson H-A, Lindström J. Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1981;52(2):155-70.
83. Zarb GA, Albrektsson T. Osseointegration: a requiem for the periodontal ligament. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1991;11(1):88-91.
84. Nakae H, Yoshida M, Yokota M. Effects of roughness pitch of surfaces on their wettability. *Journal of materials science*. 2005;40:2287-93.
85. Ponsonnet L, Reybier K, Jaffrezic N, Comte V, Lagneau C, Lissac M, et al. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour. *Materials Science and Engineering: C*. 2003;23(4):551-60.
86. Sollazzo V, Pezzetti F, Scarano A, Piattelli A, Bignozzi CA, Massari L, et al. Zirconium oxide coating improves implant osseointegration in vivo. *Dental materials*. 2008;24(3):357-61.
87. Goyal N, Kaur R. Effect Of Various Implant Surface Treatments On Osseointegration-A Literature Review. *Indian Journal of Dental Sciences*. 2012;4(1).
88. Listgarten M, Lang N, Schroeder A. (1991) Periodontal tissues and their counterparts around endosseous implants. *Clinical Oral Implants Research*. 1-19.
89. Ivanovski S, Lee R. Comparison of peri- implant and periodontal marginal soft tissues in health and disease. *Periodontology 2000*. 2018;76(1):116-30.
90. Bosshardt D, Lang N. The junctional epithelium: from health to disease. *Journal of dental research*. 2005;84(1):9-20.
91. Klinge B, Meyle J. Soft-tissue integration of implants. *Clinical Oral Implants Research*. 2006;17.
92. Ericsson I, Lindhe J. Probing depth at implants and teeth: an experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*. 1993;20(9):623-7.
93. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello C, Liljenberg B, Thornsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clinical oral implants research*. 1991;2(2):81-90.
94. Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri- implant tissues in the dog. *Journal of clinical periodontology*. 1994;21(3):189-93.
95. Lang NP, Lindhe J. *Clinical periodontology and implant dentistry*, 2 Volume Set: John Wiley & Sons; 2015.
96. Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri- implant diseases. *Journal of clinical periodontology*. 2008;35:286-91.
97. Pontoriero R, Tonelli M, Carnevale G, Mombelli A, Nyman S, Lang N. Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clinical Oral Implants Research*. 1994;5(4):254-9.
98. Salvi GE, Aglietta M, Eick S, Sculean A, Lang NP, Ramseier CA. Reversibility of experimental peri- implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clinical oral implants research*. 2012;23(2):182-90.
99. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, Avila- Ortiz G, Blanco J, Camargo PM, et al. Peri- implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World

Workshop on the Classification of Periodontal and Peri- Implant Diseases and Conditions. Journal of periodontology. 2018;89:S313-S8.

100. Sanz M, Chapple IL, Periodontology* WGotVEWo. Clinical research on peri- implant diseases: consensus report of Working Group 4. Journal of clinical periodontology. 2012;39:202-6.

101. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri- implantitis. Journal of clinical periodontology. 2018;45:S246-S66.

102. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. Periodontology 2000. 2010;53(1).

103. Apse P, Zarb GA, Schmitt A, Lewis DW. The longitudinal effectiveness of osseointegrated dental implants. The Toronto Study: peri-implant mucosal response. International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry. 1991;11(2).

104. Lekholm U, Adell R, Lindhe J, Brånemark P-I, Eriksson B, Rockler B, et al. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures:(II) A cross-sectional retrospective study. International journal of oral and maxillofacial surgery. 1986;15(1):53-61.

105. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. Clinical oral implants research. 2008;19(10):975-82.

106. Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri- implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. Journal of periodontology. 2005;76(9):1490-5.

107. Kronström M, Svenson B, Hellman M, Persson GR. Early implant failures in patients treated with Brånemark System titanium dental implants: a retrospective study. International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. 2001;16(2).

108. Leonhardt Å, Renvert S, Dahlén G. Microbial findings at failing implants. Clinical oral implants research. 1999;10(5):339-45.

109. Rosenberg E, Torosian J, Slots J. Microbial differences in 2 clinically distinct types of failures of osseointegrated implants. Clinical oral implants research. 1991;2(3):135-44.

110. Mombelli A, Décaillot F. The characteristics of biofilms in peri- implant disease. Journal of clinical periodontology. 2011;38:203-13.

111. Lang NP, Berglundh T, Periodontology WGotSEWo. Periimplant diseases: where are we now?—Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. Journal of clinical periodontology. 2011;38:178-81.

112. Qian J, Wennerberg A, Albrektsson T. Reasons for marginal bone loss around oral implants. Clinical implant dentistry and related research. 2012;14(6):792-807.

113. Hallström H, Persson GR, Lindgren S, Olofsson M, Renvert S. Systemic antibiotics and debridement of peri- implant mucositis. A randomized clinical trial. Journal of clinical periodontology. 2012;39(6):574-81.

114. Heitz- Mayfield LJ, Salvi GE, Botticelli D, Mombelli A, Faddy M, Lang NP, et al. Anti-infective treatment of peri- implant mucositis: a randomised controlled clinical trial. Clinical oral implants research. 2011;22(3):237-41.

115. Augthun M, Tinschert J, Huber A. In vitro studies on the effect of cleaning methods on different implant surfaces. Journal of periodontology. 1998;69(8):857-64.

