



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Ante Jordan

**USPOREDBA ELEKTROLITIČKE S
KONVENCIONALNIM METODAMA
DEKONTAMINACIJE POVRŠINE
DENTALNIH IMPLANTATA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

Stomatološki fakultet

Ante Jordan

**USPOREDBA ELEKTROLITIČKE S
KONVENCIONALNIM METODAMA
DEKONTAMINACIJE POVRŠINE
DENTALNIH IMPLANTATA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

doc. dr. sc. Marko Vuletić

prof. dr. sc. Ana Budimir

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

School of Dental Medicine

Ante Jordan

**COMPARISON OF ELECTROLYTIC AND
CONVENTIONAL METHODS FOR
DENTAL IMPLANT SURFACE
DECONTAMINATION**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Assistant Professor Marko Vuletić, PhD

Professor Ana Budimir, PhD

Zagreb, 2026

Rad je ostvaren na Zavodu za oralnu kirurgiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkom zavodu za kliničku mikrobiologiju, prevenciju i kontrolu infekcija Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Lektor hrvatskog jezika: Ivana Canosa, magistra edukacije hrvatskoga jezika i književnosti

Lektor engleskog jezika: Tatjana Majić, profesorica engleskog i njemačkog jezika i književnosti

Sastav Povjerenstva za ocjenu doktorskog rada

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Sastav Povjerenstva za obranu doktorskog rada

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Datum obrane rada: _____

Rad sadrži: 80 stranica

4 tablice

22 slike

1 CD

Rad je vlastito autorsko djelo, koje je u potpunosti samostalno napisano uz naznaku izvora drugih autora i dokumenata korištenih u radu. Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora poslijediplomskog doktorskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Zahvala

Posebno zahvaljujem svojem mentoru, doc. dr. sc. Marku Vuletiću, dr. med. dent., spec. oralne kirurgije, na stručnom vodstvu, promišljenim savjetima i kontinuiranoj podršci tijekom izrade ove doktorske disertacije. Njegov ključni doprinos u oblikovanju istraživačkog pristupa, analizi rezultata te unaprjeđenju rukopisa bio je iznimno važan za konačnu kvalitetu rada.

Iskrenu zahvalnost upućujem i komentorici, prof. dr. sc. Ani Budimir, dr. med., spec. medicinske mikrobiologije s parazitologijom, na temeljitom i konstruktivnom pristupu u evaluaciji rada, brojnim vrijednim sugestijama te pomoći u interpretaciji i kritičkom vrednovanju dobivenih rezultata. Njezine stručne smjernice značajno su pridonijele jasnoći izlaganja i znanstvenoj utemeljenosti disertacije.

Osobitu zahvalnost dugujem i prof. dr. sc. Dragani Gabrić, dr. med. dent., spec. oralne kirurgije, čije su znanje, iskustvo i dragocjene sugestije tijekom istraživanja bile iznimno važne. Njezini prijedlozi značajno su olakšali provedbu eksperimentalnog dijela te pridonijeli jasnoći, preciznosti i znanstvenoj kvaliteti rada.

Zahvaljujem dr. sc. Igoru Smojeveru, dr. med. dent., spec. oralne kirurgije, na nesebičnoj pomoći u osiguravanju potrebnih materijala i provedbi svih faza istraživačkog procesa. Također mu zahvaljujem na ustupljenim kliničkim fotografijama koje su dodatno obogatile vizualni i interpretativni aspekt disertacije.

Također zahvaljujem članovima povjerenstva za obranu teme, kao i svima koji su svojim komentarima i sugestijama pridonijeli unaprjeđenju i konačnoj kvaliteti ove disertacije. Njihova stručna mišljenja predstavljala su vrijedan doprinos razvoju i oblikovanju ovog istraživanja.

Na kraju, od srca zahvaljujem Ani, Jakovu, Davidu, Katarini i svojim roditeljima na bezuvjetnoj podršci, razumijevanju, strpljenju i ljubavi uvijek i u svemu.

Sažetak

USPOREDBA ELEKTROLITIČKE S KONVENCIONALNIM METODAMA DEKONTAMINACIJE POVRŠINE DENTALNIH IMPLANTATA

Uklanjanje polimikrobnog biofilma i učinkovita dekontaminacija površine implantata predstavljaju ključne ciljeve u liječenju periimplantitisa. Cilj je ovog istraživanja procijeniti učinkovitost pet različitih metoda dekontaminacije u uklanjanju biofilma bakterija *Acinetobacter baumannii* i *Staphylococcus aureus* u *in vitro* uvjetima. Ukupno 150 dentalnih titanskih implantata kontaminirano je miješanom bakterijskom suspenzijom te nasumično raspoređeno u šest skupina ($n = 25$): negativnu kontrolnu skupinu bez primijenjenog tretmana; pozitivnu kontrolnu skupinu tretiranu 0,2%-tnim klorheksidinom; skupinu 1 tretiranu hitozanskom četkicom (Labrida BioClean™); skupinu 2 tretiranu kombinacijom hitozanske četkice i 0,2%-tnog klorheksidina; skupinu 3 tretiranu plastičnom kiretom ojačanom karbonskim vlaknima; te skupinu 4 tretiranu uređajem koji se temelji na elektrolitičkoj metodi čišćenja (GalvoSurge®). Učinkovitost dekontaminacije procijenjena je određivanjem broja jedinica koje tvore kolonije (CFU), kao pokazatelja broja vijabilnih bakterija, uz primjenu odgovarajućih statističkih analiza. Sve primijenjene metode dovele su do statistički značajnog smanjenja broja bakterijskih kolonija u usporedbi s negativnom kontrolnom skupinom. Najveću učinkovitost pokazala je elektrolitička metoda čišćenja, dok je najmanje učinkovita bila primjena plastične kirete ojačane karbonskim vlaknima. Dobiveni rezultati ukazuju na značajne razlike u učinkovitosti pojedinih metoda dekontaminacije u uklanjanju biofilma s površine implantata. Elektrolitička metoda predstavlja najučinkovitiji pristup među ispitanim metodama u *in vitro* uvjetima, no za dodatnu procjenu njezine stvarne kliničke učinkovitosti i primjenjivosti potrebna su daljnja istraživanja u složenijim i realističnijim uvjetima.

Ključne riječi: dentalni implantati, biofilm, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, periimplantitis, dekontaminacija, klorheksidin, hitozanska četkica, plastična kireta, elektrolitičko čišćenje

Summary

COMPARISON OF ELECTROLYTIC AND CONVENTIONAL METHODS FOR DENTAL IMPLANT SURFACE DECONTAMINATION

Aim: Despite the high success rates of modern dental implant therapy, biofilm-associated complications – particularly peri-implantitis – remain a significant clinical challenge. Effective removal of biofilm from implant surfaces represents a key objective in both the prevention and treatment of peri-implant diseases. Although numerous decontamination methods have been proposed, there is currently no clear consensus regarding the superiority of any particular approach. In addition, comparative *in vitro* data on emerging technologies such as electrolytic cleaning remain limited, particularly in relation to opportunistic pathogens capable of forming persistent biofilms. The primary aim of this study was to evaluate and compare the effectiveness of different decontamination methods in reducing colony-forming units (CFUs) of *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus* on titanium dental implant surfaces. The investigated methods included chlorhexidine, a chitosan brush, a combination of chitosan brush and chlorhexidine, a carbon fibre-reinforced plastic curette, and an electrolytic cleaning device. The secondary aim was to assess whether the efficacy of these methods differs between the two bacterial species.

Materials and Methods: This *in vitro* study included 150 titanium dental implants (4.0 mm × 10.0 mm; GC Aadvia Standard Implants, GC Tech Europe GmbH, Germany). Biofilm formation was induced using clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus* obtained from the University Hospital Centre Zagreb. Each implant was individually incubated in a mixed bacterial suspension to allow biofilm development under standardized conditions.

Following incubation, implants were randomly assigned to six groups (n = 25): a negative control group without treatment; a positive control group treated with 0.2% chlorhexidine; a group treated with a chitosan brush (Labrida BioClean™); a group treated with a combination of chitosan brush and 0.2% chlorhexidine; a group treated with a carbon fibre-reinforced plastic curette; and a group treated using an electrolytic cleaning device (GalvoSurge®).

After treatment, samples were collected using sterile paper points, transferred into phosphate-buffered saline, vortexed, and serially diluted. Aliquots were cultured on blood agar plates and incubated aerobically at 37 °C for 48 hours. Viable bacteria were quantified as colony-forming units by colony counting with appropriate dilution factors. Data were analysed using descriptive statistics and one-way analysis of variance (ANOVA) to assess differences between groups, with results presented in tabular and graphical formats.

Results: All tested decontamination methods reduced bacterial colony counts compared with the negative control group. Significant differences in effectiveness were observed among the tested methods. The electrolytic cleaning method demonstrated the highest efficacy in decontaminating implant surfaces for both bacterial species. In contrast, the carbon fibre-reinforced plastic curette exhibited the lowest decontamination efficacy, characterized by high mean CFU values and considerable variability in the results. Although absolute CFU values differed between the two bacterial species, the relative ranking of the tested methods remained consistent across both microbial models.

Conclusion: The electrolytic cleaning method proved to be the most effective approach, yielding significantly lower residual bacterial counts compared to all other tested methods, and thus represents a promising strategy for implant surface decontamination. Nevertheless, further investigations under more clinically relevant *in vitro* and *in vivo* conditions are warranted to confirm its clinical applicability and to better define its long-term impact on treatment outcomes in peri-implant diseases.

Keywords: dental implants, biofilm, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, peri-implantitis, decontamination, chlorhexidine, chitosan brush, plastic curette, electrolytic cleaning

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Dentalna implantologija.....	2
1.2. Materijali za izradu dentalnih implantata.....	3
1.2.1. Titan.....	4
1.2.2. Cirkonij oksid.....	5
1.2.3. Ostali materijali za izradu dentalnih implantata i površinski premazi.....	5
1.3. Neuspjeh terapije implantatima.....	6
1.4. Periimplantatne bolesti.....	7
1.4.1. Etiologija i patogeneza periimplantatnih bolesti.....	10
1.4.2. Liječenje periimplantatnih bolesti.....	11
1.4.2.1. Mehanička sredstva.....	15
1.4.2.2. Fizikalne metode.....	16
1.4.2.3. Kemijska sredstva.....	18
1.4.2.4. Farmakološka sredstva.....	20
2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	23
2.1. Primarni cilj istraživanja.....	24
2.2. Sekundarni cilj istraživanja.....	24
2.3. Hipoteze istraživanja.....	24
3. MATERIJALI I POSTUPCI.....	25

3.1. Postupak istraživanja.....	26
3.2. Statistička obrada podataka.....	40
4. REZULTATI.....	41
4.1. Deskriptivna analiza podataka.....	42
4.2. Grafički prikaz raspodjele podataka.....	43
4.3. Inferencijalna analiza.....	45
4.4. Usporedba između bakterijskih vrsta.....	47
5. RASPRAVA.....	49
6. ZAKLJUČAK.....	62
7. LITERATURA.....	64
8. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA.....	78

Popis kratica

ANOVA – analiza varijance (eng. *analysis of variance*)

Bap – protein povezan s biofilmom (eng. *biofilm-associated protein*)

CA³⁻ – citratni ion (ionizirani oblik limunske kiseline)

CBCT – računalna tomografija stožastog snopa (eng. *cone beam computed tomography*)

CFU – broj jedinica koje tvore koloniju (eng. *colony-forming unit*)

CHX – klorheksidin

CIST – kumulativna interceptivna potporna terapija (eng. *cumulative interceptive supportive therapy*)

CO₂ – ugljikov dioksid

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

EDTA – etilendiamintetraoctena kiselina

Er,Cr:YSGG – erbijem i kromom dopiran itrij-skandij-galij-granatni laser

Er:YAG – erbijem dopiran itrij-aluminij-granatni laser

ESKAPE – skupina patogena (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter spp.*)

GTR – vođena regeneracija tkiva (eng. *guided tissue regeneration*)

H₂O₂ – vodikov peroksid

IDRA – individualizirana dijagnostika i procjena rizika (eng. *individualized diagnosis and risk assessment*)

ISQ – kvocijent stabilnosti implantata (eng. *implant stability quotient*)

log₁₀ CFU – dekadski logaritam broja jedinica koje tvore koloniju

MH bujon – Mueller–Hinton bujon

Nd:YAG – neodimijem dopiran itrij-aluminij-granatni laser

PBS – fiziološka otopina puferirana fosfatom (eng. *phosphate-buffered saline*)

PEEK – polietereeterketon

pH – mjera kiselosti ili lužnatosti vodenih otopina

Ti–Zr – legura titana i cirkonija

Ti₆Al₄V – legura titana, aluminija i vanadija

1.1. Dentalna implantologija

Dentalna implantologija u posljednjih je šest desetljeća prošla iznimno dinamičan razvoj, od eksperimentalne metode do jedne od najpredvidljivijih i najuspješnijih terapijskih mogućnosti u suvremenoj dentalnoj medicini (1-3). Od prvih ozbiljnih pokušaja sredinom prošlog stoljeća, preko uvođenja suvremenih biomaterijala i digitalnih tehnologija, oblikovala se u terapiju dugoročnog uspjeha i visoke kliničke pouzdanosti (1,3-5). Danas se više ne promatra samo kao način nadomještanja izgubljenih zuba, nego kao interdisciplinarno područje koje omogućuje potpunu funkcionalnu, estetsku i psihološku rehabilitaciju, značajno unaprijediš kvalitetu života pacijenata (1,3,6-11). Spoj temeljnih bioloških istraživanja, napretka u razvoju biomaterijala, usavršavanja kirurških tehnika i protetskih rješenja čini implantologiju jednim od ključnih područja moderne dentalne medicine te istaknutim primjerom uspješnog povezivanja znanosti i kliničke prakse (12-16).

Ključnu prekretnicu u razvoju implantologije predstavljaju istraživanja švedskog liječnika i znanstvenika Per-Ingvara Brånemarka, koji je sredinom 20. stoljeća u potpunosti promijenio razumijevanje odnosa između biomaterijala i koštanog tkiva (11,17,18). On je otkrio da titanski cilindri ugrađeni u vitalnu kost ostvaruju čvrstu i stabilnu vezu s okolnim koštanim tkivom, koju je bilo moguće prekinuti jedino lomom, što je dovelo do uvođenja pojma oseointegracije (11,12). To otkriće otvorilo je novo poglavlje u dentalnoj medicini i postavilo čvrstu znanstvenu osnovu za kliničku primjenu implantata (1). Kasnije histološke analize potvrdile su da je oseointegracija složen, dinamičan i višefazni proces koji obuhvaća niz događaja: od formiranja krvnog ugruška, migracije i diferencijacije osteogenih stanica preko sinteze osteoidnog matriksa, nastanka nezrele kosti, njezine postupne mineralizacije pa sve do remodelacije u organiziranu zrelu kost sposobnu dugoročno podnositi funkcionalna opterećenja (12,13,19). Iako se pojam oseointegracija u početku upotrebljavao isključivo za titanske implantate, danas se taj koncept odnosi na sve biomaterijale koji imaju sposobnost srastanja s kosti (12).

Stopa preživljenja dentalnih implantata jedan je od temeljnih pokazatelja uspješnosti implantološke terapije. Ona se odnosi na postotak implantata koji ostaju u ustima pacijenata tijekom određenoga vremenskog razdoblja, neovisno o njihovoj funkcionalnosti ili mogućim komplikacijama. Stopa preživljenja implantata nakon deset godina iznosi 96,4 % u pacijenata koji su dosljedno praćeni tijekom tog perioda (2). Međutim, kada se u analizu uključe i podaci o pacijentima izgubljenima tijekom desetogodišnjeg praćenja, stopa preživljenja smanjuje se na 93,2 % (2). Nakon dvadeset godina stopa preživljenja implantata iznosi oko

92 %, ali kada se uključe i podaci pacijenata izgubljenih tijekom praćenja, procjena se smanjuje na približno 78 % (20). Ovi podaci jasno pokazuju da gubici tijekom praćenja i zanemarivanje ishoda implantata u pacijenata koji se nisu pojavili na kontrolnim pregledima mogu dovesti do precijenjenih i optimističnijih rezultata te naizgled boljih ishoda nego što oni zaista jesu (2,20,21). Za točnije vrednovanje dugoročnih ishoda presudno je sustavno praćenje pacijenata i transparentno izvještavanje o gubicima implantata u praćenju (2,20,21). Povezano s tim, važno je razlikovati stopu preživljenja od stope uspješnosti implantata. Preživljenje označava samo činjenicu da je implantat i dalje prisutan u ustima, dok uspješnost uključuje i kriterije poput funkcionalnosti, stabilnosti te odsutnosti boli i komplikacija. Na taj način stopa preživljenja daje osnovnu informaciju o trajnosti implantata, dok stopa uspješnosti pruža detaljniji uvid u njihovu kliničku učinkovitost i kvalitetu ishoda terapije. Uspostava nacionalnih i međunarodnih registara i baza podataka o dentalnim implantatima kakvi postoje u Finskoj, Švedskoj, Njemačkoj, Sjedinjenim Američkim Državama, Kanadi, Australiji i Južnoj Koreji predstavljaju značajan iskorak u objektivnijem vrednovanju ishoda implantološke terapije. Oni omogućuju sustavno prikupljanje i analizu na populacijskoj razini, izradu smjernica utemeljenih na dokazima i kontinuirano unaprjeđenje terapijskih protokola (21).

1.2. Materijali za izradu dentalnih implantata

Uspjehu terapije dentalnim implantatima uz detaljnu dijagnostiku, pravilnu kiruršku i protetsku tehniku uvelike pridonose i materijali od kojih su implantati izrađeni (22-26). Materijali moraju zadovoljiti visoke kriterije biokompatibilnosti, otpornosti na koroziju, mehaničke čvrstoće, ali i dugoročne stabilnosti u složenom oralnom mikrookruženju koje uključuje promjenjivi pH, biofilm, mikrobiološku aktivnost i izloženost ponavljajućim opterećenjima pri žvačnim silama (12,27,28). U kliničkoj se praksi najčešće upotrebljavaju titan i njegove legure te cirkon, no razvoj novih tehnologija i istraživanja doveo je do pojave novih materijala i površinskih premaza koji sve više nalaze primjenu u suvremenoj implantologiji.

1.2.1. Titan

Titan već desetljećima predstavlja zlatni standard u dentalnoj implantologiji, a taj status ima zbog jedinstvene kombinacije bioloških i mehaničkih svojstava (15,29). Njegova iznimna biokompatibilnost osigurava pouzdanu osteointegraciju, dok visoka mehanička čvrstoća i otpornost na koroziju omogućuju dugoročnu stabilnost i predvidljive kliničke ishode (15,26,30,31). Legure titana, poput one s aluminijem i vanadijem ($\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$), dodatno poboljšavaju mehanička svojstva u odnosu na čisti titan, zadržavajući istodobno biokompatibilnost i omogućujući uspješnu primjenu i u klinički najzahtjevnijim slučajevima (26,32,33). Osim svojih mehaničkih svojstava, titan se odlikuje prilagodljivošću različitim kliničkim indikacijama i širokim mogućnostima dizajna implantata čime dodatno učvršćuje svoju dominantnu ulogu u svakodnevnoj implantološkoj praksi. Integracijom u alveolarnu kost titanski implantat podržava fiziološku stimulaciju kosti, smanjujući rizik od resorpcije i pridonoseći time očuvanju morfologije čeljusti i stabilnosti periimplantatnih tkiva (11).

Ipak, unatoč navedenim prednostima, titan ima i svoja ograničenja. Njegova prirodna tamnosiva boja u određenim kliničkim situacijama može prosijavati kroz tanku periimplantatnu sluznicu, što može ugroziti estetske rezultate u prednjem području čeljusti, osobito u pacijenata s tankim biotipom gingive. Unatoč rijetkoj pojavnosti i ograničenom broju znanstvenih radova, preosjetljivost na titan predstavlja stvarni klinički entitet i ne bi se trebala podcijeniti s obzirom na to da može imati ozbiljne kliničke posljedice (34,35). Pacijente u kojih je došlo do gubitka implantata, a da su pri tome isključeni drugi potencijalni uzroci, preporučuje se testirati na preosjetljivost i alergiju na titan, naročito ako su već alergični na druge metale poput nikla i kobalta ili na penicilin (34,36). U slučaju potvrđene preosjetljivosti, preporučuje se razmotriti uporabu implantata od drugih materijala poput cirkonij oksidne keramike (15,34,37). Istodobno, biokorozija, otpuštanje titanovih iona i mikročestica u periimplantatna tkiva mogu potaknuti lokalni upalni odgovor te time pridonijeti razvoju periimplantitisa (37,38). Navedeno ukazuje na potrebu za daljnjim istraživanjima imunoloških reakcija na titan, ali i na kliničku važnost sustavnog praćenja i rane dijagnostike čime bi se mogao smanjiti rizik od komplikacija i značajno doprinijeti uspjehu liječenja (34,39).

1.2.2. Cirkonij oksid

Dentalni implantati od cirkonij oksida odlikuju se visokom biokompatibilnošću i otpornošću na koroziju te kemijske promjene u oralnoj sredini (15,31,40,41). Pogodni su u pacijenata s alergijama ili preosjetljivošću na metalne legure (31,35,37). Njihova bijela boja sprečava sivkasto prosijavanje kroz sluznicu tankog biotipa osiguravajući time bolje estetske rezultate (30). Površina cirkonija pokazuje manju sklonost nakupljanju plaka i bakterijskoj kolonizaciji u odnosu na titan, što može povoljno utjecati na zdravlje periimplantnih tkiva (26,31,42,43). Unatoč tim prednostima, cirkonijevi implantati imaju i određena ograničenja. U pogledu dimenzija i dizajna dostupan je manji broj opcija u odnosu na titanske sustave, što može ograničiti njihovu primjenu u složenim kliničkim situacijama (31,44,45). Sa stajališta mehaničkih svojstava, cirkonij je podložniji lomu i pucanju u usporedbi s titanom, osobito u uvjetima povećanoga okluzijskog opterećenja ili bruksizma (15,30,31). Njihova proizvodnja uključuje nešto složenije tehnološke postupke, što rezultira višom cijenom u odnosu na titanske sustave (40). Iako dostupni podaci ukazuju na povoljne ishode, dugoročne stope uspješnosti i preživljenja još uvijek su ograničene u usporedbi s titanom s obzirom na njegovu širu primjenu u dentalnoj implantologiji (30,31,42).

