

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

KEMİK TOPLAYICI VE KEMİK KAZIYICI İLE TOPLANAN
OTOJEN KEMİK GREFTİNE OZON GAZININ ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Onur KEÇELİ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI

ADANA- 2015

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ, DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

KEMİK TOPLAYICI VE KEMİK KAZIYICI İLE TOPLANAN
OTOJEN KEMİK GREFTİNE OZON GAZININ ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Onur KEÇELİ

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI

Bu proje, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi tarafından
DHF2013D7 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No:

ADANA- 2015

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bana yol gösteren, önümü aydınlatan değerli hocam Doç. Dr. M. Emre BENLİDAYI'ya başta olmak üzere,

Doktora eğitimim boyunca değerli tecrübelerini ve bilgilerini her zaman benimle paylaşan ve üzerimde büyük emeği bulunan sayın hocalarım Prof. Dr. Mehmet KÜRKÇÜ'ye, Prof. Dr. Emin ESEN'e, Doç. Dr. Ufuk TATLI'ya, Doç. Dr. Özgür ERDOĞAN'a,

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük emeği ve katkısı olan Prof. Dr. Fatih KÖKSAL'a, Öğr. Gör. Melda MERAL'e, Biyolog Başak BEDİR'e,

Tezimin istatistiksel değerlendirmesini yapan Dr. Yaşar SERTDEMİR'e, Biyoistatistik Uzmanı Çağla SARİTÜRK'e,

Yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Dt. Şule Nur KURT'a, Dt. Mert SANRI'ya, Dt. Onur Evren KAHRAMAN'a, Dt. Uygur BAKŞI'ye, Dt. Fatih KUYUMCU'ya, Dt. Halide NAMLI'ya, Dt. Halil İbrahim KISA'ya, Dt. Mehmet ÇALIŞKAN'a, Dt. Erkan ARSLAN'a, Dt. Revnak AKBURAK'a, Dt. Tayfun TURNA'ya, Dt. Erol AYDIN'a, Dt. Sadi COŞKUN'a,

Çalışmanın cerrahi aşamalarındaki yardımlarından ötürü değerli hemşirelerimiz Selda EKER'e, Eda MARPUÇ İRDAY'a, Nursen ŞAHİNOĞLU'na,

Bugünlere gelmemdeki en büyük pay sahibi olan, hayatımın her noktasında karşılıksız sevgi ve desteklerini sunan sevgili annem Lütfiye KEÇELİ'ye, sevgili babam Mehmet KEÇELİ'ye, sevgili ablalarım Filiz KEÇELİ'ye, Ferda KEÇELİ'ye ve Meltem KEÇELİ'ye

Manevi desteğini her zaman hissettiğim yol arkadaşım, sevgili eşim Büşra POLAT KEÇELİ'ye,

Saygı ve sevgilerimi sunar, tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kemik Dokusunun Önemi.....	3
2.2. Kemik Dokusunun Gelişimi.....	3
2.3. Kemik Dokusunun Yapısı	3
2.4. Kemik Hücreleri.....	5
2.5. Kemik Matriksi	7
2.6. Kemğin İyileşmesi	7
2.6.2. Proliferatif Safha	8
2.6.3. Maturasyon Safhası.....	8
2.7. Kemik Greftleri	9
2.7.1. Otojen Kemik Greftleri	9
2.7.2. Allojenik Kemik Greftleri.....	10
2.7.3. Ksenojenik Kemik Greftleri.....	12
2.7.4. Alloplastik Kemik Greftleri	12
2.7.4.1. Seramikler.....	13
2.7.4.2. Kalsiyum Karbonat.....	13
2.7.4.3. Kompozit Kopolimerler.....	14
2.7.4.4. Kalsiyum Sülfat	14
2.8. Normal Oral Flora	14
2.8.1. Gram Pozitif Koklar.....	15
2.8.1.1. Streptokok Familyası.....	15

2.8.1.1.1. Mutans Grubu	15
2.8.1.1.2. Salivarius Grubu	16
2.8.1.1.3. Anginosus Grubu	16
2.8.1.1.4. Mitis Grubu	16
2.8.1.1.5. Anaerobik Streptokoklar (Peptostreptokoklar)	17
2.8.1.1.6. Enterokoklar	17
2.8.1.2. Stomatokokus Familyası	17
2.8.1.3. Stafilokokus Familyası	17
2.8.1.4. Mikrokok Familyası	18
2.8.2. Gram Pozitif Rodlar ve Filamentler	18
2.8.2.1. Actinomyces Familyası	18
2.8.2.2. Lactobacillus Familyası	19
2.8.2.3. Eubacterium Familyası	19
2.8.2.4. Propionibacterium Familyası	19
2.8.3. Diğer Göze Çarpan Gram Pozitif Organizmalar	20
2.8.4. Gram Negatif Koklar	20
2.8.4.1. Neisseria Familyası	20
2.8.4.2. Veillonella Familyası	20
2.8.5. Gram Negatif Rodlar – Aerobik Cinsler	21
2.8.6. Gram Negatif Rodlar – Fakültatif Anaerobik ve Kapnofil Cinsler	21
2.8.6.1. Haemophilus Familyası	21
2.8.6.2. Aggregatibacter Familyası	21
2.8.6.3. Eikenella Familyası	22
2.8.6.4. Capnocytophaga Familyası	22
2.8.7. Gram Negatif Rodlar – Zorunlu Anaerobik Familya	22
2.8.7.1. Bacteroides Familyası	23
2.8.7.2. Porphyromonas Familyası	23
2.8.7.3. Prevotella Familyası	24
2.8.7.4. Fusobacterium Familyası	24
2.8.7.5. Leptotrichia Familyası	24
2.8.7.6. Wolinella Familyası	25
2.8.7.7. Selenomonas Familyası	25

2.8.7.8. Treponema Familyası	25
2.8.8. Oral Protozoa	25
2.8.8.1. Entamoeba Familyası	25
2.8.8.2. Trichomonas Familyası	26
2.8.9. Klamidyalar.....	26
2.8.10. Riketsiyalar	26
2.8.11. Mikoplazmalar	26
2.8.12. Oral Mantarlar.....	27
2.9. Ozon Gazı.....	28
2.9.1. Ozon Gazının Tarihçesi	29
2.9.2. Ozon Gazının Tedavi Edici Etkilerinin Mekanizması	30
2.9.2.1. Antimikrobiyal Etki.....	30
2.9.2.2. İmmün Sistemi Stimüle Edici Etki	31
2.9.2.3. Antihipoksik Etki.....	31
2.9.2.4. Analjezik ve Detoksike Edici Etki	31
2.9.2.5. Biyoenerjik ve Biyosentetik Etki.....	31
2.9.3. Ozon Tedavisinin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları	32
2.9.4. Ozon Gazının Uygulama Şekilleri	32
2.9.5. Ozon Gazı Üretmek İçin Kullanılan Sistemler	32
2.9.6. Diş Hekimliğinde Ozon Tedavisi.....	33
2.9.7. Ozonun Toksisitesi.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Hastalar	36
3.2. Cerrahi Yöntem.....	36
3.3. Mikrobiyolojik Analiz.....	45
3.3.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanışları.....	47
3.3.1.1. Kanlı Agar	47
3.3.1.2. Thioglycolat Buyyon (VM882690743, Merck, Almanya).....	48
3.3.1.3. Brain Heart İnfusion Broth (53286 SIGMA, Almanya).....	48
3.3.1.4. Kanamisin Eskülin Azid Agar (VM454422 240, Merck, Almanya)	48
3.3.1.5. Endo Agar (Himedia, İndia).....	48

3.3.1.6. Fastidious Anaerob Agar (7531, Acumedia, USA).....	49
3.3.2. Fenotipik İdentifikasyon Testleri	49
3.3.2.1. Oksidaz Testi	49
3.3.2.2. Katalaz Testi.....	49
3.3.2.3. BD BBL Kristal Kiti ile Gram (+) Kok ve Basillerin İdentifikasyonu	50
3.3.3. Moleküler Yöntemler	50
3.3.3.1. DNA Ekstraksiyonu	50
3.3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu	52
3.3.3.3. Agaroza Jel Elektrophorezi ve Görüntüleme İçin Kullanılan Tamponlar	54
3.3.3.3.1. 10 x TBE Stok Tamponunun Hazırlanması	54
3.3.3.3.2. Uygulama.....	54
3.4. İstatistiksel Analiz	55
4. BULGULAR.....	56
5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKLAR	82
ÖZGEÇMİŞ	90
EKLER.....	91
Ek 1: Etik Kurulu Onay Formu	91
Ek 2. Hasta Onam Formu.....	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Kemik hücreleri	5
Şekil 3.1.	% 0,2'lik klorheksidin glukonat içeren gargara	37
Şekil 3.2.	Octenidin içeren cilt antiseptiği	37
Şekil 3.3.	Lokal anestezi	38
Şekil 3.4.	Kemik kazıyıcı ile otojen greft toplanması	39
Şekil 3.5.	Kemik kazıyıcı ile toplanan otojen greft	39
Şekil 3.6.	Otojen kemik greftinin tüp içerisine yerleştirilmesi	40
Şekil 3.7.	Otojen kemik greftinin enjektör içerisine yerleştirilmesi	40
Şekil 3.8.	Ozon gazı jeneratörü (Prozone®, W&H, Avusturya)	41
Şekil 3.9.	Otojen kemik greftine ozon gazı uygulanması	41
Şekil 3.10.	Kemik toplayıcı	42
Şekil 3.11.	Operasyon esnasında kemik toplayıcı ve cerrahi aspiratör olmak üzere iki aspiratörün kullanımı	42
Şekil 3.12.	Diş çekimi sonrası primer suturasyon	43
Şekil 3.13.	Kemik toplayıcı ile toplanan otojen kemik grefti	43
Şekil 3.14.	Otojen kemik greftinin Brain Heart Infusion Broth'a ekilmesi	44
Şekil 3.15.	% 7 Koyun Kanlı Agar	46
Şekil 3.16.	10 ⁻⁴ dilüsyonun ekildiği % 7 koyun kanlı agar	46
Şekil 3.17.	Endo agar ve kanamisin eskülin azid agar	47
Şekil 3.18.	BD BBL Kristal kiti	50
Şekil 3.19.	Applied Biosystem Veriti Thermal Cycler cihazı	53
Şekil 3.20.	OWL Separation Systems Model Elektroforez tankı	55
Şekil 4.1.	Total bakteriyel yükün Log ₁₀ tabanına göre karşılaştırılması	61
Şekil 4.2.	Aerob bakteri üreme dağılımları	64
Şekil 4.3.	Anaerob bakterilerin üreme dağılımları I	67
Şekil 4.4.	Anaerob bakterilerin (Bactoides) üreme dağılımları II	68
Şekil 4.5.	16s rDNA pozitifliğinin PCR görüntüsü	68
Şekil 4.6.	16s rDNA pozitifliğinin PCR görüntüsü	68

Şekil 4.7. FN: <i>Fusobacterium nucleatum</i> , PG: <i>Porphyromonas gingivalis</i> , PI: <i>Prevotella intermedia</i> , TF: <i>Tannerella forsythia</i> 'nın bant büyüklükleri ve PCR görüntüsü.....	69
Şekil 4.8. <i>Bacteriodes</i> grubunun belirlenmesinde bantların büyüklükleri ve Multipleks PCR.....	69
Şekil 4.9. <i>Bacteriodes</i> grubunun belirlenmesinde bantların büyüklükleri Multipleks PCR görüntüsü	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Kanlı Agar İçin Gerekli Malzemeler	47
Tablo 3.2. Thioglycolat Buyyon İçin Gerekli Malzemeler	48
Tablo 3.3. Brain Heart İnfusion Broth İçin Gerekli Malzemeler	48
Tablo 3.4. Kanamisin Eskülin Azid Agar İçin Gerekli Malzemeler	48
Tablo 3.5. Endo Agar İçin Gerekli Malzemeler	48
Tablo 3.6. Fastidious Anaerob Agar İçin Gerekli Malzemeler	49
Tablo 3.7. Oksidaz Testi İçin Gerekli Malzemeler	49
Tablo 3.8. Katalaz Testi İçin Gerekli Malzemeler	49
Tablo 3.9. Kullanılan Primerler, Hedeflenen Türe Ait Amplikon Uzunlukları ve Referansları. ¹⁰⁴⁻¹⁰⁸	51
Tablo 3.10. Multipleks PCR İçin Kullanılan Primerler, Hedeflenen Türe Ait Amplikon Uzunlukları ve Referansları. ¹⁰⁹	51
Tablo 3.11. Tüm Mikroorganizmalar İçin Uygulanan Amplifikasyon Koşulları	53
Tablo 3.12. 10 x Tris-Borat (TBE) Stok Tamponunun Hazırlanması İçin Gerekli Malzemeler	54
Tablo 4.1. Kemik Toplayıcı ve Kemik Kazıyıcı ile Alınan Kemik Greftlerinin mg Cinsinden Miktarı	56
Tablo 4.2. Alınan Örneklerin cfu/ağırlık Cinsinden Değerleri	57
Tablo 4.3. Kemik Kazıyıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri	58
Tablo 4.4. Kemik Toplayıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri	59
Tablo 4.5. Kemik Kazıyıcı ve Kemik Toplayıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri	60
Tablo 4.6. Total Bakteriyel Yükün Log ₁₀ Tabanına Göre Karşılaştırılması	61
Tablo 4.7. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Aerob Bakteri Üreme Oranları ve Dağılımları	63
Tablo 4.8. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Enterokok ve Pseudomonas Üreme Oranları ve Dağılımları	65
Tablo 4.9. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Anaerob Bakteri Oranları ve Dağılımları	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μm	: Mikrometre
TGF- β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta
IGF-I	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü I
IGF-II	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü II
IL-1	: İnterlökin 1
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
bFGF	: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
FB	: Dondurulmuş Kemik
FDB	: Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik
DFDB	: Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik
HIV	: Human Immunodeficiency Virus / İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HA	: Hidroksiapatit
TCP	: Trikalsiyum Fosfat
β -TCP	: Beta Trikalsiyum Fosfat
PGA	: Poliglikolik Asit
PLA	: Polilaktik Asit
MSA	: Mitis Salivarius Agar
pH	: Hidrojen Konsantrasyonunun Eksi Logaritması
IgG	: İmmünglobulin G
IgA1	: İmmünglobulin A1
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
SAB	: Sabouraud Dekstroz Agar
PDA	: Patetes Dekstroz Agar
O ₃	: Ozon
ppm	: Milyonda Bir Birim
pO ₂	: Parsiyel Oksijen Basıncı
NO	: Nitroz Oksit
mg/l	: Miligram/ Litre

mg/ml	: Miligram/ Mililitre
7ml	: Mililitre
l/dk	: Litre/ Dakika
sn	: Saniye
mg	: Miligram
w/v	: Ağırlık/ Hacim
gr	: Gram
bp	: Baz Per
µl	: Mikro Litre
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
UV	: Ultraviyole
mA	: Miliamper
V	: Volt
Log ₁₀	: Logaritma 10 Tabanı
cfu	: Colony Forming Unit
p	: İstatistiksel Önem Düzeyi
O ₂	: Oksijen

ÖZET

Kemik Toplayıcı ve Kemik Kazıyıcı ile Toplanan Otojen Kemik Greftine Ozon Gazının Etkilerinin Değerlendirilmesi

Dişsiz alveoler kretlerin protetik rehabilitasyonu diş hekimliğinde sıklıkla uygulanan bir işlemdir. Yetersiz alveolar kret varlığında implant destekli bir protez ile rahabilitasyon sağlayabilmek için öncelikle kemik augmentasyon prosedürleri planlanmalıdır. Otojen greftler, allogreftler, ksenogreftler ve membranlar bu amaçla kullanılan materyallerdir. Her materyalin çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiş avantajlar ve dezavantajları mevcuttur. Bu durumda otojen greftlerin altın standart olduğu söylenebilmektedir.

Verici sahalardan otojen greft elde etmek için birçok metod kullanılmaktadır. Kemik kazıyıcıları ve kemik toplayıcıları da bu metodlardan bazılarıdır. Oral bölgeden kemik toplayıcıları ile toplanan otojen kemiğin bakteriyel kontaminasyonu ile ilgili pek çok çalışma mevcutken kemik kazıyıcıları ile ilgili yeterli sayıda çalışma mevcut değildir. Bu araştırmada ise mandibulada tam kemik retansiyonlu gömülü yirmi yaş dişlerinin cerrahi çekimi sırasında bu iki metodun ayrı ayrı kullanılması ile elde edilen kontamine otojen greft üzerinde ozon gazının antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Böylece oral ve maksillofasiyal cerrahi alanında sıklıkla uygulanan kemik augmentasyonu işlemlerine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Bakteriyel Kontaminasyon, Kemik Kazıyıcı, Kemik Toplayıcı, Ozon Gazı, Otojen Kemik.

ABSTRACT

Assessment of Effects of Ozone Gas In Autogenous Bone Graft Which Was Collected Through Bone Collector and Bone Scraper

Prosthetic rehabilitation of edentulous alveolar ridge is a frequently performed procedure in dentistry. Bone augmentation procedures should be performed before prosthetic rehabilitation of inadequate alveolar ridge with implants. Autogenous grafts, allografts, xenografts and membranes are used for this purpose. The advantages and disadvantages of all these materials have been documented in a variety of clinical and experimental studies. It has been stated that autogenous grafts are still the gold standard.

Many methods have been used in order to harvest autogenous bone from donor site such as bone scrapers and bone collectors. Although there are many studies regarding the bacterial contamination of autogenous graft harvested with bone collectors, there is inadequate data in the literature about bone scrapers. In this research antimicrobial efficiency of ozone on the contaminated autogeneous graft which were harvested either of these two methods during the surgical extractions of fully impacted mandibular third molar teeth was evaluated. By this way it was aimed to contribute to the bone augmentation procedures which is performed frequently in oral and maxillofacial surgery.

Keywords: Bacterial Contamination, Bone Scraper, Bone Collector, Ozone Gas, Autogenous Bone.

1. GİRİŞ

Dişsiz alveolar kretlerin implant destekli protetik rehabilitasyonu diş hekimliğinde sıklıkla gerçekleştirilen bir işlemdir. İmplant destekli protezin yerleşeceği bölgedeki alveolar krette yeterli hacimde kemik bulunmadığı durumlarda alveolar augmentasyon yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Alveolar augmentasyon işlemi için kullanılan farklı greft materyalleri bulunmaktadır. Bunlar arasında hayvansal kaynaklı ksenogreftler, insan kaynaklı allogreftler, sentetik olan alloplastik greftler ve hastanın kendisinden elde edilen otojen greftler sayılabilir¹. Otojen greftler günümüzde hala altın standart olarak yerini korumaktadır¹. Otojen greft elde etmek için ekstraoral ve intraoral donör alanlardan faydalanılır. Ekstraoral donör alan olarak anterior ve posterior iliak kanat, tibia, kranyum ve kosta kullanılmaktadır. İntraoral donör alanlar arasında ise simfizis, ramus, tüber maksilla ve retromolar bölge bulunmaktadır. Ayrıca intraoral bölgelerden otojen kemik grefti elde etmek için çeşitli metodlar ve enstrümanlar geliştirilmiştir. Bunlar arasında kemik kazıyıcılar, kemik toplayıcılar, kemik toplayıcı frezler, kemik değirmenleri ve kemik pensleri bulunmaktadır². Bu enstrümanların kullanımı; otojen kemik toplamak için ikinci bir cerrahi sahaya gerek duyulmaması, donör alan morbiditesinin gerçekleşmemesi, maliyetin düşürülmesi, postoperatif dönemde hasta konforunun artması gibi avantajlara sahiptir. Diğer yandan elde edilen kemik dokusu miktarının az olması, toplanan otojen kemiğin oral flora ile kontamine olması gibi dezavantajları beraberinde getirir². Bu dezavantajlar arasında bulunan toplanan greftin kontaminasyon riskinin, operasyon sonrası dönemde enfeksiyona bağlı komplikasyon gelişme ihtimalini arttırdığı düşünülmektedir^{3,4}. Bu kontaminasyonu azaltmak için profilaktik antibiyotik, antiseptik ağız gargarası ve ağız içerisinde tükürük izolasyonu gibi pek çok yöntem kullanılmaktadır.

Ozon gazı jeneratörünün antibakteriyel, antiviral ve antifungal etkinliği literatürde pek çok çalışma ile gösterilmiştir^{5,6}. Bununla beraber literatürde ozon gazının ağız içi bölgeden toplanan otojen kemik greftinin kontaminasyonunu azaltmak için kullanıldığı herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Literatürdeki bu bilgi eksikliğinden yola çıkılarak bu araştırmada kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı aracılığıyla tam kemik retansiyonlu gömülü alt 20 yaş dişlerin çevresindeki kemikten toplanan partiküllü

otojen kemik greftinin kontaminasyonu ve ozon gazının ilgili kontaminasyon üzerindeki antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kemik Dokusunun Önemi

Kemik mineralize organik matriks ile karakterize olan ve vücutta pek çok fonksiyonu yerine getirebilmek için ileri derecede özelleşmiş bir bağ dokusudur. İnsan vücudu için oldukça büyük bir öneme sahip olan kemik dokunun pek çok görevi vardır. Mekanik vücut desteği; hareket; ısırma ve çiğneme esnasında dişlerin desteklenmesi; beynin, spinal kordun ve iç organların korunması ve desteklenmesi; hematopoietik hücrelerin kaynağı olan kemik iliğinin muhafazası ve kalsiyum hemostazı bu görevler arasındadır. Kemik dokusunun vücut için bu kadar çok fonksiyona sahip olması iyileşme, tamir ve rejenerasyon kapasitesini bu doku için oldukça önemli hale getirmektedir⁷.

2.2. Kemik Dokusunun Gelişimi

İnsan iskeleti uzun kemik ve yassı kemik adlı kemiklerden oluşmaktadır ve bu kemikler iki embriyonik kaynaktan gelişmektedirler. Bunlar somitlerdeki mezoderm ve brankiyel arklardır. Kemik oluşumu yeterli kan desteği ve mekanik destek gibi iki ön koşula bağlıdır.