116. Fox SC, Moriarty JD, Kusy RP. The effects of scaling a titanium implant surface with metal and plastic instruments: an in vitro study. *Journal of periodontology*. 1990;61(8):485-90.
117. Bertoldi C, Lusuardi D, Battarra F, Sassatelli P, Spinato S, Zaffe D. The maintenance of inserted titanium implants: in- vitro evaluation of exposed surfaces cleaned with three different instruments. *Clinical oral implants research*. 2017;28(1):57-63.
118. Sirinirund B, Garaicoa-Pazmino C, Wang H-L. Effects of Mechanical Instrumentation with Commercially Available Instruments Used in Supportive Peri-implant Therapy: An In Vitro Study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2019;34(6).
119. Ramaglia L, di Lauro AE, Morgese F, Squillace A. Profilometric and standard error of the mean analysis of rough implant surfaces treated with different instrumentations. *Implant dentistry*. 2006;15(1):77-82.
120. Kormas I, Pedercini C, Pedercini A, Raptopoulos M, Alassy H, Wolff LF. Peri-implant diseases: diagnosis, clinical, histological, microbiological characteristics and treatment strategies. A narrative review. *Antibiotics*. 2020;9(11):835.
121. Figuera E, Graziani F, Sanz I, Herrera D, Sanz M. Management of peri- implant mucositis and peri- implantitis. *Periodontology 2000*. 2014;66(1):255-73.
122. Huang Y-S, Hung C-Y, Huang H-H. Surface changes and bacterial adhesion on implant abutment materials after various clinical cleaning procedures. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2019;82(8):643-50.
123. Parham Jr P, Cobb C, French A, Love J, Drisko C, Killoy W. Effects of an air-powder abrasive system on plasma-sprayed titanium implant surfaces: an in vitro evaluation. *The Journal of oral implantology*. 1989;15(2):78-86.
124. Tastepe CS, van Waas R, Liu Y, Wismeijer D. Air powder abrasive treatment as an implant surface cleaning method: a literature review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2012;27(6).
125. Schwarz F, Becker K, Renvert S. Efficacy of air polishing for the non- surgical treatment of peri- implant diseases: A systematic review. *Journal of clinical periodontology*. 2015;42(10):951-9.
126. Hentenaar DF, De Waal YC, Stewart RE, Van Winkelhoff AJ, Meijer HJ, Raghoobar GM. Erythritol airpolishing in the non- surgical treatment of peri- implantitis: A randomized controlled trial. *Clinical oral implants research*. 2021;32(7):840-52.
127. Keim D, Nickles K, Dannewitz B, Ratka C, Eickholz P, Petsos H. In vitro efficacy of three different implant surface decontamination methods in three different defect configurations. *Clinical oral implants research*. 2019;30(6):550-8.
128. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clinical oral implants research*. 2006;17(S2):68-81.
129. Fletcher P, Deluiz D, Tinoco E, Ricci JL, Tarnow DP, Tinoco JM. Human Histologic Evidence of Reosseointegration Around an Implant Affected with Peri-implantitis Following Decontamination with Sterile Saline and Antiseptics: A Case History Report. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 2017;37(4).
130. Zablotsky M. The surgical management of osseous defects associated with endosteal hydroxyapatite-coated and titanium dental implants. *Dental Clinics of North America*. 1992;36(1):117-49.

131. Alhag M, Renvert S, Polyzois I, Claffey N. Re- osseointegration on rough implant surfaces previously coated with bacterial biofilm: An experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 2008;19(2):182-7.
132. Garrett JS, Crigger M, Egelberg J. Effects of citric acid on diseased root surfaces. *Journal of Periodontal Research*. 1978;13(2):155-63.
133. Jeong SN, Han SB, Lee SW, Magnussen I. Effects of tetracycline- containing gel and a mixture of tetracycline and citric acid- containing gel on non- surgical periodontal therapy. *Journal of periodontology*. 1994;65(9):840-7.
134. Burel C, Kala A, Purevdorj- Gage L. Impact of pH on citric acid antimicrobial activity against Gram- negative bacteria. *Letters in Applied Microbiology*. 2021;72(3):332-40.
135. Lasho DJ, O'Leary TJ, Kafrawy AH. A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces. *Journal of Periodontology*. 1983;54(4):210-20.
136. Rompen EH, Goffinet GH, Nusgens B. Human periodontal ligament fibroblast behavior on chemically conditioned dentine: an in vitro study. *Journal of periodontology*. 1999;70(10):1144-52.
137. Seymour G, Romaniuk K, Newcomb G. Effect of citric acid on soft tissue healing in the rat palate. *Journal of Clinical Periodontology*. 1983;10(2):182-7.
138. Valenza V, D'Angelo M, Farina- Lipari E, Farina F, Margiotta V. Effects of citric acid on human gingival epithelium. *Journal of Periodontology*. 1987;58(11):794-5.
139. Kotsakis GA, Lan C, Barbosa J, Lill K, Chen R, Rudney J, et al. Antimicrobial agents used in the treatment of peri- implantitis alter the physicochemistry and cytocompatibility of titanium surfaces. *Journal of periodontology*. 2016;87(7):809-19.
140. Souza JG, Cordeiro JM, Lima CV, Barão VA. Citric acid reduces oral biofilm and influences the electrochemical behavior of titanium: An in situ and in vitro study. *Journal of periodontology*. 2019;90(2):149-58.
141. Dennison DK, Huerzeler MB, Quinones C, Caffesse RG. Contaminated implant surfaces: an in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *J Periodontol*. 1994;65(10):942-8.
142. Ichioka Y, Derks J, Dahlén G, Berglundh T, Larsson L. Mechanical removal of biofilm on titanium discs: An in vitro study. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2022;110(5):1044-55.
143. Linley E, Denyer SP, McDonnell G, Simons C, Maillard J-Y. Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67(7):1589-96.
144. Liochev SI. The mechanism of "Fenton-like" reactions and their importance for biological systems. A biologist's view. *Metal ions in biological systems*. 2018:1-39.
145. Gosau M, Hahnel S, Schwarz F, Gerlach T, Reichert TE, Bürgers R. Effect of six different peri- implantitis disinfection methods on in vivo human oral biofilm. *Clinical oral implants research*. 2010;21(8):866-72.
146. Leonhardt Å, Dahlén G, Renvert S. Five- year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri- implantitis in man. *Journal of periodontology*. 2003;74(10):1415-22.

147. Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *Journal of dental research*. 1979;58(12):2404-12.
148. Gjermo P. Chlorhexidine and related compounds. *J dent Res*. 1989;68:1602-8.
149. Sekino S, Ramberg P, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. Effect of various chlorhexidine regimens on salivary bacteria and de novo plaque formation. *Journal of clinical periodontology*. 2003;30(10):919-25.
150. Soh L, Newman H, Strahan J. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on periodontal inflammation. *Journal of Clinical Periodontology*. 1982;9(1):66-74.
151. Solderer A, Kaufmann M, Hofer D, Wiedemeier D, Attin T, Schmidlin PR. Efficacy of chlorhexidine rinses after periodontal or implant surgery: a systematic review. *Clinical oral investigations*. 2019;23:21-32.
152. Thangavelu A, Kaspar SS, Kathirvelu RP, Srinivasan B, Srinivasan S, Sundram R. Chlorhexidine: An elixir for periodontics. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2020;12(Suppl 1):S57-S9.
153. Łukomska-Szymańska M, Sokołowski J, Łapińska B. Chlorhexidine—mechanism of action and its application to dentistry. *Journal of Stomatology*. 2017;70(4):405-17.
154. White R, Hays G, Janer L. Residual antimicrobial activity after canal irrigation with chlorhexidine. *Journal of endodontics*. 1997;23(4):229-31.
155. Muthukuru M, Zainvi A, Esplugues EO, Flemmig TF. Non- surgical therapy for the management of peri- implantitis: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*. 2012;23:77-83.
156. Carcuac O, Derks J, Charalampakis G, Abrahamsson I, Wennström J, Berglundh T. Adjunctive systemic and local antimicrobial therapy in the surgical treatment of peri-implantitis: a randomized controlled clinical trial. *Journal of dental research*. 2016;95(1):50-7.
157. Machtei EE, Romanos G, Kang P, Travan S, Schmidt S, Papathanasiou E, et al. Repeated delivery of chlorhexidine chips for the treatment of peri- implantitis: A multicenter, randomized, comparative clinical trial. *Journal of periodontology*. 2021;92(1):11-20.
158. Carranza FA, Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. Newman and carranza's clinical periodontology. (No Title). 2019.
159. Brunello G, Becker K, Scotti L, Drescher D, Becker J, John G. The effects of three chlorhexidine-based mouthwashes on human osteoblast-like SaOS-2 cells. An in vitro study. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(18):9986.
160. Lee TH, Hu CC, Lee SS, Chou MY, Chang YC. Cytotoxicity of chlorhexidine on human osteoblastic cells is related to intracellular glutathione levels. *International Endodontic Journal*. 2010;43(5):430-5.
161. Giannelli M, Chellini F, Margheri M, Tonelli P, Tani A. Effect of chlorhexidine digluconate on different cell types: a molecular and ultrastructural investigation. *Toxicology in vitro*. 2008;22(2):308-17.
162. Dennison DK, Huerzeler MB, Quinones C, Caffesse RG. Contaminated implant surfaces: an in vitro comparison of implant surface coating and treatment modalities for decontamination. *Journal of periodontology*. 1994;65(10):942-8.
163. Pullar JM, Vissers MC, Winterbourn CC. Living with a killer: the effects of hypochlorous acid on mammalian cells. *IUBMB life*. 2000;50(4- 5):259-66.