1.2.3. Ostali materijali za izradu dentalnih implantata i površinski premazi

Radi prevladavanja ograničenja postojećih materijala razvijaju se nove legure i materijali kojima se nastoji unaprijediti biokompatibilnost, mehanička otpornost i estetska svojstva. Cilj je takvog razvoja dodatno poboljšati dugoročnu stabilnost implantata, optimizirati prijenos sila između implantata i kosti te smanjiti rizik od bioloških i mehaničkih komplikacija (23,40,46). Povezano s tim suvremena istraživanja usmjerena su na poboljšanja metalnih legura, primjenu polimernih materijala te razvoj funkcionalnih površinskih premaza (40,46). Legure titana i cirkonija (Ti–Zr) nude prednosti u odnosu na čisti titan kao što su povećana otpornost na zamor, poboljšana mehanička stabilnost i bolja biokompatibilnost, a u odnosu na cirkonij pokazuju bolju otpornost na trošenje. Zbog izrazite otpornosti na lom i povoljnog biološkog odgovora legure titana i cirkonija (Ti–Zr) omogućuju izradu implantata manjeg promjera te sigurniju ugradnju u kliničkim situacijama uskoga alveolarnog grebena. Ipak, nedostatak dugoročnih kliničkih istraživanja, osobito u pacijenata sa smanjenom gustoćom kosti, još uvijek ograničava njihovu širu primjenu u kliničkoj praksi (15,23).

Poli-eter-eter-keton (PEEK) termoplastični je polimer koji uz povoljna mehanička svojstva i otpornost na trošenje ima modul elastičnosti sličan modulu elastičnosti prirodne kosti, što omogućuje ravnomjerniju raspodjelu žvačnih sila i smanjenje naprezanja okolnoga koštanog tkiva. Ipak, zbog svoje bioinertnosti PEEK ne potiče osteointegraciju u istoj mjeri kao titan ili cirkonij, što zahtijeva dodatnu površinsku obradu implantata od PEEK-a ili nanošenje bioaktivnih premaza. Uz to, manjak dugoročnih kliničkih istraživanja implantata od PEEK-a ograničava njegovu široku kliničku primjenu (29).

Osim samog materijala, uspješnoj integraciji implantata s okolnim tkivom uvelike pridonose i svojstva površine implantata kao što su oblik i geometrija navoja, mikrotopografija, kemijski sastav te površinska energija (23,40,46). Metode obrade površine, poput pjeskarenja, jetkanja kiselinama, laserske obrade, anodizacije i nanošenje čestica titana i hidroksiapatita plazmom stvaraju mikrostrukturirane površine koje pospješuju formiranje nove kosti i pridonose osteointegraciji i većoj mehaničkoj stabilnosti implantata (40,46).

Osim toga, novijim bioaktivnim površinskim premazima nastoji se poboljšati prijanjanje osteoblasta, stimulirati rast kosti i smanjiti vrijeme potrebno za integraciju s kosti (40,46). Površinski premazi mogu se podijeliti u dvije glavne skupine ovisno o prirodi materijala: anorganske i organske. Anorganski premazi obuhvaćaju biomimetičke premaze na bazi hidroksiapatita, kalcijeva fosfata, magnezija i grafena, premaze na bazi ugljikovih nanocjevčica, nanodijamantne premaze, premaze na bazi srebra te bioaktivnog stakla, dok organski premazi uključuju one na bazi faktora rasta, proteina izvanstaničnog matriksa i polisaharida (40,46). Osim navedenih, antibakterijski premazi predstavljaju posebnu kategoriju. Za razliku od organskih i anorganskih premaza koji ponajprije potiču osteointegraciju, antibakterijski premazi inhibiraju rast bakterija i smanjuju rizik nastanka infekcija, djelujući time na dugoročno zdravlje periimplantnog tkiva (23,40). Budući razvoj površinskih premaza, utemeljen na multidisciplinarnom pristupu koji povezuje znanost o materijalima, nanotehnologiju, bioinženjering i regenerativnu medicinu, mogao bi dovesti do stvaranja naprednijih implantatskih sustava s poboljšanim regenerativnim i antibakterijskim svojstvima, no njihova potpuna učinkovitost zahtijeva daljnja istraživanja (40,46).

1.3. Neuspjeh terapije implantatima

Na neuspjeh terapije dentalnim implantatima može utjecati više različitih čimbenika i može se podijeliti na rani i kasni. Unatoč pokušajima definiranja ranog neuspjeha prema različitim

vremenskim razdobljima, primjerice od ugradnje implantata do postavljanja suprastrukture, od ugradnje do šest mjeseci nakon implantacije ili do godinu dana nakon opterećenja, još uvijek ne postoji jedinstveno prihvaćena definicija za rani neuspjeh terapije implantatima (9). Rani neuspjeh implantata najčešće se definira kao neuspjeh implantata koji se događa prije funkcionalnog opterećenja, najčešće unutar prvih nekoliko mjeseci od ugradnje. Nastaje zbog neuspješne oseointegracije, a među najčešćim uzrocima su nedovoljna količina i kvaliteta kosti, neadekvatna priprema mjesta implantacije, kontaminacija operacijskog polja, nepravilna preparacija ležišta i pregrijavanje kosti (9,47-49). Nedovoljna primarna stabilnost i prijevremeno opterećenje implantata u fazi cijeljenja može također narušiti proces oseointegracije, uzrokovati ranu mobilnost i gubitak implantata (10,49). Osim lokalnih čimbenika, neuspjehu implantata mogu pridonijeti i sistemski čimbenici kao nekontrolirana šećerna bolest, neliječena osteoporoza, pušenje i imunosupresivna terapija (9,47,49,50).

Kasni neuspjeh implantata nastaje nakon završetka procesa oseointegracije i nakon što je implantat funkcionalno opterećen te može biti posljedica mehaničkih, tehničkih ili bioloških čimbenika. Mehaničke komplikacije uključuju preopterećenje implantata zbog neusklađenih okluzalnih odnosa, bruksizma ili drugih parafunkcija, dok tehnički uzroci mogu uključivati lom vijaka, lom implantata ili strukturna oštećenja protetskih komponenti (10,49). Međutim, najznačajnije kasne komplikacije biološke su prirode i povezane su s razvojem periimplantatnih bolesti (6,10,51).

1.4. Periimplantatne bolesti

Periimplantatne bolesti obuhvaćaju skupinu upalnih stanja koja zahvaćaju tkiva oko dentalnih implantata te predstavljaju značajan izazov suvremene implantološke terapije. Nastaju kao posljedica složene interakcije mikrobnog biofilma na površini implantata i odgovora domaćina, što dovodi do razvoja upale periimplantatnih tkiva. U skladu s tim, razlikuju se dva osnovna klinička entiteta: periimplantatni mukozitis i periimplantitis.

Periimplantatni mukozitis upala je sluznice oko implantata. Klinički se očituje krvarenjem pri nježnom sondiranju, a mogu biti prisuti eritem i otekline sluznice oko implantata te supuracija. Povećana dubina sondiranja može se javiti kao posljedica otekline ili smanjene otpornosti tkiva na sondiranje (51). Za razliku od periimplantitisa, u periimplantatnom mukozitisu radiološki se ne nalazi gubitak potporne kosti, pri čemu se ne uzimaju u obzir promjene u razini krestalne kosti nastale tijekom početnoga postoperativnog remodeliranja

nakon ugradnje implantata. Periimplantatni mukozitis smatra se reverzibilnim ako se pravovremeno prepozna i pravilno liječi, međutim, ako se ne liječi, može napredovati u periimplantitis (51-53).

Periimplantitis je upala mekog i tvrdog tkiva koje okružuje oseointegrirani dentalni implantat. Klinički se očituje kao eritem, oteklina sluznice oko implantata, krvarenje pri sondiranju, supuracija, povećana dubina sondiranja (6 ili više milimetara) ili recesija marginalne mukoze (51) (Slika 1 i 2). Radiološki su vidljivi znakovi gubitka potporne kosti oko implantata (3 ili više milimetara) (51) (Slika 3). Treba uzeti u obzir da vidljivi znakovi upale mogu varirati te imati na umu recesiju marginalne mukoze pri procjeni dubine sondiranja. Patološki gubitak kosti koji se opaža kod periimplantitisa ne bi trebalo poistovjećivati s prirodnim procesom fiziološke pregradnje kosti nakon ugradnje implantata. Taj gubitak visine marginalne kosti može iznositi i do 2 mm u razdoblju od ugradnje implantata do kraja prve godine funkcionalnog opterećenja implantata (54).

Prevalencija periimplantitisa iznosi 19,53 % (95 % interval pouzdanosti, 12,87 % – 26,19 %) među pacijentima u kojih je provedena implantološka terapija i 12,53 % (95 % interval pouzdanosti, 11,67 % – 13,39 %) na razini implantata (6). Međutim, pri tome nisu nužno svi implantati u pojedinog pacijenta zahvaćeni periimplantitisom.



Slika 1. Klinička slika periimplantitisa u desnom kvadrantu gornje čeljusti s vidljivim gubitkom mekih i tvrdih tkiva. Preuzeto s dopuštenjem autora: dr. sc. Igor Smojver, dr. med. dent., spec. oralne kirurgije.



Slika 2. Intraoperativni prikaz periimplantitisa nakon odizanja mukoperiostalnog režnja; uočljiv je progresivni gubitak alveolarne kosti i izloženost navoja tijela implantata u lijevom kvadrantu gornje čeljusti. Preuzeto s dopuštenjem autora: dr. sc. Igor Smojver, dr. med. dent., spec. oralne kirurgije.



Slika 3. Radiološki prikaz uznapredovalog periimplantitisa u desnom kvadrantu donje čeljusti. Izraženo prosvjetljenje uzduž tijela sva tri implantata ukazuje na opsežnu koštanu resorpciju.

1.4.1. Etiologija i patogeneza periimplantatnih bolesti

Glavni je etiološki čimbenik za razvoj periimplantatnog mukozitisa i periimplantitisa nakupljanje mikrobnog biofilma na površini implantata i poremećaj ravnoteže između imunološke obrane domaćina i patogenih mikroorganizama unutar biofilma (52,55,56). Biofilm se formira na tvrdim, nedeskvamirajućim površinama koje su kontinuirano izložene vlažnom okolišu. Zdravu usnu šupljinu i periimplantatno tkivo karakterizira stabilna i uravnotežena mikrobna zajednica koja sprječava kolonizaciju i prekomjerno umnažanje patogenih vrsta te time ima važnu ulogu u očuvanju zdravlja periimplantatnog tkiva (53).

Stvaranje biofilma složeni je višefazni proces koji počinje adsorpcijom molekula poput proteina plazme i glikoproteina sline na površinu zuba i implantata pri čemu nastaje pelikula (57,58). Pelikula omogućuje početnu adheziju primarnih mikroorganizama, među kojima dominiraju aerobne i fakultativno anaerobne bakterije, pretežno gram-pozitivni koki i štapići, koji stvaraju početni bakterijski sloj (55,57,58). U uvjetima neadekvatne ili izostale oralne higijene dolazi do daljnjeg rasta i proliferacije prisutnih mikroorganizama, sinteze izvanstaničnih polimera te formiranja izvanstanične polimerne matrice, što omogućuje adheziju sekundarnih bakterijskih vrsta i postupno sazrijevanje biofilma. Tijekom tog procesa mijenja se i mikrobni sastav biofilma, koji postupno postaje složeniji i raznolikiji. Izvanstanična polimerna tvar štiti mikrobnu zajednicu od imunoloških odgovora organizma domaćina, smanjuje prodiranje antimikrobnih sredstava i omogućuje prijenos genskih elemenata uključujući gene za otpornost na antibiotike (53,55). Ako se tijekom ovog procesa i dalje ne provodi adekvatna kontrola dentobakterijskog plaka i mehaničko uklanjanje biofilma, u njegovim dubljim slojevima uspostavljaju se potpuno anaerobni uvjeti. U takvim uvjetima dominaciju preuzimaju gram-negativne anaerobne štapičaste bakterije čime se povećava virulencija biofilma i njegov destruktivni potencijal (53,56). Mikroorganizmi zrelog biofilma aktiviraju imunološki sustav domaćina, povećavaju proizvodnju proinflammatoryh citokina koji potiču diferencijaciju i aktivaciju osteoklasta, što dovodi do osteolitičkih promjena i progresivne resorpcije periimplantatne kosti (52).

U periimplantatnom mukozitisu najzastupljenije su vrste *Prevotella* spp., *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* i *Prevotella intermedia* (59). Prisutne su također i druge vrste bakterija poput *Streptococcus* spp. viridans grupe, *Rothia* spp., *Neisseria* spp. i *Corynebacterium* spp., koje su inače dio normalne oralne flore i zdravog periimplantatnog tkiva (53).

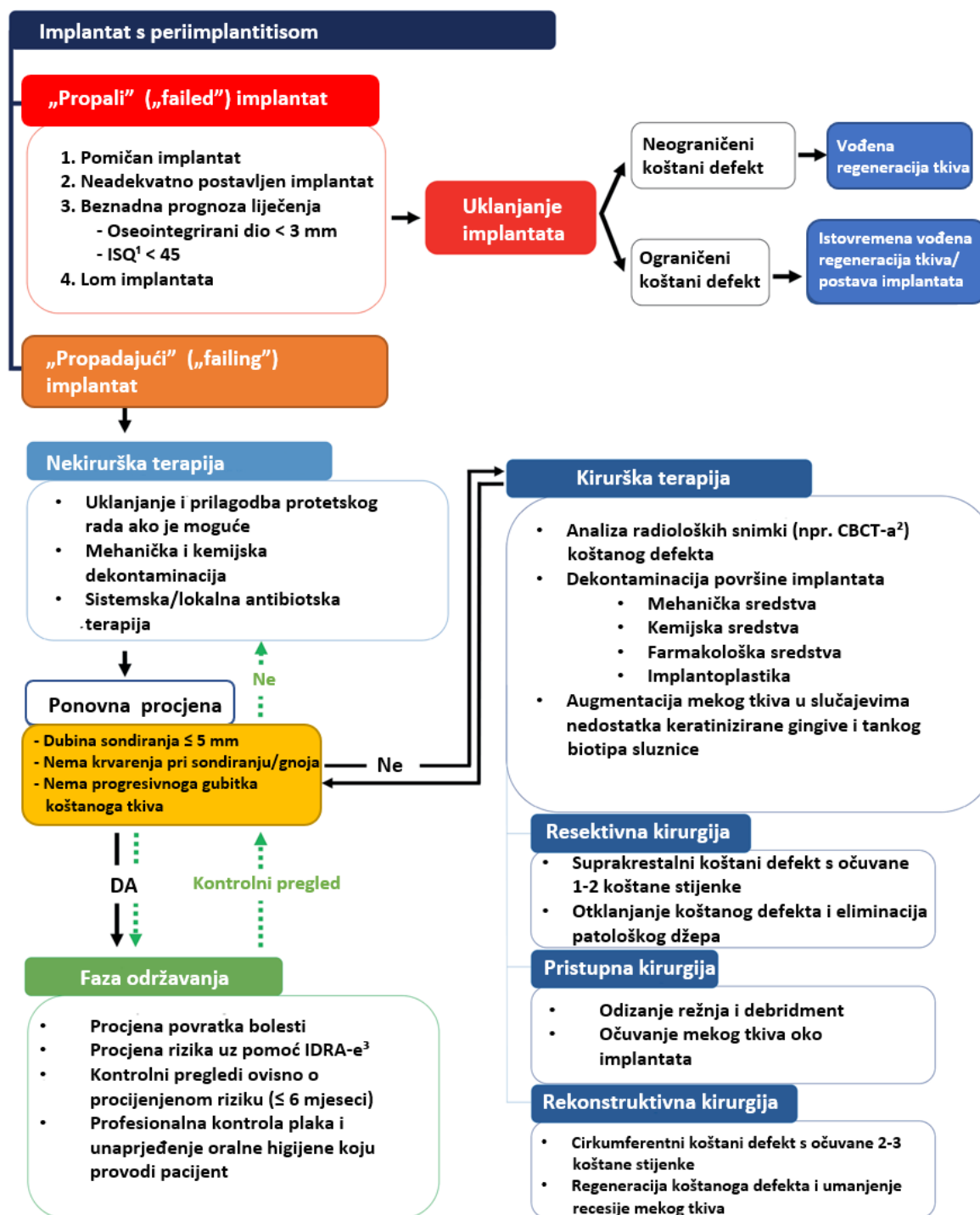
U periimplantitisu mikrobna zajednica postaje raznolikija i patogenija te se češće i u većem broju nalaze *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* te *Campylobacter rectus* (53,59). Također, prisutne su i manje uobičajene bakterije poput streptokoka i enterobakteriacea koje sekundarnim i oportunističkim infekcijama mogu doprinijeti razvoju i napredovanju bolesti (53).

U miševa bakterije *Staphylococcus aureus* i *Acinetobacter baumannii* povećavaju razinu proinflammatoryh citokina u tkivu oko titanskog implantata ugrađenog u femur, potiču lokalnu upalnu reakciju, uzrokuju resorpciju kosti oko implantata i sprječavaju oseointegraciju (60). Osim toga, *S. aureus* i *A. baumannii* među glavnim su uzročnicima teških, bolnički stečenih polimikrobnih infekcija poput pneumonije, bakterijemije i infekcija ortopedskih nadomjestaka (60,61). Obje bakterije nađene su i u usnoj šupljini, koja kao takva može djelovati kao rezervoar ovih patogena i potencijalni izvor sistemskih infekcija, osobito u imunokompromitiranih i hospitaliziranih pacijenata (62).

1.4.2. Liječenje periimplantatnih bolesti

Na temelju iskustava u liječenju parodontnih bolesti razvijeni su različiti protokoli i terapijski pristupi u liječenju periimplantnih bolesti (63,64). Mombelli i Lang 1998. godine predložili su kumulativnu interceptivnu potpurnu terapiju periimplantitisa (Cumulative Interceptive Supportive Therapy, CIST), koja je oblikovala današnje terapijske smjernice (63,64). Mombellijev i Langov protokol temeljio se na ranom otkrivanju periimplantatnih bolesti i pravovremenoj intervenciji kako bi se spriječio nastanak periimplantitisa ili zaustavilo njegovo napredovanje te time spriječio gubitak implantata (63). Hong i suradnici u radu iz 2024. godine nadogradili su temeljna načela ranijih protokola, poput Mombellijevog i Langovog (64). Njihov sveobuhvatni pristup temelji se na suvremenim znanstvenim smjernicama i naprednijim metodama liječenja periimplantitisa. Predloženi višefazni terapijski protokol pruža jasan okvir za donošenje odluka o eksplantaciji implantata zahvaćenih periimplantitisom, nekirurškom i kirurškom liječenju te važnosti kontrolnih pregleda i ponovne evaluacije stanja. Njihov terapijski model obuhvaća četiri međusobno povezane faze: inicijalnu procjenu rizika i planiranje terapije (Individualized Diagnosis and Risk Assessment – IDRA), nekiruršku terapiju, kiruršku terapiju i fazu održavanja. U protokolu Honga i suradnika, implantati zahvaćeni periimplantitisom klasificiraju se kao "propali" („failed”) i "propadajući" („failing”) (Slika 4). Neuspjeli, "propali" implantati

pokazuju karakteristične kliničke znakove i simptome uznapredovalog periimplantitisa, pri čemu progresivna destrukcija periimplantatnog koštanog i mekog tkiva čini njihovu prognozu liječenja izrazito nepovoljnom. Iako se kriteriji za eksplantaciju razlikuju među kliničarima, u situacijama kada je implantat pomičan, neadekvatno postavljen ili frakturiran, kada je unutar kosti manje od 3 mm tijela implantata ili je njegov kvocijent stabilnosti (Implant Stability Quotient, ISQ) manji od 45, preporučuje se eksplantirati implantat. U implantata zahvaćenih periimplantitisom s povoljnijim kliničkim i radiološkim nalazom nego što je prethodno opisan, gdje postoji mogućnost zaustavljanja napredovanja periimplantitisa i cijeljenja, indicirano je provođenje terapije (64).



Slika 4. Sveobuhvatni terapijski protokol za liječenje periimplantitisa (prema Hong i sur. (64); prilagođeno i prevedeno). ¹ ISQ – kvocijent stabilnosti implantata; ² CBCT – računalna tomografija stožastog snopa; ³ IDRA – individualizirana dijagnostika i procjena rizika

Nekirurška (zatvorena) terapija predstavlja prvi korak, inicijalnu fazu liječenja, čiji je cilj smanjenje upale i poboljšanje oralne higijene. Ova faza obuhvaća mehaničko uklanjanje mekih i tvrdih naslaga s površine implantata uz primjenu kemijskih sredstava te, prema potrebi, lokalnu ili sustavnu farmakoterapiju. Uklanjanjem protetskog nadomjestka i suprastrukture omogućuje se bolja vizualna inspekcija i izravniji pristup kontaminiranim površinama radi učinkovitijeg uklanjanja biofilma i dekontaminacije (64). Nekirurški pristup provodi se bez odizanja mukoperiostalnog reznja te je indiciran kod periimplantnog mukozitisa i početnih stadija periimplantitisa (64,65). Prilagodba nedostataka protetskih i restaurativnih radova na način da olakšavaju provođenje oralne higijene i uklanjanje plaka značajno poboljšava klinički ishod nekirurškog liječenja i sprječava ponovni nastanak upale. Tri mjeseca nakon provedene nekirurške terapije preporučuje se ponovna procjena kliničkog i radiološkog statusa implantata i okolnog tkiva te se, ovisno o nalazu, odlučuje o daljnjim koracima u liječenju (64).

Kirurška (otvorena) terapija indicirana je u slučajevima neadekvatnog odgovora tkiva na nekiruršku terapiju te kada nije postignut željeni terapijski ishod. Ova se terapija najčešće primjenjuje u umjerenim i teškim oblicima periimplantitisa nakon inicijalne nekirurške terapije. Za razliku od nekirurškog (zatvorenog) pristupa, kirurška terapija uključuje odizanje mukoperiostalnog reznja, čime se omogućuje izravniji vizualni pristup kontaminiranim površinama implantata i okolnim anatomskim strukturama. Ovaj pristup omogućuje izvođenje niza zahvata s ciljem uklanjanja upalnog tkiva, dekontaminacije površine implantata te, ovisno o kliničkoj situaciji, i preoblikovanje periimplantnih tkiva (64). U slučajevima uznapredovalog gubitka kosti, kirurški pristup omogućuje primjenu regenerativnih tehnika, kao što su vođena regeneracija tkiva (GTR) uz uporabu koštanih nadomjesnih materijala i membrana, čime se nastoji obnoviti izgubljeno tkivo i poboljšati stabilnost implantata (65,66).