Kemikleşmenin iki farklı şekli mevcuttur. Bunlar intramembranöz ve endokondral kemikleşmelerdir. İntramembranöz kemikleşme durumunda bağ doku kemik matriksi birikimi için bir şablon görevi görmektedir. Kondral kemikleşme esnasında ise önce kıkırdak doku oluşması, sonra mineralizasyonu ve daha sonra da kemikle yer değiştirmesi biçiminde bir kemikleşme süreci gerçekleşmektedir. Kondral kemikleşme büyüme kıkırdaklarında meydana gelmektedir.

2.3. Kemik Dokusunun Yapısı

Kollajen fibrillerin konumları temel alınarak kemik dokusunun üç tipi sınıflandırılabilir. Bunlar örgü kemik, lamellar kemik ve bir ara tip olan primer paralel fibrilli kemiktir⁷.

Örgü kemik ağırlıklı olarak embriyolarda ve büyüme dönemindeki çocuklarda oluşmaktadır ve daha sonra lamellar kemikle yer değiştirmektedir. Yetişkinlerde örgü kemik; kırık tamiri esnasında kemik kallusunda ve paget hastalığı, renal osteodistrofi,

hiperparatiroidizm gibi patolojik durumlarda hızlı kemik formasyonuna gereksinim duyulduğunda tekrar ortaya çıkmaktadır. Örgü kemikte kollajen fibriller rastgele bir şekilde konumlanmışlardır. Fibriller arası boşluklar nispeten geniştir. Birbirine dolaşmış kollajen fibrillere sahip olmasının yanında örgü kemik büyük sayıda dev osteositler ve yüksek mineral densitesi ile karakterizedir⁷.

Lamellar kemik paralel bir kollajen fibril dizilişinden oluşan matriks tabakalarıyla karakterize çok daha fazla kompleks bir yapıdan oluşmaktadır. Bir lamellar birim yaklaşık 3-5 µm genişliğindedir ve fibrillerin oryantasyonu bir lamelladan diğerine değişmektedir⁷. Böylece lamellar kemik kompleks, kontrplak benzeri bir yapı olarak kabul edilebilmektedir⁸.

Primer paralel fibrilli kemik, kemik oluşumunun erken aşamaları esnasında ve de periostal ve endostal kemik apozisyonu esnasında depolanmaktadır. Kollajen fibrilleri kemik yüzeyine paralel seyretmektedirler ve lamellar bir organizasyon bulunmamaktadır. Primer paralel fibrilli kemik, örgü kemik ile pek çok fizyolojik özellik paylaşmaktadır⁷.

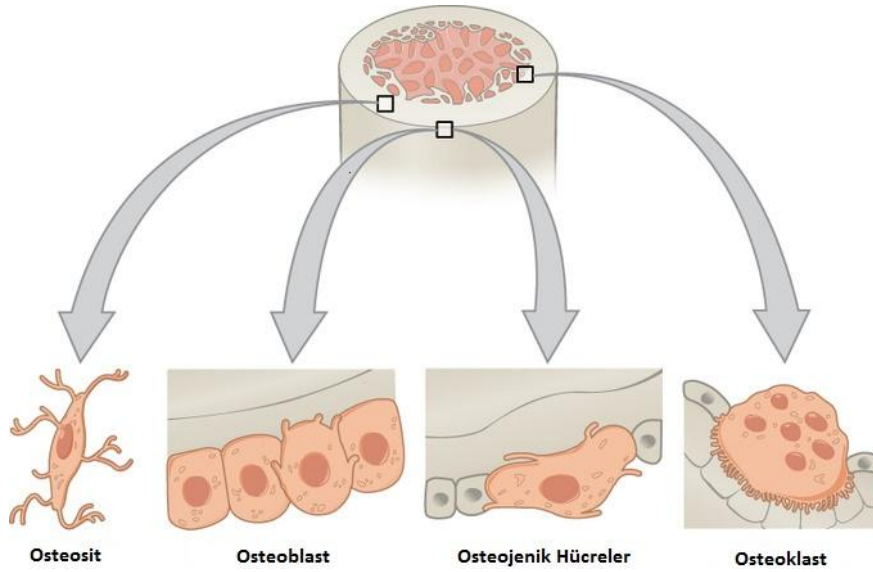
Olgun kemik kortikal ve kansellöz kemikten oluşmaktadır. Lamellar yapı kortikal kemikte daireseldir. Lamellaların oryantasyonu temel alınarak kortikal kemik matriksi farklı kompartmanlara ayrılmaktadır. Temel yapısal bölümler osteonlardır (Haversian Sistem) ve merkezlerinde vasküler kanallar bulunan osteonlar uzunlamasına konumlanmaktadır. Sekonder osteonlarda duvar eşmerkezli lamellalardan oluşmaktadır, primer osteonlar ise daha basit paralel fibrilli kemik matriksi ile karakterizedir⁷. Haversian kanalları olarak bilinen vasküler kanalların etrafında uzunlamasına konumlanan silindirik şekilli lamellar kemikten oluşan ve osteonlar olarak bilinen temel yapısal bölümler horizontal olarak Volkmann kanalları aracılığıyla birbirlerine bağlanmaktadır. Kortikal kemik; kompakt, yüksek yoğunlukta, % 10 kadar gözeneklidir. Kortikal kemik oldukça sert bir yapıya sahip olduğundan ötürü fiziksel olarak oldukça dayanıklıdır. Kortikal kemiğin mekanik dayanıklılığı osteonların sıkı dizilimine bağlıdır⁹.

Süngerimsi kemikte, dal şeklindeki trabeküllerin birbiriyle birleşmesi ağ şeklindeki yapıyı oluşturmuştur. Bu nedenle gözenekli, süngerimsi bir doku olarak görülmektedir. Lamellar yapı spongios kemikte trabeküler tarzdadır¹⁰. Kansellöz kemik içerisindeki lamellar dizilimine bağlı olarak, stres ve gerilime karşı kortikal kemiğe göre

daha dayanıklıdır¹¹. Kansellöz kemik içerisinde hematopoetik yapıları bulunduran kemik iliğini bünyesinde bulundurmaktadır.

2.4. Kemik Hücreleri

Kemiğin hücresel komponentleri osteojenik prekürsör hücrelerden, osteoblastlardan, osteoklastlardan, osteositlerden ve kemik iliğinin hematopoetik elemanlarından oluşmaktadır. Osteoprogenitör hücreler tüm rezorptif olmayan kemik yüzeylerinde mevcuttur ve kemiğin dış yüzeyini saran periostun derin tabakalarını ve internal medullar yüzeyleri kaplayan endosteumu oluşturmaktadırlar. Periost kemiği eklem yüzeyleri dışında örten, sağlam, vasküler bir bağ dokusu tabakasıdır. Fibröz tabaka olarak bilinen kalın dış tabakası düzensiz ve dens bağ dokudan oluşmaktadır. Osteojenik tabaka olarak ve iç tabaka olarak adlandırılan daha ince ve zayıf bir tabaka ise osteojenik hücreler tarafından oluşturulmaktadır. Endosteum fibröz bileşenden eksik osteojenik hücrelerin oluşturduğu tek tabakadır⁹.



Şekil 2.1. Kemik hücreleri

Osteoblastlar kemik yapımından sorumlu, matür, metabolik olarak aktif olan hücrelerdir. Osteoblastlar; kemiğe dayanıklılık ve sertlik veren, mineralize olarak sentezlenmeyen fakat sentezlendikten sonra mineralize hale gelen osteoid dokuyu sentezlemektedirler⁹. Yani osteoblastlar kemik matriksinin organik bileşenleri olarak bilinen tip 1 kollajen, proteoglikanlar ve glikoproteinlerin sentezinden sorumludurlar¹².

Ayrıca osteoblastlar kemik rejenerasyonunda önemli rol aldıkları düşünülen BMP (bone morfojenik protein), TGF- β , IGF-I, IGF-II, IL-1, PDGF gibi sinyal proteinlerini de salgılamaktadırlar. Kemik oluşumu aktivitesi tamamlanmaya yaklaştığında bazı osteoblastlar osteositlere dönüşürken diğerleri astar hücreleri olarak kemiğin periostal ve endostal yüzeylerinde kalmaktadırlar. Osteoid dokunun içerisine osteoblastların stoplazmasında bolca bulunan alkalin fosfat enziminin girmesi ile kalsiyum fosfat çökmesi olur¹². Meydana gelen kalsifiye doku osteoblastların aktivitesini azaltıp şekillerini basıklaştırır ve bunun sonucunda osteoblastlardan osteositler oluşur¹². Osteoblastlar ayrıca osteoklastlar tarafından gerçekleştirilen kemik rezorpsiyonunun aktivasyonunda da rol oynamaktadırlar⁹.

Osteositler kemik matriksi içinde hapsolmuş matür osteoblastlardır. Her bir osteositten kan damarlarına ve diğer osteositlere silindirik kanalcıklar aracılığıyla sitoplazmik işlemlerin bir ağı uzanmaktadır⁹. Bu kanalcık sistemi komşu osteositler, osteoblastlar ve kemik astar hücreleri ile hücre iletişimi için metabolitlerin ve sinyal moleküllerinin difüzyonuna izin vermektedir⁷. Bu durum osteositin hayatta kalması için zaruridir, çünkü ciddi ölçüde mineralize olan kemik matriksi aracılığıyla besinlerin ve atık ürünlerin difüzyonu neredeyse imkansızdır⁷. Bu hücreler kalsiyum ve fosforun hücre dışı konsantrasyonunun kontrolünde ve lokal çevreye cevapta hücreden hücreye etkileşim aracılığıyla adaptif remodeling davranışında rol almaktadırlar⁹.

Osteoblastların aksine osteoklastlar hematopoietik kök hücrelerden köken almaktadırlar¹³. Diğer hücrelerin hematopoietik diferansiyasyonunda görevli olan pek çok büyüme faktörü ve transkripsiyon faktörünün osteoklast diferansiyasyonunu ayrıca etkilemesi bu sebepten ötürü şaşırtıcı bulunmamaktadır¹⁴. Osteoklastlar çok çekirdekli, hormonal ve hücresel mekanizmalar tarafından kontrol edilen, kemik rezorpsiyonunda görevli hücrelerdir⁹. Bu hücreler açık kemik yüzeylerine yapışan, hidrolitik enzimlerin salınması ile kemik ve kalsifiye kıkırdağın inorganik ve organik matrikslerini yok eden kesici koniler olarak bilinen grupta fonksiyon görmektedirler⁹. Bu işlem Howship laküna olarak bilinen kemik yüzeyinde sığ eroziv pitlerin oluşumu ile sonuçlanmaktadır⁹.

2.5. Kemik Matrisi

Kemik matrisi su, mineraller, kollajen ve kollajen olmayan makromoleküllerden oluşan biyolojik bir bileşimdir⁷. Kollajenler yapısal ve morfogenetik roller oynamaktadırlar⁷. Mineralize dokularda kollajenler çeşitli kollajen olmayan proteinlerle etkileşimde bulunmaktadırlar ve mineral kristallerinin akomodasyonu için bir yapı iskeleti sağlamaktadırlar¹⁵. Kemiğin kollajen olmayan proteinleri genel hatlarıyla glikoproteinlere, proteoglikanlara, plazmadan elde edilmiş proteinlere, büyüme faktörlerine ve diğer makromoleküllere sınıflandırılabilir⁷. Yapısal bir fonksiyonunun olmasının yanı sıra kemik matrisi biyomineralizasyonda ve matris hücre etkileşimlerinde rol oynayan molekülleri barındırmaktadır ve büyüme faktörleri ve sitokinler için bir rezervuar olarak hizmet etmektedir⁷.

Doku tamiri esnasında büyüme ve diferansiyasyon faktörleri sadece lokal hücreler tarafından üretilmemektedirler aynı zamanda mineralize matristen de salınabilmektedirler. Ağırlıklı görüş lokal hücrelerde fonksiyonlarını uygulayan osteoklastların rezorbsiyon prosesi esnasında mineralize kemik matrisinden büyüme faktörlerinin serbestleştiği yönündedir. Kemik matrisinde bulunan büyüme faktörleri insülin-benzeri büyüme faktörleri, fibroblast büyüme faktörleri, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF- β) ve trombosit bağılı büyüme faktörleridir⁷.

2.6. Kemiğin İyileşmesi

Kemik iyileşmesi dokuya orijinal fiziksel ve mekanik özelliklerini geri vermektedir ve çeşitli sistemik ve lokal faktörler tarafından etkilenmektedir. İyileşme üç aşamada gerçekleşmektedir. Bu aşamalar inflamatuvar, proliferatif ve maturasyon safhalarıdır.

2.6.1. İnflamatuvar Safha

İnflamatuvar safhada ilk birkaç gün içerisinde kemik defektinin olduğu bölgede hematoma gelişmektedir⁹. Burada doku yaralanmasında da karşılaşılan inflamatuvar elemanlar salınmaktadır¹⁶. Bunlar adenosin difosfat, serotonin, prostoglandin ve tromboksan A₂'dir¹⁶. Bu elemanlar platelet agregasyonunu sağlamaktadırlar ve böylece hemostatik tıkaç oluşmaktadır¹⁶. İnflamatuvar hücreler (makrofajlar, monositler, lenfositler ve polimorfonükleer hücreler) ve fibroblastlar prostoglandin aracıyla

altında kemiğe infiltrate olmaktadır⁹. Bu granülasyon dokusunun oluşumu, vasküler dokunun büyümesi ve mezenşimal hücrelerin göçü ile sonuçlanmaktadır⁹. Bu safhada dokudaki debris uzaklaştırılmaktadır, damarsal destek sağlanmaktadır ve yeni iskeletsel matriksi oluşturmak amaçlanmaktadır¹⁶.

Akut iyileşmede hücrel inflamatuvar cevap gözlenmektedir ve bunda da nötrofiller başrolde görev almaktadırlar. Nötrofillerin bölgeye göçü yaralanmanın 3. veya 4. gününde en yüksek seviyededir. Esas görevleri fagositoz yapmak, debris ve hasarlı dokuyu yok etmektir¹⁶.

5. günde makrofajlar baskın hale gelmektedirler ve reperatif süreç boyunca ortamda bulunmaya devam ederler. Bu hücreler dolaşımdaki monositlerden derive olmaktadır. Makrofajlar inflamatuvar debris fagositoz yoluyla ve hidrolitik enzimler salarak uzaklaştırmaktadırlar¹⁶.

2.6.2. Proliferatif Safha

Bu safhada çevre kemik dokulardan bölgeye doğru mikrovasküler büyüme gerçekleşmektedir. Bu olaya neovaskülarizasyon adı verilir. Hücrel farklılaşma, çoğalma ve aktivasyon sonucu sonradan remodele olacak immatür bir matriks üretilmektedir. Fibroblastlar, osteoblastlar ve progenitör hücreler çoğalırlar ve yara bölgesinde kollajen dizmeye başlarlar. Böylece kollajen ve zengin kapiller kaynağa sahip granülasyon dokusu oluşur. Bu arada temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve platelet derive büyüme faktörü (PDGF) anjiogenezi stimule etmektedir.

Lokal mezenşimal hücreler fibroblast, osteoblast ve kondroblastlara farklılaşarak kollajen, glikozaminoglikan, glikoprotein ve glikolipid içeren bir ekstraselüler matriks oluşturmaktadırlar. Baştaki zemin maddesi ve fibröz doku sonunda fibrokartilaj kallusa dönüşmektedir. İlk oluşan kemik örgü kemiktir. İyileşmenin 4. - 6. haftasına kadar baskın halde gözlenmektedir¹⁶.

2.6.3. Maturasyon Safhası

Kemik iyileşmesinin en uzun süren safhasıdır. İmmatür bağ doku oluşuktan sonra osteogenez, osteoblastik hücrelerin çoğalması, yenilenmesi ve farklılaşmasıyla devam etmektedir. Farklılaşan osteoblastlar matriksin mineralizasyonuna yardım etmektedirler. Hücreden zengin ve organize olmayan örgü kemik zamanla yük taşıma uyaranlarıyla

uyarılarak lameller kemiğe dönüşmektedir. Lameller kemik iyi organize bir kemiktir ve lamellalarının arasında osteonlar yani haversian sistemleri bulunmaktadır¹⁶.

2.7. Kemik Greftleri

Diş hekimliğinde kullanılan kemik greft materyalleri osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif prosesler aracılığıyla yeni kemik oluşumunu aktive eden implante edilen materyallerdir¹⁷. Osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteojenik terimleri sıklıkla kullanılmaktadır, fakat her zaman doğru kullanılmamaktadır. Osteokondüksiyon bir yüzeyde kemik büyümesi anlamına gelmektedir. Greft materyali osteojenik hücrelerin komşu kemik marjınlarından infiltre olmasına izin verdiğinde yeni kemik ile greft materyali yer değiştirir veya birleşir. İşte bu durumda greft materyalinin, yüzeyinde kemik oluşması için yapı iskeleti olarak hizmet etmesine osteokondüksiyon denir¹⁸. Osteoindüksiyon greft materyalinin yeni kemik oluşturmak için çevredeki dokulardan undiferansiye mezenşimal kök hücreleri osteojenik hücrelere farklılaştırmak için sitümüle etme özelliği anlamına gelmektedir¹⁹. Osteojenik terimi ise bir greft materyalinin yeni kemik oluşturmak için osteoblastlara farklılaşabilme yeteneğine sahip canlı osteoprogenitör hücreler içerdiği anlamına gelmektedir²⁰. İdeal bir yapay kemik grefti osteogenizisi, osteoindüksiyonu ve revaskülarizasyonu kolaylaştırmalıdır. Vücutta immün reaksiyona neden olacak antijenik bir özelliğe sahip olmamalıdır. Yeterli stabilite ve destek sağlayabilecek fiziksel özelliklere sahip olmalıdır. Alıcı saha ile uyumlu olmalıdır. Karsinojenik ve toksik olmamalıdır. İstenilen forma getirilebilmeli ve yeterli miktarda temin edilebilmelidir. Sterilizasyonu kolay ve etkili olmalıdır. Uzun bir saklama süresine sahip olmalı ve uygun maliyetli olmalıdır. Ayrıca alerjik reaksiyona neden olmamalıdır. Kemik greftleri genel olarak dört farklı tipte sınıflandırılmıştır. Bunlar otojen greftler, allogreftler, ksenogreftler ve alloplastik greftler olarak sınıflandırılabilir.

2.7.1. Otojen Kemik Greftleri

Otojen kemik greftleri altın standart kemik greft materyali olarak kabul görmektedirler ve osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklere sahiptirler. Otojen kemik greftleri canlı osteojenik hücrelerin varlığından ötürü osteojenik özelliğe, kemik matriks proteinleri (BMPs) ve benzeri proteinler ve faktörlerin varlığından ötürü

osteoindüktif özelliğe ve kemiğin pöröz mineralize komponentinden ötürü osteokondüktif özelliğe sahiptirler²⁰. Otojen kemiğe oral kavitede maksiler tüber, mandibular ramus, mandibular simfizis gibi dişsiz sahalarda ulaşmak mümkündür²¹. Ayrıca korpus, koronoid çıkıntı, sinüs duvarı, zigomatik butress ve toruslar da bunlara ek olarak kullanılabilirler²². Ekstraoral otojen greft kaynağı olarak anterior ve posterior iliak krest, kosta, tibia ve kalvaryum kullanılabilir^{20,22}. İhtiyaç duyulan greft miktarı intraoral donör sahalardan karşılanabiliyor ise bu alanlardan faydalanmak daha avantajlı olabilmektedir. İntraoral donör sahalardan greft elde etmek için kullanılan yöntemler arasında kemik kazıyıcılar, kemik aspiratörleri, kemik toplayıcı frezler, kemik pensleri gibi enstrümanlar mevcuttur. Aynı zamanda toplanan greftleri öğütmek için kemik değirmenleri kullanılabilir. Bu metodlar kullanılarak toplanan greftler hasta için daha az invazivdir ve morbiditesi daha azdır. Greftlenecek olan alanın hacminin küçük olduğu durumlarda daha invaziv ekstraoral girişimlere gerek duyulmadan bu yöntemler kolaylıkla uygulanabilmektedirler. Bu yöntemle toplanan greftlerin cerrahi sahaya yakın olması ve bünyesinde osteojenik hücrelerin bulunması en önemli avantajlarıdır. Otojen kemiğin en önemli ayrıcalığı mineraller, kollajen ve canlı osteoblastlar gibi kemiğin yapısını oluşturan yapıtaşlarını korumasıdır²⁰. Bununla beraber hücrelerin sadece küçük bir kısmı transplantasyondan sonra hayatta kalmaktadır²⁰. Bu greft materyali immünolojik reaksiyon ve antijenite ihtimali gibi komplikasyonların önlenmesini sağlamaktadır²⁰. Madalyonun diğer tarafı düşünüldüğünde bu greft çeşidi donör saha morbiditesi, kronik postoperatif ağrı, rezorbsiyon ve enfeksiyon gibi dezavantajlara sahiptir²⁰. Bununla birlikte alınabilecek kemik grefti miktarındaki limitasyonlar ve donör sahada ikinci bir cerrahi gerektirmesi gibi dezavantajları da mevcuttur²⁰.