164. McKenna SM, Davies K. The inhibition of bacterial growth by hypochlorous acid. Possible role in the bactericidal activity of phagocytes. *Biochemical Journal*. 1988;254(3):685-92.
165. Rosen H, Klebanoff S. Oxidation of *Escherichia coli* iron centers by the myeloperoxidase-mediated microbicidal system. *Journal of Biological Chemistry*. 1982;257(22):13731-5.
166. Kontny E, Maśliński W, Marcinkiewicz J. Anti-inflammatory activities of taurine chloramine: implication for immunoregulation and pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Taurine 5: Beginning the 21st Century*: Springer; 2003. p. 329-40.
167. Sorroche MG, López IR, García-Delpech S, Del Castillo JB. Hypochlorous acid as an antiseptic in the care of patients with suspected COVID-19 infection. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología (English Edition)*. 2022;97(2):77-80.
168. Sakarya S, Gunay N, Karakulak M, Ozturk B, Ertugrul B. Hypochlorous acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. *Wounds*. 2014;26(12):342-50.
169. Alovisei M, Carossa M, Mandras N, Roana J, Costalonga M, Cavallo L, et al. Disinfection and Biocompatibility of Titanium Surfaces Treated with Glycine Powder Airflow and Triple Antibiotic Mixture: An In Vitro Study. *Materials*. 2022;15(14):4850.
170. Block MS, Rowan BG. Hypochlorous acid: a review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2020;78(9):1461-6.
171. Sam C-H, Lu H-K. The role of hypochlorous acid as one of the reactive oxygen species in periodontal disease. *Journal of Dental Sciences*. 2009;4(2):45-54.
172. Castillo DM, Castillo Y, Delgadillo NA, Neuta Y, Jola J, Calderón JL, et al. Viability and effects on bacterial proteins by oral rinses with hypochlorous acid as active ingredient. *Brazilian dental journal*. 2015;26(5):519-24.
173. Morita C, Nishida T, Ito K. Biological toxicity of acid electrolyzed functional water: Effect of oral administration on mouse digestive tract and changes in body weight. *Archives of Oral Biology*. 2011;56(4):359-66.
174. Chen C-J, Chen C-C, Ding S-J. Effectiveness of hypochlorous acid to reduce the biofilms on titanium alloy surfaces in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016;17(7):1161.
175. Herrera D, Matesanz P, Martín C, Oud V, Feres M, Teughels W. Adjunctive effect of locally delivered antimicrobials in periodontitis therapy: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2020;47:239-56.
176. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Berglundh T, et al. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *Journal of clinical periodontology*. 2020;47:4-60.
177. Andersen H, Aass AM, Wohlfahrt JC. Porous titanium granules in the treatment of peri-implant osseous defects—a 7-year follow-up study. *International journal of implant dentistry*. 2017;3:1-7.
178. Ramos UD, Suaid F, Wikesjö UM, Susin C, Vital PC, de Souza SLS, et al. Microbiologic effect of two topical anti-infective treatments on ligature-induced peri-implantitis: A pilot study in dogs. *Journal of periodontology*. 2018;89(8):995-1002.
179. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Lindahl C, Svensson M. 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*. 2006;33(5):362-9.

180. Renvert S, Lessem J, Dahlén G, Renvert H, Lindahl C. Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri- implantitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology*. 2008;79(5):836-44.
181. Cha J, Lee J, Kim C. Surgical therapy of peri-implantitis with local minocycline: a 6-month randomized controlled clinical trial. *Journal of Dental Research*. 2019;98(3):288-95.
182. Park SH, Song YW, Cha JK, Lee JS, Kim YT, Shin HS, et al. Adjunctive use of metronidazole- minocycline ointment in the nonsurgical treatment of peri- implantitis: A multicenter randomized controlled trial. *Clinical implant dentistry and related research*. 2021;23(4):543-54.
183. Büchter A, Meyer U, Kruse-Lösler B, Joos U, Kleinheinz J. Sustained release of doxycycline for the treatment of peri-implantitis: randomised controlled trial. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004;42(5):439-44.
184. Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Yukna RA, Takasaki AA, et al. Periodontal and peri- implant wound healing following laser therapy. *Periodontology 2000*. 2015;68(1):217-69.
185. Renvert S, Lindahl C, Roos Jansåker AM, Persson GR. Treatment of peri- implantitis using an Er: YAG laser or an air- abrasive device: a randomized clinical trial. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38(1):65-73.
186. Mettraux GR, Sculean A, Bürgin WB, Salvi GE. Two- year clinical outcomes following non- surgical mechanical therapy of peri- implantitis with adjunctive diode laser application. *Clinical oral implants research*. 2016;27(7):845-9.
187. Warreth A, Boggs S, Ibieyou N, El-Helali R, Hwang S. Peri-implant diseases: an overview. *Dental update*. 2015;42(2):166-84.
188. Rimondini L, Farè S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, et al. The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. *Journal of periodontology*. 1997;68(6):556-62.
189. Renvert S, Polyzois IN. Clinical approaches to treat peri- implant mucositis and peri- implantitis. *Periodontology 2000*. 2015;68(1):369-404.
190. Kotsakis GA, Konstantinidis I, Karoussis IK, Ma X, Chu H. Systematic review and meta-analysis of the effect of various laser wavelengths in the treatment of peri- implantitis. *Journal of periodontology*. 2014;85(9):1203-13.
191. Bassetti M, Schär D, Wicki B, Eick S, Ramseier CA, Arweiler NB, et al. Anti- infective therapy of peri- implantitis with adjunctive local drug delivery or photodynamic therapy: 12-month outcomes of a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral implants research*. 2014;25(3):279-87.
192. Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. 2008.
193. dos Santos Martins BG, Hasse Fernandes JC, Gomes Martins A, de Moraes Castilho R, de Oliveira Fernandes GV. Surgical and Nonsurgical Treatment Protocols for Peri-implantitis: An Overview of Systematic Reviews. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2022;37(4).
194. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Antimicrobial treatment of peri-implant diseases. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2004;19(7).