Nakon provedene kirurške terapije, redoviti kontrolni pregledi u fazi održavanja i praćenje stanja ključni su za daljnju prevenciju nastanka periimplantitisa i zadržavanje funkcionalnog implantoprotetskog rada (64).

Bez obzira radi li se o nekirurškom (zatvorenom) ili kirurškom (otvorenom) pristupu, u liječenju periimplantitisa primjenjuju se različite metode uklanjanja biofilma i dekontaminacije površine implantata. Njih možemo podijeliti u četiri glavne skupine: mehanička sredstva, fizikalne metode, kemijska i farmakološka sredstva. Neke metode, poput mehaničkog čišćenja i kemijske dekontaminacije, upotrebljavaju se u obama pristupima, i

nekirurškom i kirurškom, no njihova učinkovitost često je veća u kirurškom pristupu zbog bolje vizualizacije i izravnijeg pristupa kontaminiranoj površini implantata (65,67).

1.4.2.1. Mehanička sredstva

Mehaničke metode predstavljaju temeljni pristup u uklanjanju biofilma s površine implantata u terapiji periimplantitisa (67,68). Njihov je osnovni cilj učinkovita eliminacija bakterijskog biofilma i mineraliziranih naslaga putem izravnog kontakta instrumenta s površinom implantata, uz istodobno očuvanje integriteta same površine. U ovu skupinu ubrajaju se ručne kirete, rotirajuće četkice te ultrazvučni nastavci, čiji se učinak primarno temelji na mehaničkom djelovanju vrha instrumenta. Uređaje za zračno poliranje također možemo ubrojiti u mehaničke metode zbog prevladavajućega abrazivnog učinka čestica na biofilm unatoč uporabi komprimiranog zraka kao nositelja energije (67-69). Svaka vrsta instrumenata ima svoje prednosti i ograničenja, neki su učinkovitiji u uklanjanju tvrdih naslaga, dok su drugi manje abrazivni i bolje čuvaju površinu implantata, ali s ograničenom učinkovitošću u uklanjanju tvrdih naslaga (70-74). U praksi se često upotrebljava kombinacija više metoda, prilagođenih vrsti implantata, obliku defekta i stadiju bolesti, kako bi se postigli što bolji terapijski rezultati (68).

Karbonske i plastične kirete u kliničkoj se praksi upotrebljavaju za kontrolu periimplantatnog biofilma, osobito u situacijama u kojima je očuvanje integriteta i izvorne morfologije površine implantata terapijski prioritet. U usporedbi s metalnim instrumentima, uključujući titanske kirete, njihova je primjena povezana s minimalnim rizikom od mikroskopskih oštećenja, ogrebotina i promjena površinske hrapavosti implantata, što je klinički važno jer mehanička oštećenja mogu pogodovati povećanoj bakterijskoj adheziji i otežati kontrolu upale (71,74,75). Takva svojstva čine karbonske i plastične kirete osobito pogodnima za implantate s modificiranom površinom u kojih je očuvanje površinske morfologije važno za održavanje povoljnih bioloških uvjeta i stabilnost površina uključenih u cijeljenje (75). Iako je njihova mehanička učinkovitost u uklanjanju tvrdih, mineraliziranih naslaga ograničena, karbonske i plastične kirete ostaju instrumenti izbora u fazi održavanja, u liječenju periimplantatnog mukozitisa, kao i tijekom inicijalne nekirurške terapije blažih oblika periimplantitisa (69,76). U slučajevima uznapredovalog periimplantitisa, njihova se primjena najčešće provodi u sklopu širega, multimodalnog terapijskog pristupa u kombinaciji s drugim metodama dekontaminacije (69,76).

Rotirajuće četkice u odnosu na ručne instrumente, poput kireta, omogućuju učinkovitije uklanjanje bakterijskog biofilma, posebno na teško dostupnim površinama implantata, poput dubokih navoja i unutarnjih dijelova koštanih defekata (68,70). Zahvaljujući stalnom mehaničkom pokretu i kontroliranom pritisku, čišćenje je ujednačenije i manje ovisno o individualnoj tehnici terapeuta, što doprinosi većoj predvidivosti kliničkog ishoda (70,72). Rotirajuće četkice za dekontaminaciju dentalnih implantata mogu biti izrađene od različitih materijala, a izbor materijala značajno utječe na učinkovitost i sigurnost postupka. Titanske četkice imaju jači mehanički učinak i prikladne su za tvrdokorne naslage, ali uz veći rizik od oštećenja površine implantata (71,74). Ichioka i sur. u istraživanju navode kako su nakon uklanjanja biofilma četkicom s nikal-titanskim vlaknima na površini titanskih diskova vidljivi tragovi oštećenja (77). Također se upotrebljavaju vlakna od poliestera i drugih polimera, često u kombinaciji s abrazivnim česticama za dodatnu učinkovitost (72,75). Noviji pristupi uključuju i četkice s vlaknima od hitozana. Hitozan je prirodni polisaharid dobiven deacetilacijom hitina iz ljuski morskih rakova te je poznat po svojoj visokoj biološkoj inertnosti, biorazgradivosti i blagim antimikrobnim svojstvima (69,76). *In vitro* istraživanja pokazala su da hitozanska vlakna ne uzrokuju značajne promjene u hrapavosti titanske površine, dok istodobno osiguravaju učinkovito uklanjanje biofilma s teško dostupnih područja uključujući navoje, mikroudubine i složene površinske konfiguracije (69,76). U usporedbi s titanskim četkicama, koje mogu uzrokovati promjene na površini dentalnih implantata, hitozanske četkice nude klinički relevantnu alternativu kad je cilj očuvanje implantatne površine, osobito kod implantata s modificiranom površinom kod kojih je ponovna reoseintegracija često moguća samo uz očuvanje integriteta površinske strukture (69,73,74).

1.4.2.2. Fizikalne metode

Fizikalne metode obuhvaćaju terapijske pristupe koji se temelje na primjeni različitih oblika energije za dekontaminaciju površine implantata pri čemu mehanički kontakt ne predstavlja dominantan mehanizam djelovanja. Njihova je svrha uklanjanje ili inaktivacija bakterijskog biofilma uz minimalno oštećenje površine implantata. U ovu skupinu ubrajaju se laserske tehnologije, fotodinamska terapija, terapija plazmom te novija elektrolitička metoda dekontaminacije. Navedene metode djeluju termičkim, fotokemijskim ili elektrokemijskim mehanizmima, čime omogućuju učinkovitu redukciju mikroorganizama bez izravne mehaničke abrazije površine (67,68).

Laserski sustavi predstavljaju obećavajuću dopunsku metodu u liječenju periimplantitisa jer omogućuju selektivno djelovanje na bakterijski biofilm uz očuvanje strukturalnog integriteta površine implantata (67,78). Učinak laserskih sustava temelji se na njihovim fizikalnim svojstvima – valnoj duljini, apsorpciji u vodi i hidroksiapatitu, načinu interakcije s titanom te intenzitetu i trajanju djelovanja laserske energije (67). Od laserskih sustava, erbijevi laseri Er:YAG (erbium-doped yttrium–aluminum–garnet) i Er,Cr:YSGG (erbium, chromium: yttrium–scandium–gallium–garnet) najdosljednije se izdvajaju kao oni koji osiguravaju učinkovito uklanjanje biofilma, a pritom čuvaju morfologiju površine implantata pokazujući visok stupanj biološke sigurnosti za okolna tkiva (78-80).

Ugljik dioksidni (CO₂) laseri odlikuju se visokom apsorpcijom u vodi i hidroksiapatitu, što ih čini učinkovitim pri zahvatima na mekim i tvrdim tkivima, međutim, njihova sposobnost uklanjanja tvrdih naslaga i čvrsto vezanog biofilma s implantata slabija je u usporedbi s erbijevim laserima (78). Neodimijem dopirani laseri (Nd:YAG) i većina diodnih lasera pokazuju ograničenu djelotvornost u uklanjanju biofilma te veći rizik od prekomjernog zagrijavanja i promjene strukture površine implantata (67,78). Unatoč brojnim prednostima laserskih sustava, osobito erbijevih, njihova klinička učinkovitost i dugoročna pouzdanost i dalje ovise o precizno definiranim protokolima uključujući valnu duljinu, snagu, način primjene i duljinu izloženosti. Stoga su potrebna dodatna, dobro dizajnirana klinička istraživanja kako bi se potvrdila predvidljivost laserskih postupaka u dugom roku i kako bi se ti protokoli ujednačili u svakodnevnoj praksi (67,78,80).

Istodobno, s napretkom laserskih tehnologija u posljednjih nekoliko godina razvile su se i novije, konceptualno različite fizikalne metode dekontaminacije implantata, među kojima se osobito ističe elektrolitička metoda.

Pri elektrolitičkoj dekontaminaciji titanski implantat djeluje kao katoda unutar kontroliranoga elektrokemijskog sustava, dok se preko glave raspršivača, postavljene na koronarni dio implantata, kontinuirano dovodi otopina za čišćenje, koja služi kao elektrolit (81). Primjenom niskoga istosmjernog napona na površini implantata odvija se katodna redukcija vode, pri čemu nastaje molekularni vodik u obliku mikromjehurića koji izbijaju izravno iz mikrohrapavih struktura i udubina implantata (81). Ključna prednost metode proizlazi upravo iz mjesta njihova nastanka: mjehurići se formiraju ispod biofilma, između površine implantata i mikrobnog sloja. Tako stvaraju lokalizirane mikro-mehaničke sile koje odvajaju, fragmentiraju i potiskuju biofilm iz najdubljih mikropora i nepravilnosti površine, što je osobito važno u implantata s izraženom topografijom (81). Kako reakcija napreduje, nastajanje hidroksidnih iona čini površinu implantata lokalno alkalnom, što dodatno

destabilizira biofilm i remeti adhezivna svojstva bakterijskih kolonija. Otopina za čišćenje održava stabilan elektrokemijski okoliš bez stvaranja agresivnih nusprodukata. Klinički je uočljiv pokazatelj učinkovite elektrolize karakteristično „pjenušanje” oko implantata, koje nastaje kao posljedica stvaranja vodikovih mjehurića, ključnog mehanizma odgovornog za podizanje i fragmentaciju biofilma u kontaktnom sloju (81). Istodobno, kontinuirani tok otopine ispire odvojene naslage, dok implantat ostaje biološki čist, bez toplinskih, mehaničkih ili kemijskih oštećenja.

Dostupna *in vitro* istraživanja upućuju na visoku učinkovitost elektrolitičkog čišćenja u uklanjanju biofilma, uz istodobno izražen antimikrobni učinak (81,82). Randomizirano kontrolirano kliničko istraživanje pokazalo je da ova metoda omogućuje učinkovitu dekontaminaciju implantne površine, što je povezano sa značajnim poboljšanjem kliničkih i radioloških parametara periimplantitisa te održivošću postignutih rezultata tijekom 18 mjeseci praćenja (83). Nadalje, prikaz slučaja ukazuje na mogućnost reoseintegracije dentalnih implantata u ljudi nakon primjene elektrolitičkog čišćenja u kombinaciji s regenerativnom terapijom (84). Pri tome primjena elektrolitičkog čišćenja u skladu s preporučenim protokolom niti dovodi do mjerljivih promjena u topografiji površine titanskih implantata niti utječe na njihovu mehaničku stabilnost (85).

Iako pregled dostupnih kliničkih istraživanja upućuje na to da je metoda sigurna i klinički primjenjiva, nužna su daljnja, metodološki snažna istraživanja kako bi se pouzdano procijenila njezina dugoročna učinkovitost, predvidljivost te jasno definirala klinička vrijednost i granice primjene (86). U tome bi svoju ulogu mogla imati i dodatna *in vitro* istraživanja jer omogućuju kontrolirano, ponovljivo i standardizirano okruženje u kojem se mogu izolirati ključni mehanizmi djelovanja, optimizirati parametri te objektivno usporediti elektrolitičku metodu s konvencionalnim metodama dekontaminacije.

1.4.2.3. Kemijska sredstva

Kemijska sredstva predstavljaju važan dodatak mehaničkim i fizikalnim postupcima u liječenju periimplantitisa. Zbog složene mikrostrukture površine implantata, bakterijski biofilm može ostati zaštićen unutar navoja i manjih udubljenja na površini, što otežava njegovo potpuno uklanjanje. Stoga se kemijska sredstva najčešće primjenjuju kao adjuvantna terapija radi inaktivacije preostalih patogena i neutralizacije endotoksina, uz istodobno stvaranje povoljnijih uvjeta za ponovnu interakciju kosti s površinom implantata i potencijalnu reoseintegraciju. Kemijska sredstva koja se najčešće upotrebljavaju uključuju

sterilnu fiziološku otopinu, vodikov peroksid (H_2O_2), limunsku, fosforu i etilendiamintetraoctenu kiselinu (EDTA) te klorheksidin glukonat. Svako od navedenih sredstava odlikuje se specifičnim mehanizmom djelovanja te različitim profilom učinkovitosti i sigurnosti.

Sterilna fiziološka otopina, iako nema izravan antimikrobni učinak, upotrebljava se kao sredstvo za ispiranje i mehaničko uklanjanje bakterijskih i nekrotičnih ostataka nakon provedene mehaničke obrade površine implantata (67).

Djelovanje H_2O_2 temelji se na stvaranju reaktivnih kisikovih spojeva koji oštećuju nukleinske kiseline, lipide i proteine staničnih membrana mikroorganizama. U terapiji periimplantitisa H_2O_2 smatra se relativno sigurnim sredstvom kada se primjenjuje u odgovarajućim koncentracijama te se najčešće upotrebljava kao pomoćno sredstvo u kombinaciji s mehaničkom dekontaminacijom (67).

Limunska kiselina slaba je organska kiselina čije se antimikrobno djelovanje pripisuje sniženju unutarstaničnog pH nakon prolaska nedisociranog oblika kroz bakterijsku staničnu membranu. Međutim, novija istraživanja pokazuju da i njezin potpuno ionizirani oblik (CA^{3-}) može značajno narušiti vitalnost bakterijskih stanica keliranjem metalnih iona i destabilizacijom stanične membrane (87). Osim antimikrobnog učinka limunska kiselina može poboljšati hidrofilnost površine implantata i adheziju krvnih stanica, što može imati povoljan učinak u ranoj fazi cijeljenja (67). Zahvaljujući tim svojstvima, limunska kiselina smatra se učinkovitim sredstvom za dekontaminaciju površina implantata uz relativno očuvanu biokompatibilnost, pod uvjetom primjene odgovarajuće koncentracije i vremena djelovanja (79).

EDTA, kao kelirajući agens, razgrađuje strukturu biofilma i destabilizira vezu bakterijskih kolonija s površinom implantata pri čemu pokazuje nisku razinu citotoksičnosti. Iako je broj dostupnih dokaza koji podupiru primjenu EDTA-e za dekontaminaciju površine implantata ograničen, dosadašnji rezultati ukazuju na povoljan biološki odgovor tkiva te na potencijal EDTA-e da pojača antimikrobno djelovanje drugih kemoterapijskih sredstava (67).

Zahvaljujući širokom antimikrobnom spektru, kemijskoj stabilnosti i produženom antimikrobnom učinku, poznatom kao substantivnost, klorheksidin predstavlja jedno od najčešće upotrebljivanih kemijskih sredstava u svakodnevnoj stomatološkoj praksi (79,88). Klorheksidin je kationski bisbiguanidni antiseptik čija je klinička važnost u dentalnoj medicini prepoznata tijekom 1970-ih godina, nakon čega je 1976. uveden u kliničku primjenu u obliku otopine za ispiranje usne šupljine (88). Danas se klorheksidin primjenjuje u različitim farmaceutskim oblicima uključujući otopine, gelove, sustave s kontroliranim

otpuštanjem (čipove) i lakove, kao adjuvantno sredstvo u kontroli oralnog biofilma i upalnih procesa (79,88).

Mehanizam djelovanja klorheksidina temelji se na njegovoj kationskoj prirodi. Pozitivno nabijene molekule klorheksidina elektrostatski se vežu na negativno nabijene površine bakterijskih stanica. Nakon adsorpcije klorheksidin pasivnom difuzijom prodire kroz staničnu stijenku, oštećuje citoplazmatsku membranu i povećava njezinu propusnost, što dovodi do gubitka intracelularnih komponenti i inhibicije membranskih enzima. Dodatno, zbog afiniteta prema negativno nabijenim oralnim površinama, uključujući sluznicu, zube i salivarne glikoproteine, klorheksidin učinkovito inhibira adheziju bakterija te pokazuje produženo djelovanje koje može trajati i do 12 sati.

U kontekstu implantologije primjena klorheksidina, kao adjuvantnog sredstva u nekirurškom liječenju periimplantnih bolesti, pokazuje ograničenu dodatnu korist u odnosu na samo mehaničku terapiju, uz heterogene rezultate među studijama (89). Dodatno, klorheksidin se povezuje i s nizom potencijalnih neželjenih učinaka, među kojima su najčešći diskoloracije zuba i protetskih nadomjestaka, poremećaji osjeta okusa te moguća citotoksičnost prema fibroblastima i osteoblastima, osobito pri dugotrajnoj ili neselektivnoj primjeni (88). Iako se klorheksidin u kliničkoj praksi uglavnom preporučuje kao privremena adjuvantna mjera, njegova primjena u *in vitro* istraživanjima mogla bi se smatrati opravdanom s metodološkog i znanstvenog stajališta. Kao jedno od najopsežnije istraženih antimikrobnih sredstava u dentalnoj medicini, klorheksidin osigurava stabilan, dobro dokumentiran i reproducibilan učinak, što ga čini prikladnom referentnom metodom za usporedbu učinkovitosti konvencionalnih i novijih dekontaminacijskih pristupa.

1.4.2.4. Farmakološka sredstva

Antibiotici u liječenju periimplantitisa predstavljaju dopunsku terapijsku opciju koja može poboljšati ishod liječenja u jasno definiranim kliničkim situacijama, ali samo kada su integrirani u cjelovit terapijski pristup usmjeren na učinkovitu kontrolu biofilma i etioloških čimbenika bolesti (65). Za razliku od kemijskih sredstava za dekontaminaciju, koja djeluju nespecifično i lokalno, antibiotici ostvaruju specifično farmakološko djelovanje te se mogu primjenjivati lokalno i sistemski. Unatoč tomu oni ne mogu zamijeniti temeljnu terapiju periimplantitisa, koja podrazumijeva mehaničko uklanjanje biofilma, kemijsku i/ili fizikalnu dekontaminaciju površine implantata te kontrolu etioloških čimbenika bolesti (65,90).

Mehanizam djelovanja antibiotika temelji se na ciljanom ometanju temeljnih metaboličkih i strukturnih funkcija bakterijskih stanica uključenih u periimplantnu infekciju. Beta-laktamski antibiotici, poput amoksicilina, vežu se na penicilin-vezujuće proteine čime inhibiraju sintezu peptidoglikanske stanične stijenke, uzrokuju gubitak njezina strukturnog integriteta te dovode do osmotskog bubrenja i lize bakterijske stanice. Metronidazol djeluje tako da se u anaerobnim bakterijama reducira u reaktivne metabolite koji oštećuju DNA i onemogućuju replikaciju, što dovodi do smrti bakterijske stanice. Tetraciklini i klindamicin inhibiraju sintezu proteina vezanjem na ribosomske podjedinice, 30S, odnosno 50S, čime se zaustavlja rast i proliferacija bakterija. Doksiciklin, uz antibakterijski učinak, inhibira matriks-metaloproteinaze te time smanjuje razgradnju kolagena i oštećenje periimplantnih tkiva (91). Lokalna primijena antibiotika, najčešće u obliku gelova, bioapsorbirajućih mikrosfera ili impregniranih vlakana omogućuje postizanje vrlo visokih koncentracija lijeka izravno u periimplantnom džepu uz minimalnu sistemsku izloženost i smanjen rizik nuspojava (91,92). Zbog toga lokalni antibiotici u odabranim kliničkim situacijama imaju povoljniji omjer koristi i rizika u odnosu na sistemski primijenjene antibiotike.

Sistemski antibiotici, poput amoksicilina, metronidazola, njihove kombinacije ili azitromicina, najčešće se primjenjuju u sklopu kirurške terapije u težim oblicima periimplantitisa, osobito kada je prisutan značajan gubitak kosti, znakovi generalizirane infekcije ili izraženi sistemski rizični čimbenici pacijenta (65). Iako sistemska antibiotska terapija može rezultirati kratkoročnim smanjenjem bakterijskog opterećenja, supuracije i progresije gubitka kosti, dostupni dokazi upućuju na to da ona ne dovodi do trajnog poboljšanja ključnih kliničkih parametara, poput dubine sondiranja i krvarenja pri sondiranju (90,93). Europska federacija za parodontologiju (EFP) u smjernicama iz 2023. godine jasno navodi da se ni sistemski ni lokalni antibiotici ne preporučuju za rutinsku primjenu, već isključivo kao dio individualno prilagođenoga terapijskog plana s jasno definiranim indikacijama (65). Dodatno, zbog ograničene dugoročne učinkovitosti, mogućih nuspojava i rastućeg problema antimikrobne rezistencije, njihova uporaba mora biti selektivna, klinički opravdana i u skladu s načelima odgovorne antibiotske terapije (90,93).

Terapijski pristupi u liječenju periimplantitisa obuhvaćaju različite mehaničke, fizikalne, kemijske i farmakološke metode, pri čemu svaka od njih ima određene prednosti i ograničenja. Izbor odgovarajuće metode trebao bi se temeljiti na cjelovitoj kliničkoj i radiološkoj procjeni uzimajući u obzir stupanj i morfologiju periimplantnog defekta, tip i

površinske karakteristike implantata, prisutnost lokalnih i sistemskih rizičnih čimbenika te mogućnost dugoročnog održavanja periimplantnog zdravlja.

S obzirom na kontinuirani porast primjene dentalnih implantata, kao i činjenicu da postoje pacijenti s implantatima koji su u funkciji već nekoliko desetljeća, prevencija i liječenje periimplantatnih bolesti predstavljaju velik izazov za znanstvenike i kliničare (6,94-96). Unatoč razvoju i dostupnosti različitih terapijskih modaliteta, trenutačno ne postoji jasan konsenzus o superiornosti pojedinog pristupa ili metode u liječenju periimplantitisa (67,68,79,81,97).