2.7.2. Allojenik Kemik Greftleri

Allojenik kemik, aynı türün bir bireyinden alınan ve bir diğer bireye transfer edilen cansız bir kemik dokudur²⁰. Özellikleri düşünüldüğünde bu greft materyalleri otojen greftlere iyi bir alternatif olarak düşünülmektedir. Allojenik kemik greftlerinin kullanımının en önemli avantajı donör saha gereksinimini ortadan kaldırmasıdır. Bunun yanında allojenik kemik greftleri birçok potansiyel antijene sahiptir²³. İmmün cevabın derecesi kullanılan kemik greftinin tipine, greft materyalinin hazırlanma ve saklanma

yöntemlerine bağlıdır²⁴. Taze ve dondurulmuş kurutulmuş allogreftler yüksek derecede antijenik özellik gösterirken, dondurulmuş kurutulmuş ve demineralize edilmiş allogreftler minimal ölçüde antijeniktir veya antijenik değildir²⁴. Bu greft materyalleri kemiğin organik komponentinin genelini çevreleyen tip 1 kollajen içermektedir ve kontaminasyon güvenliğini garanti altına almak için dikkatlice işleme tabi tutulmalıdırlar²⁰. Allojenik kemiğin üç formu bulunmaktadır. Bunlar taze dondurulmuş kemik allogrefti (FB), dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (FDB) ve demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik (DFDB) allogreftidir. Taze dondurulmuş kemik viral hastalıkların bulaşma riskinden ötürü kraniomaksillofasial iskelette kemik rekonstrüksiyonu için günümüzde nadiren kullanılmaktadır²⁵. FDB allogrefti, tüm süreç boyunca sıvı faz olmaksızın düşük sıcaklıkta liyofilizasyonla kurutulmaktadır^{24,26}. FDB allogrefti olarak kortikal kemik cipsleri, düşük antijenik aktivitesi ve yüksek kollajen miktarından dolayı tercih edilmektedir^{24,26}. FDB allogrefti osteokondüksiyon ve osteoindüksiyon prosesleri aracılığıyla çalışmaktadır²⁷. Dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti pratikte tavsiye edilmesine rağmen normal iyileşmeyi kanıtlamak için az sayıda insan histolojik çalışması mevcuttur²⁰. Bundan dolayı otojen greftler ile birlikte kullanılmaktadırlar²⁰. Literatürde demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftlerinin HIV içerme riski oranı 1,2 milyonda 1 olarak belirtilmiştir²⁸. Ayrıca, literatürde bu geçişi kanıtlayan herhangi bir rapor bulunmamaktadır²⁸. Önceleri demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftinin Kemik Morfojenik Protein (BMP) içerdiği ve osteoindüktif olarak nitelendirilmesi gerektiği savunulsa da son dönemlerde yapılan çalışmalarda demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftinin osteoindüktif bir greft materyali olmadığı ileri sürülmektedir^{29,30}. Bu da işlemde geçirilmiş allogreftlerde protein miktarının çok düşük olmasıyla açıklanmıştır^{29,30}. Allogreftlerin dezavantajları immünojenik reaksiyona neden olan pek çok immünojenik faktörü elimine etmek için dondurma- kurutma, irradyasyon veya liyofilizasyon benzeri tekniklere maruz bırakılmaya ihtiyaç duymalarıdır²⁰. İşleme tabi tutulan allogreftler vücut tarafından iyi tolere edilmektedirler ve nadiren vücut tarafından total olarak reddedilmektedirler²⁰.

2.7.3. Ksenojenik Kemik Greftleri

Ksenojenik kemik greftleri heterojen greft sınıfına dahil olup, heterojen terimi farklı türlerden alınan dokular için kullanılmaktadır. Ksenojenik kemik greftleri bir türden alınan ve başka bir türün alıcı sahasına transfer edilen deproteinize kansellöz iskeletsel kemikten oluşmaktadır²⁰. Ksenogreftlerin organik içerikleri immünolojik reaksiyon ve patolojik bulaşmadan ötürü tamamen uzaklaştırılan materyallerdir²⁰. Ksenogreftlerin geriye kalan inorganik içeriği yalnızca yeni kemik oluşumu için doğal bir yapısal matriks olarak hizmet etmemektedir aynı zamanda kemik oluşumu için gerekli olan kalsiyum için mükemmel bir kaynak oluşturmaktadır²⁰. Osteokondüktif potansiyele sahip olan ksenogreftler; otojen greftler, büyüme faktörleri veya allogreftler ile karıştırılarak kullanılabilir³¹. Otojen greftlerle kombine olarak kullanımının önerilmesi, konakta ensefolopati oluşturma riski ve greft rezorbsiyon hızının yavaş olması dezavantajları arasında sayılabilmektedir.

Ksenojenik kemik greftleri memeli hayvanların kemiklerinden veya mercan dış iskeletinden elde edilebilmektedir³². Domuz, at ve fare kaynaklı ksenogreftler de mevcut olmasına rağmen sığır kaynaklı kemik en sık kullanılan heterojen greft kaynağıdır. Sığır kaynaklı kortikal kemiği işlemek için genelde kullanılan iki proses vardır²⁰. Rezidüel organik içeriği uzaklaştırmak için kullanılan yöntemde düşük sıcaklık, kimyasal özütleme işlemi kullanılırken diğer teknikte yüksek sıcaklık (> 1500°C) kullanılmaktadır²⁰. Yüksek sıcaklık metodunun kullanıldığı prosedür ileri kristal yapı ile daha uzun hidroksiapatit kristali vermektedir²⁰.

2.7.4. Alloplastik Kemik Greftleri

Sentetik olarak üretilen ve biyoyumlu olan kemik rejenerasyon materyallerine alloplastik kemik greftleri denmektedir. Pörözitede, geometride değişkenlik gösteren ve farklı çözünürlükler ve densiteler gösteren greft materyallerinin değişken doğası kalsiyum fosfat esaslı bu greft materyallerinin rezorbsiyonunu belirlemektedir²⁰. Bu greft materyalleri osteokondüktif özelliğe sahiptirler. Çapraz enfeksiyon riskini ortadan kaldırması, steril edilebilmesi, temin edilebilmesinin kolay olması, biyoyumlu olması ve saklanabilmesi bu greft materyallerinin avantajları iken, osteojenik ve osteoindüktif özelliklere sahip olmamaları bu greft materyallerinin en büyük dezavantajlarıdır¹⁷.

2.7.4.1. Seramikler

Seramikler sentetik hidroksiapatit (HA) , trikalsiyum fosfat (TCP) ve biyoaktif cam olarak sınıflandırılabilir.

Farklı pöröz formlarda bulunan HA alıcı saha morbiditesini ortadan kaldırırsa da bu biyomateryalin kullanımının granüler migrasyon ve tamamlanmayan rezorbsiyon gibi uzun dönemde problemlere sebep olduğu bilinmektedir³³.

HA gibi TCP’de biyoabsorbe olabilen ve biyouyumlu olan, fakat yetersiz pöröziteye sahip bir materyaldir. Nispeten daha küçük gren büyüklüğüne sahip olması ve 6 hafta gibi bir süre içerisinde hızlı çözünmesi gibi nedenlerden ötürü zayıf bir kemik grefti alternatifidir. TCP sıklıkla β -TCP olarak kullanılmaktadır ve bu greft materyali, kimyasal kompozisyonu ve kristal yapısıyla kemiğin mineral yapısına benzerlik göstermektedir. Ancak hızlı rezorbsiyon oranı gösteren bu materyal kemiğin mikromimari yapısını taklit etmekte yetersiz kalmaktadır³⁴.

Seramikler grubundan diğer bir biyomateryal olan biyoaktif cam ilk olarak 1971’de Hench tarafından tanıtılmıştır³⁵. Bu materyal absorbe olabilen ve olamayan şekillerde bulunabilmektedir³⁶. Biyouyumlu ve toksik olmayan bu materyalin yapılan bazı hayvan çalışmaları sonucunda osteoindüktif özellik gösterebileceği rapor edilmiştir³⁵. Bu materyalin kemikle direkt kimyasal bağ oluşturma özelliği bulunmaktadır³⁵. Bu materyal; silikon dioksit (% 45), kalsiyum oksit (% 24,5), disodyum oksit (% 24,5) ve pirofosfattan (% 6) oluşmaktadır, uygulandığı zaman kollajen, büyüme faktörleri ve fibrine bağlanarak osteojenik hücrelerin ilerlemesini sağlayan pöröz bir matriks oluşturmaktadır³⁷. Antibiyotiklerle ve kemik yapımını arttıran maddelerle karışım halinde kullanılamamaktadırlar³⁶.

2.7.4.2. Kalsiyum Karbonat

Mercan kaynaklı olan bu biyomateryalin rezorpsiyonu yavaştır. Ayrıca kemik oluşumu için yüzey transformasyonuna ihtiyaç duymamaktadır ve böylece daha hızlı kemik oluşumu sağlamaktadır. Kalsiyum karbonat greftler, iyi derecede hemostatik özelliğe sahiptir ve ilgili alandan kolay uzaklaşmamaktadırlar. Diğer yandan bu biyomateryal hassas yapıdadır ve iyileşme esnasında stres altında migrasyona uğrayabilmektedir³⁸.

2.7.4.3. Kompozit Kopolimerler

Polimerler doğaları gereği sonsuz sayıda konfigürasyonda oluşturulabilmektedirler³⁹. Poliglikolik asit (PGA) ve polilaktik asit (PLA) kombinasyonları yıllardır eriyebilen dikiş malzemesi üretiminde ve de son yıllarda da eriyebilen fiksasyon malzemeleri olarak kullanılmaktadır⁴⁰⁻⁴². Biyocamlarda olduğu gibi diş çekiminden sonra alveolar sırtın formunu korumak amacıyla PLA' dan üretilen kök formunda biyomateriyaller de mevcuttur⁴³. Bu biyomateriyaller kret genişliğini ve yüksekliğini korumak için bir avantajdır ancak tam anlamıyla rezorbe olamamalarından ötürü daha sonradan dental implantların yerleştirilmesini olumsuz etkileyebilmektedirler⁴³. Bu sentetik malzemeler biyoaktif skafoldlar olarak hizmet ederek doku mühendisliğinde çok önemli bir rol oynayabilmektedirler⁴⁴.

2.7.4.4. Kalsiyum Sülfat

Paris alçısı olarak ya da gypsum olarak bilinen bu biyomalzeme ismini Paris'in hemen kuzeyindeki bir kasabaya borçludur. Sert bandaj olarak dış kullanımı 17. yüzyıla dayanmasına rağmen kemik defektlerini doldurmak için ilk kullanımı 1892'de Dressmann tarafından rapor edilmiştir. Bir kemik boşluğunu doldurucu olarak Paris alçısının uygulanması ve enfekte kemik defektlerinin tedavisinde antibiyotik yüklü alçının kullanımı çeşitli çalışmalar ile desteklenmiştir. Medikal derecedeki kalsiyum sülfat benzer boyut ve şekillere sahip düzgün şekilli olarak kristalize olmaktadır ve yavaş çözünürlüğe sahiptir. Kalsiyum sülfat yerleştirildiği bölgeye ve hacme bağlı olarak 30 - 60 gün arasında rezorbe olmaktadır. Enfeksiyon varlığında kullanılabilmesi ve göreceli olarak daha ucuz olması avantajları arasındadır. Biyoabsorbe olabildiği için polimetilmetakrilat gibi antibiyotik taşıyıcılara göre avantajlıdır. Bununla birlikte az da olsa bu malzemenin kullanımı ile birlikte alerjik ve inflamatuvar cevapların gözlemlendiği vakalar da rapor edilmiştir³⁴.

2.8. Normal Oral Flora

Oral flora, organizmaların meydana getirdiği kapsamlı bir düzenden oluşmaktadır ve öbakterileri, archaeaları, mantarları, mikoplazmaları, protozoaları ve zaman zaman devamlılık gösterebilen olası viral florayı içermektedir^{45,46}. Bu organizmalar genellikle dişleri, gingival sulkusu, dili, yanağı, sert - yumuşak damağı ve tonsilleri içeren bir dizi

habitat içerisinde ve bir düzen içerisinde yaşamaktadırlar⁴⁷. Toplu olarak oral flora oral mikrobiota olarak, son zamanlarda ise oral mikrobiome olarak isimlendirilmiştir⁴⁷. Bakteriler organizmaların açık ara baskın olan grubudur ve % 50 - 60'ı kültür edilebilen muhtemelen yaklaşık 500 - 700 alışıldık oral tür ve filotip bulunmaktadır⁴⁸. Geriye kalan kültür edilemeyen flora günümüzde moleküler teknikler kullanılarak tanımlanmaktadır⁴⁷. Farklı çevresel şartlar ile oral kavitenin çok çeşitli sahalara yani habitatlara sahip olduğu gerçeği düşünüldüğünde oral mikrobiyolojiyi çalışmak oldukça kompleks ve zordur⁴⁵. İlginç biçimde oral floranın muazzam çeşitliliğine ve karmaşasına rağmen boğaz ve cilt gibi komşu ekosistemlerden yaygın olarak izole edilen pek çok organizma ağızda bulunmamaktadır, bu da mikrobiyal kolonizasyon hususunda oral kavitenin eşsiz ve seçici ekolojisini göstermektedir⁴⁵.

Oral kavitede bulunan temel bakteriyel cinsler çoğunlukla geleneksel kültür teknikleri kullanılarak iyi karakterize edilmektedirler. Oral bakteriler primer olarak gram pozitif ve gram negatif organizmalar, sekonder olarak oksijen ihtiyaçlarına göre aerobik, anaerobik ya da fakültatif anaerobik olarak sınıflandırılabilirler. Bazı oral mikroplar diğerlerine göre hastalık ile daha yakından ilişkilidir ve bunların bir kısmı kültür edilemez izlenimi uyandırmaktadır⁴⁵.

2.8.1. Gram Pozitif Koklar

2.8.1.1. Streptokok Familyası

Gram pozitif koklar nonmotil, genellikle yüzey fibrillerine sahip, zaman zaman kapsüllü, fakültatif anaerobik, değişken hemoliz fakat en sık α - hemoliz olan bakterilerdir. Seçici besiyerleri mitis salivarius agardır (MSA)⁴⁵.

2.8.1.1.1. Mutans Grubu

Mutans grubunun ana türlerini *Streptococcus mutans* (Serotip c, e, f, k) , *Streptococcus sobrinus* (Serotip d, g), *Streptococcus criceti* (Serotip a), *Streptococcus rattii* (Serotip b) oluşturmaktadır⁴⁵. Kültür karakteristiklerine bakıldığında kabarık, konveks, opak koloniler oluşturmaktadır⁴⁵. Sakaroz içeren besiyerinde bol ekstraselüler polisakkarit üretmektedirler⁴⁵. Seçici besiyerleri MSA+ bacitracin agardır⁴⁵. Ağız içerisinde genellikle diş yüzeyinde görülmektedirler ve diş çürüklerinden izole edilmektedirler⁴⁹⁻⁵¹.

2.8.1.1.2. Salivarius Grubu

Salivarius grubunun ana türlerini *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus vestibularis* oluşturmaktadır⁴⁵. Kültür karakteristiklerine bakıldığında ekstraselüler fruktanların (fruktoz polimeri) üretiminden ötürü MSA'da büyük, mukoid koloniler oluşturmaktadır⁴⁵. *Streptococcus vestibularis* sakarozdan ekstraselüler polisakkarit üretmemektedir, bununla birlikte pH'yı düşüren, tükürük ile ilgili peroksidaz sistemine katkıda bulunan üreazı ve hidrojen peroksiti sırasıyla üretmektedir⁴⁵. *Streptococcus salivarius* ise ağızda alkali üreten major bakterilerden biridir⁵². Ayrıca in vivo olarak ağız kokusuna faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir⁵³. Genellikle dil sırtında ve tükürükte bulunmaktadır, *Streptococcus vestibularis* ise sıklıkla vestibüler mukozada bulunmaktadır^{45,51}. Ayrıca major bir patojen değildir^{45,51}.

2.8.1.1.3. Anginosus Grubu

Anginosus grubunun ana türlerini *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus anginosus* oluşturmaktadır. Kültür karakteristiklerine bakıldığında MSA'da karbondioksit bağımlı, küçük formu, yapışmamış koloniler oluşturmaktadırlar. Sıklıkla gingival olukta bulunmaktadır, ayrıca dentoalveolar ve endodontik enfeksiyonlarda rol almaktadırlar^{45,51}.

2.8.1.1.4. Mitis Grubu

Mitis grubunun ana türlerini *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oligofermentans*, *Streptococcus sinensis*, *Streptococcus australis*, *Streptococcus peroris* ve *Streptococcus infantis* oluşturmaktadır^{45,51}. Kültür karakteristiklerine bakıldığında Mitis Salivarius Agarda (MSA) küçük, lastiksi (*Streptococcus sanguinis*) veya nonadherent (*Streptococcus oralis* ve *Streptococcus mitis*) koloniler oluşturmaktadırlar⁴⁵. Çoğunlukla dental plak biyofilmlerinde, dil ve yanakta, diş çürüklerinde, *Streptococcus mitis* haricinde infektif endokarditte görülmektedirler^{45,51}.

2.8.1.1.5. Anaerobik Streptokoklar (Peptostreptokoklar)

Anaerobik streptokokların ana türlerini *Peptostreptococcus anaerobius*, *Micromonas micros*, *Finegoldia magnus* ve *Peptoniphilus asaccharolyticus* oluşturmaktadır^{45,51}. Kültür karakteristiklerine bakıldığında zorunlu anaeroblardır, yavaş büyümektedirler ve genellikle hemolitik değillerdir⁴⁵.

2.8.1.1.6. Enterokoklar

Fakültatif anaerob gram negatif bir kok olan enterokoklar, normal bağırsak florasında, oral kavitede ve vajinada bulunmaktadırlar⁵⁴. Ortak özellikleri safraya tolerans göstermeleridir⁵⁵. Bununla birlikte üriner sistem enfeksiyonları, hastane kaynaklı enfekte yara sahaları ve bakteriyemilerde en sık görülen patojen bakterilerdir^{54,56}. Enterokoklara bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda sıklıkla rastlanmaktadır. Enterokoklar inatçı endodontik patojenlerdir⁵⁵. Bu patojenlere tekrarlayan kök kanalı enfeksiyonlarında yaklaşık olarak % 37,5 oranında rastlanmaktadır⁵⁷. Ağız içerisinde en sık karşılaşılan enterokok *Enterococcus faecalis* isimli bakteridir ve antimikrobiyal ajanlara son derece dirençlidir⁵⁸.

2.8.1.2. Stomatokokus Familyası

Ana türü *Stomatococcus mucilagenosus*'dur. Kültür karakteristiklerine bakıldığında koagülaz negatiftir. Kanlı agar yüzeyine yapışan büyük koloniler oluşturmaktadırlar. Ayrıca fakültatif anaerobturlar. Çoğunlukla dilde ve gingival olukta bulunmaktadırlar ve major bir fırsatçı patojen değildirler⁴⁵.

2.8.1.3. Stafilokokus Familyası

Stafilokoklar streptokok zinciri gibi değil üzüm benzeri kümeler şeklinde düzenlenmiş gram pozitif koklardır. Stafilokok familyası onbeşten fazla farklı tür içermektedir. Bunlardan medikal olarak önemli olanları *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus saprophyticus* türleridir. Stafilokoklar pek çok organın absesi, endokardit, gastroenterit (besin zehirlenmesi) ve toksik şok sendromu gibi yaygın ve yaygın olmayan enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Stafilokoklar oral kaviteden sıklıkla izole edilmektedirler. 70 yaşından daha büyük

sağlıklı bireylerin tükürüklerinde *Staphylococcus aureus* türünün yüksek oranları bulunmuştur^{45,51}.

Staphylococcus aureus türü için insan cildi özellikle burun delikleri ve perineum önemli habitatlardır⁴⁵. Hastane personeli ve hastalarda yüksek taşıma oranı görülmektedir⁴⁵. Genel bulaşma yolu eller ve parmak uçları aracılığıyla olmaktadır⁴⁵. Sporsuz, nonmotil ve bazı türleri kapsüllüdür⁴⁵. Ayrıca *S. aureus* implante edilebilen medikal cihazların neden olduğu enfeksiyonların en sık sebepleri arasındadır⁵⁹. Kanlı agarda aerobik olarak sarı ya da altın renginde koloniler olarak çoğalmaktadırlar⁴⁵. Katalaz pozitif olmaları katalaz negatif olan streptokoklardan ayrılmasını sağlamaktadır⁴⁵. Ayrıca koagülaz pozitifdir⁴⁵.

Staphylococcus epidermidis ise cilt yüzeyinde bulunmaktadır ve kontak yolu ile yayılmaktadır. Kanlı agarda beyaz koloniler olarak çoğalmaktadırlar, katalaz pozitif, koagülaz negatiflerdir. Ticari olarak mevcut olan kitler (APIStaph) ile biyokimyasal olarak karakterize edilebilmektedirler. Fırsatçı bir patojen olan bu bakteri penisilin ve methisilin içeren ilaçlara karşı direnç gösterirken vankomisine karşı hassastır⁴⁵.

Staphylococcus saprophyticus ise kadınlarda özellikle cinsel ilişki ile ilişkili bir enfeksiyon olan idrar yolları enfeksiyonuna neden olmaktadır. Bu organizma *Staphylococcus epidermidis*'ten mannitol fermentasyon reaksiyonu ve diğer biyokimyasal testler ile ayırt edilebilmektedir⁴⁵.

2.8.1.4. Mikrokok Familyası

Mikrokoklar stafilokoklara benzer katalaz pozitif organizmalardır. Koagülaz negatiftirler ve genellikle kanlı agarda bazı türleri parlak olarak pembe, sarı ve turuncu renklerde pigmente olmalarına rağmen beyaz koloniler olarak çoğalmaktadırlar⁴⁵.

2.8.2. Gram Pozitif Rodlar ve Filamentler

Bu organizmalar sıklıkla dental plak biyofilmlerinden izole edilmektedirler ve actinomyces, laktobasil, eubacteria ve propionibacteria içermektedirler⁴⁵.

2.8.2.1. Actinomyces Familyası

Kısa, gram pozitif, pleomorfik rodlardır. Actinomyces familyasının ana türlerini *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces odontolyticus*,

Actinomyces naeslundii, *Actinomyces myeri* ve *Actinomyces georgiae* oluşturmaktadır⁴⁵. En önemli insan patojeni *Actinomyces israelii* adlı bakteridir⁴⁵. Kültür karakteristiklerine bakıldığında tam veya fakültatif anaerobdurlar⁴⁵. *Actinomyces odontolyticus* mine demineralizasyonunun erken evreleri ve küçük çürük lezyonlarının ilerlemesi ile ilişkilidir⁴⁵. *Actinomyces naeslundii* kök yüzey çürükleri ve gingivitis ile ilişkilidir⁴⁵. *Actinomyces israelii* ise servikofasiyal ve ileocaecal aktinomikozise neden olan fırsatçı bir patojendir⁴⁵. *Actinomyces gerencseriae* ve *Actinomyces georgiae* ise sağlıklı gingival floranın minör bir parçasıdır⁴⁵. İzole etmek zordur ve kültürlerin % 70'den fazlası negatiftir⁶⁰. Diagnoz genel olarak cerrahi olarak rezeke edilen dokuların histolojik olarak incelenmesi ile gerçekleştirilmektedir⁶¹.