195. Felo A, Shibly O, Ciancio S, Lauciello F, Ho A. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on peri-implant maintenance. *American journal of dentistry*. 1997;10(2):107-10.
196. Schwarz F, Becker K, Sager M. Efficacy of professionally administered plaque removal with or without adjunctive measures for the treatment of peri- implant mucositis. A systematic review and meta- analysis. *Journal of clinical periodontology*. 2015;42:S202-S13.
197. Serino G, Ström C. Peri- implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clinical oral implants research*. 2009;20(2):169-74.
198. Büchter A, Kleinheinz J, Meyer U, Joos U. 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*. 2004;42(5):454-6.
199. Klinge B, Meyle J, 2 WG. Peri- implant tissue destruction. The third EAO consensus conference 2012. *Clinical Oral Implants Research*. 2012;23:108-10.
200. Renvert S, Polyzois I, Maguire R. Re- osseointegration on previously contaminated surfaces: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*. 2009;20:216-27.
201. Romeo E, Ghisolfi M, Murgolo N, Chiapasco M, Lops D, Vogel G. 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*. 2005;16(1):9-18.
202. Schwarz F, Sahm N, Iglhaut G, Becker J. 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*. 2011;38(3):276-84.
203. Albouy JP, Abrahamsson I, Persson LG, Berglundh T. Implant surface characteristics influence the outcome of treatment of peri- implantitis: An experimental study in dogs. *Journal of clinical periodontology*. 2011;38(1):58-64.
204. Wiltfang J, Zernial O, Behrens E, Schlegel A, Warnke PH, Becker ST. Regenerative treatment of peri- implantitis bone defects with a combination of autologous bone and a demineralized xenogenic bone graft: A series of 36 defects. *Clinical implant dentistry and related research*. 2012;14(3):421-7.
205. Roos- Jansåker AM, Renvert H, Lindahl C, Renvert S. Surgical treatment of peri-implantitis using a bone substitute with or without a resorbable membrane: A prospective cohort study. *Journal of clinical periodontology*. 2007;34(7):625-32.
206. Wheelis SE, Gindri IM, Valderrama P, Wilson Jr TG, Huang J, Rodrigues DC. Effects of decontamination solutions on the surface of titanium: investigation of surface morphology, composition, and roughness. *Clinical oral implants research*. 2016;27(3):329-40.
207. <https://merlab.kastamonu.edu.tr/index.php>.
208. Can F, Kaya M, Uncu H, Demirbilek M, Yazici A. Activity of tigecycline on planktonic and sessile cells of *Acinetobacter baumannii*. *Mikrobiyoloji Bulteni*. 2009;43(4):587-95.
209. Standard I. Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization. 2009.
210. Mossman BT. In vitro approaches for determining mechanisms of toxicity and carcinogenicity by asbestos in the gastrointestinal and respiratory tracts. *Environmental health perspectives*. 1983;53:155-61.

211. Pjetursson BE, Asgeirsson AG, Zwahlen M, Sailer I. Improvements in implant dentistry over the last decade: comparison of survival and complication rates in older and newer publications. *International journal of oral & maxillofacial implants*. 2014;29.
212. Renvert S, Lindahl C, Persson GR. Occurrence of cases with peri- implant mucositis or peri- implantitis in a 21–26 years follow- up study. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45(2):233-40.
213. Derks J, Tomasi C. Peri- implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *Journal of clinical periodontology*. 2015;42:S158-S71.
214. Mouhyi J, Dohan Ehrenfest DM, Albrektsson T. The peri- implantitis: Implant surfaces, microstructure, and physicochemical aspects. *Clinical implant dentistry and related research*. 2012;14(2):170-83.
215. Song F, Koo H, Ren D. Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation. *Journal of dental research*. 2015;94(8):1027-34.
216. Marsh PD, Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology 2000*. 2011;55(1):16.
217. Salvi GE, Cosgarea R, Sculean A. Prevalence and mechanisms of peri-implant diseases. *Journal of dental research*. 2017;96(1):31-7.
218. Costa FO, Takenaka- Martinez S, Cota LOM, Ferreira SD, Silva GLM, Costa JE. Peri-implant disease in subjects with and without preventive maintenance: a 5- year follow- up. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(2):173-81.
219. Citterio F, Zanutto E, Pellegrini G, Annaratore L, Barbui AM, Dellavia C, et al. Comparison of Different Chemical and Mechanical Modalities for Implant Surface Decontamination: Activity against Biofilm and Influence on Cellular Regrowth—An In Vitro Study. *Frontiers in Surgery*. 2022;9:886559.
220. Ungvári K, Pelsöczy IK, Kormos B, Oszkó A, Rakonczay Z, Kemény L, et al. Effects on titanium implant surfaces of chemical agents used for the treatment of peri- implantitis. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2010;94(1):222-9.
221. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri- implant mucositis. *Clinical oral implants research*. 1996;7(3):201-11.
222. Park J-M, Lee J-B, Heo S-J, Park E-J. A comparative study of gold UCLA-type and CAD/CAM titanium implant abutments. *The Journal of Advanced Prosthodontics*. 2014;6(1):46.
223. Smith DC. Dental implants: materials and design considerations. *International Journal of Prosthodontics*. 1993;6(2).
224. Fukushima A, Mayanagi G, Nakajo K, Sasaki K, Takahashi N. Microbiologically induced corrosive properties of the titanium surface. *Journal of dental research*. 2014;93(5):525-9.
225. Quirynen M, Bollen C. The influence of surface roughness and surface- free energy on supra- and subgingival plaque formation in man: A review of the literature. *Journal of clinical periodontology*. 1995;22(1):1-14.
226. Roccuzzo A, De Ry SP, Sculean A, Roccuzzo M, Salvi GE. Current approaches for the non-surgical management of peri-implant diseases. *Current Oral Health Reports*. 2020;7:274-82.