Prema dostupnoj literaturi nema podataka o *in vitro* istraživanjima koja u standardiziranim uvjetima izravno uspoređuju elektrolitičku metodu dekontaminacije s konvencionalnim metodama poput klorheksidina, hitozanske četkice, njihove kombinacije te plastične kirete. Također, dostupni podaci ne upućuju na postojanje istraživanja u kojima su navedene metode ispitivane na modelima biofilma formiranog od mikroorganizama *A. baumannii* i *S. aureus* s izraženim potencijalom stvaranja biofilma i sudjelovanja u perzistentnim infekcijama. U skladu s tim sustavna i kontrolirana usporedba ovih metoda u reproducibilnim *in vitro* uvjetima mogla bi doprinijeti objektivnijem vrednovanju njihove učinkovitosti te pružiti utemeljenu osnovu za daljnju kliničku evaluaciju i razvoj terapijskih smjernica.

2. HIPOTEZE I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U kontekstu ograničene učinkovitosti postojećih terapijskih pristupa i izostanka jasnog konsenzusa o optimalnoj metodi liječenja periimplantitisa, postoji potreba za istraživanjima koja omogućuju objektivnu i usporedivu procjenu učinkovitosti različitih metoda dekontaminacije površine dentalnih implantata. Elektrolitička metoda dekontaminacije nameće se kao potencijalno obećavajući pristup zbog svojega specifičnog mehanizma djelovanja.

Provedba *in vitro* istraživanja omogućuje primjenu kontroliranih i standardiziranih uvjeta, preciznu kvantifikaciju bakterijskog opterećenja te izravnu usporedbu konvencionalnih metoda dekontaminacije i novije elektrolitičke metode. Cilj je ovakvog pristupa dobiti jasno usporedive podatke o učinkovitosti uklanjanja bakterijskog biofilma s površine implantata te procijeniti potencijal elektrolitičke dekontaminacije kao suvremenoga terapijskog pristupa. Dobiveni rezultati mogu pridonijeti boljem razumijevanju mogućnosti primjene pojedinih metoda i poslužiti kao znanstvena osnova za daljnja istraživanja i optimizaciju terapijskih protokola u liječenju periimplantitisa.

2.1. Primarni cilj istraživanja

Utvrditi učinkovitost uklanjanja biofilma, odnosno smanjenja broja jedinica koje tvore koloniju (colony-forming unit - CFU) *A. baumannii* i *S. aureus* koristeći se elektrolitičkim i konvencionalnim metodama dekontaminacije površine dentalnih implantata.

2.2. Sekundarni cilj istraživanja

Usporediti učinkovitost uklanjanja biofilma s obzirom na vrstu bakterije.

2.3. Hipoteze istraživanja:

1. Elektrolitička dekontaminacija površine dentalnih implantata učinkovitija je od konvencionalnih metoda.
2. Ne postoji statistički značajna razlika u uklanjanju biofilma s obzirom na vrstu bakterije.

3. MATERIJALI I POSTUPCI

Istraživanje je provedeno u skladu s etičkim načelima i važećim propisima. Prije početka istraživanja ishođeno je odobrenje Etičkog odbora Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (br. 05-PA-30-22-11/2023), koje je doneseno na redovitoj sjednici održanoj 23. listopada 2023. godine. Tema doktorske disertacije obranjena je 16. rujna 2024. godine. Nakon obrane teme Fakultetsko vijeće Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu donijelo je odluku o prihvaćanju izvješća Povjerenstva za ocjenu teme dokorskog rada na svojoj II. sjednici održanoj 31. listopada 2024. godine.

3.1. Postupak istraživanja

Istraživanje je provedeno u laboratoriju Kliničkog zavoda za kliničku mikrobiologiju, prevenciju i kontrolu infekcija Kliničkog bolničkog centra Zagreb u kontroliranim *in vitro* uvjetima. U ispitivanje je uključeno ukupno 150 dentalnih implantata promjera 4,0 mm i duljine 10 mm (GC Aadva Standard Implants; GC Tech Europe GmbH, Breckerfeld, Njemačka). Odabrani implantati pripadaju skupini implantata koji se ugrađuju u razini kosti (eng. bone-level) te su izrađeni od titanske legure Ti₆Al₄V (Grade 5) (98). Površina implantata obrađena je postupkom *Aanchor® Surface Technology*, koji uključuje pjeskarenje česticama aluminijske oksida i kiselinsko jetkanje, čime se postiže mikrohrapava površina (98). Implantati imaju cilindrično tijelo s progresivnim navojima duž cijele duljine te mikronavoje u cervikalnom području.

Veličina uzorka određena je primjenom Lehtrova formule (99).

$$n = \frac{16}{\Delta^2}$$

Ovdje smo za Δ pretpostavili vrijednost 0,8 što prema Cohenu odgovara velikim efektima (100). Za formiranje bakterijskog biofilma upotrijebljeni su klinički izolati *A. baumannii* i *S. aureus*, prethodno izolirani iz kliničkih uzoraka u KBC-u Zagreb. Bakterije su uzgajane odvojeno na krvnom agaru obogaćenom s 5 % ovčje krvi u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 35 °C tijekom 48 sati. Nakon inkubacije po jedna kolonija svake bakterije inokulirana je u 10 mL moždano-srčanog bujona te inkubirana u aerobnim uvjetima pri 35 °C tijekom 24 sata. Dobivene bakterijske suspenzije potom su pomiješane u omjeru 1:1 kako bi se dobila polimikrobna suspenzija.

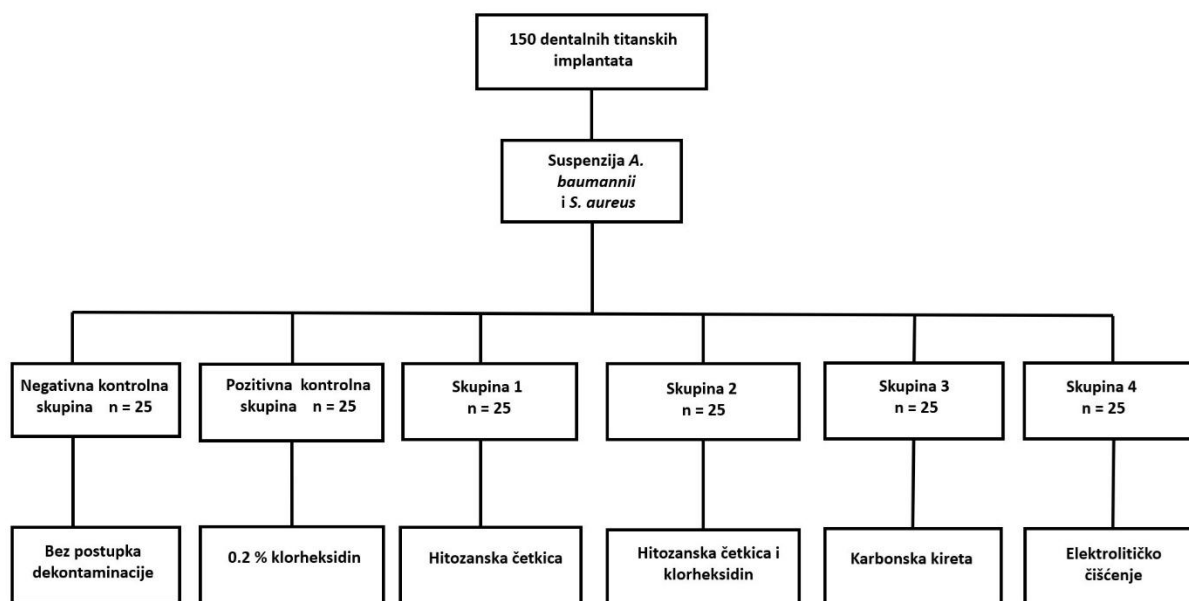
U 150 sterilnih Eppendorfovih epruveta zapremnine 1,5 mL dodano je po 500 μ L pripremljene bakterijske suspenzije. Implantati su sterilnim instrumentima izvađeni iz originalnog sterilnog pakiranja te pojedinačno uronjeni u epruvete s bakterijskom suspenzijom *A. baumannii* i *S. aureus* (Slika 5).



Slika 5. Titanski dentalni implantat uronjen u Eppendorfovu epruvetu s miješanom bakterijskom suspenzijom *A. baumannii* i *S. aureus*.

Epruvete su inkubirane u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 37 °C tijekom sedam dana, čime je omogućeno formiranje i sazrijevanje miješanoga bakterijskog biofilma. Svaki 48 sati u svaku epruvetu je dodano 250 μ L svježe bakterijske suspenzije kako bi se osigurao kontinuirani bakterijski rast.

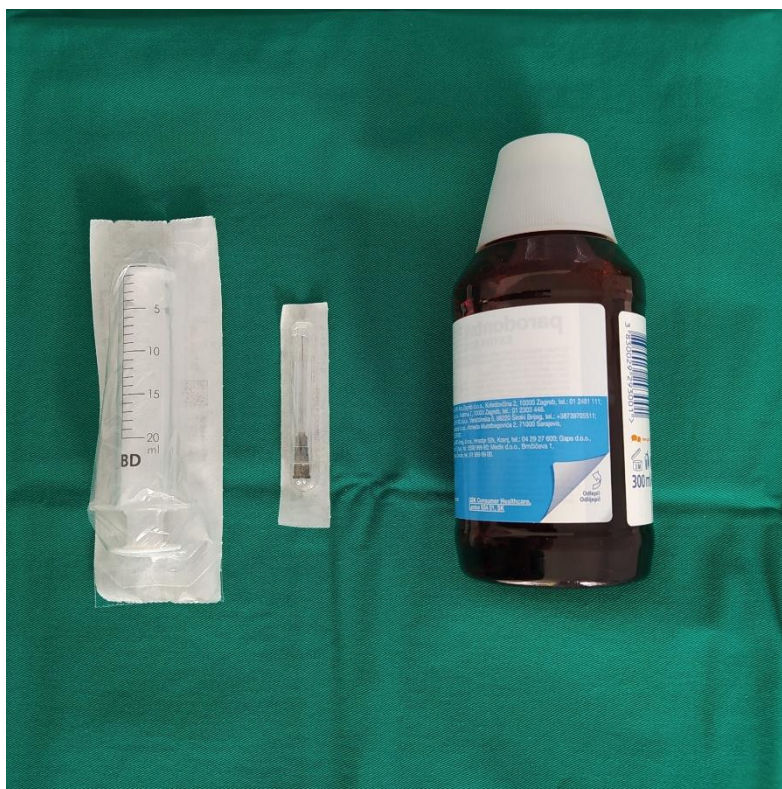
Nakon završetka inkubacije implantati su nasumično raspoređeni u šest skupina ($n = 25$): negativnu kontrolnu skupinu, pozitivnu kontrolnu skupinu te četiri eksperimentalne skupine, ovisno o primijenjenoj metodi uklanjanja bakterijskog biofilma (Slika 6).



Slika 6. Shematski prikaz raspodjele implantata u kontrolne i eksperimentalne skupine prema primijenjenim metodama dekontaminacije bakterijskog biofilma.

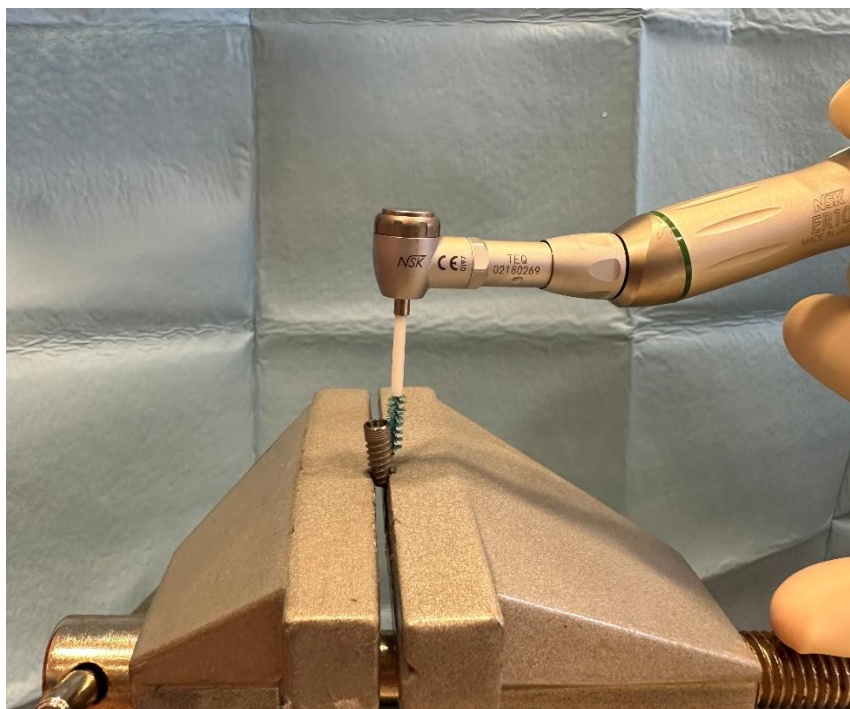
Implantati su sterilnim pincetama izvađeni iz suspenzije, isprani sterilnom fiziološkom otopinom te nježno osušeni sterilnom gazom kako bi se uklonio višak tekućine, uz očuvanje formiranog biofilma. Tijekom svih postupaka implantati su bili fiksirani na sterilni držač kako bi se spriječilo njihovo pomicanje ili rotacija.

Implantati negativne kontrolne skupine ($n = 25$) nisu bili podvrgnuti nijednom postupku dekontaminacije. Implantati pozitivne kontrolne skupine ($n = 25$) ispirani su 0,2%-tnom otopinom klorheksidina (CHX) tijekom jedne minute pomoću štrcaljke zapremnine 20 mL i igle promjera 22G (Slika 7). Vrh igle bio je postavljen na udaljenosti od 3 do 5 mm od površine implantata, pod kutom od 60° do 90° u odnosu na uzdužnu os implantata. Nakon tretmana klorheksidinom implantati su ispirani sterilnom fiziološkom otopinom tijekom jedne minute kako bi se uklonili ostaci antiseptika.



Slika 7. Štrcaljka, igla i otopina klorheksidina upotrijebljeni za ispiranje površine implantata tijekom postupka dekontaminacije.

Implantati iz skupine 1 ($n = 25$) tretirani su hitozanskom četkicom (Labrida BioClean™, Labrida AS, Oslo, Norveška) postavljenom na kolječnik (ER10M, TEQ-Y, NSK Inc., Kanuma Tochigi, Japan) (Slika 8). Četkica je tijekom cijelog postupka bila postavljena paralelno s uzdužnom osi implantata, uz kontinuirani kontakt vlakana s površinom implantata. Tretman je trajao dvije minute, nakon čega je površina implantata isprana sterilnom fiziološkom otopinom.



Slika 8. Mehaničko čišćenje površine implantata hitozanskom četkicom postavljenom u kolječnik.

Implantati skupine 2 ($n = 25$) podvrgnuti su istom mehaničkom tretmanu hitozanskom četkicom, uz dodatni postupak ispiranja 0,2%-tnom otopinom klorheksidina, kako je prethodno opisano kod implantata iz pozitivne kontrolne skupine.

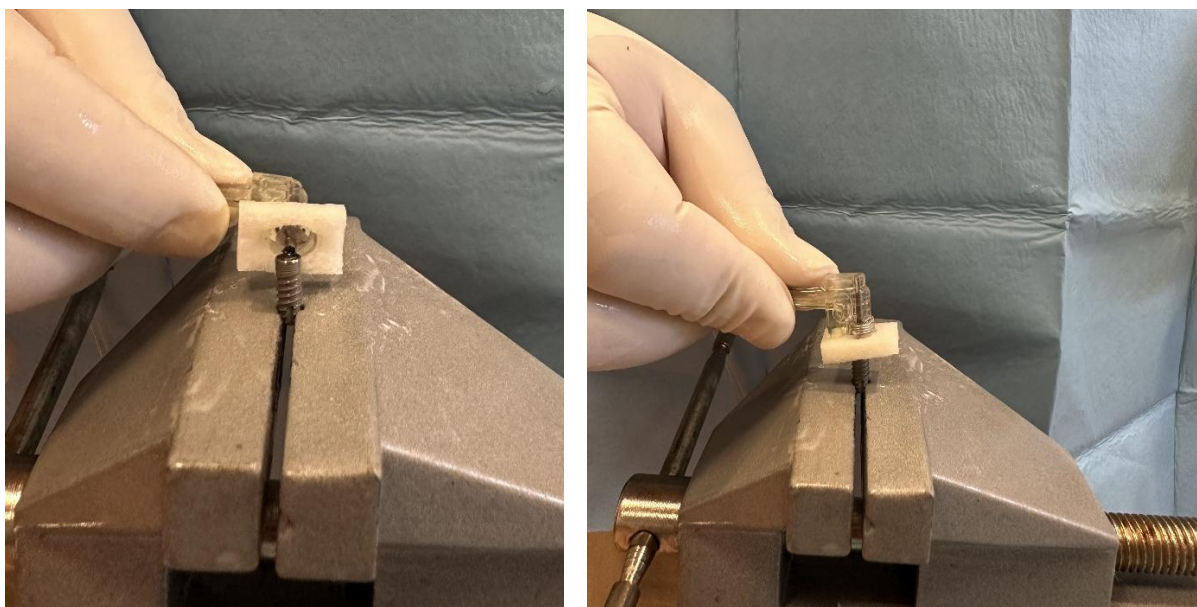
Implantati iz skupine 3 ($n = 25$) tretirani su plastičnom kiretom ojačanom karbonskim vlaknima (Hawe Light-Curette, KerrHawe SA, Bioggio, Švicarska), primjenom okomitih pokreta radnim rubom instrumenta prema površini implantata (Slika 9).



Slika 9. Uklanjanje bakterijskog biofilma s površine implantata plastičnom kiretom ojačanom karbonskim vlaknima.

Implantati iz skupine 4 ($n = 25$) dekontaminirani su elektrolitičkom metodom pomoću uređaja GalvoSurge® (GalvoSurge, GalvoSurge Dental AG, Widnau, Švicarska). Sustav za elektrolitičko čišćenje sastoji se od upravljačke jedinice, izvora napajanja, potporne šipke s držačem cijevi te jednokratnog seta koji uključuje bocu s otopinom za čišćenje i sustav cijevi s integriranom glavom raspršivača. Otopina za čišćenje temelji se na vodenoj otopini hidroksikarbonske kiseline u obliku natrijeve soli, koja se tijekom postupka kontinuirano dovodi do površine implantata pomoću peristaltičke pumpe. Glava raspršivača, koja sadrži titansku elektrodu (anodu) i spužvasti nastavak, postavljena je na implantat tako da je spojka bila u kontaktu s unutrašnjošću implantata, čime je osigurana električna vodljivost sustava (Slika 10). Tijekom postupka glava raspršivača održavana je u stabilnom kontaktu s implantatom uz blagi vertikalni pritisak.

Nakon aktivacije uređaja otopina za čišćenje pumpana je iz boce kroz sustav cijevi do glave raspršivača, gdje se ravnomjerno raspodjeljivala oko implantata. Istodobno je na implantat primijenjen niski napon, čime je pokrenut elektrokemijski proces na granici implantat – elektrolit. Ovaj proces rezultirao je stvaranjem vodikovih mjehurića na površini implantata (katodna reakcija). Tijekom cijelog postupka osigurana je kontinuirana opskrba otopinom i vizualna kontrola stvaranja mjehurića, što predstavlja indikator pravilnog odvijanja elektrolitičke reakcije. Ukupno trajanje dekontaminacije iznosilo je 2 minute za svaki implantat, nakon čega je uređaj automatski prekidao proces.



Slika 10. Glava raspršivača elektrolitičkog uređaja postavljena na implantat tijekom postupka dekontaminacije.

Kako bi se spriječila unakrsna kontaminacija, držač implantata dezinficiran je 70%-tnom otopinom etanola i sterilnom fiziološkom otopinom nakon svakog pojedinačnog tretmana. Tijekom cijelog postupka upotrebljavani su sterilni instrumenti i sterilne rukavice. Uzorci su prikupljeni sterilnim papirnatim štapićima izvođenjem pet vodoravnih poteza između drugog i petog navoja implantata, gledano od koronarno prema apikalno (Slika 11).

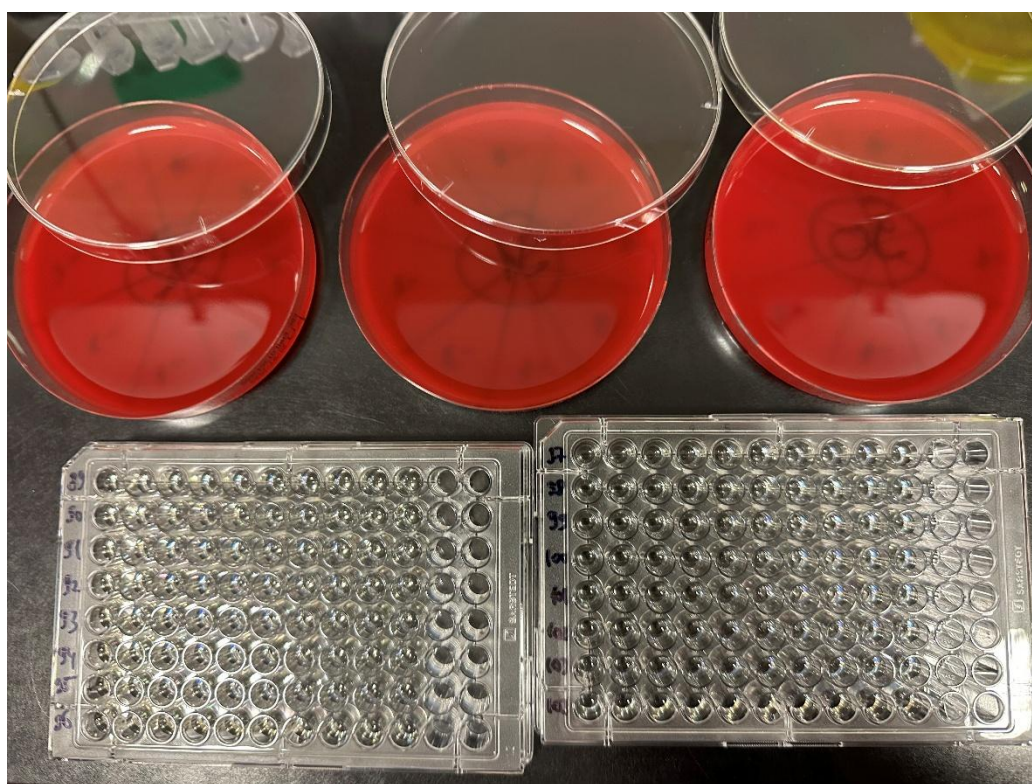


Slika 11. Uzorkovanje bakterijskog biofilma s površine implantata sterilnim papirnatim štapićem između navoja implantata.