2.8.2.2. Lactobacillus Familyası

Gram pozitif basillerdir⁴⁵. Ana türlerini *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius* ve *Lactobacillus rhamnosus* oluşturmaktadır⁴⁵. Kültür karakteristiklerine bakıldığında katalaz negatif ve mikroaerofiliktirler ve seçici besiyeri Rogosa Agar'dır⁴⁵. Olağan oral inhabitanttır fakat oral floranın % 1'inden daha azını oluşturmaktadır⁴⁵. *Lactobacillus* türleri major karyojenik türler arasındadır⁶².

2.8.2.3. Eubacterium Familyası

Pleomorfik, gram-değişken, rodlar veya filamentlerdir. *Eubacterium* familyasının ana türlerini *Eubacterium brachy*, *Eubacterium nodatum* ve *Eubacterium saphenum* bulunmaktadır. Kültür karakteristiklerine bakıldığında zorunlu anaerobdurlar ve karakterizasyonu tam olarak tanımlanamamıştır. Plak biyofilmlerinde ve diş taşlarında bulunmaktadırlar. Diş çürüklerinde ve periodontal hastalıklarda bulunmaktadırlar fakat rolleri belirsizdir. Periodontal ceplerdeki anaerobların % 50'sinden fazlasını oluşturmaktadır. *Eubacterium yurii* dental plakta mısır koçanı şeklinde bulunmaktadırlar⁴⁵.

2.8.2.4. Propionibacterium Familyası

Gram pozitif basillerdir⁴⁵. Ana türlerini *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium propionicus* oluşturmaktadır⁴⁵. Kültür karakteristiklerine

bakıldığında zorunlu anaerobdurlar⁴⁵. Morfolojik olarak *Actinomyces israelii* isimli bakteriden ayırt edilememektedirler fakat *Actinomyces israelii* isimli bakteriden farklı olarak glukozdan propionik asit üretmektedirler⁴⁵. Diş çürükleri ve plak biyofilminde görülmektedirler^{45,63}. Dentoalveolar enfeksiyonlar ile ilişkilidirler⁴⁵.

2.8.3. Diğer Göze Çarpan Gram Pozitif Organizmalar

Rothia dentocariosa gram pozitif bir dallanan filamenttir. Zorunlu aerobdur. Dental plakta bulunmaktadır ve sıklıkla enfektif endokarditten izole edilmektedirler.

Bifidobacterium dentium gram pozitif bir zorunlu anaerobdur. Plak biyofilminden izole edilmektedirler⁴⁵. Ayrıca diş çürüğü ile ilişkilidir⁶³.

2.8.4. Gram Negatif Koklar

2.8.4.1. Neisseria Familyası

Gram negatif diplokoklardır^{45,64}. Ana türlerini *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa* ve *Neisseria sicca* oluşturmaktadır⁴⁵. Kültür karakteristiklerine bakıldığında asakarolitik ve polisakkarit üretmeyen fakültatif anaerobdurlar⁴⁵. Az miktarda dilden, tükürükten, oral mukozadan, başlangıç plaktan izole edilmektedirler ve plak oluşumunun erken safhalarında oksijen tüketebilmektedirler⁴⁵. Anaerobların büyümesi için olanak sağlayan şartları sağlamaktadırlar⁴⁵. Nadiren hastalık ile ilişkili olmalarına rağmen *Neisseria mucosa* isimli bakterinin endokardit gibi ciddi enfeksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir^{65,66}.

2.8.4.2. Veillonella Familyası

Küçük, gram negatif koklardır. Ana türlerini *Veillonella parvula*, *Veillonella dispar* ve *Veillonella atypica* oluşturmaktadır. Zorunlu anaerobdurlar ve seçici besiyerleri rogosa vankomisin agardır. Glukokinaz ve fruktokinaza sahip değildirler ve karbonhidratları metabolize edememektedirler. Bundan ötürü diğer bakteriler tarafından üretilen laktatı kullanmaktadırlar ve plağın pH'sını yükseltmektedirler. Bu yüzden dental çürükler ile faydalı bir ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Dili, tükürüğü, plak biyofilmlerini içeren pek çok yüzeyden izole edilmektedirler. Hastalık ile ilişkili değildirler⁴⁵.

2.8.5. Gram Negatif Rodlar – Aerobik Cinsler

Bu cins çok sayıda tür içermektedir ancak bunlar arasında yalnızca bir kaç tanesi insanlar için patojendir. Ortama geniş bir biçimde yayılmaktadırlar ve özellikle hastane ortamlarında hastalığa neden olmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa* bu gibi enfeksiyonlara neden olan en önemli türdür ve yanık hastalarında spesifik bir problemdir. *Pseudomonas aeruginosa* bazı sağlıklı bireylerde insan bağırsaklarında ve hastanede yatan hastaların büyük bir kısmında kolonize olmaktadır. Ayrıca ortamdaki yüzeylerde özellikle de nemli şartlar altında kolonize olmaktadır. Bu nedenle dental ünit su hatlarında da zararsız saprofitler olarak bulunmaktadır. Bu bakteriler aerobik, gram negatif rodlardır ve polar flagellaları aracılığıyla hareketlidirler. Oda sıcaklığı da dahil çok geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilmektedirler. Rutin besiyerin balık kokulu karakteristik bir aroma ile düzensiz, nemli, gökkuşağı gibi renkleri olan koloniler şeklinde kolayca üreyebilmektedirler. Tanımlanan virülans faktörleri arasında lipopolisakkarit endotoksini, bir ekzotoksin, ekstraselüler proteazlar ile elastazlar ve fagositozu önleyen ekstraselüler bir salgı bulunmaktadır. Pekçok antibiyotiğe dirençli olmalarına rağmen aminoglikozidlere ve belirli β -laktamlara, sefalosporinlere ve polimiksine karşı hassastırlar⁴⁵.

2.8.6. Gram Negatif Rodlar – Fakültatif Anaerobik ve Kapnofil Cinsler

2.8.6.1. Haemophilus Familyası

Gram negatif kokobasillerdir. Ana türlerini *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus segnis*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus parahaemolyticus* oluşturmaktadır. Fakültatif anaerobdurlar, ısıtılmış kanlı agarda büyümesi artmaktadır, çoğalmak için hemin (X faktörü) ve nikotinamid adenin dinukleotid (V faktörü) isimli faktörlere ihtiyaç duymaktadırlar. Plak biyofilmlerinden, tükürükten ve mukozadan izole edilebilmektedirler. Dentoalveolar enfeksiyonlarda, akut sialadinitiste ve enfektif endokarditte rol almaktadırlar⁴⁵.

2.8.6.2. Aggregatibacter Familyası

Gram negatif kokobasillerdir. Mikroaerofilik veya kapnofilik yani karbodioksit bağımlıdır. Ana türünü *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* oluşturmaktadır. Pek çok virülans faktör üretmektedirler. Bunlar arasında lökotoksin, epitelyotoksin, cdt,

kollajenaz ve immünglobulin G'ye (IgG) bağlanan proteaz bulunmaktadır. Periodontal ceplerden izole edilmektedirler ve periodontal hastalıkların agresif formlarında rol oynamaktadırlar. Ortak patojen olarak sıklıkla servikofasiyal Actinomyces enfeksiyonlarından izole edilmektedirler⁴⁵.

2.8.6.3. Eikenella Familyası

Gram negatif kokobasillerdir. Ana türünü *Eikenella corrodens* oluşturmaktadır. Faktör X bağımlı ve mikroaerofiliktirler. Kanlı agarda aşınan koloniler üretmektedirler. Plak biyofilmlerinden, dentoalveolar abselerden, enfektif endokarditten izole edilmektedirler. Ayrıca kronik periodontitisin bazı formlarında görülmektedirler⁴⁵.

2.8.6.4. Capnocytophaga Familyası

Karbondioksit bağımlı, gram negatif fusiform rodlardır. Kayma tarzında motiliteye sahiptirler. Ana türlerini *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga granulose*, *Capnocytophaga haemolytica* oluşturmaktadır. Kapnofilik, düzensiz yayılan bir kenar ile orta boyutlu koloniler oluşturmaktadırlar. Plaktan, mukozal yüzeylerden, tükürükten izole edilmektedirler. Bağışıklık yetmezliği olan enfeksiyonlarda, yıkıcı periodontal hastalıklarda rol oynamaktadırlar. Bazı türleri IgA1 proteaz üretmektedirler⁴⁵.

2.8.7. Gram Negatif Rodlar – Zorunlu Anaerobik Familya

Bu gruptaki bakteriler plak biyofilminin büyük bir kısmını oluşturmaktadırlar. Organizmaların bu grubunun sınıflandırılması zorluklarla doludur fakat lipid analizi ve moleküler yaklaşımlar gibi yeni testlerin ilerlemesi bu problemi bazı açılardan kolaylaştırmıştır. Oral anaerobların çoğunluğu geçmiş dönemlerde *Bacteroides* familyası altında sınıflandırılmaktaydı, bununla beraber sınıflandırma metodlarındaki ilerlemeler bu bakterilerin iki majör familyaya ait olduğunu göstermiştir. Bu familyalar *Porphyromonas* ve *Prevotella* familyalarıdır ve birbirlerinden şekeri metabolize edebilme yeteneklerine göre farklılaşmaktadırlar. Bu organizmaların bazıları kanlı agarda karakteristik kahverengi - siyah pigmentler üretmektedirler ve toplu olarak siyah pigmente anaeroblar olarak atfedilmektedirler⁴⁵.

2.8.7.1. Bacteroides Familyası

Bacteroides türleri bağırsakta en baskın floradır. *Bacteroides fragilis* türü temel patojendir. İntraabdominal sepsis, peritonit, karaciğer ve beyin apseleri ve yara enfeksiyonu gibi ciddi anaerobik enfeksiyonlara sebep olmaktadır. Zorunlu anaerobik, gram negatif, hareketsiz ve sporsuz basillerdir ancak pleomorfik görülebilmektedirler. Polisakkarit kapsülleri önemli bir virülans faktörüdür. Bu organizmaların üremek için kesin gereksinimleri vardır. Kanlı agarda yavaş üreme göstermektedirler ve gri, opak, translusent koloniler olarak görülmektedirler. Patojeniteleri temel olarak endotoksinleri ve proteazlarından kaynaklanmaktadır. Ekzotoksinleri rapor edilmemiştir. Pekçok *Bacteroides* enfeksiyonu polimikrobiyaldir. Metranidazol ve klindamisine karşı hassastırlar. Penisilinlere, birinci jenerasyon sefalosporinlere ve aminoglikozidlere karşı dirençlidirler. Penisilin direnci β -laktamaz üretiminden kaynaklıdır⁴⁵.

2.8.7.2. Porphyromonas Familyası

Gram negatif pleomorfik rodlardır, nonmotildirler, kapsüler polisakkaritten ötürü altı serotipi mevcuttur, şeker molekülünü parçalayamamaktadırlar ve hidrolize edememektedirler⁴⁵. Ana türlerini *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas catoniae* oluşturmaktadır⁴⁵. Zorunlu anaerobdurlar ve büyümek için K vitaminine ve haemine ihtiyaç duymaktadırlar⁴⁵. Gingival olukta ve subgingival plakta da az miktarda bulunmaktadırlar⁴⁵. Kronik periodontitis ile ve dentoalveolar abseler ile ilişkilidirler⁴⁵. *Porphyromonas gingivalis* oldukça virülan bir bakteridir⁴⁵. Proteaz, hemolizin, kollajen parçalayıcı enzimler ve sitotoksik metabolitler üretmektedir⁴⁵. Sahip olduğu kapsülü önemli bir virülan özelliktir ve fimbriaları adezyona yardım etmektedirler⁴⁵. Ayrıca *Porphyromonas gingivalis*'in oral, intestinal ve pankreas kanserlerini, oral skuamöz hücreli karsinomayı içeren orodigestive kanserlerin gelişiminde bir rolü olabileceğine dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır⁶⁷. *Porphyromonas endodontalis* ise temel olarak enfekte kök kanallarından izole edilmektedir⁴⁵.

2.8.7.3. Prevotella Familyası

Gram negatif pleomorfik rodlardır, nonmotildirler, kısmen şeker molekülünü parçalayamamaktadırlar ve hidrolize edememektedirler, glikozdan asetik, süksinik ve diğer asitleri üretmektedirler. Ana türlerini pigmente ve pigmente olmayanlar olarak ikiye ayırmak mümkündür. Pigmente olanları *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella loescheii*, *Prevotella corporis* ve *Prevotella melaninogenica* isimli bakterilerdir. Pigmente olmayanları ise *Prevotella buccae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella oris*, *Prevotella oulora*, *Prevotella veroralis* ve *Prevotella dentalis* isimli bakterilerdir. *Bacteroides forsythus* da önemli bir periodontal patojen olarak düşünülen pigmente olmayan bir diğer türdür ve şu anda *Tannerella forsthensis* olarak tekrardan sınıflandırılmıştır. Zorunlu anaerobdurlar, büyümek için K vitaminine ve haemine ihtiyaç duymaktadırlar. Genel olarak peridontal ceplerde ve dental plakta izole edilmektedirler. Kronik periodotitis ve dentoalveolar abselerde rol oynamaktadırlar⁴⁵.

2.8.7.4. Fusobacterium Familyası

İnce, fuziform, yuvarlak uçlu ve gram negatif rodlardır. Ana türlerini *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium alocis*, *Fusobacterium sulci*, *Fusobacterium periodonticum* oluşturmaktadır. Büyümek için zengin besiyerine ihtiyaç duymaktadırlar. Sıklıkla şeker molekülünü parçalayamamaktadırlar ve hidrolize edememektedirler. Zorunlu anaerobdurlar ve genellikle hemolitik değildirler. *F. nucleatum* sisteinden ve metioninden amonyak ve hidrojen sülfid üretebilmektedir ve ağız kokusunda kokuya sebep olan bir organizma olarak görev almaktadır. En sık olarak *F. nucleatum* izole edilmektedir. Genel olarak normal gingival oluktan, tonsillerden (*F. alocis* ve *F. sulci*) veya periodontal enfeksiyonlardan (*F. periodonticum*) izole edilebilmektedirler. Akut ülseratif gingivitiste ve dentoalveolar abselerde rol oynamaktadırlar⁴⁵.

2.8.7.5. Leptotrichia Familyası

En azından bir sivri uçlu gram negatif filamentlerdir. Ana türünü *Leptotrichia buccalis* oluşturmaktadır. Zorunlu anaerobdurlar ve Fusobacteriayı andıran koloniler halindedirler. Genel olarak dental plakta izole edilmektedirler ve bir hastalıkla bilinen bir ilişkileri yoktur⁴⁵.

2.8.7.6. Wolinella Familyası

Gram negatif, eğimli basillerdir. Polar flagella ile motildirler. Ana türünü *Wolinella succinogenes* oluşturmaktadır. Zorunlu anaerobdurlar. Genel olarak gingival oluktan izole edilmektedirler. Yıkıcı periodantal hastalıklarda muhtemel rolleri mevcuttur⁴⁵.

2.8.7.7. Selenomonas Familyası

Gram negatif eğri hücrelerdir. Ana türlerini *Selenomonas sputigena*, *Selenomonas noxia*, *Selenomonas flueggei*, *Selenomonas inflexi* ve *Selenomonas diane* oluşturmaktadır. Zorunlu anaerobdurlar. Genel olarak gingival oluktan izole edilmektedirler. Bir hastalık ile bilinen ilişkileri yoktur⁴⁵.

2.8.7.8. Treponema Familyası

Motil, gram negatif, sarmal şekilli hücrelerdir ve büyük, orta, küçük olmak üzere üç ana boyutları vardır. Ana türlerini *Treponema denticola*, *Treponema macrodentium*, *Treponema skoliodontium*, *Treponema socranskii*, *Treponema maltophilum*, *Treponema amylovarum* ve *Treponema vincentii* oluşturmaktadır. Tüm treponemalar zorunlu anaerobdur ve kültür ile çoğaltılmaları zordur. Kültür ile çoğaltılmaları için serum ile zenginleştirilmiş besiyerine ihtiyaç duyulmaktadır. *Treponema denticola* asakkarolitiktir, *T. socranskii* ise karbonhidratları asetik, laktik ve süksinik asite fermente etmektedir. Genel olarak gingival olukta bulunmaktadırlar. Akut ülseratif gingivitis ve yıkıcı periodantal hastalıklar ile yakından ilişkilidirler⁴⁵.

2.8.8. Oral Protozoa

2.8.8.1. Entamoeba Familyası

Büyük, motil, yaklaşık 12 µm çapında amiplerdir⁴⁵. Ana türünü *Entamoeba gingivalis* oluşturmaktadır^{45,46}. Zorunlu anaerobdurlar, kompleks besiyerinde çoğalmaktadırlar fakat kolay bir şekilde kültüre edilememektedirler⁴⁵. Periodontal dokularda özellikle radyoterapi ve metranidazol alan hastalarda izole edilmektedirler⁴⁵. Periodontal hastalıklarda bir rolü var ise bu rol belirsizdir⁴⁵. Zararsız saprofitler oldukları ve zayıf oral hijyen ile gingival hastalık durumlarında sayılarının arttığı düşünülmektedir⁴⁶.

2.8.8.2. Trichomonas Familyası

Yaklaşık 7,5 µm çapında flagellalı protozoalardır⁴⁵. Ana türünü *Trichomonas tenax* oluşturmaktadır^{45,46}. Zorunlu anaerobdurlar, kompleks besiyerinde çoğalmaktadırlar ve saf kültürde büyütmek zordur⁴⁵. Genel olarak gingival oluktan izole edilmektedirler ve hastalığıdaki rolü belirsizdir⁴⁵. Zararsız saprofitler oldukları ve zayıf oral hijyen ile gingival hastalık durumlarında sayılarının arttığı düşünülmektedir⁴⁶.

2.8.9. Klamidyalar

Klamidyalar gram negatif bakteriler ile ilişkili bir mikroorganizma grubudur. Bununla beraber bakterilerin aksine cansız kültür ortamında çoğalamamaktadırlar. Bundan dolayı zorunlu hücre içi parazitlerdir. Virüslerden daha büyüktürler, böylece ışık mikroskopunda görülebilmektedirler. DNA ve RNA' ları mevcuttur. Tetrasikline, eritromisine ve sülfonamidlere karşı hassastırlar. Klamidya familyasında üç tür mevcuttur. Bunlar *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* ve *Chlamydia psittaci* türleridir⁴⁵.

2.8.10. Riketsiyalar

Riketsiyalar bakterilerden küçük pleomorfik organizmalardır fakat yapısal ve metabolik olarak bakterilere benzemektedirler. Klamidyalar ve virüsler gibi zorunlu hücre içi parazitlerdir. Sebep olduğu en iyi bilinen hastalık tifüs hastalığıdır. Giemsa gibi özel boyamalar kullanıldığında ışık mikroskopunda görülebilmektedirler. Tetrasikline ve kloramfenikole karşı hassastırlar. Riketsiyaların *Rickettsia* ve *Coxiella* olmak üzere iki cinsi bulunmaktadır⁴⁵.

2.8.11. Mikoplazmalar

Mikoplazmalar tükürükten, oral mukozadan ve dental plaktan izole edilmiştirler fakat önemleri açık değildir⁴⁵. Oral türleri yetersiz olarak karakterize edilmişlerdir ve bunlar *Mycoplasma buccale*, *Mycoplasma orale* ve *Mycoplasma salivarium* türleridir⁴⁵. Son iki tür tükürük bezlerinden izole edilmişlerdir ve tükürük bezi hipofonksiyonunda bir rol oynadıkları düşünülmektedir⁴⁵. *Mycoplasma pneumoniae* dışındaki *Mycoplasma* türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar ile immün yetersizliği olan hastalarda karşılaşılabilmektedir⁶⁸.