227. Batalha VC, Bueno RA, Junior EF, Mariano JR, Santin GC, Freitas KMS, et al. Dental implants surface in vitro decontamination protocols. *European Journal of Dentistry*. 2021;15(03):407-11.
228. Xia F, Youcef-Toumi K. Advanced atomic force microscopy modes for biomedical research. *Biosensors*. 2022;12(12):1116.
229. Jarmar T, Palmquist A, Brånemark R, Hermansson L, Engqvist H, Thomsen P. Characterization of the surface properties of commercially available dental implants using scanning electron microscopy, focused ion beam, and high- resolution transmission electron microscopy. *Clinical implant dentistry and related research*. 2008;10(1):11-22.
230. Daood U, Bandey N, Qasim SB, Omar H, Khan SA. Surface characterization analysis of failed dental implants using scanning electron microscopy. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2011;69(6):367-73.
231. Chairay JP, Boulekbache H, Jean A, Soyer A, Bouchard P. 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*. 1997;68(12):1215-22.
232. Speelman J, Collaert B, Klinge B. Evaluation of different methods to clean titanium abutments. A scanning electron microscopic study. *Clinical oral implants research*. 1992;3(3):120-7.
233. Padulles-Gaspar E, Padulles-Roig E, Cabanes G, Pérez RA, Gil J, Bosch BM. Effects of hypochlorous acid and hydrogen peroxide treatment on bacterial disinfection treatments in implantoplasty procedures. *Materials*. 2023;16(8):2953.
234. Godoy-Gallardo M, Manzanares-Céspedes MC, Sevilla P, Nart J, Manzanares N, Manero JM, et al. Evaluation of bone loss in antibacterial coated dental implants: An experimental study in dogs. *Materials Science and Engineering: C*. 2016;69:538-45.
235. Velasco E, Monsalve-Guil L, Jimenez A, Ortiz I, Moreno-Muñoz J, Nuñez-Marquez E, et al. Importance of the roughness and residual stresses of dental implants on fatigue and osseointegration behavior. in vivo study in rabbits. *Journal of Oral Implantology*. 2016;42(6):469-76.
236. Heitz- Mayfield LJ, Salvi GE. Peri- implant mucositis. *Journal of clinical periodontology*. 2018;45:S237-S45.
237. Dhaliwal JS, Abd Rahman NA, Ming LC, Dhaliwal SKS, Knights J, Albuquerque Junior RF. Microbial biofilm decontamination on dental implant surfaces: a mini review. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021;11:736186.
238. Steiger-Ronay V, Merlini A, Wiedemeier DB, Schmidlin PR, Attin T, Sahrman P. Location of unaccessible implant surface areas during debridement in simulated peri-implantitis therapy. *BMC Oral Health*. 2017;17:1-7.
239. Albertini M, López- Cerero L, O'Sullivan MG, Chereguini CF, Ballesta S, Ríos V, et al. Assessment of periodontal and opportunistic flora in patients with peri- implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2015;26(8):937-41.
240. Kronström M, Svensson B, Erickson E, Houston L, Braham P, Persson GR. Humoral immunity host factors in subjects with failing or successful titanium dental implants. *Journal of clinical periodontology*. 2000;27(12):875-82.
241. Harris L, Richards R. Staphylococcus aureus adhesion to different treated titanium surfaces. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2004;15(4):311-4.

242. Costerton J, Montanaro L, Arciola CR. Biofilm in implant infections: its production and regulation. *The International journal of artificial organs*. 2005;28(11):1062-8.
243. Karimi MR, Farkhondemehr B, Ghaeni Najafi M, Etemadi A, Chiniforush N. Efficacy of titanium brush, 915 nm diode laser, citric acid for eradication of *Staphylococcus aureus* from implant surfaces. *BMC Oral health*. 2021;21:1-7.
244. Tran C, Khan A, Meredith N, Walsh LJ. Influence of eight debridement techniques on three different titanium surfaces: A laboratory study. *International Journal of Dental Hygiene*. 2023;21(1):238-50.
245. Lollobrigida M, Filardo S, Sessa R, Di Pietro M, Bozzuto G, Molinari A, et al. Antibacterial Activity and Impact of Different Antiseptics on Biofilm-Contaminated Implant Surfaces. *Applied Sciences*. 2019;9(24):5467.
246. Chin MY, Sandham A, De Vries J, van der Mei HC, Busscher HJ. Biofilm formation on surface characterized micro-implants for skeletal anchorage in orthodontics. *Biomaterials*. 2007;28(11):2032-40.
247. Henderson E, Schneider S, Petersen FC, Haugen HJ, Wohlfahrt JC, Ekstrand K, et al. Chemical debridement of contaminated titanium surfaces: An in vitro study. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2013;71(3-4):957-64.
248. Tsai C-F, Chung J-J, Ding S-J, Chen C-C. In vitro cytotoxicity and antibacterial activity of hypochlorous acid antimicrobial agent. *Journal of Dental Sciences*. 2024;19(1):345-56.
249. Norowski Jr PA, Bumgardner JD. Biomaterial and antibiotic strategies for peri- implantitis: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2009;88(2):530-43.
250. Chourifa H, Bouloussa H, Migonney V-u, Falentin-Daudré C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta biomaterialia*. 2019;83:37-54.
251. Arciola CR, Campoccia D, Montanaro L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nature reviews microbiology*. 2018;16(7):397-409.
252. Kunrath MF, Piassarollo dos Santos R, Dias de Oliveira S, Hubler R, Sesterheim P, Teixeira ER. Osteoblastic cell behavior and early bacterial adhesion on Macro-, Micro-, and nanostructured titanium surfaces for biomedical implant applications. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2020;35(4).
253. Meffert RM, Langer B, Fritz ME. Dental implants: a review. *Journal of periodontology*. 1992;63(11):859-70.
254. Fürst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clinical oral implants research*. 2007;18(4):501-8.
255. Lambert PM, Morris HF, Ochi S. The influence of 0.12% chlorhexidine digluconate rinses on the incidence of infectious complications and implant success. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 1997;55(12):25-30.
256. Gustumhaugen E, Lönn- Stensrud J, Scheie AA, Lyngstadaas S, Ekfeldt A, Taxt- Lamolle S. Effect of chemical and mechanical debridement techniques on bacterial re- growth on rough titanium surfaces: an in vitro study. *Clinical oral implants research*. 2014;25(6):707-13.