Svaki štapić uronjen je u zasebnu Eppendorfovnu epruvetu koja je sadržavala 200 μL fiziološke otopine puferirane fosfatom (PBS). Epruvete su vorteksirane 40 sekundi pri brzini od 2850 rpm (Slike 12 i 13).

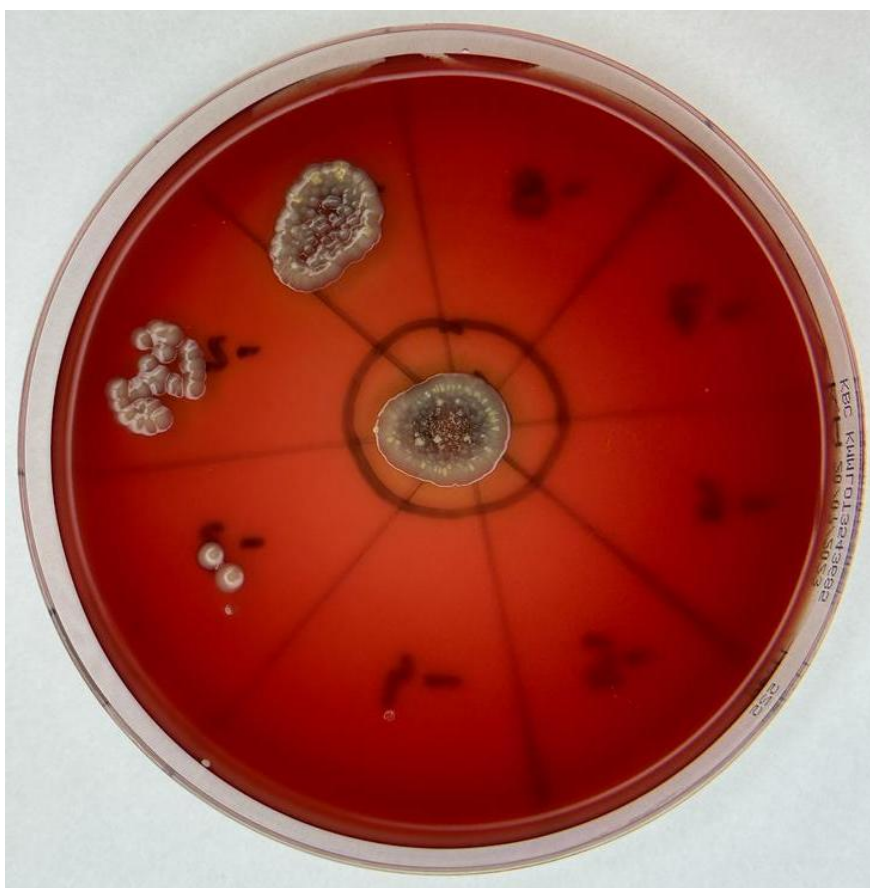


Slika 12. Vorteksiranje Eppendorfovih epruveta koje sadrže papirnate štapiće fiziološkom otopinom puferiranom fosfatom (PBS).



Slika 13. Mikrotitarske pločice za serijska razrjeđenja i krvni agar upotrijebljen za inokulaciju uzoraka.

Nakon vorteksiranja provedena su serijska deseterostruka razrjeđenja uzoraka. U tu svrhu 20 μL vorteksirane fosfatno puferirane fiziološke otopine (PBS) dodavano je u 180 μL Mueller–Hinton (MH) bujona u prvoj jažici mikrotitarske pločice, nakon čega je 20 μL dobivene suspenzije preneseno u sljedeću jažicu. Postupak je ponavljan do postizanja konačnog razrjeđenja od 1×10^{-8} . Iz svake jažice uzeto je po 20 μL MH bujona i preneseno na prethodno označeni dio pločice krvnog agara. Nerazrijeđeni PBS uzorak nanesen je u središnji, posebno označeni dio pločice krvnog agara. Tako pripremljene pločice inkubirane su u aerobnim uvjetima pri temperaturi od 37 °C tijekom 48 sati. Nakon završetka inkubacije pristupilo se kvantifikaciji vijabilnih bakterijskih kolonija. Brojenje kolonija provedeno je vizualnom inspekcijom iskusnog istraživača, pri čemu je broj izbrojenih kolonija pomnožen s odgovarajućim faktorom razrjeđenja kako bi se dobio konačan broj jedinica koje tvore koloniju. Osoba koja je provela vizualnu inspekciju i kvantifikaciju nije imala informaciju o grupama, odnosno vrstama intervencije na implantatima. Reprezentativni primjeri pločica krvnog agara s bakterijskim kolonijama prikazani su na slikama 14-18.



Slika 14. Krvni agar s bakterijskim kolonijama dobivenima iz uzoraka pozitivne kontrolne skupine.



Slika 15. Krvni agar s bakterijskim kolonijama dobiven iz uzorka uzetog s površine implantata nakon dekontaminacije hitozanskom četkicom.



Slika 16. Krvni agar s bakterijskim kolonijama dobiven iz uzorka uzetog s površine implantata nakon dekontaminacije hitozanskom četkicom i klorheksidina.



Slika 17. Krvni agar s bakterijskim kolonijama dobiven iz uzorka uzetog s površine implantata nakon tretmana plastičnom kiretom ojačanom karbonskim vlaknima.



Slika 18. Krvni agar s bakterijskim kolonijama dobiven iz uzorka uzetog s površine implantata nakon dekontaminacije elektrolitičkom metodom.

3.2. Statistička obrada podataka

Dobiveni rezultati (broj bakterijskih kolonija, CFU) za *A. baumannii* i *S. aureus* uneseni su u unaprijed pripremljene tablice te analizirani primjenom standardnih statističkih metoda u programu Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, Sjedinjene Američke Države; izvor: <https://office.microsoft.com/excel>).

Podaci su najprije analizirani metodama deskriptivne statistike. Za svaku ispitivanu skupinu izračunate su mjere središnje tendencije (aritmetička sredina i medijan) te mjere raspršenosti (standardna devijacija), uz prikaz minimalnih i maksimalnih vrijednosti. Rezultati su prikazani tablično, a distribucija podataka dodatno je vizualizirana pomoću Box-and-Whisker dijagrama.

Za ispitivanje razlika u razini bakterijske kontaminacije između skupina primijenjena je jednofaktorska analiza varijance (one-way ANOVA). Analiza je provedena zasebno za svaku bakterijsku vrstu. U prvom koraku analizirane su razlike između svih skupina, uključujući negativnu kontrolnu skupinu, dok su u dodatnoj analizi procijenjene razlike isključivo između skupina implantata tretiranih metodama dekontaminacije.

S obzirom na širok raspon vrijednosti CFU i izraženu varijabilnost podataka, provedena je dodatna analiza na logaritamski transformiranim vrijednostima ($\log_{10}$ CFU). Time je smanjen utjecaj ekstremnih vrijednosti te je poboljšana približna normalnost distribucije i homogenost varijanci među skupinama.

Za detaljniju procjenu razlika između pojedinih metoda dekontaminacije provedene su međusobne usporedbe skupina primjenom analize varijance na logaritamski transformiranim podacima, pri čemu su izračunate pripadne p-vrijednosti za svaki par skupina kako bi se dobili statistički podaci za svaku međusobnu usporedbu. Razina statističke značajnosti za sve analize postavljena je jedinstveno na $p < 0,05$.

4. REZULTATI

4.1. Deskriptivna analiza podataka

Metodama opisne (deskriptivne) statistike analizirana je razina kontaminacije, odnosno broj bakterijskih kolonija dviju bakterijskih vrsta na površinama implantata u svim ispitivanim skupinama (Tablice 1 i 2) radi procjene učinkovitosti različitih metoda dekontaminacije i njihove međusobne usporedbe.

Tablica 1. Deskriptivna statistika broja bakterijskih kolonija *A. baumannii* na površini implantata prema ispitivanim skupinama.

Pokazatelj	Negativna kontrolna skupina (n=25)	Pozitivna kontrolna skupina (CHX ²) (n=25)	Hitozanska četkica (n=25)	Hitozanska četkica i CHX ² (n=25)	Kireta (n=25)	Elektrolitička metoda (n=25)
Aritmetička sredina CFU ¹	121.280,00	399,08	6.124,80	12.599,84	33.138,40	55,20
Minimalan broj CFU ¹	1.000,00	0,00	60,00	4,00	20,00	0,00
Maksimalan broj CFU ¹	1.000.000,00	1.000,00	100.000,00	200.000,00	200.000,00	1.000,00
Standardna devijacija	266.983,85	427,40	19.783,18	43.825,98	62.235,26	198,73
Medijan CFU ¹	40.000,00	200,00	800,00	70,00	400,00	4,00

¹ CFU – broj jedinica koje tvore koloniju, ² CHX – klorheksidin

Tablica 2. Deskriptivna statistika broja bakterijskih kolonija *S. aureus* na površini implantata prema ispitivanim skupinama.

Pokazatelj	Negativna kontrolna skupina (n=25)	Pozitivna kontrolna skupina (CHX ²) (n=25)	Hitozanska četkica (n=25)	Hitozanska četkica i CHX ² (n=25)	Kireta (n=25)	Elektrolitička metoda (n=25)
Aritmetička sredina CFU ¹	313.480,00	1.132,80	1.980,80	9.360,20	207.576,00	71,32
Minimalan broj CFU ¹	3.000,00	20,00	20,00	2,00	100,00	0,00
Maksimalan broj CFU ¹	2.000.000,00	10.000,00	10.000,00	100.000,00	2.000.000,00	400,00
Standardna devijacija	598.901,15	2.043,26	2.750,92	27.624,09	574.962,28	96,19
Medijan CFU ¹	30.000,00	400,00	1.000,00	100,00	2.000,00	50,00

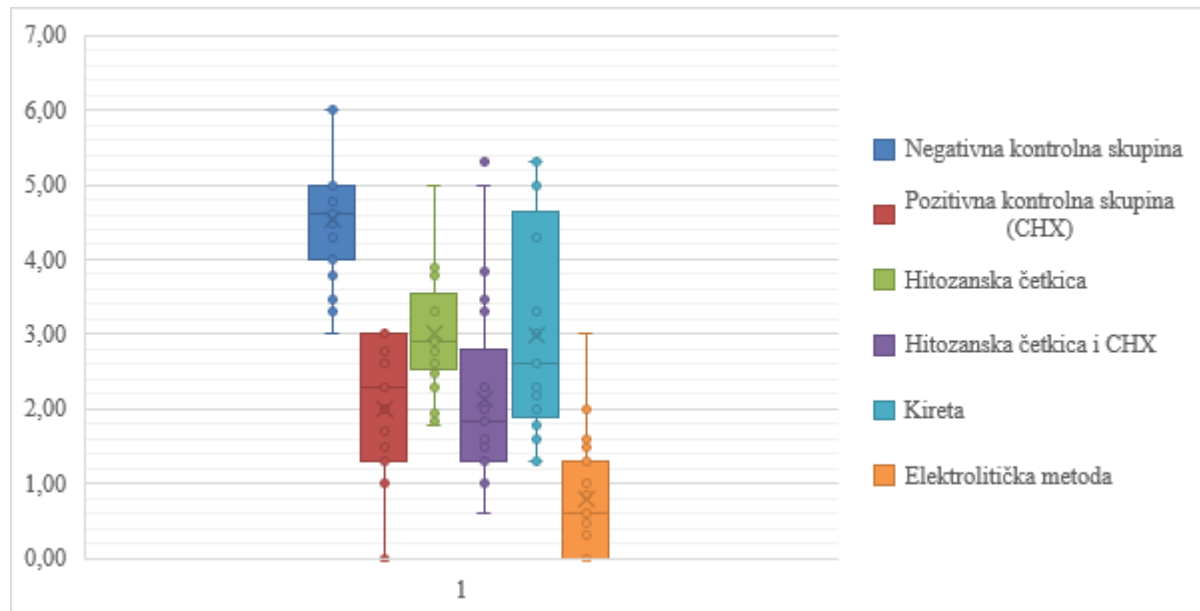
¹ CFU – broj jedinica koje tvore koloniju, ² CHX – klorheksidin

Sve ispitivane metode dekontaminacije dovode do smanjenja broja bakterijskih kolonija u odnosu na negativnu kontrolnu skupinu. Međutim, kod obje bakterijske vrste uočava se izražena varijabilnost rezultata unutar pojedinih skupina, što se očituje velikim rasponima vrijednosti te povišenim standardnim devijacijama. Razlike između aritmetičke sredine i medijana dodatno upućuju na asimetričnu raspodjelu podataka, uz prisutnost ekstremnih vrijednosti. U tom kontekstu medijan se pokazuje kao robusniji pokazatelj središnje tendencije, osobito u skupinama s većim rasponom vrijednosti.

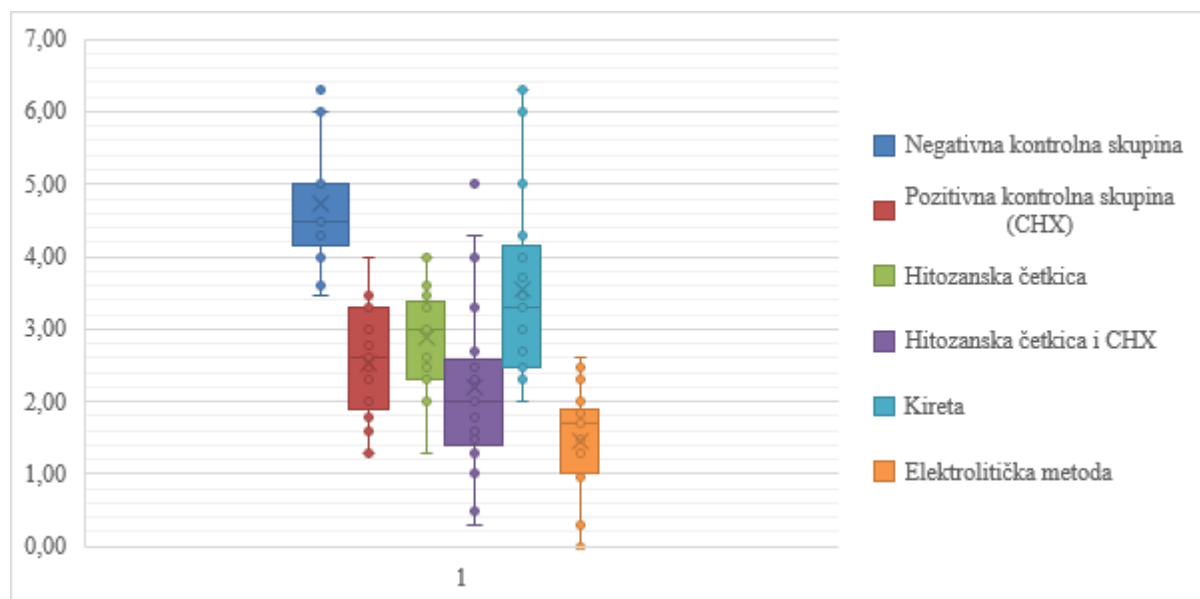
Među svim ispitivanim metodama elektrolitička metoda pokazuje najniže vrijednosti CFU, kako prema aritmetičkoj sredini tako i prema medijanu.

4.2. Grafički prikaz raspodjele podataka

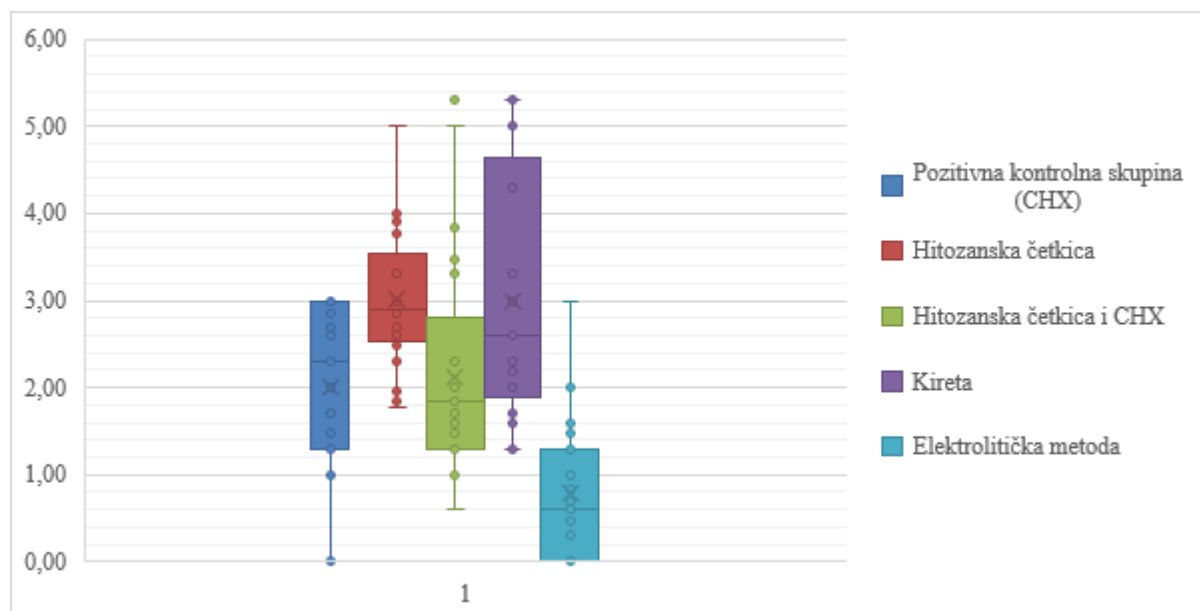
Grafički prikazi raspodjele logaritamski transformiranih vrijednosti ($\log_{10}$ CFU) prikazani su na slikama 19-22. Zbog izražene asimetrije i širokog raspona vrijednosti logaritamski prikaz omogućuje jasniji prikaz međusobnih odnosa između skupina.



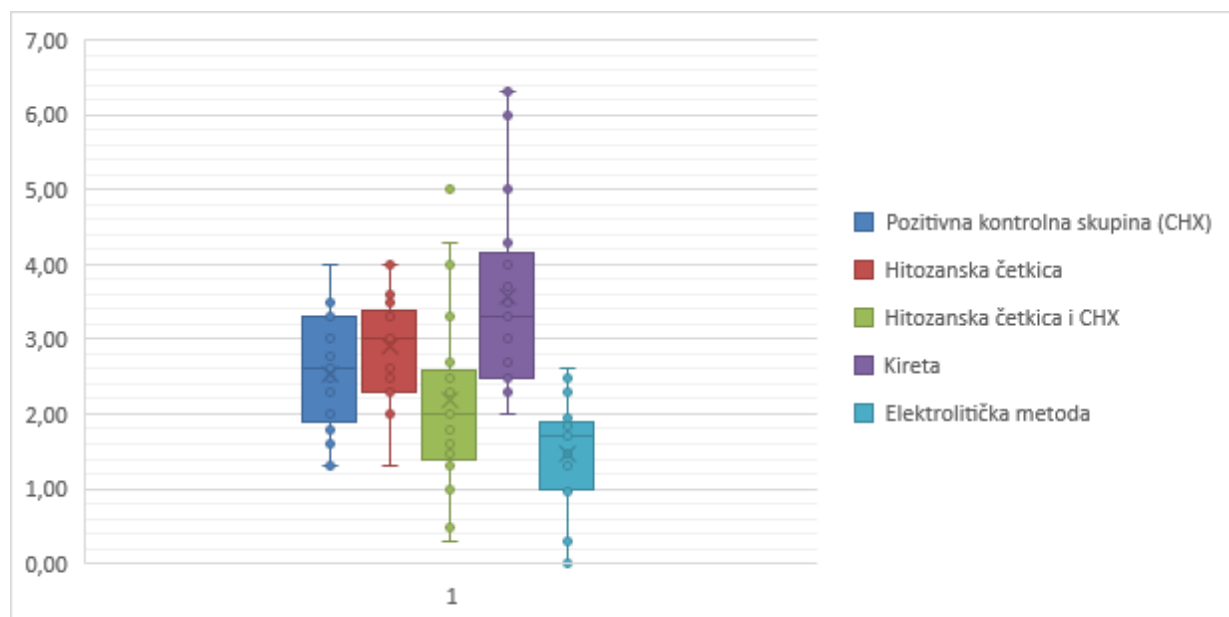
Slika 19. Box-and-Whisker prikaz logaritamski transformiranih vrijednosti ($\log_{10}$ CFU) bakterije *A. baumannii* po ispitivanim skupinama.



Slika 20. Box-and-Whisker prikaz logaritamski transformiranih vrijednosti ($\log_{10}$ CFU) bakterije *S. aureus* po ispitivanim skupinama.



Slika 21. Logaritamski prikaz broja bakterijskih kolonija *A. baumannii* nakon primjene različitih metoda dekontaminacije.



Slika 22. Logaritamski prikaz broja bakterijskih kolonija *S. aureus* nakon primjene različitih metoda dekontaminacije.

4.3. Inferencijalna analiza

Jednofaktorskom analizom varijance (ANOVA) utvrđene su statistički značajne razlike u broju bakterijskih kolonija među implantatima iz svih šest skupina za obje bakterijske vrste (*A. baumannii*: $p = 0,01093$; *S. aureus*: $p = 0,00169$). Dodatna analiza provedena među skupinama implantata tretiranih metodama dekontaminacije, uz isključenje negativne kontrolne skupine, također je pokazala postojanje statistički značajnih razlika u broju bakterijskih kolonija među implantatima, odnosno razliku u učinku među metodama dekontaminacije (*A. baumannii*: $p = 0,00629$; *S. aureus*: $p = 0,01655$). Radi dodatne provjere rezultata ista analiza provedena je na logaritamski transformiranim podacima ($\log_{10}$ CFU), kako bi se smanjio utjecaj izraženih odstupanja i velikih standardnih devijacija. Rezultati dobiveni analizom logaritamski transformiranih podataka pokazali su isti obrazac statističke značajnosti među uspoređivanim skupinama kao i analiza na izvornim podacima, bez promjena u interpretaciji dobivenih razlika.

Rezultati parnih usporedbi za *A. baumannii* prikazani su u Tablici 3., a za *S. aureus* u Tablici 4.