2.8.12. Oral Mantarlar

Mantarlar maya ve küf olmak üzere iki temel yapısal form sergilemektedirler. Bazı mantarlar ise farklı zamanlarda iki yapısal formu da sergileyebilme yeteneğine sahiptirler. Bu mantarlara dimorfik mantarlar denmektedir. Bu morfolojik değişim çevre ve beslenme desteği gibi faktörlere bağlıdır. Dimorfik mantarlar genellikle doğada küf dokuda maya olarak bulunmaktadırlar. Mantarlarda üremenin aseksüel ve seksüel modlarının her ikisi de görülmektedir. Medikal öneme sahip mantarlar mayalar, filamentöz mantarlar ve dimorfik mantarlar olarak sınıflandırılmışlardır. Bu mantarlar bakteriler ile karşılaştırıldıklarında farklı kültür ve büyüme şartlarına gereksinim duymaktadırlar. Ayrıca bu mantarların ezici çoğunluğu aerobik olarak çoğalmaktadır. Sabouraud dekstroz agar (SAB) ve patates dekstroz agar (PDA) patojenik mantarların kültür edilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Mantarlar genellikle bakteriler ve viral hastalıklarda görülen akut hastalıktan sonra yavaşça ilerleyen kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır. Bununla beraber bağışıklık sistemi bozuk hastalarda hayati tehlikelere yol açabilecek akut enfeksiyonlara sebep olabilmektedirler. Mantarların sebep olduğu enfeksiyonlar yüzeysel mikozlar, subkutanöz mikozlar ve sistemik mikozlar olmak üzere üçe ayrılmaktadır. *Candida* cinslerinin maya formları oral kavitedeki en önemli fungal patojendir. Bu, popülasyonun yaklaşık yarısının oral kavitesinde yaşayan yaygın bir mayadır. Yüzeysel ve sistemik kandidiyazise neden olabilmektedir. Yüzeysel kandidiyazis mukozayı, cildi ya da her ikisini birden etkileyebilmektedir. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* ve *C. tropicalis*'i içeren birkaç tür insanlarda bulunmaktadır fakat *C. albicans* enfeksiyonların ezici çoğunluğundan sorumludur (>%90). *Candida dubliniensis*, *C. albicans*'a oldukça benzeyen yeni tanımlanan bir *Candida* türüdür. İlk olarak HIV ile enfekte hastaların oral kavitelerinden izole edilmişlerdir. *C. dubliniensis* hem sağlık hem de hastalık durumlarında nispeten yaygın bir oral inabitant olarak bilinmektedir. *C. albicans* oral kavitede, gastrointestinal alanda, bayanların genital bölgesinde ve bazen de ciltte bulunmaktadırlar. Kültürler sabouraud besiyerinde kremi beyaz koloniler olarak bira benzeri bir aroma ile düz ya da yarı küresel şekilde büyümektedirler. *C. albicans* ve *C. dubliniensis* diğer *Candida* türlerinden germ tüpleri ve klamidosporeler üretebilme yetenekleri ile ayrılabilirler. Maya hücreleri serumda 37°C'de 3 saat inkübe edildiklerinde *C. albicans* ve *C. dubliniensis* germ tüpleri üretirken diğer *Candida* türleri

üretmemektedirler. Bununla beraber türlerin ayırıcı tanımlaması karbonhidrat sindirimi (aerobik metabolizma) ve fermentasyon (anaerobik metabolizma) reaksiyonları temel alınarak yapılmaktadır. Candida türleri herhangi bir predispozan faktör olmadığı takdirde nadiren hastalığa neden olmaktadır. Candida kaynaklı mukozal enfeksiyonlar pamukçuk şeklinde mukozal lezyonlar ile karakterizedir. Bu silme hareketi ile kolayca ayrılabilen bukkal mukozada beyaz bir psödömembrandır. Diğer oral belirtiler eritematöz ve hiperplastik varyantları içermektedir. Candidiazisin tanısında sabouraud agarda spesimenin kültür edilmesini takiben gram boyalı smearda mayanın gösterilmesi yardımcıdır. Ayrıca seroloji veya PCR temelli moleküler metodlar veya kan kültürü yaygın candidiazis tanısında yardımcıdır. Lezyondan alınan bir biyopsinin histopatolojik olarak incelenmesi ve fungal iplikcikler tarafından yapılan doku invazyonunun gösterilmesi nedensel bir ilişki kurmaya yardım etmektedir. Candida enfeksiyonları polienler, azoller ve DNA analogları olarak bilinen ajanlar ile tedavi edilebilmektedirler. Ajanlar enfeksiyonun tipine ve ciddiyetine göre kullanılmaktadırlar. Yüzeyel enfeksiyonlar topikal olarak bir polien (Nistatin, Amfoterisin) veya bir imidazol (Mikonazol, Klotrimazol) ile tedavi edilebilmektedirler. Polienler oral candidal enfeksiyonlar için oldukça etkilidirler. Sistemik enfeksiyonlar ve yaygın candidiazisler intravenöz amfoterisin tedavisi gerektirmektedir. Hem yüzeysel hem de sistemik mikozis için etkili olan triazol ajanı flukonazol HIV ile enfekte hastalarda Candida enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Candida enfeksiyonlarının önlenmesinin en temel yolu predispozan faktörlerin önlenmesidir⁴⁵.

2.9. Ozon Gazı

Ozon (O_3) üç oksijen atomundan oluşan ve doğal olarak meydana gelen triatomik bir moleküldür^{69,70}. Moleküler ağırlığı 4798 g/mol'dür⁷¹. Radikal bir molekül olmamasına rağmen ozon, flor ve persülfattan sonra en potent üçüncü oksidandır⁷². Stabil olmayan bir gazdır, depolanamaz ve 20 °C'de yarılanma ömrü 40 dakikadır⁷². Doğada stratosferde 1-10 ppm konsantrasyonunda ve gaz formunda bulunmaktadır, ayrıca sürekli olarak oksijenden üretilmektedir ve oksijene parçalanmaktadır⁷³. Bu iki kimyasal reaksiyon, güneş ışığından kaynaklanan çok yüksek frekanslı ultraviyole ışınları tarafından katalize edilmektedir⁷⁰. Sonuç olarak güneşten dış atmosfere ulaşan zararlı B ve C ultraviyole radyasyonlar stratosferde ozon tarafından absorbe

edilmektedirler⁷²⁻⁷⁴. Bundan dolayı ozon gazı stratosferde hem stratosferin termal yapısı hem de yeryüzünde yaşam için ekolojik çatı olarak kritik bir role sahiptir⁷⁵. Diğer taraftan ozon gazının troposferde solunum yolları için toksik olduğu düşünülmektedir^{70,72}. Troposferde ozon gazı otomobil egzoz komponentleri (NO), gün ışığı ve oksijeni içinde barındıran bir dizi komplike kimyasal reaksiyon ile oluşmaktadır⁷⁰. Ozon gazı stabil olmayan bir gazdır ve hızlı bir şekilde oksijen gazı oluşturmak için oksijen molekülüne dönüşmektedir⁶⁹.

Ozonun gaz ve su ile hazırlanmış formlarının güvenilir mikrobiyolojik ve metabolik özellikleri ozonu geniş bir aktivite aralığı ile faydalı bir dezenfektan yapmaktadır⁷⁶⁻⁷⁸. Ozon gazının gaz ve su ile hazırlanmış formlarının bakterilere, mantarlara, protozoalara ve virüslere karşı güçlü ve güvenilir bir antimikrobiyal ajan olduğu kanıtlanmıştır^{5,6}. Ozon gazının oksidan potansiyelinin bakterilerin ve mantarların hücre duvarlarının ve sitoplazmik membranlarının parçalanmasını indüklediği genel olarak kabul görmüştür⁷⁰. Bu süreç esnasında ozon gazı glikoproteinlere, glikolipidlere ve diğer aminoasitlere saldırılmaktadır ve hücrenin enzimatik kontrol sistemini inhibe ve bloke etmektedir^{70,79}. Bu, hücre canlılığının anahtar elemanı olan membran geçirgenliğinde artış ile sonuçlanmaktadır ve fonksiyonların aniden durmasına sebep olmaktadır⁷⁰. Ozon molekülleri kolaylıkla hücreye girebilmektedir ve mikroorganizmanın ölümüne sebep olabilmektedir^{5,78,80}. Ayrıca ozon gazı sistein, metionin ve histidin gibi protein kalıntıları olan pek çok biyomoleküle saldırabilmektedir⁸⁰. Öne çıkan dental hastalıklarda biyomoleküllerin oksidize edilmesiyle ozon gazının bakterilerde oldukça ciddi yıkıcı bir etkisi bulunmaktadır⁷⁰. Karyogenezis esnasında asidojenik bakteriler tarafından üretilen en güçlü asit pirüvik asittir⁷⁰. Ozon gazı bu asiti asetik asite dekarboksile edebilmektedir⁷³. Plakta plak sıvısını tamponlayan asetik asit üretimi veya diğer yüksek pKa asitler bulunduğu başlangıç çürük lezyonlarının remineralizasyonu ile de karşılaşılacağı gösterilmiştir⁸¹.

2.9.1. Ozon Gazının Tarihçesi

Birinci Dünya Savaşı esnasında ozon gazı Alman askerlerdeki gazeöz post travmatik kangreni, enfekte yaraları, hardal gazı yanıklarını ve fistülleri tedavi etmek için kullanılmıştır⁸². Ozon tedavisi 1880'den 1932'ye kadar Amerika'da alternatif bir

ilaç olarak kabul edilmiştir⁷⁰. Bugüne kadar ozon tedavisi 16 ülkede tanınmış bir tedavi modeli olmuştur⁷³. Oküler hastalıkların (optik nöropatiler, glokom, santral retinal ven tıkanıklıkları, dejeneratif retinal hastalıklar); akut ve kronik bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonların; iskemik hastalıkların; ortopedik hastalıkların; dermatolojik; pulmoner; renal; hematolojik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde ozon gazının kullanımı araştırılmıştır⁷⁰. Kan bileşenleri (eritrositler, lökositler, trombositler, endotelial hücreler ve dolaşım sistemi) ile etkileşebilmektedir ve oksijen metabolizmasını, hücre enerjisini, immünmodüler özelliği, antioksidan savunma sistemini ve mikrosirkülasyonu pozitif olarak etkileyebilmektedir^{73,82}.

Diş hekimliğinde 1930'da Dr. E. A. Fisch ozonize suyu uygulamalarında kullanan ilk diş hekimidir ve ozonize suyu 1932'de cerrah Dr. Erwin Payr'a tanıtmıştır⁷⁰. Dr. Erwin Payr o tarihten itibaren ozonize suyu cerrahide kullanmıştır ve sonuçlarını 1935'te Berlin'de 59. Alman Cerrahi Topluluğu Kongresi'nde rapor etmiştir⁷⁰. Dental cerrahide ozonize su hemostazı desteklemek, lokal oksijen desteğini iyileştirmek ve bakteriyel proliferasyonu inhibe etmek için kullanılmaktadır⁸³.

2.9.2. Ozon Gazının Tedavi Edici Etkilerinin Mekanizması

Ozon gazının insan vücudunda antimikrobiyal, immün sistemi stimüle edici, antihipoksik, analjezik, detoksike edici, biyoenerjik, biyosentetik (karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarının aktivasyonu) gibi pek çok bilinen etkisi bulunmaktadır⁶⁹.

2.9.2.1. Antimikrobiyal Etki

Ozon gazının oksidan potansiyeli hücre duvarlarının ve sitoplazmik membranlarının parçalanmasını, hücre içi içeriğin modifiye olmasını (proteinlerin oksidasyonu, organel fonksiyonlarının kaybı) indüklemektedir ve bunun bir sonucu olarak antimikrobiyal etki ortaya çıkmaktadır⁸⁴. Bu etki nonspesifiktir ve mikrobiyal hücrelere seçicidir ve ayrıca insan vücut hücrelerine majör antioksidan yeteneklerinden ötürü zarar vermemektedirler⁸⁴. Ozon, antibiyotik dirençli bakterilerde oldukça etkilidir⁸⁴. Antimikrobiyal aktivitesi asidik pH'nın sıvı ortamında artmaktadır⁸⁴. Viral enfeksiyonlarda ozonun etkisi enfekte hücrelerin peroksidaza intoleransından ve viral proteinlerin sentezinde görevli olan reverse transkriptaz aktivitesinin değişmesinden ötürüdür^{84,85}.

2.9.2.2. İmmün Sistemi Stimüle Edici Etki

Ozon gazı hücrel ve humoral immün sistemi etkilemektedir⁸⁴. İmmün hücrelerin proliferasyonunu ve immünoglobülinlerin sentezini stimüle etmektedir⁸⁴. Ayrıca makrofajların fonksiyonlarını aktive etmektedir ve mikroorganizmaların fagositlere karşı hassasiyetlerini arttırmaktadır⁸⁴. Ozon düşük konsantrasyonlarda verildiğinde organizmaların kendi savunmaları harekete geçmektedir ve immün sistem tekrar aktive olmaktadır⁶⁹. Ozon aracılığıyla yapılan bu aktivasyona bir cevap olarak vücudun immün hücreleri sitokinler olarak bilinen özel taşıyıcılar üretmektedirler⁶⁹. Bu moleküller sırayla diğer immün hücreleri aktive etmektedirler ve hastalıklara direnmek için stimüle edilen immün sistemde baştanbaşa pozitif anlamda değişen bir kaskad meydana gelmektedir⁶⁹. Bu, düşük immün durumu olan ya da immün yetersizliği olan hastalarda bağışıklık sisteminin aktivasyonu için medikal ozonun uygulanmasının oldukça faydalı olduğu anlamına gelmektedir⁶⁹. Bununla birlikte ozon inflamasyonu azaltmada ve yara iyileşmesinde faydalı olan interlökinler, lökotrienler ve prostoglandinler gibi biyolojik olarak aktif bileşenlerin sentezine de neden olmaktadır^{69,84,85}.

2.9.2.3. Antihipoksik Etki

Ozon dokularda pO_2 'nin artışına sebep olmaktadır ve hücrel metabolizmanın değişmesi, aerobik sürecin (glikoliz, krebs döngüsü, yağ asitlerinin β oksidasyonu) aktivasyonu ve enerji kaynaklarının kullanımı ile sonuçlanan kanda oksijenin taşıma kapasitesini iyileştirmektedir. Ayrıca eritrosit agregatların oluşumunu önlemektedir ve oksijen taşımak için kontak yüzeylerini arttırmaktadır. Dolaşımı stimüle etme etkisi dolaşım rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır ve bu durum organik fonksiyonları yeniden canlandırmada ozonu değerli kılmaktadır^{69,84,85}.

2.9.2.4. Analjezik ve Detoksike Edici Etki

Ozon arteriollerin ve venüllerin dilatasyonundan sorumlu NO gibi vazodilatörlerin salgılanmasına sebep olmaktadır^{69,84}.

2.9.2.5. Biyoenerjik ve Biyosentetik Etki

Ozon protein sentezi mekanizmasını aktive etmektedir ve hücrelerde ribozomların ve mitokondrilerin miktarını arttırmaktadır. Hücrel seviyedeki bu değişiklikler

fonksiyonel aktivitenin ve dokuların, organların rejenerasyon potansiyelinin yükselişini açıklamaktadır^{69,84,85}.

2.9.3. Ozon Tedavisinin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

Patojenlerin eliminasyonu, uygun oksijen metabolizmasının restorasyonu, uygun bir ekolojik çevrenin indüksiyonu, dolaşımın artırılması, immün sistemin aktivasyonu ve humoral antioksidan sistemin stimülasyonu gibi kullanım amaçları olan ozonun belirli endikasyonları ve kontrendikasyonları bulunmaktadır⁸⁵. Arteriyel dolaşım hastalıklarında, immün yetersizlik ve immün sistemdeki dengesizliklerde, enflamatuvar durumlarda, romatik hastalıklarda, eksternal ülserler ve cilt lezyonlarında, diş hekimliğinde ozon gazının kullanımı endikedir^{84,86,87}. Bununla birlikte hamilelik, glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz yetersizliği, hipertiroidizm, ciddi anemi, ciddi miyasteni, akut alkol zehirlenmesi, herhangi bir organdan kaynaklı hemoraji, ozon gazı alerjisi ve yakın tarihli kalp krizi gibi durumlar ise ozon gazı kullanımı için kontrendikasyondur^{84,86,87}.

2.9.4. Ozon Gazının Uygulama Şekilleri

Majör oto hemoterapi, rektal insuflasyon ve minör oto hemoterapi ozon gazı uygulamasının sistemik formları arasında bulunmaktadır. Majör oto hemoterapi kanın vücut dışına alınıp ozon ile tedavi edilmesi ve tekrar aktive edilen kanın vücuda verilmesine denmektedir. Minör oto hemoterapi ise ozon gazı ile aktive edilen kanın intramuskuler olarak enjeksiyonuna denmektedir^{84,86,87}.

Sprey veya kompres formunda ozonize su, eklem içi enjeksiyonlar, kas içi enjeksiyonlar ve ozonize zeytinyağı da ozon gazı uygulamasının topikal formları arasında bulunmaktadır^{84,86,87}.

2.9.5. Ozon Gazı Üretmek İçin Kullanılan Sistemler

Ultraviyole sistem, soğuk plazma sistemi ve elektrik deşarj sistemi ozon gazı üretmek için kullanılan sistemlerdir^{86,87}. Ultraviyole sistem düşük konsantrasyonlarda ozon üretmektedir, güzellik merkezlerinde estetik amaçlı ve herhangi bir ortamın havasını temizlemek için kullanılmaktadır^{86,87}. Soğuk plazma sistemi hava ve su arıtmada kullanılmaktadır^{86,87}. Elektrik deşarj sistemi ise yüksek konsantrasyonlarda

ozon üretmektedir^{86,87}. Medikal ve dental alanda kullanılan en yaygın sistemdir^{86,87}. Bu sistemde ozon yüksek bir voltaj değişiminden geçen saf oksijenden üretilmiştir⁷². Ortaya çıkan gaz %95'den az olmamak üzere oksijenden ve %5'den fazla olmamak üzere ozondan oluşan bir gaz karışımıdır^{72,88}. Kullanımı kolaydır ve kontrollü bir ozon üretim oranına sahiptir^{86,87}. Ayrıca bu sistemlerin paslanmaz çelik, nötr cam ve teflon gibi ozona dirençli malzemelerden yüksek kalitede üretilmeleri gerekmektedir⁷².

2.9.6. Diş Hekimliğinde Ozon Tedavisi

Diş hekimliği modern bilimin ilerlemesi ve kullanılmasıyla beraber oldukça iyi bir noktaya gelmiştir. Ozon tedavisi de mevcut konvansiyonel tedavi modellerinden farklı, faydalı bir seçenek olarak bulunmaktadır. Ayrıca ozon gazının kullanımı dental tedaviye minimal invaziv ve konservatif bir yaklaşım sağlamaktadır. Diş hekimliğinde ozon gazının ana kullanımı antimikrobiyal özelliklerine bağlıdır. Gram pozitif bakterilere, gram negatif bakterilere, virüslere ve mantarlara karşı etkili olduğu daha önce pek çok çalışmada kanıtlanmıştır. Bu bağlamda ozon tedavisi konvansiyonel tedaviler için bir destek olarak kullanıldığında büyük avantajlar sunmaktadır⁶⁹.

Ozon diş hekimliğinde enfekte çene kemiğine infüzyon olarak, ağrı ve enflamasyonun tedavisi için temporomandibular ekleme infüzyon olarak, ilgili diş tedavi etmek için yeni kök kanal tedavisi esnasında bir irrigan olarak, periodontal hastalıklar için ozonize zeytinyağının kullanımı ile tedavi seçeneği olarak kullanılabilir^{69,89-91}.

Protetik diş hekimliğinde ozon diş protezlerinin dezenfeksiyonu için kullanılmaktadır⁵. Protezlerde meydana gelen bu mikrobiyal plak birikimi temel olarak *C. albicans* olmak üzere pek çok mikroorganizmadan oluşmaktadır⁵. Protez stomatitinin önlenmesi için protez plak kontrolü oldukça gereklidir⁵. Bu amaçla kullanılan ozon özellikle *C. albicans* üzerinde etkilidir⁵. Bu sebeple ozonun protez temizliğinde kullanımı oldukça etkilidir^{5,92,93}.

Restoratif diş hekimliği ve endodontide ozon; diş çürüklerinin profilaksi ve önlenmesinde, pit ve fissür çürükleri ile kök ve düz yüzey çürüklerinin remineralizasyonunda, diş beyazlatmada, endodontik tedavide ve aşırı hassas dişlerin hassasiyetlerinin giderilmesinde kullanılmaktadır^{69,89,94}. Endodontide bir irrigan ajan olarak kullanılan ozonun, diğer irrigan ajanlar ile karşılaştırılarak yapılan çalışmalarda

oldukça etkili olduğu belirtilmektedir^{76,95,96}. Ayrıca ozon dental travmada avülse dişlerin replantasyonundan önce dekontaminasyon amacıyla kullanılmaktadır⁷⁷.

Diş eti hastalıklarında ozon tedavisinin uygulaması geleceği parlak sonuçlar göstermektedir. Hem ozon gazı hem de ozonize su mekanik debridman için kullanılabilirler. Ozonize su (4mg/l) dental plak oluşumunu güçlü şekilde inhibe etmektedir ve subgingival patojenlerin sayısını azaltmaktadır. *P. endotalis*, *P. gingivalis* gibi gram negatif bakteriler *C. albicans* ve gram pozitif oral streptokoklara göre ozonize suya karşı daha hassastırlar. Ayrıca ozonize su, insan oral epitelyal ve gingival fibroblast hücreleri üzerinde toksik bulunan ozon gazına göre daha biyoyumludur. Kronik gingival ve periodontal hastalıklarda ozon tedavisinin uygulanması subjektif ve objektif iyileşmeler göstermiştir ve periodontal abseli hastalarda eksudasyon gözlemlenmemiştir^{76,97}.

Oral cerrahide ozon tedavisi pek çok kullanım alanına sahiptir. Özellikle oral kavitede epitelyal yara iyileşme sürecinde etkilidir⁹⁸. Günlük olarak uygulanan ozonize suyun oral mukozada iyileşme oranını hızlandırabildiği bulunmuştur⁹⁸. Bu etki operasyon sonrası ilk iki günde görülebilmektedir⁹⁸. Hemostazı ve lokal oksijen desteğini sağlama konusunda da ozon faydalı olabilmektedir⁹⁹. Kuru soket gibi çekim sonrası oluşan komplikasyonlarda da etkilidirler⁹⁸. Bunlara ek olarak ozon gazı uygulamasının yüksek doz radyoterapiyi takiben oral yara iyileşmesini sağlama konusunda etkili olduğu gösterilmiştir⁸⁶. Ayrıca peri-implantitis tedavisinde ozon tedavisi konvansiyonel ve cerrahi metodlar ile karşılaştırıldığında bakteri redüksiyonunda en etkili yöntem olduğu bildirilmiştir⁸⁸. Son zamanlarda sıkça görülen bifosfonata bağlı çenelerin osteonekrozunun tedavisinde de ozonun faydalı olduğu belirtilmiştir^{91,100,101}. Bunlara ek olarak, temporomandibular eklemin internal bozukluklarının tedavisinde ozon gazının kullanımı karşımıza çıkan diğer bir kullanım alanıdır⁹⁰.