257. Bollenl CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dental materials*. 1997;13(4):258-69.
258. Ichioka Y, Kado T, Mashima I, Nakazawa F, Endo K, Furuichi Y. Effects of chemical treatment as an adjunctive of air- abrasive debridement on restoring the surface chemical properties and cytocompatibility of experimentally contaminated titanium surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2020;108(1):183-91.
259. Morra M, Cassinelli C, Cascardo G, Carpi A, Fini M, Giavaresi G, et al. Adsorption of cationic antibacterial on collagen-coated titanium implant devices. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 2004;58(8):418-22.
260. Barbour ME, Gandhi N, el- Turki A, O'Sullivan DJ, Jagger DC. Differential adhesion of *Streptococcus gordonii* to anatase and rutile titanium dioxide surfaces with and without functionalization with chlorhexidine. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2009;90(4):993-8.
261. Kozlovsky A, Artzi Z, Moses O, Kamin- Belsky N, Greenstein RBN. Interaction of chlorhexidine with smooth and rough types of titanium surfaces. *Journal of periodontology*. 2006;77(7):1194-200.
262. Zablotzky MH. Chemotherapeutics in implant dentistry. *Implant dentistry*. 1993;2(1):19-26.
263. BARRAK I, BARÁTH Z, TIÁN T, VENKEI A, GAJDÁCS M, URBÁN E, et al. Effects of different decontaminating solutions used for the treatment of peri-implantitis on the. 2020.
264. Mudunkotuwa IA, Grassian VH. Citric acid adsorption on TiO₂ nanoparticles in aqueous suspensions at acidic and circumneutral pH: surface coverage, surface speciation, and its impact on nanoparticle– nanoparticle interactions. *Journal of the American Chemical Society*. 2010;132(42):14986-94.
265. Punset M, Vilarrasa J, Nart J, Manero JM, Bosch B, Padros R, et al. Citric acid passivation of titanium dental implants for minimizing bacterial colonization impact. *Coatings*. 2021;11(2):214.
266. Verdeguer P, Gil J, Punset M, Manero JM, Nart J, Vilarrasa J, et al. Citric Acid in the Passivation of Titanium Dental Implants: Corrosion Resistance and Bactericide Behavior. *Materials*. 2022;15(2):545.
267. Henningsen A, Smeets R, Hartjen P, Heinrich O, Heuberger R, Heiland M, et al. Photofunctionalization and non-thermal plasma activation of titanium surfaces. *Clinical Oral Investigations*. 2018;22:1045-54.
268. Zabielska J, Kunicka-Styczyńska A, Otlewska A. Adhesive and hydrophobic properties of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cedrina* associated with cosmetics. *Ecological Questions*. 2017;28:41-6.
269. Parreira P, Magalhães A, Gonçalves IC, Gomes J, Vidal R, Reis CA, et al. Effect of surface chemistry on bacterial adhesion, viability, and morphology. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2011;99(3):344-53.
270. Cunliffe D, Smart C, Alexander C, Vulfson E. Bacterial adhesion at synthetic surfaces. *Applied and environmental microbiology*. 1999;65(11):4995-5002.
271. Absolom DR, Lamberti FV, Policova Z, Zingg W, van Oss CJ, Neumann AW. Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Applied and environmental microbiology*. 1983;46(1):90-7.