Tablica 3. p-vrijednosti dobivene parnim usporedbama između metoda dekontaminacije za *A. baumannii* na temelju logaritamski transformiranih podataka ($\log_{10}$ CFU). Vrijednosti označavaju statističku značajnost razlika između pojedinih parova metoda (razina značajnosti $p < 0,05$).

<i>A. baumannii</i>	Pozitivna kontrolna skupina (CHX ¹)	Hitozanska četkica	Hitozanska četkica i CHX ¹	Kireta	Elektrolitička metoda
Pozitivna kontrolna skupina (CHX ¹)		0,00021	0,69750	0,00587	0,00003
Hitozanska četkica			0,00345	0,94968	2,13E-13
Hitozanska četkica i CHX ¹				0,02378	0,00004
Kireta					1,45E-08
Elektrolitička metoda					

¹ CHX – klorheksidin

Tablica 4. p-vrijednosti dobivene parnim usporedbama između metoda dekontaminacije za *S. aureus* na temelju logaritamski transformiranih podataka ($\log_{10}$ CFU). Prikazane vrijednosti omogućuju identifikaciju statistički značajnih razlika između pojedinih metoda.

<i>S. aureus</i> (log podaci)	Pozitivna kontrolna skupina (CHX ¹)	Hitozanska četkica	Hitozanska četkica i CHX ¹	Kireta	Elektrolitička metoda
Pozitivna kontrolna skupina (CHX ¹)		0,07280	0,25607	0,00099	4,30E-06
Hitozanska četkica			0,01660	0,02452	1,52E-09
Hitozanska četkica i CHX ¹				0,00036	0,01477
Kireta					2,80E-09
Elektrolitička metoda					

¹ CHX - klorheksidin

Za *A. baumannii* utvrđene su statistički značajne razlike između elektrolitičke metode i svih ostalih ispitivanih metoda dekontaminacije. Također su uočene značajne razlike između određenih parova konvencionalnih metoda, dok u nekim usporedbama nije postignuta statistička značajnost.

Sličan obrazac primijećen je i kod *S. aureus*, gdje elektrolitička metoda pokazuje statistički značajno niže vrijednosti CFU u odnosu na sve ostale metode. Međutim, razlike između pojedinih konvencionalnih metoda nisu u svim slučajevima bile statistički značajne.

4.4. Usporedba između bakterijskih vrsta

Usporedba rezultata između bakterijskih vrsta pokazuje da su opći obrasci učinkovitosti dekontaminacijskih metoda usporedivi za *A. baumannii* i *S. aureus*. U obje bakterijske vrste

elektrolitička metoda dosljedno postiže najniže vrijednosti broja bakterijskih kolonija, dok ostale metode pokazuju međusobno djelomično preklapanje rezultata.

Iako se apsolutne vrijednosti i rasponi CFU razlikuju između bakterijskih vrsta, dobiveni rezultati ne ukazuju na sustavnu varijaciju u učinkovitosti ispitivanih metoda između bakterijskih modela. Analiza je provedena unutar svake bakterijske vrste zasebno, u skladu s ciljevima istraživanja usmjerenima na procjenu učinkovitosti pojedinih metoda dekontaminacije u definiranim eksperimentalnim uvjetima. Dobiveni rezultati stoga se interpretiraju u okviru takvoga analitičkog pristupa.

Uklanjanje biofilma i učinkovita dekontaminacija površine implantata predstavljaju ključne korake u prevenciji i liječenju periimplantitisa. Unatoč razvoju brojnih dekontaminacijskih metoda i terapijskih protokola, do danas nije identificirana metoda koja bi u svim kliničkim uvjetima pokazala jasnu i dosljednu superiornost. Ova činjenica odražava kompleksnu prirodu periimplantatnih infekcija u kojima interakcija mikroorganizama, površinskih karakteristika implantata i imunološkog odgovora domaćina stvara izrazito zahtjevne terapijske uvjete. Stoga istraživanje učinkovitosti novih terapijskih pristupa ostaje od iznimne važnosti.

Cilj ovog *in vitro* istraživanja bio je usporediti učinkovitost novije elektrolitičke metode dekontaminacije s odabranim konvencionalnim metodama uključujući ispiranje klorheksidinom, mehaničko čišćenje hitozanskom četkicom, kombinaciju klorheksidina i hitozanske četkice te mehaničko uklanjanje biofilma plastičnom kiretom. Takav pristup omogućuje usporedbu novoga terapijskog koncepta s metodama koje se duže primjenjuju u kliničkoj praksi, čime se rezultati istraživanja mogu lakše interpretirati u kontekstu njihove potencijalne kliničke primjenjivosti. To je osobito važno u svjetlu sve veće potrebe za predvidljivim, minimalno invazivnim i biokompatibilnim terapijskim strategijama u liječenju periimplantatnih bolesti.

Odabir konvencionalnih metoda uključenih u ovo istraživanje temelji se na njihovoj široj primjeni u svakodnevnoj kliničkoj praksi te relativnoj jednostavnosti njihove primjene. Nasuprot tome, noviji terapijski pristupi, poput elektrolitičke dekontaminacije, još uvijek se postupno integriraju u standardne terapijske protokole unatoč obećavajućim rezultatima. Upravo zbog toga postoji potreba za dodatnim eksperimentalnim i kliničkim istraživanjima koja bi mogla pružiti čvršće dokaze o njihovoj stvarnoj učinkovitosti.

Pri uklanjanju biofilma i dekontaminaciji implantata iznimno je važno da primijenjene metode ne uzrokuju značajne promjene površinske strukture implantata. Uspješna reoseointegracija i regeneracija periimplantatnih mekih tkiva često ovise o terapijskim postupcima koji bi trebali biti visoko učinkoviti u eliminaciji mikroorganizama, ali i dovoljno poštediti da ne narušavaju integritet površine implantata. Drugim riječima, optimalna metoda dekontaminacije trebala bi postići ravnotežu između antimikrobne učinkovitosti i očuvanja fizikalno-kemijskih svojstava površine implantata. Prethodna slična *in vitro* istraživanja pokazala su da određeni mehanički instrumenti, poput titanskih kireta i četkica, mogu uzrokovati mikroskopska oštećenja površine implantata, odnosno titanskih diskova, uključujući ogrebotine i djelomično narušavanje zaštitnoga oksidnog sloja (75,76,101). Takve promjene površinske morfologije mogu imati kliničke implikacije jer mogu smanjiti

sposobnost ponovne adhezije stanica periimplantatnog tkiva i povećati rizik od ponovne bakterijske kolonizacije. Upravo zbog potrebe postizanja ravnoteže između antimikrobne učinkovitosti i očuvanja integriteta površine implantata, u ovo su istraživanje uključene metode koje, prema dostupnim podacima, minimalno utječu na površinsku morfologiju te ne narušavaju strukturna i fizikalno-kemijska svojstva titanskih implantata.

Pri odabiru bakterijskih vrsta upotrijebljenih u istraživanju bilo je važno uključiti mikroorganizme sposobne za rast u miješanim kulturama, što omogućuje pouzdano kvantificiranje bakterijskog opterećenja metodom brojenja kolonija te osigurava visoku razinu ponovljivosti eksperimentalnog modela. Odabrane bakterije morale su imati kompatibilne uvjete inkubacije i rasta, ali i dovoljno različita fenotipska obilježja (gram-pozitivne i gram-negativne) kako bi se kolonije mogle jasno razlikovati tijekom kvantifikacije. Bakterije *A. baumannii* i *S. aureus* ispunjavale su sve navedene kriterije.

Obje bakterijske vrste poznate su po izrazitoj sposobnosti stvaranja biofilma na biotičkim i abiotičkim površinama, uključujući titan, što predstavlja ključan čimbenik u razvoju kroničnih i perzistentnih infekcija. Formiranje biofilma omogućuje tim mikroorganizmima povećanu otpornost na nepovoljne okolišne uvjete i antimikrobne agense, čime se značajno otežava njihova eradikacija u kliničkim uvjetima (102,103). Važnu ulogu u tom procesu ima protein povezan s biofilmom (eng. biofilm-associated protein, Bap), koji sudjeluje u međustaničnim interakcijama te u formiranju i sazrijevanju biofilma. Zanimljivo je da je Bap protein prvi put identificiran kod bakterije *A. baumannii*, a pokazuje značajnu strukturnu i funkcionalnu sličnost s Bap proteinom prisutnim kod *S. aureus* (103). S kliničkog stajališta, obje bakterijske vrste mogu biti prisutne u usnoj šupljini te se povezuju s različitim oralnim infekcijama uključujući periimplantitis, parodontitis te infekcije pulpe i korijenskog kanala (61,81,104). Njihov patogeni potencijal, međutim, nadilazi područje dentalne medicine, budući da su povezane s brojnim teškim sistemskim infekcijama uključujući infekcije kirurških rana, gnojne infekcije kože i mekih tkiva, osteomijelitis, pneumoniju i endokarditis (61,81,102,104). U tom kontekstu, *A. baumannii* i *S. aureus* ubrajaju se među patogene visokog prioriteta prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije te pripadaju skupini tzv. ESKAPE patogene (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacter* spp.) (105). Ovi mikroorganizmi predstavljaju ozbiljan globalni javnozdravstveni problem zbog izražene sposobnosti razvoja antimikrobne rezistencije, čime uzrokuju teške bolničke infekcije i značajne zdravstvene i ekonomske posljedice (102,106). Uzimajući u obzir navedene karakteristike ovih mikroorganizama, njihova primjena u eksperimentalnom modelu ovog

istraživanja omogućuje procjenu učinkovitosti različitih metoda dekontaminacije u uvjetima koji dijelom simuliraju kompleksnost kliničkih infekcija povezanih s biofilmom. Rezultati ovog istraživanja stoga mogu imati potencijalnu primjenjivost i izvan područja dentalne medicine. Posebice bi mogli biti relevantni za medicinske specijalistike poput ortopedije, traumatologije i maksilofacijalne kirurgije, u kojima infekcije uzrokovane bakterijama *A. baumannii* i *S. aureus* predstavljaju značajan izazov u liječenju bolesnika s titanskim implantatima, endoprotezama i osteosintetskim materijalima (60,107,108).

U skladu s primarnim ciljem ovog *in vitro* istraživanja rezultati su pokazali da sve ispitivane metode dekontaminacije dovode do smanjenja broja bakterijskih kolonija za obje ispitivane bakterijske vrste u odnosu na negativnu kontrolnu skupinu, odnosno implantate u kojih nije proveden postupak uklanjanja biofilma. Dobiveni rezultati ukazuju na to da klorheksidin, mehaničko čišćenje hitozanskom četkicom, kombinacija hitozanske četkice i klorheksidina, primjena plastične kirete te elektrolitička metoda, unatoč razlikama u mehanizmu djelovanja i načinu primjene, dovode do smanjenja bakterijskog opterećenja na pjeskarenoj i kiselinom jetkanoj mikrohrapavoj površini titanskih implantata.

Takav nalaz u skladu je s rezultatima sličnih *in vitro* istraživanja koja su također pokazala smanjenje bakterijskog opterećenja nakon dekontaminacije površine implantata ili titanskih diskova primjenom različitih mehaničkih, kemijskih i kombiniranih metoda (75,76,81,82,101,109,110). Ova podudarnost rezultata upućuje na to da je upotrijebljeni eksperimentalni model metodološki usporediv s modelima primijenjenima u prethodnim istraživanjima. Važno je naglasiti da se ispitivane metode međusobno razlikuju s obzirom na mehanizam djelovanja, tehničku složenost, trajanje postupka i potencijalne troškove primjene. Unatoč tim razlikama, sve metode dovele su do smanjenja bakterijskog opterećenja u odnosu na netretirane implantate, iako u različitom stupnju učinkovitosti.

Ovi nalazi imaju potencijalne kliničke implikacije. Smanjenje bakterijskog opterećenja na površini implantata može doprinijeti kontroli infekcije i modulaciji lokalnoga upalnog odgovora u periimplantatnim tkivima, osobito u ranim fazama bolesti. Međutim, potrebno je naglasiti da se radi o *in vitro* modelu te da se izravni klinički učinci, uključujući utjecaj na upalni odgovor i progresiju periimplantatnih bolesti, ne mogu jednoznačno zaključiti bez dodatnih *in vivo* i kliničkih istraživanja.

U tom kontekstu posebno je važno istaknuti da i konvencionalne metode dekontaminacije, poput primjene plastičnih kireta, rotirajućih četkica ili antiseptičkih otopina poput klorheksidina, pokazuju sposobnost smanjenja bakterijskog opterećenja. To može imati praktičnu vrijednost u kliničkim uvjetima u kojima nije dostupna sofisticirana ili tehnološki

napredna oprema omogućujući provedbu inicijalnog liječenja u različitim razinama zdravstvene skrbi.

Osim kliničkih implikacija, ovakav pristup može imati i potencijalne ekonomske prednosti. Pravodobna intervencija i primjena minimalno invazivnih terapijskih postupaka mogli bi pridonijeti smanjenju ukupnih troškova liječenja periimplantatnih bolesti. Ipak, takve pretpostavke zahtijevaju potvrdu u kliničkim i zdravstveno-ekonomskim istraživanjima.

U nastavku interpretacije dobivenih rezultata posebno se ističe nalaz da se u uvjetima provedenog *in vitro* istraživanja elektrolitička metoda pokazala najučinkovitijom u smanjenju bakterijskog opterećenja za obje ispitivane bakterijske vrste. U usporedbi s konvencionalnim metodama dekontaminacije, uključujući primjenu 0,2%-tnog klorheksidina, mehaničko čišćenje hitozanskom četkicom, kombinaciju hitozanske četkice i klorheksidina te primjenu plastične kirete, elektrolitička metoda bila je povezana s nižim vrijednostima broja bakterijskih kolonija, pri čemu su u provedenim analizama utvrđene statistički značajne razlike u odnosu na sve ostale ispitivane metode.

Nadalje, u okviru provedenih analiza nije uočen jasan obrazac razlika u učinkovitosti elektrolitičke metode s obzirom na vrstu bakterije. Takav nalaz može upućivati na relativno širok antimikrobni učinak metode, neovisno o specifičnoj bakterijskoj vrsti. Međutim, potrebno je naglasiti da u ovom istraživanju nije provedena formalna analiza interakcije između vrste bakterije i metode dekontaminacije, zbog čega se navedeni zaključak treba tumačiti s odgovarajućim oprezom. Konzistentnost dobivenih rezultata dodatno je potvrđena analizom logaritamski transformiranih podataka, kojom je smanjen utjecaj izražene varijabilnosti u broju bakterijskih kolonija. Nakon provedene transformacije elektrolitička metoda zadržala je prednost u odnosu na ostale ispitivane metode, što dodatno podupire robusnost opaženog učinka. Slične rezultate navode i Zipprich i sur. (81), koji su pokazali da elektrolitička metoda postiže veću učinkovitost u uklanjanju bakterija u usporedbi s drugim fizikalnim metodama dekontaminacije uključujući zračno poliranje, primjenu diodnog lasera i plazma dekontaminaciju. U navedenom istraživanju elektrolitičko čišćenje bilo je povezano s gotovo potpunom dekontaminacijom implantatne površine (81). Podudarnost nalaza između tog istraživanja i rezultata dobivenih u ovom radu dodatno podupire pretpostavku da elektrolitička metoda predstavlja jedan od najučinkovitijih pristupa dekontaminaciji implantata u eksperimentalnim uvjetima.

Dobiveni rezultati mogu se objasniti specifičnim mehanizmom djelovanja elektrolitičke metode. Tijekom postupka vodena otopina hidroksikarbonske kiseline u obliku natrijeve soli raspršuje se ravnomjerno oko površine implantata, dok se istodobno primjenjuje niski

električni napon. Kao posljedica dolazi do stvaranja mikromjehurića vodika izravno na površini implantata. Mikromjehurići fizički podižu i odvajaju bakterijski biofilm od površine implantata. Takav mehanizam potencijalno omogućuje dopiranje do teško dostupnih područja implantata uključujući navoje i mikroutore, čime se može postići temeljitija dekontaminacija bez agresivnoga mehaničkog djelovanja na površinu implantata. Kombinacija kemijskog djelovanja otopine, ravnomjerne raspodjele na površini implantata i fizikalnog učinka mikromjehurića predstavlja vjerojatno objašnjenje za uočenu relativnu prednost elektrolitičke metode u odnosu na ostale ispitivane postupke.

U kliničkom kontekstu ovakav način djelovanja mogao bi imati određene potencijalne prednosti. Temeljitija redukcija bakterijskog opterećenja može pridonijeti učinkovitijoj kontroli infekcije te smanjenju prisutnosti rezidualnih bakterijskih stanica na površini implantata. Budući da metoda ne ovisi o izravnom mehaničkom kontaktu s površinom implantata, potencijalno se smanjuje i rizik od oštećenja površinske mikrostrukture implantata. Očuvanje integriteta površine implantata ima posebno značenje s obzirom na njegovu ulogu u procesima ponovne oseintegracije. Dodatna potencijalna prednost elektrolitičke metode odnosi se na veću reproducibilnost rezultata. Zahvaljujući kontroliranim uvjetima elektrokemijskog procesa i ravnomjernoj raspodjeli otopine, može se smanjiti utjecaj operatera, koji je često izražen u manualnih metoda dekontaminacije. Time se otvara mogućnost postizanja većeg stupnja standardizacije postupaka u kliničkoj praksi.

Unatoč navedenim prednostima elektrolitička metoda ima i određena ograničenja. U ovom istraživanju upotrijebljen je sustav GalvoSurge® (GalvoSurge Dental AG, Widnau, Švicarska), čija primjena zahtijeva implantate koji su električki vodljivi, zbog čega je metoda ograničena na metalne implantate. Keramički implantati i druge, električki nevodljive površine nisu pogodne za ovakav pristup. Nadalje, za optimalnu primjenu metode potrebno je osigurati izravan pristup površini implantata, što može zahtijevati uklanjanje protetskih nadomjestaka i nadogradnji te time povećati složenost terapijskog postupka. Metoda također zahtijeva specifičnu opremu, potrošni materijal i odgovarajuću edukaciju osoblja, a moguća su i tehnička ograničenja povezana s dostupnošću prostora za pravilno pozicioniranje glave raspršivača.

U literaturi su opisani i rezultati koji ukazuju na određena ograničenja elektrolitičke metode. Alonso-Español i sur. (82) pokazali su slabiji antimikrobni učinak elektrolitičke metode u usporedbi s fitoterapeuticima, kurkuminom i ksantohumolom. Također je zabilježena neujednačenost u uklanjanju biofilma, pri čemu su nakon tretmana postojala područja potpuno očišćena od biofilma uz susjedna područja s rezidualnim ostacima biofilma i

ne vitalnim bakterijama (82). Razlike između navedenih rezultata i rezultata dobivenih u ovom istraživanju, kao i onih koje su opisali Zipprich i suradnici, vjerojatno se mogu objasniti razlikama u eksperimentalnim modelima. U istraživanju Alonso-Española i suradnika upotrijebljeni su titanski diskovi promjera 12 mm i debljine 3 mm, dobiveni strojnim rezanjem titanskih šipki, što se značajno razlikuje od stvarne geometrije dentalnih implantata. Elektrolitička metoda ponajprije je razvijena za implantate manjeg promjera od navedenih titanskih diskova, u kojih glava raspršivača omogućuje potpuno obuhvaćanje opsega platforme implantata. Time se osigurava ravnomjerno otjecanje otopine duž cijele njegove površine. Kod većih, ravnih površina, poput titanskih diskova, takva ravnomjernost nije uvijek ostvariva, što može rezultirati neujednačenom dekontaminacijom. Ova metodološka razlika može objasniti pojavu jasno razgraničenih zona potpune dekontaminacije uz susjedna područja s rezidualnim biofilmom. Navedeni nalazi dodatno naglašavaju važnost odabira eksperimentalnog modela koji što vjernije simulira kliničke uvjete pri evaluaciji učinkovitosti metoda dekontaminacije implantata.

Usporedba učinkovitosti konvencionalnih metoda dekontaminacije pokazuje da se obrasci njihovih međusobnih odnosa djelomično razlikuju između bakterijskih vrsta *A. baumannii* i *S. aureus*. Kod *A. baumannii* klorheksidin je pokazao statistički značajno niže vrijednosti broja bakterijskih kolonija u odnosu na hitozansku četkicu i kiretu, dok se nije statistički značajno razlikovao od kombinacije hitozanske četkice i klorheksidina. Kod *S. aureus* klorheksidin se nije statistički značajno razlikovao ni od hitozanske četkice ni od kombinirane metode, dok je u odnosu na kiretu pokazao statistički značajno bolji učinak. Ovi nalazi upućuju na to da učinkovitost pojedinih konvencionalnih metoda nije u potpunosti jednaka za obje ispitivane bakterijske vrste. Ipak, takve razlike treba tumačiti oprezno. Na temelju provedenih analiza može se govoriti o razlikama u opaženim obrascima učinkovitosti unutar svake bakterijske vrste, ali se ne može sa sigurnošću zaključiti da učinkovitost pojedinih metoda sustavno ovisi o vrsti bakterije budući da u ovom istraživanju nije provedena formalna analiza interakcije između vrste bakterije i metode dekontaminacije. Stoga se ovi nalazi ponajprije mogu promatrati kao indicija moguće biološke uvjetovanosti odgovora na dekontaminacijske postupke nego kao njezina konačna potvrda. Uočene razlike mogu se, barem djelomično, objasniti razlikama u biološkim svojstvima bakterijskih vrsta uključujući građu stanične ovojnice, površinska fizikalno-kemijska obilježja te organizaciju i kohezivnost biofilma. *A. baumannii*, kao gram-negativna bakterija, posjeduje vanjsku membranu bogatu lipopolisaharidima koja nosi izražen negativni površinski naboj, što može pogodovati interakciji s kationskim antisepticima poput klorheksidina. Takve elektrostatske

interakcije dovode do destabilizacije bakterijske membrane i povećanja njezine permeabilnosti. Nadalje, *A. baumannii* može stvarati kohezivne biofilmove bogate ekstracelularnom polimernom matricom, što potencijalno otežava njihovo uklanjanje mehaničkim metodama, osobito na mikrohrapavim površinama implantata. Takve razlike mogu utjecati i na osjetljivost na kemijske antiseptike i na uspješnost mehaničkog uklanjanja biofilma s mikrohrapave površine implantata. Budući da navedeni mehanizmi u ovom radu nisu bili predmet izravnog ispitivanja, ovo tumačenje treba smatrati biološki razumnom hipotezom, a ne izravno dokazanim objašnjenjem.