2.9.7. Ozonun Toksisitesi

Uzun süreli troposferik ozon inhalasyonuna maruz kalmak solunum sistemine, ekstrapulmoner organlara ve diğer organlara karşı toksik olabilmektedir^{79,84,85}. Cilt de ozon gazına kapsamlı olarak maruz kalır ise zarar görebilmektedir¹⁰². Ozon tedavisinin sebep olduğu komplikasyonlar uygulama başına 0,0007 sıklığındadır⁸⁵. Bilinen yan

etkiler aşırı göz yaşarması, üst solunum yolu irritasyonu, rinit, öksürük, baş ağrısı, nadiren bulantı, kusma, nefes darlığı, kan damarlarında şişme, zayıf dolaşım ve kalp problemleridir⁸⁵. Ozonun yüksek oksidatif gücünden ötürü gaz ile kontakta olan tüm materyaller cam, silikon ve teflon gibi ozona dirençli olmalıdır⁸⁵. Bununla beraber ozon zehirlenmesinde hasta supin pozisyonda yatırılmalıdır ve E vitamini ve n-asetilsistein ile tedavi edilmelidir^{85,86}.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar

Bu araştırmaya dahil edilen olgular Ç. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Kliniği'ne alt çenede çift taraflı gömülü üçüncü molar dişlerini çekertmek için başvuran hastalardan seçildi. Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri; (1) 18 yaşından büyük olmak; (2) tam kemik retansiyonlu bilateral gömülü dişlerin varlığı; (3) iyi periodontal sağlığa sahip olmak olarak tanımlandı. Hastaların çalışma dışı bırakılma kriterleri; (1) gömülü dişlerin etrafında enfeksiyon veya herhangi bir patolojik lezyon varlığı; (2) kontrol altında olmayan sistemik hastalık; (3) gebelik şüphesinin bulunması olarak belirlendi. Hastaların ikinci operasyona gelmemeleri ve örneklerin alınması ile muhafazası esnasında gerekli şartların ve steril ortamın sağlanamaması durumlarında hastaların çalışma dışı bırakılmaları kararlaştırıldı.

Çalışma için gerekli olan hastaların sayısı Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda yapılan güç analizi ile belirlendi. Çalışmaya kriterleri taşıyan 32 hasta dahil edildi ve bu hastaların ikisi ikinci operasyonlarına gelmemeleri sebebiyle çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca araştırmaya başlamadan önce Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Tüm hastaların çalışmaya dahil edilmeden önce anamnezleri alındı, hastalara yapılacak işlem ile ilgili ayrıntılı olarak sözlü ve yazılı bilgiler verildi ve hastaların aydınlatılmış onamları alındı.

3.2. Cerrahi Yöntem

Bu çalışmada yapılan tüm cerrahi operasyonlar Ç. Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi A.D. lokal ameliyathanesinde aynı cerrah (Arş. Gör. Dt. Onur Keçeli) tarafından standart bir cerrahi protokole bağlı kalınarak gerçekleştirildi. Cerrahi operasyonlarda uygulanacak yöntem istatistiksel olarak belirlenen randomizasyon sıralamasına göre gerçekleştirildi.

Tüm hastalara işlemten hemen önce % 0,2'lik klorheksidin glukonat içeren gargara (Klorhex[®], Drogan, Balgat, Ankara, Türkiye) ile 30 saniye gargara yaptırıldı. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. % 0,2'lik klorheksidin glukonat içeren gargara

Yüz bölgesi merkezden perifere olacak şekilde octenidin içeren bir cilt antiseptiği (Octenidex, Everest Medikal Sağlık Ürünleri, Antalya, Türkiye) ile silindi.(Şekil 3.2)



Şekil 3.2. Octenidin içeren cilt antiseptiği

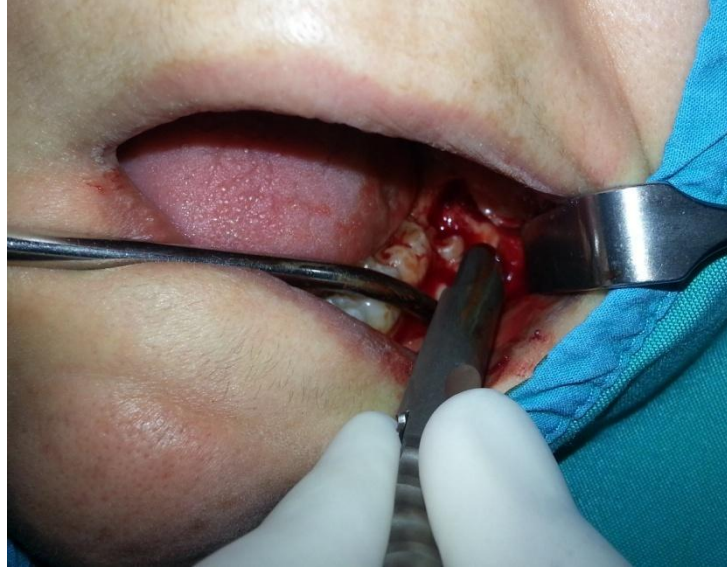
Hastaların üzeri yüzleri açıkta kalacak şekilde steril cerrahi örtüler ile örtüldü. İlgili taraftaki lingual, bukkal ve inferior alveolar sinirin lokal anestezisi için 40 mg/ml artikain hidroklorür ve 0,006 mg/ml epinefrin hidroklorür (Fullcain Ampul, On Farma, Çankaya, Ankara, Türkiye) içeren iki ampul lokal anestezi kullanıldı. (Şekil 3.3)



Şekil 3.3. Lokal anestezi

Lokal anestezi sağlandıktan sonra 3 numara bistüri sapı ve 15 numara bistüri ucu ile ilgili tarafta retromolar bölgede krestal ve 2. molar dişin bukkal dişeti oluğundan geçen sulkuler bir kesi atıldı. Bunu takiben 2. molar dişin mezial ve orta üçlünün birleşim yerinden papili koruyacak şekilde vertikal bir insizyon atıldı ve tam kalınlık üçgen flep kaldırılarak kemiğe ulaşıldı. Randomizasyona bağlı kalınarak her hastanın bir tarafında tam kemik retansiyonlu gömülü diş etrafındaki otojen kemik; kemik kazıyıcıyla, diğer tarafta kemik toplayıcıyla toplandı.

Kemik kazıyıcı grubunda gömülü dişe ulaşmak için redükte edilmesi gereken kemik dokusunun olduğu bölgeden diş çekimi yapmadan önce kemik kazıyıcı (Medesy®, İtalya) aracılığıyla otojen kemik toplandı. (Şekil 3.4 ve 3.5)



Şekil 3.4. Kemik kazıyıcı ile otojen greft toplanması

Yeteri kadar otojen kemik toplandıktan sonra cerrahi piyasemen, çelik rond ve fissür frezler yardımıyla kalan kemik redükte edilerek gömülü dişin çekimi gerçekleştirildi.



Şekil 3.5. Kemik kazıyıcı ile toplanan otojen greft

Kanama kontrolü sonrası flep primer suture edildi. Kemik kazıyıcı (Medesy[®], İtalya) aracılığıyla toplanan otojen greftin bir kısmı (Kemik Kazıyıcı Kontrol Grubu) daha önceden Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.D. besiyeri odasında hazırlanan ve darası alınmış, içerisinde 1ml Brain Heart İnfusion Broth bulunan steril tüpler içerisine yerleştirildi. (Şekil 3.6)



Şekil 3.6. Otojen kemik greftinin tüp içerisine yerleştirilmesi

Kemik kazıyıcı (Medesy[®], İtalya) aracılığıyla toplanan otojen greftin geri kalan kısmı (Kemik Kazıyıcı Ozon Grubu) ise steril bir periost elevatörü yardımıyla 10 ml'lik steril enjektör içine yerleştirildi. (Şekil 3.7)

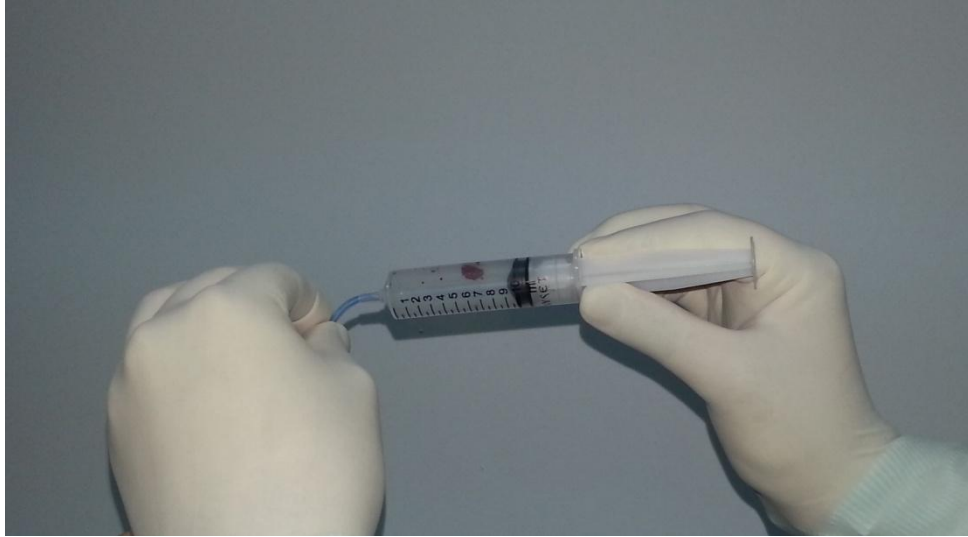


Şekil 3.7. Otojen kemik greftinin enjektör içerisine yerleştirilmesi

Enjektör içerisine 2 l/dk ve 140 ppm kapasiteli ozon gazı jeneratörünün (Prozone[®], W&H, Avusturya) 24 sn'lik programı kullanılarak ve enjektör 10 ml hacimde sabit kalmak üzere basınç altında ozon gazı verildi. (Şekil 3.8, 3.9)



Şekil 3.8. Ozon gazı jeneratörü (Prozone[®], W&H, Avusturya)



Şekil 3.9. Otojen kemik greftine ozon gazı uygulanması

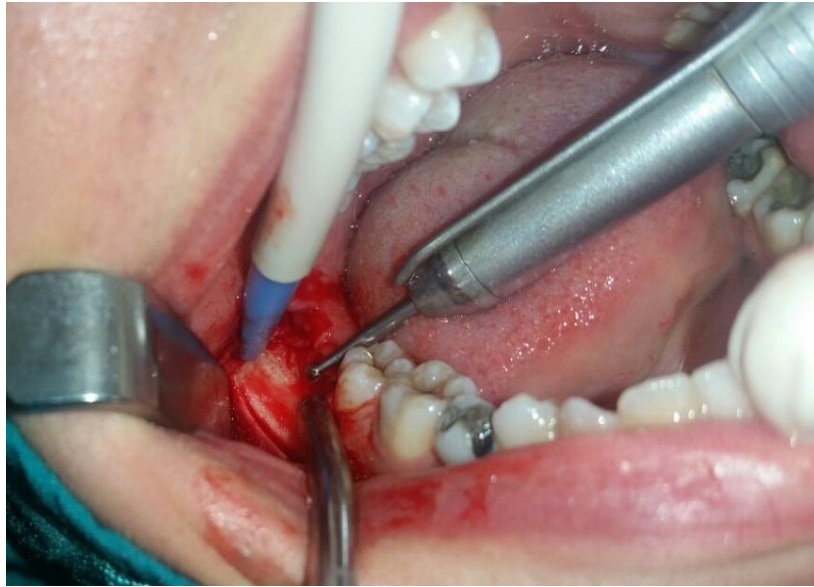
Enjektör içerisindeki otojen kemik grefti ozon ile muamele edildikten sonra steril bir periost elevatörü yardımıyla enjektör içinden alınarak daha önceden darası alınmış, içerisinde 1ml Brain Heart Infusion Broth bulunan steril tüpler içerisine yerleştirildi. Bu işlemler tamamlandıktan sonra en geç 2 saat içerisinde tüpler mikrobiyolojik analiz için +4°C'de soğuk zincir aracılığıyla Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Kemik toplayıcı grubunda ise gömülü dişe ulaşmak için redükte edilmesi gereken kemik dokusu cerrahi piyasemen, çelik rond ve fissür frezler yardımıyla uzaklaştırılırken aspiratöre bağlı kemik toplayıcı yardımıyla otojen greft elde edildi. (Şekil 3.10)



Şekil 3.10. Kemik toplayıcı

Operasyon esnasında bir tanesinde cerrahi sahanın tükürük ile kontamine olmasını engellemek için diğerinde ise kemik toplayıcının (Frios[®], Dentsply, USA) bağlı olduğu iki adet aspiratör kullanıldı. (Şekil 3.11)



Şekil 3.11. Operasyon esnasında kemik toplayıcı ve cerrahi aspiratör olmak üzere iki aspiratörün kullanımı

Aspiratörler operasyon esnasında iki farklı asistan tarafından büyük bir dikkatle kullanıldı. Yeteri kadar kemik redüksiyonu yapıldıktan sonra gömülü olan 3. molar diş çekildi. Daha sonra kanama kontrolü sağlandı ve flep primer olarak suture edildi. (Şekil 3.12)



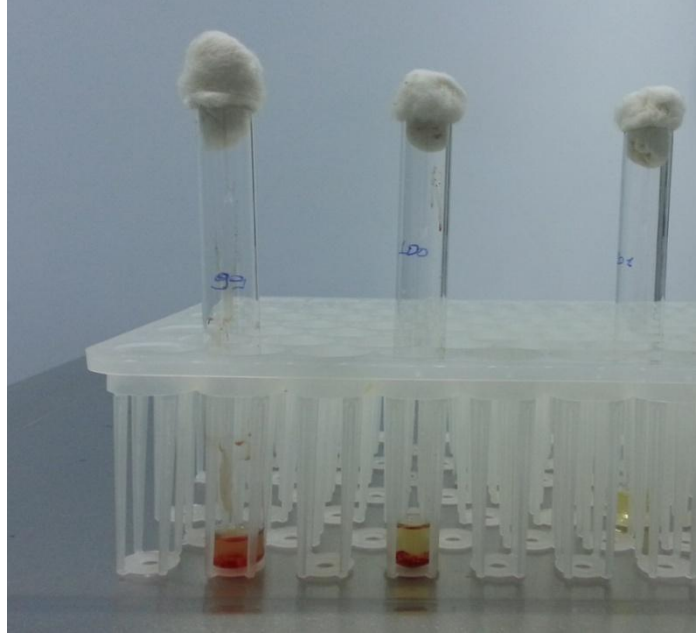
Şekil 3.12. Diş çekimi sonrası primer suturasyon

Diş çekimi tamamlandıktan sonra kemik toplayıcı (Frios[®], Dentsply, USA) yardımıyla toplanan otojen greft steril bir periost elevatörü yardımıyla steril bir godeye aktarıldı. (Şekil 3.13)



Şekil 3.13. Kemik toplayıcı ile toplanan otojen kemik grefti

Daha sonra kemik toplayıcı (Frios[®], Dentsply, USA) aracılığıyla toplanan otojen greftin bir kısmı (Kemik Toplayıcı Kontrol Grubu) daha önceden Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji A.D. besiyeri odasında hazırlanan ve darası alınmış, içerisinde 1ml Brain Heart İnfusion Broth bulunan steril tüpler içerisine yerleştirildi. (Şekil 3.14)



Şekil 3.14. Otojen kemik greftinin Brain Heart İnfusion Broth'a ekilmesi

Kemik toplayıcı (Frios[®], Dentsply, USA) aracılığıyla toplanan otojen greftin geriye kalan kısmı (Kemik Toplayıcı Ozon Grubu) ise steril bir periost elevatörü yardımıyla öncelikle 10 ml'lik steril bir enjektör içine yerleştirildi. Aynen K. K. Ozon Grubu'nda olduğu gibi enjektör içerisine 2 l/dk ve 140 ppm kapasiteli ozon gazı jeneratörünün (Prozone[®], W&H, Avusturya) 24 sn'lik programı kullanılarak ve enjektör 10 ml hacimde sabit kalmak üzere basınç altında ozon gazı verildi. (Şekil 3.9)

Enjektör içerisindeki otojen kemik grefti ozon ile muamele edildikten sonra steril bir periost elevatörü yardımıyla enjektör içinden alınarak daha önceden darası alınmış, içerisinde 1ml Brain Heart İnfusion Broth bulunan steril tüpler içerisine yerleştirildi. Bu işlemler tamamlandıktan sonra tüpler mikrobiyolojik analiz için +4°C sıcaklıkta en geç 2 saat içerisinde soğuk zincir aracılığıyla Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi. Her operasyon sonrasında hastalara günde iki kez kullanmak üzere 1gr amoksisilin ve klavulanik asit içeren antibiyotik (Amoklavin 1gr. Tablet, Deva İlaç, Türkiye), 100mg flurbiprofen içeren nonsteroid antienflamatuar (Majezik 100 mg

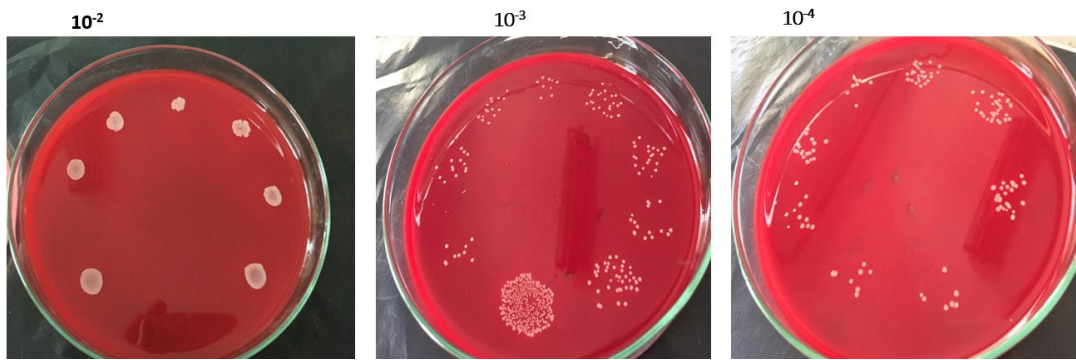
Tablet, Sanovel İlaç San. ve Tic. A.Ş. , İstanbul, Türkiye) ve klorheksidinli ağız gargarası (Andorex 200 ml Gargara, Pharmactive, Türkiye) reçete edildi. Hastalar bir hafta sonra kontrole çağrıldı ve iki operasyon arasında üç haftalık iyileşme süreci beklendi.

3.3. Mikrobiyolojik Analiz

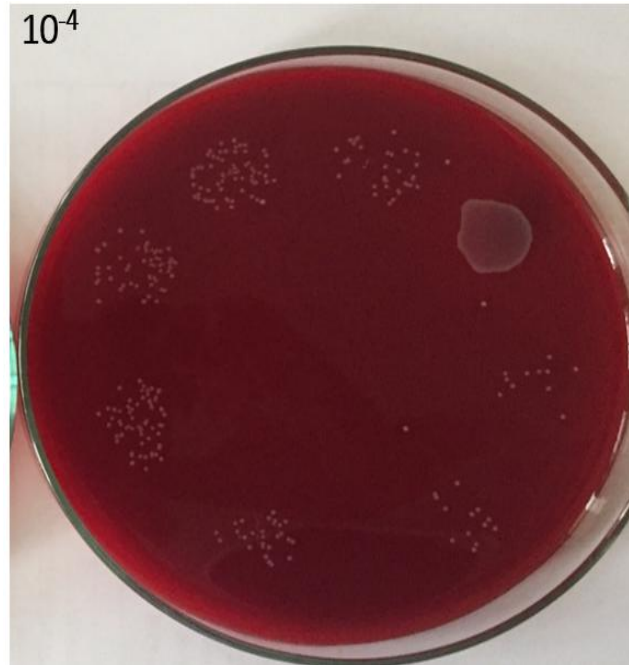
Örnekler 4°C sıcaklıkta en geç 2 saat içerisinde Çukurova Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na ulaştırıldıktan sonra alınan kemik greftlerinin miktarının ağırlık/hacim (w/v) cinsinden tespiti amacı ile tüpler tekrar tartıldı ve kemik greftlerinin çöktürülerek ayrılması için 4°C sıcaklıkta, 15.000 x g'de 10 dakika santrüfjü edildi. Santrüfjü sonrası süpernatant toplandı ve sterilite kontrolü için % 5 koyun kanlı agar besiyerine ekildi. Tüplerin dibinde kalan kemik greft çöküntüsü mg olarak örnekteki bakteriyel yükün kantitasyonu amacı ile tekrar tartıldı ve 10 ml thioglycolat buyyon bulunan steril tüpler içerisine yerleştirildi. Vortekslenerek homojen hale getirilen her bir örnekten 1 ml alınarak içerisinde 9 ml thioglycolat buyyon bulunan tüplere inoküle edildi. Örnekler thioglycolatlı sıvı besiyeri içerisinde log₁₀ tabanına göre son tüp 10⁻⁸ olacak şekilde dilüsyona devam edildi. Dilüsyon tüplerinin her birinden 10⁷ ar µl alınarak örnek sıra numarası ve dilüsyon katsayısı daha önceden belirlenmiş, aerob mikroorganizmalar için % 7 koyun kanlı agar, anaerob mikroorganizmalar içinde % 5 at kanı ve % 0,001 vitamin-K1 içeren fastidious anaerob agar katı besiyerine damlatma yöntemi ile ekimler yapıldı. Plaklar inkübatörlere kaldırılmadan önce greft örneklerine ait suspansiyonun besiyeri içerisine diffüzyonuna izin vermek amacı ile ekim masası üzerinde ve ekim pozisyonunda 20 dakika bekletildi. Standart sapmanın tespiti amacı ile her dilüsyondan en az üç aerob ve üç tane de anaerob besiyerine ekim yapıldı. Standart ekimlerin yanı sıra, muhtemel aerob gram negatif çomaklar ile enterokok ve oral streptokokların izolasyonu için de her örneğin 10⁻² ve 10⁻⁴. dilüsyonlarından aynı ekim yöntemi ile kanamisin eskülin azid agar ve endo agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Aerob mikroorganizmaların tespiti için yapılan ekimler normal etüvlerde 37°C'de 24 saat, anaerob mikroorganizmaların tespiti için ekim yapılan besiyerleri de anaerob gas generatin kit (BD GasPak TMEz Anaerobe Container System 260678) içeren kavanozlarda 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı.

Endo agar ve kanamisin eskülin azid agar besiyerleri de aerob mikroorganizmalar için belirlenen inkübasyon şartlarında bekletildi.