272. Plata JC, Díaz-Báez D, Delgadillo NA, Castillo DM, Castillo Y, Hurtado CP, et al. Hypochlorous Acid as a Potential Postsurgical Antimicrobial Agent in Periodontitis: A Randomized, Controlled, Non-Inferiority Trial. *Antibiotics*. 2023;12(8):1311.
273. Lafaurie G, Calderón J, Zaror C, Viviana L, Castillo D. Hypochlorous acid: a new alternative as antimicrobial agent and for cell proliferation for use in dentistry. *Int J Odontostomat*. 2015;9:475-81.
274. Lafaurie GI, Zaror C, Díaz- Báez D, Castillo D, De Ávila J, Trujillo T, et al. Evaluation of substantivity of hypochlorous acid as an antiplaque agent: A randomized controlled trial. *International Journal of Dental Hygiene*. 2018;16(4):527-34.
275. Fukuzaki S. Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol science*. 2006;11(4):147-57.
276. URANO H, FUKUZAKI S. The mode of action of sodium hypochlorite in the cleaning process. *Biocontrol Science*. 2005;10(1-2):21-9.
277. Lee JH, Ogawa T. The biological aging of titanium implants. *Implant dentistry*. 2012;21(5):415-21.
278. Kono M, Aita H, Ichioka Y, Kado T, Endo K, Koshino H. NaOCl-mediated biofunctionalization enhances bone-titanium integration. *Dental Materials Journal*. 2015;34(4):537-44.
279. Hoyos-Nogues M, Velasco F, Ginebra M-P, Manero JM, Gil FJ, Mas-Moruno C. Regenerating bone via multifunctional coatings: the blending of cell integration and bacterial inhibition properties on the surface of biomaterials. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017;9(26):21618-30.
280. Pegueroles M, Tonda-Turo C, Planell JA, Gil F-J, Aparicio C. Adsorption of fibronectin, fibrinogen, and albumin on TiO₂: time-resolved kinetics, structural changes, and competition study. *Biointerphases*. 2012;7(1).
281. Braem A, Van Mellaert L, Mattheys T, Hofmans D, De Waelheyns E, Geris L, et al. Staphylococcal biofilm growth on smooth and porous titanium coatings for biomedical applications. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2014;102(1):215-24.
282. Katsikogianni M, Missirlis Y. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater*. 2004;8(3):37-57.
283. Boks NP, Norde W, van der Mei HC, Busscher HJ. Forces involved in bacterial adhesion to hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Microbiology*. 2008;154(10):3122-33.
284. Tegoulia VA, Cooper SL. Staphylococcus aureus adhesion to self-assembled monolayers: effect of surface chemistry and fibrinogen presence. *Colloids and Surfaces B: Biointerphases*. 2002;24(3-4):217-28.
285. Schwarz F, Sculean A, Romanos G, Herten M, Horn N, Scherbaum W, et al. Influence of different treatment approaches on the removal of early plaque biofilms and the viability of SAOS2 osteoblasts grown on titanium implants. *Clinical oral investigations*. 2005;9:111-7.
286. Valderrama P, Blansett JA, Gonzalez MG, Cantu MG, Wilson TG. Suppl 1: detoxification of implant surfaces affected by peri-implant disease: an overview of non-surgical methods. *The open dentistry journal*. 2014;8:77.

287. Subramani K, Wismeijer D. Decontamination of titanium implant surface and re-osseointegration to treat peri-implantitis: a literature review. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2012;27(5).
288. Corvino E, Pesce P, Mura R, Marciano E, Canullo L. Influence of Modified Titanium Abutment Surface on Peri-implant Soft Tissue Behavior: A Systematic Review of In Vitro Studies. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2020;35(3).
289. Burchard WB, Cobb CM, Drisko CL, Killoy WJ. The Effects of Chlorhexidine and Stannous Fluoride on Fibroblast Attachment to Different Implant Surfaces. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 1991;6(4).
290. Karam PSBH, Ferreira R, Oliveira RC, Greggi SLA, de Rezende MLR, Sant'Ana ACP, et al. Stimulation of human gingival fibroblasts viability and growth by roots treated with high intensity lasers, photodynamic therapy and citric acid. *Archives of oral biology*. 2017;81:1-6.
291. Lakkasether Chandrashekar B, Siddiqui DA, Palmer KL, C. Rodrigues D. Titanium Surfaces and Detoxification Procedures: Effects of Bacterial Biofilm and Citric Acid Exposure on Oxide Layer Behavior. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*. 2021;7:1-13.
292. Zablotzky MH, Wittrig EE, Diedrich DL, Layman DL, Meffert RM. FIBROBLASTIC GROWTH AND ATTACHMENT ON HYDROXYAPATITE-COATED TITANIUM SURFACES FOLLOWING THE USE OF VARIOUS DETOXIFICATION MODALITIES. PART II: CONTAMINATED HYDROXYAPATITE. *Implant Dentistry*. 1992;1(3):195-202.
293. Ferreira R, de Toledo Barros RT, Karam PSBH, Sant'Ana ACP, Greggi SLA, de Rezende MLR, et al. Comparison of the effect of root surface modification with citric acid, EDTA, and aPDT on adhesion and proliferation of human gingival fibroblasts and osteoblasts: an in vitro study. *Lasers in Medical Science*. 2018;33:533-8.
294. Kolonidis SG, Renvert S, Hämmerle CH, Lang NP, Harris D, Claffey N. Osseointegration on implant surfaces previously contaminated with plaque: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research*. 2003;14(4):373-80.
295. Cai S, Wu C, Yang W, Liang W, Yu H, Liu L. Recent advance in surface modification for regulating cell adhesion and behaviors. *Nanotechnology Reviews*. 2020;9(1):971-89.
296. Gentile F, Tirinato L, Battista E, Causa F, Liberale C, di Fabrizio EM, et al. Cells preferentially grow on rough substrates. *Biomaterials*. 2010;31(28):7205-12.
297. Bacakova L, Filova E, Parizek M, Ruml T, Svorcik V. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants. *Biotechnology advances*. 2011;29(6):739-67.
298. Variola F, Zalzal SF, Leduc A, Barbeau J, Nanci A. Oxidative nanopatterning of titanium generates mesoporous surfaces with antimicrobial properties. *International journal of nanomedicine*. 2014:2319-25.
299. Brunette D, Chehroudi B. The effects of the surface topography of micromachined titanium substrata on cell behavior in vitro and in vivo. 1999.
300. Yoshinari M, Matsuzaka K, Inoue T, Oda Y, Shimono M. Effects of multigrooved surfaces on fibroblast behavior. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2003;65(3):359-68.
301. Htet M, Madi M, Zakaria O, Miyahara T, Xin W, Lin Z, et al. Decontamination of anodized implant surface with different modalities for peri- implantitis treatment: lasers and mechanical debridement with citric acid. *Journal of periodontology*. 2016;87(8):953-61.

302. Gupta A, Dhanraj M, Sivagami G. Status of surface treatment in endosseous implant: a literary overview. Indian journal of dental research. 2010;21(3):433-8.