Naposljetku, dobiveni rezultati dodatno naglašavaju kompleksnost interakcija između bakterijskog biofilma, površine implantata i primijenjene metode dekontaminacije. Oni upućuju na to da se učinkovitost dekontaminacijskih postupaka ne može promatrati isključivo kao svojstvo same metode, nego vjerojatno ovisi i o karakteristikama mikroorganizama koji sudjeluju u formiranju biofilma. U kliničkom kontekstu to može utjecati na budući razvoj individualiziranih pristupa dekontaminaciji, no za donošenje čvrstih terapijskih preporuka potrebna su dodatna istraživanja.

Nadalje, uočeno je da je kombinacija mehaničke metode (hitozanska četkica) i kemijske dekontaminacije (klorheksidin) rezultirala statistički značajno nižim bakterijskim opterećenjem u usporedbi s isključivo mehaničkim metodama (hitozanska četkica i kireta) kod obje ispitivane bakterijske vrste. Sličan obrazac opisan je i u istraživanju Sousa i suradnika (75), u kojem je pokazano da kombinacija mehaničke dekontaminacije s dodatnim antimikrobnim postupcima, uključujući kemijske i fotodinamske pristupe, dovodi do značajnog smanjenja bakterijskog opterećenja u odnosu na primjenu isključivo mehaničkih metoda. Iako se eksperimentalni uvjeti i upotrijebljeni protokoli razlikuju, navedeni nalazi podupiru primijećen trend povećane učinkovitosti kombiniranih pristupa.

Takav učinak može se objasniti potencijalnim komplementarnim djelovanjem različitih mehanizama dekontaminacije. Ekstracelularni polimerni matriks biofilma predstavlja mehaničku i difuzijsku barijeru koja ograničava prodor antimikrobnih sredstava te smanjuje dostupnost bakterijskih stanica u dubljim slojevima biofilma. U kombiniranom pristupu, mehanička dekontaminacija, u našem istraživanju ostvarena primjenom hitozanske četkice, dovodi do narušavanja strukture biofilma i uklanjanja površinskih slojeva, čime se može povećati izloženost preostalih bakterijskih stanica kemijskom agensu. Posljedično, takva destabilizacija matriksa može omogućiti bolju penetraciju kemijskog sredstva u dublje slojeve biofilma.

U kontekstu odabira kemijskih sredstava za dekontaminaciju implantata nužno je postići ravnotežu između njihove antimikrobne učinkovitosti i biološke sigurnosti za periimplantna tkiva. U istraživanju Alagl i suradnika (110), u kojem su implantati također kontaminirani bakterijama iz skupine ESKAPE patogena (*A. baumannii* i *P. aeruginosa*), procjenjivana je učinkovitost više dekontaminacijskih pristupa uključujući erbijum laser, fotodinamsku terapiju, diodni laser te 0,12%-tnu otopinu klorheksidina. Unatoč razlikama u koncentraciji klorheksidina u odnosu na ovo istraživanje (0,12 % prema 0,2 %), rezultati obaju istraživanja upućuju na njegovu izraženu sposobnost smanjenja bakterijskog opterećenja u odabranih bakterija iz skupine ESKAPE patogena. Pri tome je važno uzeti u obzir razlike u eksperimentalnim uvjetima, koje mogu utjecati na izravnu usporedivost rezultata.

Unatoč širokom spektru djelovanja i dokazanoj antimikrobnoj aktivnosti, klorheksidin pokazuje i određeni stupanj citotoksičnosti prema fibroblastima i osteoblastima, osobito pri višim koncentracijama i duljem kontaktu s tkivom (88). Ovo je značajno u kirurškom liječenju periimplantitisa, gdje neposredni kontakt antiseptika s periimplantatnim tkivima može utjecati na njihovu regenerativnu sposobnost (88). Nadalje, Monje i sur. (67) navode da primjena klorheksidina u terapiji periimplantitisa ne donosi značajnu dodatnu kliničku korist te da trenutačno ne postoje uvjerljivi dokazi koji bi potvrdili njegov doprinos procesu reoseintegracije. U skladu s tim, Europska federacija za parodontologiju preporučuje primjenu klorheksidina ponajprije kao privremenu adjuvantnu mjeru u nekirurškom pristupu liječenju periimplantitisa, dok se njegova rutinska primjena u kirurškom pristupu ne preporučuje (65).

S obzirom na navedena ograničenja klorheksidina, opravdanim se nameće istraživanje potencijala alternativnih kemijskih i biološki aktivnih sredstava za dekontaminaciju implantatnih površina. U tom kontekstu rezultati istraživanja Alonso-Española i suradnika (82) ukazuju na potencijalnu učinkovitost fitoterapeutika, poput kurkumina i ksantohumola, koji su u njihovom *in vitro* modelu pokazali izražen antimikrobni učinak uz očuvanje vitalnosti fibroblasta. Ovi rezultati upućuju na moguću visoku citokompatibilnost takvih spojeva. Međutim, potrebno je naglasiti da se radi o eksperimentalnim uvjetima te da je broj dostupnih istraživanja ograničen, zbog čega se njihova klinička primjenjivost i usporedna učinkovitost u odnosu na standardne metode tek trebaju dodatno istražiti.

Dodatni primjer kemijske dekontaminacije opisan je u *in vitro* istraživanju Citterio i suradnika (111), u kojem je otopina sulfonirane fenolne kiseline i sumporne kiseline pokazala sposobnost značajne redukcije bakterijskog biofilma na kontaminiranim površinama implantata. Površine implantata tretirane navedenim kemijskim sredstvom, osobito u

kombinaciji s mehaničkom dekontaminacijom zračnom abrazijom, omogućile su prijanjanje i urednu morfologiju osteoblastima sličnih MG-63 stanica (humana osteosarkomska stanična linija) bez znakova izražene citotoksičnosti. Iako navedena otopina nije izravno primjenjiva u kliničkoj praksi, rezultati ovog istraživanja imaju vrijednost kao dokaz načela učinkovitosti kemijske dekontaminacije u kontroliranim uvjetima (111).

U cjelini, rezultati ovog istraživanja, zajedno s nalazima iz dostupne literature, podupiru koncept multimodalnog pristupa dekontaminaciji implantata. U takvom pristupu kemijska sredstva nadopunjuju mehaničko uklanjanje biofilma radi smanjenja bakterijskog opterećenja uz istodobno očuvanje biološkog potencijala periimplantatnih tkiva. Ovakav koncept osobito je relevantan u kirurškom liječenju periimplantitisa, gdje temeljita dekontaminacija implantata predstavlja jedan od ključnih preduvjeta za postizanje povoljnog terapijskog ishoda. Stoga postoji jasna potreba za daljnjim istraživanjima koja će omogućiti procjenu dugoročne učinkovitosti, sigurnosti i kliničke opravdanosti različitih kemijskih dekontaminacijskih protokola u liječenju periimplantatnih bolesti.

Pri izravnoj usporedbi dviju isključivo mehaničkih metoda dekontaminacije u ovom istraživanju nisu uočene konzistentne statistički značajne razlike između hitozanske četkice i plastične kirete za obje ispitivane bakterijske vrste. Dok je kod *S. aureus* hitozanska četkica pokazala statistički značajno veću učinkovitost u smanjenju bakterijskog opterećenja u odnosu na kiretu, takva razlika nije potvrđena kod *A. baumannii*. Ovi nalazi upućuju na to da relativna učinkovitost pojedinih mehaničkih metoda može varirati ovisno o eksperimentalnom modelu i karakteristikama bakterijskog biofilma uključujući bakterijsku vrstu. Uočena razlika kod *S. aureus* može se djelomično objasniti konstrukcijskim i funkcionalnim obilježjima primijenjenih instrumenata. Vlakna hitozanske četkice manjih su dimenzija u odnosu na radne vrhove plastične kirete, što može omogućiti bolji prodor u navoje i mikrouđubine implantatne površine. Dodatno, rotacijsko djelovanje četkice potencijalno omogućuje ravnomjerniju raspodjelu mehaničke sile na površini implantata, dok učinkovitost ručnih instrumenata, poput kireta, u većoj mjeri ovisi o manualnoj tehnici operatera. Navedena objašnjenja predstavljaju biomehanički i klinički razuman okvir za interpretaciju dobivenih rezultata, ali nisu izravno ispitivana u ovom radu.

Rezultati ovog istraživanja djelomično su u skladu s rezultatima Khana i suradnika (69), koji ukazuju na opća ograničenja mehaničkih metoda dekontaminacije u uklanjanju biofilma s implantatnih površina, osobito u usporedbi s naprednijim terapijskim pristupima. Međutim, važno je naglasiti da se eksperimentalni uvjeti i metodološki pristupi među istraživanjima razlikuju, što ograničava mogućnost izravne usporedbe rezultata.

Hitozanska četkica pokazuje određene prednosti u očuvanju integriteta površine implantata, što potvrđuju i nalazi De Lauretis i suradnika (112), koji nisu zabilježili značajna oštećenja površine nakon njezine primjene. Ovakvo svojstvo može biti klinički važno, osobito u kontekstu očuvanja mikro- i nanotopografije implantata koja ima ključnu ulogu u procesima oseointegracije. S druge strane, prisutnost mogućih ostataka polimernog materijala nakon primjene hitozanske četkice te njihova interakcija s periimplantatnim tkivima predstavljaju aspekt koji zahtijeva dodatna istraživanja. Procjena biokompatibilnosti i dugoročnih učinaka takvih ostataka važna je za potpunu evaluaciju sigurnosti ove metode u kliničkoj primjeni.

S druge strane, plastična kireta u ovom je istraživanju pokazala relativno najnižu učinkovitost dekontaminacije među ispitivanim metodama za obje bakterijske vrste, uz izraženu varijabilnost rezultata. Ovi nalazi u skladu su s opažanjima Al-Hashedi i suradnika (113), koji navode da plastične kirete mogu dovesti do djelomičnog uklanjanja biofilma, ali ne i do potpune eliminacije čvrsto adheriranog sloja na površini implantata. Takvi rezultati upućuju na ograničenu sposobnost ove metode u uklanjanju biofilma, osobito u uvjetima kompleksne mikrostrukture implantatne površine. Ograničena učinkovitost plastičnih kireta može se djelomično objasniti njihovim konstrukcijskim obilježjima. Širina radnih vrhova često premašuje razmak između navoja određenih modela implantata, zbog čega instrument primarno dolazi u kontakt s vršnim dijelovima navoja, dok biofilm smješten u dubljim dijelovima navoja i mikroporama implantatne površine može ostati nedostupan. S druge strane, određene prednosti plastičnih kireta istaknute su u istraživanju Tan i suradnika (71), koji navode da takvi instrumenti, zahvaljujući očuvanju izvorne površinske morfologije i odsutnosti kontaminacije metalnim česticama, mogu predstavljati prikladan izbor za dekontaminaciju cirkonskih implantata. Unatoč navedenim prednostima, rezultati ovog istraživanja, zajedno s dostupnim podacima iz literature, upućuju na ograničenu učinkovitost plastičnih kireta u dekontaminaciji mikrohrapavih titanskih implantatnih površina. U kliničkom kontekstu to sugerira da primjena ovih instrumenata može zahtijevati pažljivo razmatranje uzimajući u obzir materijal implantata, morfologiju površine, stadij periimplantne bolesti i ciljeve terapijskog postupka.

Prednosti ovog istraživanja proizlaze iz nekoliko metodoloških obilježja koja ga razlikuju od sličnih *in vitro* istraživanja u području dekontaminacije implantatnih površina. Prije svega, u eksperimentalnom modelu upotrijebljeno je ukupno 150 originalnih dentalnih implantata. U sličnim *in vitro* istraživanjima kao eksperimentalni modeli upotrijebljeni su titanski diskovi (75,77,82,109). Iako titanski diskovi omogućuju visoku razinu eksperimentalne standardizacije, njihova jednostavna geometrija ne odražava u potpunosti složenu

morfologiju dentalnih implantata. Nasuprot tome, implantati upotrijebljeni u ovom istraživanju, sa svojim navojima, mikroutorima i mikrohrapavom površinom dobivenom pjeskarenjem i kiselinskim jetkanjem, znatno vjernije oponašaju stvarne kliničke uvjete dekontaminacije. Time se povećava translacijska vrijednost dobivenih rezultata i njihova potencijalna primjenjivost u kliničkoj praksi. Druga važna prednost istraživanja odnosi se na mikrobiološki model upotrijebljen za formiranje biofilma. U ovom istraživanju upotrijebljene su dvije bakterijske vrste, dok su u sličnim prethodnim istraživanjima biofilmovi formirani korištenjem monokultura (77,101,109). Primjena dviju bakterijskih vrsta omogućuje stvaranje kompleksnijeg eksperimentalnog biofilma te u određenoj mjeri bolje simulira međusobne interakcije bakterija koje se odvijaju unutar polimikrobnih zajednica karakterističnih za periimplantatne infekcije. Treća metodološka prednost odnosi se na primjenu standardiziranoga eksperimentalnog protokola koji uključuje kontroliranu inokulaciju implantata, jasno definirane uvjete inkubacije te kvantitativnu procjenu bakterijskog opterećenja metodom brojenja kolonija. Takav pristup omogućuje visoku razinu reproduktivnosti rezultata te smanjuje utjecaj varijabilnih čimbenika koji bi mogli utjecati na interpretaciju dobivenih podataka.

Unatoč navedenim prednostima, ovo istraživanje ima i određena ograničenja koja su uobičajena za *in vitro* eksperimentalne modele. Jedno od glavnih ograničenja odnosi se na činjenicu da laboratorijski uvjeti omogućuju optimalan pristup svim površinama implantata tijekom postupka dekontaminacije. U kliničkim uvjetima pristup površini implantata često je ograničen anatomskim čimbenicima, prisutnošću protetskih konstrukcija, kao i smanjenom vizualizacijom operativnog polja. Takve okolnosti mogu značajno utjecati na učinkovitost primijenjenih instrumenata i metoda dekontaminacije. Dodatno, u kliničkom okruženju na učinkovitost dekontaminacije mogu utjecati i različiti biološki čimbenici uključujući prisutnost sline, krvi, upalnog eksudata i ostataka mekih tkiva, koji nisu prisutni u kontroliranim laboratorijskim uvjetima. Ti čimbenici mogu mijenjati fizikalno-kemijska svojstva površine implantata i utjecati na učinkovitost pojedinih metoda dekontaminacije.

Još jedno ograničenje odnosi se na mikrobiološki model upotrijebljen u ovom istraživanju. Iako uporaba dviju bakterijskih vrsta predstavlja metodološki napredniji pristup u odnosu na monokulture, takav model ipak ne odražava potpunu mikrobnu raznolikost oralne mikroflore prisutne u periimplantatnim biofilmovima. U stvarnim kliničkim uvjetima periimplantatni biofilm može sadržavati različite bakterijske vrste koje sudjeluju u složenim metaboličkim i ekološkim interakcijama.

Također, treba uzeti u obzir da su u ovom istraživanju upotrijebljeni implantati istog tipa i istog proizvođača. Budući da na tržištu postoji velik broj implantatnih sustava s različitim površinskim karakteristikama, kemijskim sastavom i topografijom, moguće je da bi učinkovitost pojedinih metoda dekontaminacije mogla varirati ovisno o specifičnim svojstvima implantatne površine. Konačno, *in vitro* eksperimentalni model ne uključuje složene biološke čimbenike koji su prisutni u usnoj šupljini uključujući imunološki odgovor domaćina, dinamiku oralne mikroflore te kontinuirane promjene u sastavu sline i periimplantatnog mikrokruženja.

Uzimajući u obzir rezultate ovog istraživanja i identificirana metodološka ograničenja, daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na potvrdu učinkovitosti i kliničke primjenjivosti različitih pristupa dekontaminaciji implantatnih površina u stvarnim kliničkim uvjetima. Posebnu važnost imaju *in vivo* i dugoročna klinička ispitivanja koja bi omogućila procjenu stabilnosti periimplantnih tkiva nakon provedenih dekontaminacijskih postupaka te evaluaciju potencijalne reoseointegracije implantata nakon uklanjanja biofilma.

Na temelju provedenog *in vitro* istraživanja može se zaključiti da sve ispitivane metode dekontaminacije dovode do smanjenja bakterijskog opterećenja na površini titanskih implantata kontaminiranih bakterijama *A. baumannii* i *S. aureus*.

Elektrolitička metoda pokazala je najveću učinkovitost, uz statistički značajno niže vrijednosti broja bakterijskih kolonija u usporedbi s upotrijebljenim konvencionalnim metodama, uključujući primjenu 0,2%-tnog klorheksidina, mehaničko čišćenje hitozanskom četkicom, njihovu kombinaciju te plastičnu kiretu. Ovi rezultati ukazuju na njezinu visoku sposobnost redukcije biofilma na mikrohrapavoj površini implantata.

U skupini konvencionalnih metoda uočene su razlike u učinkovitosti. Kemijska dekontaminacija klorheksidinom i kombinirani pristup pokazali su veću učinkovitost u odnosu na pojedine isključivo mehaničke metode, dok su mehanički postupci sami po sebi imali ograničen učinak u uklanjanju biofilma. Istodobno, razlike između pojedinih metoda nisu bile ujednačene za obje bakterijske vrste, što upućuje na kompleksnost odnosa između svojstava biofilma i učinkovitosti dekontaminacijskog postupka.

Dobiveni rezultati imaju vrijednost u razumijevanju učinkovitosti pojedinih dekontaminacijskih pristupa u kontroliranim uvjetima te predstavljaju osnovu za daljnju evaluaciju u složenijim eksperimentalnim i kliničkim modelima. Buduća istraživanja trebala bi biti usmjerena na potvrdu ovih rezultata u *in vivo* i kliničkim uvjetima, procjenu dugoročnih učinaka na površinu implantata i periimplantatna tkiva te optimizaciju terapijskih protokola za liječenje periimplantatnih bolesti.

7. LITERATURA

1. Buser D, Sennerby L, De Bruyn H. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. *Periodontol* 2000. 2017;73(1):7-21.
2. Howe MS, Keys W, Richards D. Long-term (10-year) dental implant survival: A systematic review and sensitivity meta-analysis. *J Dent*. 2019;84:9-21.
3. Jorba-Garcia A, Couso-Queiruga E, Raabe C, Chmielewski K, Bornstein M, Al-Nawas B, et al. Understanding the workflows in non-guided and static computer-assisted implant surgery. *Clin Exp Dent Res*. 2026;12(2):e70309.
4. Nulty A. A literature review on prosthetically designed guided implant placement and the factors influencing dental implant success. *Br Dent J*. 2024;236(3):169-80.
5. Takefuji Y. Dental implant prevalence and durability: a concise review of factors influencing success and failure. *Biomater Biosyst*. 2025;17:100109.
6. Diaz P, Gonzalo E, Villagra LJG, Miegimolle B, Suarez MJ. What is the prevalence of peri-implantitis? A systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2022;22(1):449.
7. Sartoretto SC, Shibli JA, Javid K, Cotrim K, Canabarro A, Louro RS, et al. Comparing the long-term success rates of tooth preservation and dental implants: a critical review. *J Funct Biomater*. 2023;14(3):142.
8. Nickenig HJ, Terheyden H, Reich RH, Kreppel M, Linz C, Lentzen MP. Oral health-related quality of life (OHRQoL) and implant therapy: a prospective multicenter study of preoperative, intermediate, and posttreatment assessment. *J Craniomaxillofac Surg*. 2024;52(1):59-64.
9. Munakata M, Sato D, Ihara K, Onizawa M, Sanda M, Shiga H, et al. Risk factors for early implant failure and selection of bone grafting materials for various bone augmentation procedures: a narrative review. *Biomedicines*. 2024;11(2):192.
10. Ting M, Suzuki JB. Peri-implantitis. *Dent J (Basel)*. 2024;12(8):251.

11. Sharma S, Ravi Kiran S, Kumar P, Shankar R, Kumar Upadhyay A. Per-Ingvar Brånemark (1929-2014): a homage to the father of osseointegration and modern dentistry. *Cureus*. 2024;16(9):e68655.
12. Guglielmotti MB, Olmedo DG, Cabrini RL. Research on implants and osseointegration. *Periodontol 2000*. 2019;79(1):178-89.
13. Pandey C, Rokaya D, Bhattarai BP. Contemporary concepts in osseointegration of dental implants: a review. *Biomed Res Int*. 2022;2022:6170452.
14. Lanis A, Peña-Cardelles JF, Negreiros WM, Hamilton A, Gallucci GO. Impact of digital technologies on implant surgery in fully edentulous patients: a scoping review. *Clin Oral Implants Res*. 2024;35(8):1000-10.
15. James JR, Kharat A, Chinnakutti S, Kamble S, Mandal M, Das A. The future of dental implants: a narrative review of trends, technologies, and patient considerations. *Cureus*. 2025;17(8):e90380.
16. Kafedzhieva A, Vlahova A, Chuchulska B. Digital technologies in implantology: a narrative review. *Bioengineering (Basel)*. 2025;12(9):927.
17. Agarwal S, Mistry L, Mistry S, Kadam I, Bhiwapurkar S, Talekar S, et al. The Per-Ingvar Brånemark era (1929-2014): evolution of a no compromise prosthetic dental replacement. *Cureus*. 2024;16(10):e71708.
18. Rawat P, Saxena D, Sharma A. Dr. Per-Ingvar Branemark: the father of modern dental implantology. *Cureus*. 2024;16(11):e73950.
19. Tumedei M, Piattelli A, Degidi M, Mangano C, Iezzi G. A narrative review of the histological and histomorphometrical evaluation of the peri-implant bone in loaded and unloaded dental implants. A 30-year experience (1988-2018). *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(6):2088.
20. Kupka JR, König J, Al-Nawas B, Sagheb K, Schiegnitz E. How far can we go? A 20-year meta-analysis of dental implant survival rates. *Clin Oral Investig*. 2024;28(10):541.