İnkübasyon süresi sonunda sayılabilir miktarda üreme görülen dilüsyonların ekim yapıldığı 3 besiyerindeki kolonileri sayıldı. Besiyerleri arasında koloni sayıları birbirine ± 5 koloni olan ve 5-50 arasında kolonilerin görüldüğü besiyerlerinin ortalaması bakteri kantitasyonu için esas alınıp, bu değerin altında veya üzerindeki üremeler ekim hatası olarak sayım dışı bırakıldı. Sayılabilir besiyerlerindeki örnek ortalaması, dilüsyon katsayısı ve orijinal tüpdeki kemik ağırlıkları dikkate alınarak bakteri yoğunluğu cfu/gr cinsinden hesaplandı. (Şekil 3.15, 3.16)

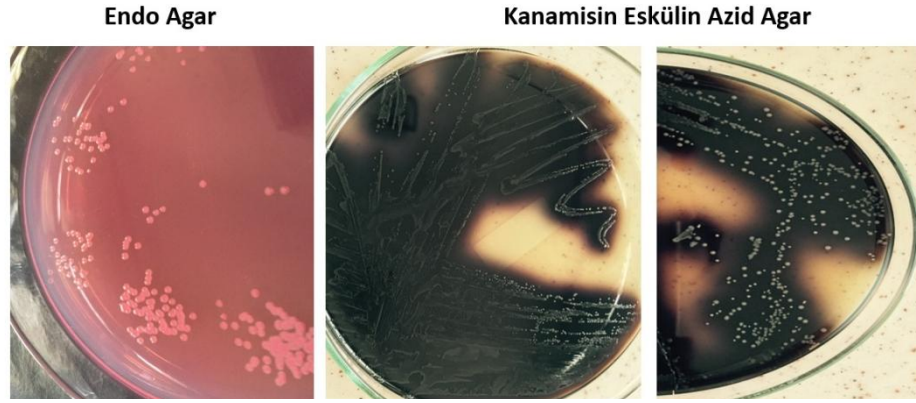


Şekil 3.15. % 7 Koyun Kanlı Agar



Şekil 3.16. 10^{-4} dilüsyonun ekildiği % 7 koyun kanlı agar

İşlem anaerob mikroorganizmalar, gram negatif bakteriler ve streptokok türleri için de aynı şekilde uygulandı. (Şekil 3.17)



Şekil 3.17. Endo agar ve kanamisin eskülin azid agar

Üremenin kantitasyonu için inkübasyon süresi sonunda Log_{10} tabanına göre dilüe edilerek ekim yapılan plaklardaki koloni sayısı 5-50 arasında sayılabilen konsantrasyon baz alındı. Sayılabilen konsantrasyondaki üç plaktaki üremelerin standart sapması ± 5 koloni olarak kabul edildi ve bu aralıkta üreme tespit edilen plakların ortalaması alındı. Elde edilen sayı sulandırım katsayısı ile çarpılarak orijinal örnekteki üreme miktarı cfu/ağırlık olarak tespit edildi. Daha sonra ekim yapılan örnek ağırlığındaki cfu türünden elde edilen miktar gr ağırlığa dönüştürüldü. Sonuçta üreme cfu/gr türünden kantite edildi.

3.3.1. Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanışları

3.3.1.1. Kanlı Agar

Tablo 3.1. Kanlı Agar İçin Gerekli Malzemeler

Et ekstresi (Merck1.03979)	5 gr
Pepton (Difco 63928JB)	5 gr
NaCl (Merck 1.06400)	5 gr
Agar (Lab MMC2)	12 gr
Distile Su	1000 ml
pH	7,3

27 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C 'de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Daha sonra üzerine % 5 oranında defibrine kan eklendi.

3.3.1.2. Thioglycolat Buyyon (VM882690743, Merck, Almanya)

Tablo 3.2. Thioglycolat Buyyon İçin Gerekli Malzemeler

Thioglycholot buyyon	28 gr
Distile Su	1000 ml
pH	7,1

28 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.3.1.3. Brain Heart İnfusion Broth (53286 SIGMA, Almanya)

Tablo 3.3. Brain Heart İnfusion Broth İçin Gerekli Malzemeler

Brain Heart İnfusion Broth toz besiyeri	37 gr
Distile Su	1000 ml
pH	7,4

37 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.3.1.4. Kanamisin Eskülin Azid Agar (VM454422 240, Merck, Almanya)

Tablo 3.4. Kanamisin Eskülin Azid Agar İçin Gerekli Malzemeler

Kanamisin Esculin Azid Agar	47,5 gr
Distile Su	1000 ml
pH	7,1

47,5 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.3.1.5. Endo Agar (Himedia, İndia)

Tablo 3.5. Endo Agar İçin Gerekli Malzemeler

Endo Agar	41,5 gr
Distile Su	1000 ml
pH	7,5

41,5 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi.

3.3.1.6. Fastidious Anaerob Agar (7531, Acumedia, USA)

Tablo 3.6. Fastidious Anaerob Agar İçin Gerekli Malzemeler

Fastidious Anaerob Toz Besiyeri	45,7 g
Distile Su	1000 ml
pH	7,2 ± 0,2

%0,001 Vitamin K içeren 47,5 gr toz besiyeri 1000 ml distile suda çözülerek 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak steril edildi. Besiyeri 45 – 50°C’ye soğutulduktan sonra içerisine % 5 steril defibrine at kanı eklendi.

3.3.2. Fenotipik İdentifikasyon Testleri

3.3.2.1. Oksidaz Testi

Oksidaz ayırıcının hazırlanışı:

Tablo 3.7. Oksidaz Testi İçin Gerekli Malzemeler

Tetramethyl-1,4-phenylenediamine (Sigma, CB2300445)	0,1 gr
Distile su	10 ml

Tetramethyl-p-phenylenediamine distile suya ilave edildi. Işık geçirmeyen kapaklı cam şişelere koyuldu ve kullanılına kadar +4°C sıcaklıkta saklandı.

3.3.2.2. Katalaz Testi

Katalaz ayırıcının hazırlanışı:

Tablo 3.8. Katalaz Testi İçin Gerekli Malzemeler

Hidrojen peroksit (%100)	0,3 ml
Distile su	10 ml

Hidrojen peroksit distile suya ilave edildi. Kapaklı cam şişelere koyuldu ve kullanılına kadar +4°C sıcaklıkta saklandı.

3.3.2.3. BD BBL Kristal Kiti ile Gram (+) Kok ve Basillerin İdentifikasyonu

1. Tek koloni olarak pasajlanan Gram (+) kok ve basillerden kit süspansiyon solüsyonu içerisine inokülasyon yapıldı ve 0,5 McFarland standardına ayarlandı.
2. Tüm içerik farklı şeker ve aminoasitlerin kullanımına yönelik parametrelerin bulunduğu kit içerisindeki hedef bölgelere yavaşça döküldü ve kapağı kapatılarak kodlandıktan sonra 37°C’de 18 saat inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların içerikteki şeker ve aminoasitlere etkisi floresan altında incelendi.
4. Oluşan renk değişimi, kitin öngördüğü doğrultuda skorlandı ve Gram (+) ID sistem bilgisayar programı kullanılarak değerlendirildi. (Şekil 3.18)



Şekil 3.18. BD BBL Kristal kiti

3.3.3. Moleküler Yöntemler

3.3.3.1. DNA Ekstraksiyonu

Dilüsyon amacıyla 1 ml’si ayrılan 10 ml Thioglikolat buyyon içindeki greft örneklerinin geriye kalan kısmı, moleküler testlerde kullanılmak üzere bakteriyel üremeye izin verilmeden -20°C’ye kaldırılarak saklandı. Bu örneklerde prokaryot 16s rDNA’yı hedef alan universal primerler ile bakteriyel DNA varlığının tespit edilmesi ve DNA varlığı belirlenen örneklerde *F. nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *T.forsythia* ve *Bacteriodes* cinsine ait anaerob bakterilerin spesifik primerler kullanılarak in house-PCR yöntemi ile araştırılması amacı ile total DNA ekstraksiyonu yapıldı. (Tablo 3.9, 3.10)

Tablo 3.9. Kullanılan Primerler, Hedeflenen Türe Ait Amplikon Uzunlukları ve Referansları¹⁰⁴⁻¹⁰⁸.

Hedef mikroorganizma	Primer çiftleri (5'-3')	Amplikon uzunluğu	Referanslar
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG GTC ATC GTG CAC ACA GAA TTG CTG	306 bp	99,100
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT	404 bp	100,101,102
<i>Prevotella intermedia</i>	TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG TCA ACA TCT CTG TAT CCT GCG T	575 bp	102,100
<i>Tannerella forsythia</i>	GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	641 bp	103
<i>Universal 16s rDNA</i>	GAT TAG ATA CCC TGG TAG TCC AC CCC GGG GTA TTC ACC G	602bp	103

Tablo 3.10. Multipleks PCR İçin Kullanılan Primerler, Hedeflenen Türe Ait Amplikon Uzunlukları ve Referansları¹⁰⁹.

Hedef mikroorganizma	Primer çiftleri (5'-3')	Amplikon uzunluğu	Referanslar
Bfr-F Bfr-R	GRUP-I CTGAACCAGCCAAGTAGCG CCGCAAACCTTTCACAACTGACTTA	230bp	104
G23S-1 BFR-G2	GRUP-II CATTTTGCCGAGTTCCTT ATCAGGTTCGACTCTTGCT	450bp	104
G23S-1 BFR-G3	GRUP-III CATTTTGCCGAGTTCCTT CCGTCAGCTGGCAGGA	400bp	104

DNA ekstraksiyonu cam boncukla parçalama (Mickle) yöntemi kullanılarak aşağıdaki basamaklara göre gerçekleştirildi.

1. -20°C’de bekletilen örnekler oda ısısında çözüldü ve 1 dakika vortekslendi.
2. Oluşturulan süspansiyondan 500 µl alınarak 1,5 ml’lik ependorfa alındı ve üzerine eşit hacimde serum fizyolojik eklendi.
3. Vortekslendikten sonra 4°C’de 5000 × g’de 10 dakika santrifüjlendi ve süpernatant atıldı.
4. Yıkama amacı ile pellet üzerine 500 µl TE (Tris-EDTA) tamponu eklendi ve vortekslendi. 10.000 × g’de soğutmalı santrifüjde (4°C’de) 10 dakika santrifüjlendi.
5. Supernatant atıldı ve 500 µl TE (Tris-EDTA) tamponu eklenerek vortekslendi.
6. 10.000 × g’de soğutmalı santrifüjde (4°C’de) 5 dakika santrifüjlendi.
7. Supernatant atıldı ve 500 µl TE (Tris-EDTA) tamponu eklenerek vortekslendi.
8. 100°C’de ısı bloğunda 10 dakika kaynatıldı.
9. Kaynatılan örnekler üzerine 150 µl cam boncuk eklenerek 7 dakika mickle cihazında maksimum hızda titreşim ile lizise uğratıldı.

10. Lizat $12.500 \times g$ 'de soğutmalı santrifüjde ($4^{\circ}C$ 'de) 10 dakika santrifüjlendi.
11. Supernatanttan 200 μl alınarak $-20^{\circ}C$ 'de kullanılıncaya kadar saklandı.

3.3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR reaksiyonları 50 μl 'lik reaksiyon karışımı içerisinde gerçekleştirildi.

PCR Reaksiyon Karışımı:

- ✓ 25 μl 2x PCR master mix (Thermo scientific)
- ✓ 14 μl Distile su
- ✓ 0,5 μl R primer (100pmol/ μl)
- ✓ 0,5 μl F primer (100pmol/ μl) içerdi.
- ✓ 10 μl DNA

Amplifikasyonlar DNA termal döngü cihazında (Applied Biosystem Veriti Thermal Cycler, USA) gerçekleştirildi.

Multipleks PCR Reaksiyon Karışımı:

- ✓ 25 μl 2x PCR master mix (Thermo Scientific)
- ✓ 14 μl Distile su
- ✓ Her bir primerden 0,4 μl primer (100pmol/ μl)
- ✓ 2 μl DMSO
- ✓ 6,6 μl DNA

Amplifikasyonlar DNA termal döngü cihazında (Applied Biosystem Veriti Thermal Cycler, USA) gerçekleştirildi. (Şekil 3.19)



Şekil 3.19. Applied Biosystem Veriti Thermal Cycler cihazı

Tüm mikroorganizmalar için uygulanan amplifikasyon koşulları spesifikdir. (Tablo 3.11)

Tablo 3.11. Tüm Mikroorganizmalar İçin Uygulanan Amplifikasyon Koşulları

Mikroorganizmalar	Başlangıç denatürasyonu	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Döngü sayısı	Son uzama
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	95°C 2 dk.	94°C 1dk.	60°C 1dk.	72°C 2.5dk.	30	72°C 10dk.
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	94°C 5dk.	94°C 30sn.	60°C 1dk.	72°C 2dk.	36	72°C 5dk.
<i>Prevotella intermedia</i>	94°C 30sn.	95°C 30sn.	60°C 1dk.	72°C 2dk.	36	72°C 5dk.
<i>Tannerella forsythia</i>	95°C 2dk.	94°C 30sn.	55°C 30sn.	72°C 1dk.	30	72°C 7dk.
<i>Universal 16s rDNA</i>	95°C 2dk.	95°C 30sn.	60°C 1dk.	72°C 1dk.	36	72°C 2dk.
<i>Bacteriodes (Multipleks)</i>	95°C 2dk.	95°C 20sn.	52°C 1dk.	72°C 30sn.	35	72°C 5dk.

PCR ile elde edilen amplikonlar 100 bp'lik DNA markeri ile birlikte % 5 ethidium bromid içeren % 2'lik agaroz jelde ve multipleks PCR amplikonları ise % 3'lük agaroz

jelde elektroforeze tabi tutuldu. Ethidium bromid ile boyanan ampliconlar UV altında incelendi. Bant büyüklükleri marker ile kıyaslanarak belirlendi.

3.3.3.3. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme İçin Kullanılan Tamponlar

3.3.3.3.1. 10 x Tris-Borat (TBE) Stok Tamponunun Hazırlanması

10 × TBE stok solüsyonu 1 × TBE solüsyonuna çevrilerek, hem agarozun hazırlanmasında hem de tankta tampon solüsyon olarak kullanıldı.

Tablo 3.12. 10 x Tris-Borat (TBE) Stok Tamponunun Hazırlanması İçin Gerekli Malzemeler

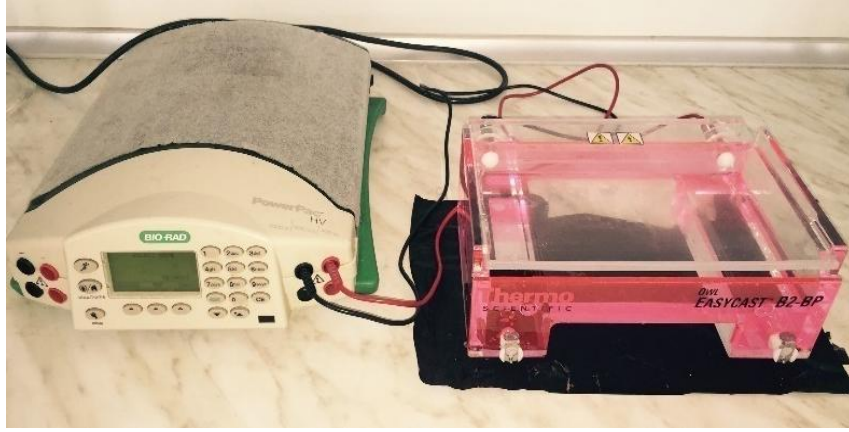
Tris-Base	107,8 gr
Borik asit	55,0 gr
EDTA	7,44 gr
Distile su	1000 ml

Tris, EDTA ve borik asit balon içerisine konulduktan sonra üzeri 1000ml distile su ile tamamlanıp eritilerek homojen hale getirildi ve 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl kullanılarak pH 8,3'e ayarlandı.

3.3.3.3.2. Uygulama

1. Elektroforez için % 2'lik jel yapımı için 2 gr agaroz (Certified PCR Agarose, Bio-Rad) 100 ml 1 x TBE tamponu ilave edilerek mikrodalga fırında eritildi.

2. 60°C civarına soğutularak içerisine 10 mg/ml'lik stok ethidium bromide solüsyonundan 5 µl eklendi ve tarakları uygun olarak yerleştirilmiş jel kalıbına dökülerek oda sıcaklığında 20-30 dakika soğuyarak katılaşmaya bırakıldı. Yeterli katılığa ulaşan jel kalıbı elektroforez tankına (OWL Easycast B2-BP Gel Electrophoresis System, Thermo scientific, USA) yerleştirildikten sonra, taraklar jele zarar vermeden yavaşça çıkarıldı. (Şekil 3.20)



Şekil 3.20. OWL Separation Systems Model Elektroforez tankı

3. Amplikonlardan 10'ar μ l alınarak, kağıt parafilm üzerinde 2 μ l yükleme tamponu ile karıştırılarak yükleme kuyularına pozitif ve negatif kontrol ve DNA ladder ile yüklendi. Tankın güç kaynağı (BIO-RAD, PowerPac HV, USA) 80 mA – 120 V akıma ayarlandı ve jel görüntüleme cihazı (DNR Bio-Imaging Systems Visible & Ultraviolet Transilluminator, MiniBIS Bio-Imaging System, USA) ile görüntülenerek incelendi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Aynı bireyden iki ayrı operasyonda alınan ve ikiye bölünerek kontrol ve ozon gruplarına ayrılan kemik örneklerinin ekiminden elde edilen total bakteriyel yükün $\log_{10}$ dönüşümü sonrası karşılaştırılmasında Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. Mikroorganizma üreme oranlarının gruplar arası ve grup içi karşılaştırılmasında MC-Nemar testi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 30 hasta üzerinde farklı zamanlarda gerçekleştirilen çift taraflı gömülü diş operasyonu sonrasında hiçbir hastada operasyon sonrası enfeksiyon gözlenmedi. Operasyon sırasında kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı kullanılarak toplanan ve gruplara bölünen kemik greftlerinin ağırlığı Tablo 4.1’de gösterilmektedir. Kemik toplayıcı ile bir kerede en fazla 749,2 mg (Hasta No: 8) örnek alınabilirken, kemik kazıyıcı ile bir kerede en fazla miktarda alınan örneğin 1094,3 mg (Hasta No: 6) olduğu belirlendi. (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Kemik Toplayıcı ve Kemik Kazıyıcı ile Alınan Kemik Greftlerinin mg Cinsinden Miktarı

Hasta No	I. örnek	II.örnek	III.örnek	IV.örnek	Ortalama
	KK (Kontrol)	KK (Ozon)	KT (Kontrol)	KT (Ozon)	
1	76,6 mg	91,6 mg	40,5 mg	75,1 mg	70,95
2	71,8 mg	50,6 mg	126,8 mg	184,9 mg	108,525
3	101,9 mg	63,4 mg	24,5 mg	127,8 mg	79,4
4	90,1 mg	101,2 mg	305 mg	134,4 mg	157,675
5	74,4 mg	83,8 mg	134,4 mg	120,8 mg	103,35
6	29,7 mg	1064,6 mg	174,8 mg	307,1 mg	394,05
7	68,4 mg	73,8 mg	109,5 mg	68,1 mg	79,95
8	53,6 mg	41 mg	241 mg	508,2 mg	210,95
9	29,3 mg	28,3 mg	44,1 mg	51,7 mg	38,35
10	11 mg	33,6 mg	93,2 mg	80,8 mg	54,65
11	21,7 mg	52,2 mg	70,3 mg	82,2 mg	56,6
12	38,7 mg	31,2 mg	193,3 mg	150,5 mg	103,425
13	45,2 mg	99 mg	3,2 mg	61 mg	52,1
14	33,4 mg	60,3 mg	57,7 mg	15,2 mg	41,65
15	55,4 mg	67,8 mg	27,3 mg	30 mg	45,125
16	3,4 mg	4,5 mg	261,5 mg	428,9 mg	174,575
17	43,4 mg	74,9 mg	190,6 mg	190,1 mg	124,75
18	44,3 mg	11,92 mg	4,6 mg	21 mg	20,455
19	3,1 mg	80,1 mg	240,4 mg	258,2 mg	145,45
20	62,2 mg	101 mg	25,5 mg	14,7 mg	50,85
21	59,1 mg	36,7 mg	173,9 mg	198,5 mg	117,05
22	37,5 mg	9,4 mg	99,1 mg	89,6 mg	58,9
23	62 mg	81,6 mg	140,5 mg	200 mg	121,025
24	16,95 mg	5,71 mg	52,3 mg	80,6 mg	38,89
25	66 mg	76,7 mg	88 mg	4,3 mg	58,75
26	70,3 mg	80,3 mg	101,6 mg	79,7 mg	82,975
27	51,9 mg	58,3 mg	42,6 mg	40,3 mg	48,25
28	42,6 mg	78,7 mg	140,1 mg	125,2 mg	96,65
29	34,1 mg	28,1 mg	33,8 mg	39,6 mg	33,9
30	77,5 mg	76 mg	39mg	10,2mg	50,675

Ağırlıkları mg olarak hesaplanan örneklerin buyyon içerisinde Log_{10} tabanına göre yapılan sulandırılmalarından elde edilen ekimler orijinal örnek ekimleri olarak kabul edildi. Bu orijinal örnek ekimlerinden 3 besiyerinde sayılabilir ve standart sapmanın içinde kalan üremeler, plaklar arasında üreme farkı ± 5 olanlar, ortalama cfu/ağırlık olarak hesaplandı. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Alınan Örneklerin cfu/ağırlık Cinsinden Değerleri