21. Naemi R, Barikani HR, Shahmoradi L. Dental implant quality registries and databases: a systematic review. *J Educ Health Promot.* 2021;10:214.
22. Bakitian FA. A comprehensive review of the contemporary methods for enhancing osseointegration and the antimicrobial properties of titanium dental implants. *Cureus.* 2024;16(9):e68720.
23. Matvijenko K, Pranckeviciene A, Borusevicius R. Impact of different dental implant alloys and coating materials on the health of tissues surrounding implants: a systematic literature review. *J Oral Maxillofac Res.* 2024;15(3):e1.
24. Shayeb MA, Elfadil S, Abutayyem H, Shqaidif A, Marrapodi MM, Cicciù M, et al. Bioactive surface modifications on dental implants: a systematic review and meta-analysis of osseointegration and longevity. *Clin Oral Investig.* 2024;28(11):592.
25. Kunrath MF, Garaicoa-Pazmino C, Giraldo-Osorno PM, Haj Mustafa A, Dahlin C, Larsson L, et al. Implant surface modifications and their impact on osseointegration and peri-implant diseases through epigenetic changes: a scoping review. *J Periodontal Res.* 2024;59(6):1095-114.
26. Shrivastava D, Quadri SA, Alshadidi AAF, Saini R, Dewan M, Fernandes GVO, et al. Clinical assessment of the relationship of dental implant materials (titanium and zirconia) and peri-implantitis: a systematic review. *J Maxillofac Oral Surg.* 2025;24(4):1010-28.
27. Nagay BE, Cordeiro JM, Barao VAR. Insight into corrosion of dental implants: from biochemical mechanisms to designing corrosion-resistant materials. *Curr Oral Health Rep.* 2022;9(2):7-21.
28. Xu W, Yu F, Addison O, Zhang B, Guan F, Zhang R, et al. Microbial corrosion of metallic biomaterials in the oral environment. *Acta Biomater.* 2024;184:22-36.
29. Cheng YH, Chen CC, Ding SJ. Unveiling the characteristics and surface modification of titanium, zirconia, and polyetheretherketone dental implants. *J Dent Sci.* 2025;20(4):2046-57.

30. Padhye NM, Calciolari E, Zuercher AN, Tagliaferri S, Donos N. Survival and success of zirconia compared with titanium implants: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2023;27(11):6279-90.
31. Mohseni P, Soufi A, Chrcanovic BR. Clinical outcomes of zirconia implants: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2023;28(1):15.
32. Nicholson JW. Titanium alloys for dental implants: a review. *Prosthesis*. 2020;2(2):100-16.
33. Hoque ME, Showva NN, Ahmed M, Rashid AB, Sadique SE, El-Bialy T, et al. Titanium and titanium alloys in dentistry: current trends, recent developments, and future prospects. *Heliyon*. 2022;8(11):e11300.
34. Poli PP, de Miranda FV, Polo TOB, Santiago Júnior JF, Lima Neto TJ, Rios BR, et al. Titanium allergy caused by dental implants: a systematic literature review and case report. *Materials (Basel)*. 2021;14(18):5239.
35. Singh R, Lehl G, Hussain AB, Abhang TN, Kulkarni MM, Elagib MFA, et al. Prevalence of titanium hypersensitivity in patients with titanium implants: a systematic review and meta-analysis. *J Pharm Bioallied Sci*. 2021;13 Suppl 2:S1345-49.
36. Bruna J, Prochazkova J, Podzimek S, Himmlova L, Janatova T, Vinsu A. Metal hypersensitivity in patients with failure of joint prosthesis treatment. *J Immunol Res*. 2025;2025:4319686.
37. Kim KT, Eo MY, Nguyen TTH, Kim SM. General review of titanium toxicity. *Int J Implant Dent*. 2019;5(1):10.
38. Ji C, Chen Y, Si M, Chen X. The impact of biocorrosion and titanium ions release on peri-implantitis. *Clin Oral Investig*. 2025;29(3):155.
39. Vrbova R, Podzimek S, Himmlova L, Roubickova A, Janovska M, Janatova T, et al. Titanium and other metal hypersensitivity diagnosed by MELISA® test: follow-up study. *Biomed Res Int*. 2021;2021:5512091.

40. Accioni F, Vázquez J, Merinero M, Begines B, Alcudia A. Latest trends in surface modification for dental implantology: innovative developments and analytical applications. *Pharmaceutics*. 2022;14(2):455.
41. Sotova C, Yanushevich O, Kriheli N, Grigoriev S, Evdokimov V, Kramar O, et al. Dental implants: modern materials and methods of their surface modification. *Materials (Basel)*. 2023;16(23):7383.
42. Gul A, Papia E, Naimi-Akbar A, Ruud A, Vult von Steyern P. Zirconia dental implants; the relationship between design and clinical outcome: a systematic review. *J Dent*. 2024;143:104903.
43. Zhai S, Tian Y, Shi X, Liu Y, You J, Yang Z, et al. Overview of strategies to improve the antibacterial property of dental implants. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1267128.
44. Kiechle S, Liebermann A, Mast G, Heitzer M, Möhlhenrich SC, Hölzle F, et al. Evaluation of one-piece zirconia dental implants: an 8-year follow-up study. *Clin Oral Investig*. 2023;27(7):3415-21.
45. Sadowsky SJ. Zirconia implants: a mapping review. *Oral*. 2024;4(1):9-22.
46. Łosiewicz B, Osak P, Nowińska D, Maszybrocka J. Developments in dental implant surface modification. *Coatings*. 2025;15(1):109.
47. Staedt H, Rossa M, Lehmann KM, Al-Nawas B, Kämmerer PW, Heimes D. Potential risk factors for early and late dental implant failure: a retrospective clinical study on 9080 implants. *Int J Implant Dent*. 2020;6(1):81.
48. Yang Y, Hu H, Zeng M, Chu H, Gan Z, Duan J, et al. The survival rates and risk factors of implants in the early stage: a retrospective study. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):293.
49. Kochar SP, Reche A, Paul P. The etiology and management of dental implant failure: a review. *Cureus*. 2022;14(10):e30455.

50. Crupi A, Lanzetti J, Todaro D, Pera F, Erovnig FM. Dental implant survival and risk of medication-related osteonecrosis in the jaws in patients undergoing antiresorptive therapy: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2025;26(8):3618.
51. 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. *J Clin Periodontol.* 2018;45 Suppl 20:S286-91.
52. Berglundh T, Mombelli A, Schwarz F, Derks J. Etiology, pathogenesis and treatment of peri-implantitis: a European perspective. *Periodontol 2000.* 2024;94(1):142-57.
53. Di Spirito F, Giordano F, Di Palo MP, D'Ambrosio F, Scognamiglio B, Sangiovanni G, et al. Microbiota of peri-implant healthy tissues, peri-implant mucositis, and peri-implantitis: a comprehensive review. *Microorganisms.* 2024;12(6):1137.
54. Rodriguez MV, Ravidà A, Saleh MHA, Basma HS, Dukka H, Khurshid H, et al. Is the degree of physiological bone remodeling a predictive factor for peri-implantitis? *J Periodontol.* 2022;93(9):1273-82.
55. Sahrman P, Gilli F, Wiedemeier DB, Attin T, Schmidlin PR, Karygianni L. The microbiome of peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Microorganisms.* 2020;8(5):661.
56. Banu Raza F, Vijayaragavalu S, Kandasamy R, Krishnaswami V, Kumar VA. Microbiome and the inflammatory pathway in peri-implant health and disease with an updated review on treatment strategies. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2023;13(2):84-91.
57. Martínez-Hernández M, Reyes-Grajeda JP, Hannig M, Almaguer-Flores A. Salivary pellicle modulates biofilm formation on titanium surfaces. *Clin Oral Investig.* 2023;27(10):6135-45.
58. de Campos Kajimoto N, de Paiva Buischi Y, Mohamadzadeh M, Loomer P. The oral microbiome of peri-implant health and disease: a narrative review. *Dent J (Basel).* 2024;12(10):299.

59. Fernandes GVO, Mosley GA, Ross W, Dagher A, Martins BGDS, Fernandes JCH. Revisiting Socransky's complexes: a review suggesting updated new bacterial clusters (GF-MoR complexes) for periodontal and peri-implant diseases and conditions. *Microorganisms*. 2024;12(11):2214.
60. Choe H, Tatro JM, Hausman BS, Hujer KM, Marshall SH, Akkus O, et al. *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii* inhibit osseointegration of orthopedic implants. *Infect Immun*. 2022;90(3):e0066921.
61. Upmanyu K, Haq QMR, Singh R. Factors mediating *Acinetobacter baumannii* biofilm formation: opportunities for developing therapeutics. *Curr Res Microb Sci*. 2022;3:100131.
62. Zaatout N. Presence of non-oral bacteria in the oral cavity. *Arch Microbiol*. 2021;203(6):2747-60.
63. Mombelli A, Lang NP. The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontol* 2000. 1998;17:63-76.
64. Hong I, Koo KT, Oh SY, Park HW, Sanz-Martín I, Cha JK. Comprehensive treatment protocol for peri-implantitis: an up-to-date narrative review of the literature. *J Periodontal Implant Sci*. 2024;54(5):295-308.
65. Herrera D, Berglundh T, Schwarz F, Chapple I, Jepsen S, Sculean A, et al. EFP workshop participants and methodological consultant. Prevention and treatment of peri-implant diseases: the EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2023;50 Suppl 26:4-76.
66. Roccuzzo A, Stähli A, Monje A, Sculean A, Salvi GE. Peri-implantitis: a clinical update on prevalence and surgical treatment outcomes. *J Clin Med*. 2021;10(5):1107.
67. Monje A, Amerio E, Cha JK, Kotsakis G, Pons R, Renvert S, et al. Strategies for implant surface decontamination in peri-implantitis therapy. *Int J Oral Implantol (Berl)*. 2022;15(3):213-48.

68. Ravidà A, Dias DR, Lemke R, Rosen PS, Bertolini MM. Efficacy of decontamination methods for biofilm removal from dental implant surfaces and reosseointegration: an AAP/AO systematic review on peri-implant diseases and conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2025;40 Suppl 4:S91-160.
69. Khan SN, Koldsland OC, Roos-Jansåker AM, Wohlfahrt JC, Verket A, Mdala I, et al. Non-surgical treatment of mild to moderate peri-implantitis using an oscillating chitosan brush or a titanium curette - a randomized multicentre controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2022;33(12):1254-64.
70. Iatrou P, Chamilos C, Nickles K, Ratka C, Eickholz P, Petsos H. In vitro efficacy of three different nonsurgical implant surface decontamination methods in three different defect configurations. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2021;36(2):271-80.
71. Tan NCP, Miller CM, Antunes E, Sharma D. Impact of physical decontamination methods on zirconia implant surface and subsequent bacterial adhesion: an in vitro study. *Clin Exp Dent Res*. 2022;8(1):313-21.
72. Giffi R, Pietropaoli D, Mancini L, Tarallo F, Sahrman P, Marchetti E. The efficacy of different implant surface decontamination methods using spectrophotometric analysis: an in vitro study. *J Periodontal Implant Sci*. 2023;53(4):295-305.
73. Fischer KR, Büchel J, Gubler A, Liu CC, Sahrman P, Schmidlin PR. Nonsurgical cleaning potential of deep-threaded implants and titanium particle release: a novel in vitro tissue model. *Clin Oral Implants Res*. 2023;34(5):416-25.
74. Kitaygorodskiy A, Gregory RL, Lim G, Hamada Y. In vitro comparison of titanium disc surface roughness and bacterial colonization after ultrasonic instrumentation with three different tips. *J Oral Implantol*. 2024;50(5):537-43.
75. Sousa V, Mardas N, Spratt D, Hassan IA, Walters NJ, Beltrán V, et al. The effect of microcosm biofilm decontamination on surface topography, chemistry, and biocompatibility dynamics of implant titanium surfaces. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17):10033.

76. Larsen OI, Enersen M, Kristoffersen AK, Wennerberg A, Bunæs DF, Lie SA, et al. Antimicrobial effects of three different treatment modalities on dental implant surfaces. *J Oral Implantol*. 2017;43(6):429-36.
77. Ichioka Y, Derks J, Dahlén G, Berglundh T, Larsson L. Mechanical removal of biofilm on titanium discs: an in vitro study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022;110(5):1044-55.
78. Romanos GE, Estrin NE. Laser applications in peri-implantitis therapy: a narrative review. *J Dent*. 2025;162:106081.
79. Hart I, Wells C, Tsigarida A, Bezerra B. Effectiveness of mechanical and chemical decontamination methods for the treatment of dental implant surfaces affected by peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Dent Res*. 2024;10(1):e839.
80. Huang N, Li Y, Li W, Zhao R, Ou Y, Chen J, et al. The clinical efficacy of laser in the nonsurgical treatment of peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Implant Dent*. 2024;10(1):54.
81. Zipprich H, Weigl P, Di Gianfilippo R, Steigmann L, Henrich D, Wang HL, et al. Comparison of decontamination efficacy of two electrolyte cleaning methods to diode laser, plasma, and air-abrasive devices. *Clin Oral Investig*. 2022;26(6):4549-58.
82. Alonso-Español A, Bravo E, Carrillo de Albornoz A, Martínez M, Doll-Nikutta K, Winkel A, et al. Antimicrobial effect and cytocompatibility after using different decontamination methods on titanium implant surfaces: an in vitro study. *Clin Oral Implants Res*. 2025;36(5):626-39.
83. Schlee M, Wang HL, Stumpf T, Brodbeck U, Bosshardt D, Rathe F. Treatment of periimplantitis with electrolytic cleaning versus mechanical and electrolytic cleaning: 18-month results from a randomized controlled clinical trial. *J Clin Med*. 2021;10(16):3475.

84. Bosshardt DD, Brodbeck UR, Rathe F, Stumpf T, Imber JC, Weigl P, et al. Evidence of re-osseointegration after electrolytic cleaning and regenerative therapy of peri-implantitis in humans: a case report with four implants. *Clin Oral Investig*. 2022;26(4):3735-46.
85. Fonseca D, Pons R, de Tapia B, Monje A, Nart J, Aparicio C, et al. Effect of electrolytic cleaning on mechanical properties for titanium dental implants with surface contamination. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2025;40(6):725-34.
86. Klein A, Rasperini G, Gruber R, Andrukhov O, Rausch-Fan X. Electrolytic cleaning of dental implants: a scoping review of clinical studies. *Dent J (Basel)*. 2025;13(4):172.
87. Burel C, Kala A, Purevdorj-Gage L. Impact of pH on citric acid antimicrobial activity against Gram-negative bacteria. *Lett Appl Microbiol*. 2021;72(3):332-40.
88. Poppolo Deus F, Ouanounou A. Chlorhexidine in dentistry: pharmacology, uses, and adverse effects. *Int Dent J*. 2022;72(3):269-77.
89. Ye M, Liu W, Cheng S, Yan L. Efficacy of adjunctive chlorhexidine in non-surgical treatment of peri-implantitis/peri-implant mucositis: an updated systematic review and meta-analysis. *Pak J Med Sci*. 2023;39(2):595-604.
90. Toledano-Osorio M, Vallecillo C, Toledano R, Aguilera FS, Osorio MT, Muñoz-Soto E, et al. A systematic review and meta-analysis of systemic antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(11):6502.
91. D'Orto B, Polizzi E. Peri-implantitis causal therapy with and without doxycycline: retrospective cohort clinical study. *Appl Sci*. 2025;15(11):6367.
92. Boccia G, Di Spirito F, D'Ambrosio F, Di Palo MP, Giordano F, Amato M. Local and systemic antibiotics in peri-implantitis management: an umbrella review. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(1):114.
93. Meném M, Estácio C, Mascarenhas P, Santos A. Influence of local and systemic antibiotics in non-surgical peri-implantitis treatment: a systematic review and meta-analysis update. *Appl Sci*. 2025;15(21):11422.

94. Gupta A, Kale B, Masurkar D, Jaiswal P. Etiology of dental implant complication and failure: an overview. *AIMS Bioeng.* 2023;10(2):141-52.
95. Zhu Y, Lu H, Yang S, Liu Y, Zhu P, Li P, et al. Predictive factors for the treatment success of peri-implantitis: a protocol for a prospective cohort study. *BMJ Open.* 2024;14(1):e072443.
96. Weatherspoon DJ, Chen H, Dye BA. Implant and implant restoration trends among adults 50 years and older in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2020. *J Am Dent Assoc.* 2024;155(7):574-86.
97. Baima G, Citterio F, Romandini M, Romano F, Mariani GM, Buduneli N, et al. Surface decontamination protocols for surgical treatment of peri-implantitis: a systematic review with meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2022;33(11):1069-86.
98. GC Tech Europe GmbH. GC Aadvia Implant Literature Compendium [Internet]. Luzern: GC Tech Europe GmbH; [cited 2026 Jan 21]. Available from: https://www.gc.dental/gctech/sites/gctech-europe.gc.dental/files/products/downloads/shortimplant/reference/REF_Aadvia_Implant_Literature_Compendium_en.pdf
99. Lehr R. Sixteen s-squared over d-squared: a relation for sample size. *Stat Med.* 1992;11(8):1099-102.
100. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. 2nd ed. Hillsdale (NJ): Lawrence Erlbaum Associates; 1988. 567 p.
101. Assunção MA, Botelho J, Machado V, Proença L, Matos APA, Mendes JJ, et al. Dental implant surface decontamination and surface change of an electrolytic method versus mechanical approaches: a pilot in vitro study. *J Clin Med.* 2023;12(4):1703.
102. Gedefie A, Demsis W, Ashagrie M, Kassa Y, Tesfaye M, Tilahun M, et al. *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and its role in disease pathogenesis: a review. *Infect Drug Resist.* 2021;14:3711-19.

103. Roy S, Chowdhury G, Mukhopadhyay AK, Dutta S, Basu S. Convergence of biofilm formation and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infection. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:793615.
104. Sousa V, Nibali L, Spratt D, Dopico J, Mardas N, Petrie A, et al. Peri-implant and periodontal microbiome diversity in aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Clin Oral Implants Res*. 2017;28(5):558-70.
105. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(3):318-27.
106. Bharadwaj A, Rastogi A, Pandey S, Gupta S, Sohal JS. Multidrug-resistant bacteria: their mechanism of action and prophylaxis. *Biomed Res Int*. 2022;2022:5419874.
107. Tsikopoulos K, Sidiropoulos K, Kitridis D, Hassan A, Drago L, Mavrogenis A, et al. Is coating of titanium implants effective at preventing *Staphylococcus aureus* infections? A meta-analysis of animal model studies. *Int Orthop*. 2021;45(4):821-35.
108. Albavera-Gutierrez RR, Espinosa-Ramos MA, Rebolledo-Bello E, Paredes-Herrera FJ, Carballo-Lucero D, Valencia-Ledezma OE, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* infections in the implantation of orthopedic devices in a third-level hospital: an observational cohort study. *Pathogens*. 2024;13(8):620.
109. Toma S, Behets C, Brecx MC, Lasserre JF. In vitro comparison of the efficacy of peri-implantitis treatments on the removal and recolonization of *Streptococcus gordonii* biofilm on titanium disks. *Materials (Basel)*. 2018;11(12):2484.
110. Alagl AS, Madi M, Bedi S, Al Onaizan F, Al-Aql ZS. The effect of Er,Cr:YSGG and diode laser applications on dental implant surfaces contaminated with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Materials (Basel)*. 2019;12(13):2073.
111. Citterio F, Zanotto 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. *Front Surg*. 2022;9:886559.

112. De Lauretis A, Santacroce M, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP, Linke D, Haugen HJ. Surface-specific outcomes of mechanical debridement with titanium, chitosan and nitinol brushes on titanium dental implant surfaces. J Dent. 2025;162:106010.
113. Al-Hashedi AA, Laurenti M, Benhamou V, Tamimi F. Decontamination of titanium implants using physical methods. Clin Oral Implants Res. 2017;28(8):1013-21.

8. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Ante Jordan rođen je 16. srpnja 1987. godine u Zadru gdje je završio Gimnaziju Franje Petrića. Diplomirao je na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2012. godine s prosječnom ocjenom 4.81. Nakon obavljenoga pripravničkog staža i položenog stručnog ispita radi u privatnim ordinacijama dentalne medicine u Novalji i Zagrebu. Specijalizaciju iz oralne kirurgije započeo je 2017. godine, a nakon njezina završetka položio je specijalistički ispit te stekao zvanje specijalista oralne kirurgije. Od 2021. godine radi na Odjelu oralne kirurgije Stomatološke poliklinike Zagreb. Godine 2021. upisuje poslijediplomski doktorski studij na Stomatološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Služi se engleskim i talijanskim jezikom.

POPIS RADOVA

i) Radovi objavljeni u časopisima u WoS Science Citation Indexu Expanded (WoS SCIE) - kvartil prema Journal Citation Reports (JCR)

1. **Jordan A**, Smojver I, Budimir A, Gabrić D, Vuletić M. Evaluation of different procedures for titanium dental implant surface decontamination - in vitro study. Bioengineering (Basel). 2024;11(4):326. (Q2) *rad proizašao iz dokorskog istraživanja*
2. **Jordan A**, Badovinac A, Špalj S, Par M, Šlaj M, Plančak D. Factors influencing intensive care nurses' knowledge and attitudes regarding ventilator-associated pneumonia and oral care practice in intubated patients in Croatia. Am J Infect Control. 2014;42(10):1115-7. (Q2)
3. **Jordan A**, Welbury R, Kujundžić-Tiljak M, Čuković-Bagić I. Croatian dental students' educational experiences and knowledge in regard to child abuse and neglect. J Dent Educ. 2012;76(11):1512-9. (Q3)

ii) Radovi objavljeni u časopisima u drugim bazama (WoS ESCI, Scopus itd.)

1. **Jordan A**, Vuletić M, Sušić M, Stojić L, Gabrić D. Nasal Floor Elevation - An Option of Premaxilla Augmentation: A Case Report. Surgeries (Basel). 2022;3(4):306-13. (Q3)

iii) Sažeci u međunarodnim časopisima

1. Vuletić M, **Jordan A**, Smojver I, Gabrić D, Budimir A. Evaluation of Different Methods for Dental Implant Surface Decontamination. J Clin Periodontol. 2025;52(S28):366. (Q1) *rad proizašao iz doktorskog istraživanja*

iv) Sažeci s međunarodnih i domaćih kongresa

1. **Jordan A**, Smojver I, Budimir A, Gabrić D, Vuletić M. Comparison of different decontamination procedures for dental implants: an in vitro study. 2024 10. međunarodni kongres Hrvatskoga društva za dentalnu implantologiju HLZ-a, Pula, Hrvatska, 18.-21. travnja 2024. (*međunarodni, **oralna prezentacija rezultata doktorata***)
2. **Jordan A**, Katanec T, Gabrić D, Katanec D. Podizanje dna maksilarnoga sinusa uz primjenu trombocitima obogaćenoga fibrina i istovremena ugradnja dentalnih implantata / Sinus lift using platelet rich fibrin with immediate dental implant placement. 2017 7. međunarodni kongres Hrvatskoga društva za dentalnu implantologiju HLZ-a, Osijek, Hrvatska, 12.-14. listopada 2017. (*međunarodni, **oralna prezentacija***)