Hasta No	Grup	Kemik Toplayıcı (cfu/ağırlık)	Kemik Kazıyıcı (cfu/ağırlık)
1	Kontrol	$3,8 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$
	Ozon	$3,5 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$
2	Kontrol	$4,2 \times 10^5$	$3,6 \times 10^4$
	Ozon	$2,8 \times 10^2$	$3,2 \times 10^3$
3	Kontrol	$5,2 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$
	Ozon	$5,1 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$
4	Kontrol	$3,6 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$
	Ozon	$3,5 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$
5	Kontrol	$4,4 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$
	Ozon	$3,1 \times 10^3$	$3,6 \times 10^5$
6	Kontrol	$2,8 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
	Ozon	$1,8 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$
7	Kontrol	$5,2 \times 10^6$	$4,6 \times 10^6$
	Ozon	$5,0 \times 10^6$	$4,2 \times 10^5$
8	Kontrol	$5,4 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$
	Ozon	$3,8 \times 10^3$	$2,8 \times 10^2$
9	Kontrol	$5,0 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$
	Ozon	$3,6 \times 10^3$	$1,8 \times 10^5$
10	Kontrol	$4,6 \times 10^6$	$2,3 \times 10^5$
	Ozon	$3,8 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$
11	Kontrol	$3,8 \times 10^4$	$3,2 \times 10^6$
	Ozon	$2,6 \times 10^1$	$2,2 \times 10^3$
12	Kontrol	$4,4 \times 10^6$	$4,1 \times 10^6$
	Ozon	$2,9 \times 10^3$	$2,8 \times 10^3$
13	Kontrol	$2,8 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
	Ozon	$1,8 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$
14	Kontrol	$3,6 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$
	Ozon	$2,2 \times 10^3$	$2,0 \times 10^6$
15	Kontrol	$5,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$
	Ozon	$3,8 \times 10^3$	$3,4 \times 10^3$
16	Kontrol	$5,2 \times 10^6$	$2,6 \times 10^5$
	Ozon	$4,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^2$
17	Kontrol	$4,2 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$
	Ozon	$3,7 \times 10^5$	$2,9 \times 10^5$
18	Kontrol	$2,4 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
	Ozon	$2,2 \times 10^5$	$1,8 \times 10^3$
19	Kontrol	$5,2 \times 10^6$	$4,6 \times 10^6$
	Ozon	$3,6 \times 10^6$	$3,8 \times 10^3$
20	Kontrol	$2,8 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
	Ozon	$2,1 \times 10^6$	$2,5 \times 10^3$
21	Kontrol	$4,0 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$
	Ozon	$3,2 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$
22	Kontrol	$4,8 \times 10^6$	$4,6 \times 10^6$
	Ozon	$3,8 \times 10^4$	$4,2 \times 10^4$
23	Kontrol	$3,8 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$
	Ozon	$3,6 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
24	Kontrol	$5,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$
	Ozon	$5,0 \times 10^5$	$4,8 \times 10^5$
25	Kontrol	$3,4 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
	Ozon	$2,2 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$
26	Kontrol	$2,6 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$
	Ozon	$1,6 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
27	Kontrol	$5,0 \times 10^4$	$4,2 \times 10^6$
	Ozon	$3,8 \times 10^3$	$2,8 \times 10^4$
28	Kontrol	$3,4 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$
	Ozon	$3,0 \times 10^5$	$2,6 \times 10^4$
29	Kontrol	$4,6 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$
	Ozon	$3,8 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
30	Kontrol	$4,6 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$
	Ozon	$3,0 \times 10^4$	$2,6 \times 10^5$

Daha sonra değerlendirmeye esas olmak üzere dilüent içerisindeki ağırlığı tespit edilen örnek miktarından gram örnekteki muhtemel bakteri miktarı tespit edildi ve sonuçlar cfu/gr olarak değerlendirildi. (Tablo 4.3 ve 4.4)

Tablo 4.3. Kemik Kazıyıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri

Örnek no	Kemik Kazıyıcı Kontrol			Kemik Kazıyıcı Ozon		
	cfu/ağırlık	Mg	cfu/gr	cfu/ağırlık	Mg	cfu/gr
1	$3,8 \times 10^6$	76,6 mg	$4,96 \times 10^7$	$3,1 \times 10^5$	91,6 mg	$3,38 \times 10^7$
2	$3,6 \times 10^4$	71,8 mg	$5,01 \times 10^6$	$3,2 \times 10^3$	50,6 mg	$6,32 \times 10^4$
3	$5,0 \times 10^5$	101,9 mg	$4,9 \times 10^6$	$4,8 \times 10^4$	63,4 mg	$7,59 \times 10^5$
4	$3,4 \times 10^6$	90,1 mg	$3,8 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	101,2 mg	$3,16 \times 10^6$
5	$3,8 \times 10^6$	74,4 mg	$5,11 \times 10^7$	$3,6 \times 10^5$	83,8 mg	$4,3 \times 10^6$
6	$2,6 \times 10^6$	29,7 mg	$8,75 \times 10^6$	$1,8 \times 10^4$	1064,6 mg	$1,69 \times 10^4$
7	$4,6 \times 10^6$	68,4 mg	$6,7 \times 10^7$	$4,2 \times 10^5$	73,8 mg	$5,69 \times 10^6$
8	$3,8 \times 10^5$	53,6 mg	$7,09 \times 10^5$	$2,8 \times 10^2$	41 mg	$0,68 \times 10^1$
9	$4,3 \times 10^6$	29,3 mg	$1,47 \times 10^8$	$1,8 \times 10^5$	28,343 mg	$6,35 \times 10^6$
10	$2,3 \times 10^5$	11 mg	$3,56 \times 10^7$	$2,0 \times 10^2$	33,6 mg	$5,95 \times 10^3$
11	$3,2 \times 10^6$	21,7 mg	$1,48 \times 10^8$	$2,2 \times 10^3$	52,2 mg	$4,21 \times 10^4$
12	$4,1 \times 10^6$	38,7 mg	$0,92 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	31,2 mg	$8,97 \times 10^4$
13	$2,6 \times 10^6$	45,2 mg	$5,75 \times 10^7$	$1,1 \times 10^4$	99 mg	$1,11 \times 10^5$
14	$2,2 \times 10^6$	33,4 mg	$6,59 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$	60,3 mg	$3,32 \times 10^7$
15	$5,0 \times 10^6$	55,4 mg	$9,03 \times 10^7$	$3,4 \times 10^3$	67,8 mg	$5,01 \times 10^4$
16	$2,6 \times 10^5$	3,4 mg	$7,65 \times 10^7$	$2,4 \times 10^2$	4,5 m g	$5,33 \times 10^4$
17	$4,0 \times 10^6$	43,4 mg	$9,22 \times 10^7$	$2,9 \times 10^5$	74,9 mg	$3,87 \times 10^6$
18	$3,2 \times 10^6$	44,3 mg	$7,22 \times 10^7$	$1,8 \times 10^3$	11,92 mg	$1,51 \times 10^5$
19	$4,6 \times 10^6$	3,1 mg	$1,48 \times 10^9$	$3,8 \times 10^3$	80,1 mg	$4,74 \times 10^4$
20	$2,6 \times 10^6$	62,2 mg	$4,18 \times 10^7$	$2,5 \times 10^3$	101 mg	$2,48 \times 10^4$
21	$3,8 \times 10^6$	59,1 mg	$6,43 \times 10^7$	$3,0 \times 10^4$	36,7 mg	$8,17 \times 10^5$
22	$4,6 \times 10^6$	37,5 mg	$1,23 \times 10^8$	$4,2 \times 10^4$	9,4 mg	$4,47 \times 10^6$
23	$3,4 \times 10^6$	62 mg	$5,48 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$	81,6 mg	$3,92 \times 10^7$
24	$5,0 \times 10^6$	16,95 mg	$2,95 \times 10^8$	$4,8 \times 10^5$	5,71 mg	$8,41 \times 10^7$
25	$3,0 \times 10^5$	66 mg	$4,55 \times 10^7$	$2,8 \times 10^4$	76,7 mg	$3,65 \times 10^5$
26	$2,2 \times 10^5$	70,3 mg	$3,13 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$	80,3 mg	$1,25 \times 10^6$
27	$4,2 \times 10^6$	51,9 mg	$8,09 \times 10^7$	$2,8 \times 10^4$	58,3 mg	$4,80 \times 10^5$
28	$3,0 \times 10^6$	42,6 mg	$7,04 \times 10^7$	$2,6 \times 10^4$	78,7 mg	$3,30 \times 10^5$
29	$3,8 \times 10^6$	34,1 mg	$1,11 \times 10^8$	$3,0 \times 10^5$	28,1 mg	$1,07 \times 10^7$
30	$3,2 \times 10^6$	77,5 mg	$4,12 \times 10^7$	$2,6 \times 10^5$	76 mg	$3,42 \times 10^6$

Elde edilen aerob bakteri yükü ve ozon ile muamelenin bakteriyel yük azalmasına etkisinin cfu/ağırlık cinsinden cfu/gr cinsine dönüştürülerek hesaplanması sonucunda kemik kazıyıcı ile alınan örneklerdeki en yoğun bakteri konsantrasyonunun 19 nolu örnekte $1,48 \times 10^9$ cfu/gr olduğu ve ozon ile muamele sonucunda bu miktarın $4,74 \times 10^4$ cfu/gr'a düştüğü görüldü. (Tablo 4.3)

Tablo 4.4. Kemik Toplayıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri

Örnek no	Kemik Toplayıcı Kontrol			Kemik Toplayıcı Ozon		
	cfu/ağırlık	Mg	cfu/gr	cfu/ağırlık	Mg	cfu/gr
1	$3,8 \times 10^6$	40,5 mg	$9,38 \times 10^7$	$3,5 \times 10^5$	75,1 mg	$4,66 \times 10^6$
2	$4,2 \times 10^5$	126,8 mg	$3,31 \times 10^6$	$2,8 \times 10^2$	184,9 mg	$1,51 \times 10^3$
3	$5,2 \times 10^5$	24,5 mg	$2,12 \times 10^7$	$5,1 \times 10^5$	127,8 mg	$3,99 \times 10^6$
4	$3,6 \times 10^6$	305 mg	$1,18 \times 10^7$	$3,5 \times 10^5$	134,4 mg	$2,60 \times 10^6$
5	$4,4 \times 10^6$	134,4 mg	$3,27 \times 10^7$	$3,1 \times 10^3$	120,8 mg	$2,57 \times 10^4$
6	$2,8 \times 10^6$	174,8 mg	$1,60 \times 10^7$	$1,8 \times 10^4$	307,1 mg	$5,86 \times 10^4$
7	$5,2 \times 10^6$	109,5 mg	$4,75 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	68,1 mg	$7,34 \times 10^7$
8	$5,4 \times 10^6$	241 mg	$2,24 \times 10^7$	$3,8 \times 10^3$	508,2 mg	$7,48 \times 10^3$
9	$5,0 \times 10^6$	44,1 mg	$1,13 \times 10^8$	$3,6 \times 10^3$	51,7 mg	$6,96 \times 10^4$
10	$4,6 \times 10^6$	93,2 mg	$4,94 \times 10^7$	$3,8 \times 10^3$	80,8 mg	$4,70 \times 10^4$
11	$3,8 \times 10^4$	70,3 mg	$5,41 \times 10^5$	$2,6 \times 10^1$	82,2 mg	$3,53 \times 10^2$
12	$4,4 \times 10^6$	193,3 mg	$2,28 \times 10^7$	$2,9 \times 10^3$	150,5 mg	$1,93 \times 10^4$
13	$2,8 \times 10^6$	3,2 mg	$8,75 \times 10^8$	$1,8 \times 10^4$	61 mg	$2,95 \times 10^5$
14	$3,6 \times 10^6$	57,7 mg	$6,24 \times 10^7$	$2,2 \times 10^3$	15,2 mg	$1,45 \times 10^5$
15	$5,0 \times 10^6$	27,3 mg	$1,83 \times 10^8$	$3,8 \times 10^3$	30 mg	$1,27 \times 10^5$
16	$5,2 \times 10^6$	261,5 mg	$1,99 \times 10^7$	$4,4 \times 10^3$	428,9 mg	$1,03 \times 10^4$
17	$4,2 \times 10^6$	190,6 mg	$2,20 \times 10^7$	$3,7 \times 10^5$	190,1 mg	$1,95 \times 10^6$
18	$2,4 \times 10^6$	4,6 mg	$5,22 \times 10^7$	$2,2 \times 10^5$	21 mg	$1,05 \times 10^7$
19	$5,2 \times 10^6$	240,4 mg	$2,16 \times 10^7$	$3,6 \times 10^6$	258,2 mg	$1,39 \times 10^7$
20	$2,8 \times 10^6$	25,5 mg	$1,1 \times 10^8$	$2,1 \times 10^6$	14,7 mg	$1,43 \times 10^8$
21	$4,0 \times 10^6$	173,9 mg	$2,3 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	198,5 mg	$1,61 \times 10^6$
22	$4,8 \times 10^6$	99,1 mg	$4,84 \times 10^7$	$3,8 \times 10^4$	89,6 mg	$4,24 \times 10^5$
23	$3,8 \times 10^6$	140,5 mg	$2,71 \times 10^7$	$3,6 \times 10^6$	200 mg	$1,8 \times 10^7$
24	$5,2 \times 10^6$	52,3 mg	$9,94 \times 10^7$	$5,0 \times 10^5$	80,6 mg	$6,20 \times 10^6$
25	$3,4 \times 10^5$	88 mg	$3,86 \times 10^6$	$2,2 \times 10^4$	4,3 mg	$5,12 \times 10^6$
26	$2,6 \times 10^5$	101,6 mg	$2,56 \times 10^6$	$1,6 \times 10^5$	79,7 mg	$2,01 \times 10^6$
27	$5,0 \times 10^4$	42,6 mg	$1,17 \times 10^6$	$3,8 \times 10^3$	40,3 mg	$9,43 \times 10^4$
28	$3,4 \times 10^6$	140,1 mg	$2,43 \times 10^7$	$3,0 \times 10^5$	125,2 mg	$2,4 \times 10^6$
29	$4,6 \times 10^6$	33,8 mg	$1,36 \times 10^8$	$3,8 \times 10^5$	39,6 mg	$9,6 \times 10^6$
30	$4,6 \times 10^6$	39mg	$1,18 \times 10^8$	$3,0 \times 10^4$	10,2mg	$2,94 \times 10^5$

Kemik toplayıcı ile alınan kemik greft örneklerinden izole edilen bakteri yükünün cfu/gr olarak kantitasyonu sonucunda en yoğun bakteri konsantrasyonunun 13 nolu örnekte $8,75 \times 10^8$ cfu/gr olduğu ozon ile yapılan işlem sonucu konsantrasyonun $2,95 \times 10^5$ 'e düştüğü tespit edildi. (Tablo 4.4)

Her iki yöntem ile alınan örneklerin cfu/gr cinsinden ortalama bakteri yükleri Tablo 4.5'de belirtildi.

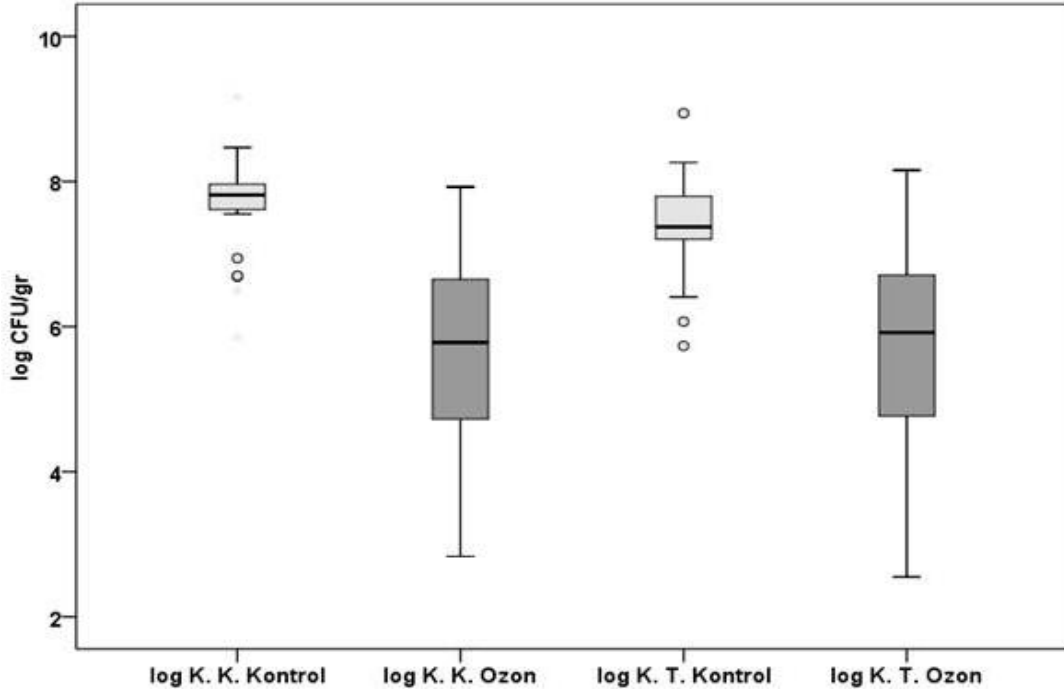
Tablo 4.5. Kemik Kazıyıcı ve Kemik Toplayıcı ile Alınan Örneklerin cfu/gr Cinsinden Değerleri

Örnek No	Kemik Kazıyıcı Kontrol	Kemik Kazıyıcı Ozon	Kemik Toplayıcı Kontrol	Kemik Toplayıcı Ozon
	cfu/gr	cfu/gr	cfu/gr	cfu/gr
1	$4,96 \times 10^7$	$3,38 \times 10^7$	$9,38 \times 10^7$	$4,66 \times 10^6$
2	$5,01 \times 10^6$	$6,32 \times 10^4$	$3,31 \times 10^6$	$1,51 \times 10^3$
3	$4,90 \times 10^6$	$7,59 \times 10^5$	$2,12 \times 10^7$	$3,99 \times 10^6$
4	$3,80 \times 10^7$	$3,16 \times 10^6$	$1,18 \times 10^7$	$2,60 \times 10^6$
5	$5,11 \times 10^7$	$4,30 \times 10^6$	$3,27 \times 10^7$	$2,57 \times 10^4$
6	$8,75 \times 10^6$	$1,69 \times 10^4$	$1,60 \times 10^7$	$5,86 \times 10^4$
7	$6,70 \times 10^7$	$5,69 \times 10^6$	$4,75 \times 10^7$	$7,34 \times 10^7$
8	$7,09 \times 10^5$	$0,68 \times 10^1$	$2,24 \times 10^7$	$7,48 \times 10^3$
9	$1,47 \times 10^8$	$6,35 \times 10^6$	$1,13 \times 10^8$	$6,96 \times 10^4$
10	$3,56 \times 10^7$	$5,95 \times 10^3$	$4,94 \times 10^7$	$4,70 \times 10^4$
11	$1,48 \times 10^8$	$4,21 \times 10^4$	$5,41 \times 10^5$	$3,53 \times 10^2$
12	$0,92 \times 10^6$	$8,97 \times 10^4$	$2,28 \times 10^7$	$1,93 \times 10^4$
13	$5,75 \times 10^7$	$1,11 \times 10^5$	$8,75 \times 10^8$	$2,95 \times 10^5$
14	$6,59 \times 10^7$	$3,32 \times 10^7$	$6,24 \times 10^7$	$1,45 \times 10^5$
15	$9,03 \times 10^7$	$5,01 \times 10^4$	$1,83 \times 10^8$	$1,27 \times 10^5$
16	$7,65 \times 10^7$	$5,33 \times 10^4$	$1,99 \times 10^7$	$1,03 \times 10^4$
17	$9,22 \times 10^7$	$3,87 \times 10^6$	$2,20 \times 10^7$	$1,95 \times 10^6$
18	$7,22 \times 10^7$	$1,51 \times 10^5$	$5,22 \times 10^7$	$1,05 \times 10^7$
19	$1,48 \times 10^9$	$4,74 \times 10^4$	$2,16 \times 10^7$	$1,39 \times 10^7$
20	$4,18 \times 10^7$	$2,48 \times 10^4$	$1,10 \times 10^8$	$1,43 \times 10^8$
21	$6,43 \times 10^7$	$8,17 \times 10^5$	$2,30 \times 10^7$	$1,61 \times 10^6$
22	$1,23 \times 10^8$	$4,47 \times 10^6$	$4,84 \times 10^7$	$4,24 \times 10^5$
23	$5,48 \times 10^7$	$3,92 \times 10^7$	$2,71 \times 10^7$	$1,80 \times 10^7$
24	$2,95 \times 10^8$	$8,41 \times 10^7$	$9,94 \times 10^7$	$6,20 \times 10^6$
25	$4,55 \times 10^7$	$3,65 \times 10^5$	$3,86 \times 10^6$	$5,12 \times 10^6$
26	$3,13 \times 10^6$	$1,25 \times 10^6$	$2,56 \times 10^6$	$2,01 \times 10^6$
27	$8,09 \times 10^7$	$4,80 \times 10^5$	$1,17 \times 10^6$	$9,43 \times 10^4$
28	$7,04 \times 10^7$	$3,30 \times 10^5$	$2,43 \times 10^7$	$2,40 \times 10^6$
29	$1,11 \times 10^8$	$1,07 \times 10^7$	$1,36 \times 10^8$	$9,60 \times 10^6$
30	$4,12 \times 10^7$	$3,42 \times 10^6$	$1,18 \times 10^8$	$2,94 \times 10^5$

Çalışmada değerlendirilen örneklerdeki bakteriyel yük örnek alınan kişilerin ağız hijyenine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu sebeple alınan örnek miktarı aynı olmasa bile gram cinsinden hesabı ve kıyası mümkün olabilmektedir. Buna karşılık örnekteki bakteri yoğunluğu ile bu yoğunluklara göre ozonun eşit miktarlarda örnek üzerine gönderilmesi ve daha da önemlisi temas süresinin önceden kestirilmesi mümkün olamayacağı için kıyas, Log₁₀ tabanına göre yapılan sulandırımlar ile elde edilmiş kantitasyona dayatılmaktadır ve eksilmeler de yine Log₁₀ tabanına göre elde edilen eksilmeler olarak kantite edilebilmektedir. Aksi halde eşit şartlarda başlatılmamış bir yarışta sonucun tayini imkansız olacaktır. (Tablo 4.6 – Şekil 4.1)

Tablo 4.6. Total Bakteriyel Yükün Log₁₀ Tabanına Göre Karşılaştırılması

		Kontrol Grubu		Ozon Grubu		
	N	Ort±SS	Min-Maks	Ort±SS	Min-Maks	p
Log. K. Kazıyıcı	30	7,7±0,6	5,8-9,2	5,7±1,2	2,8-7,9	0,0001
Log. K. Toplayıcı	30	7,4±0,7	5,7-8,9	5,7±1,4	2,5-8,2	0,0001
P		0,050		0,777		



Şekil 4.1. Total bakteriyel yükün Log₁₀ tabanına göre karşılaştırılması

Her iki yöntemin kontrol grupları karşılaştırıldığında kemik toplayıcı yöntemiyle alınan kemik örneklerindeki total bakteriyel yük, kemik kazıyıcı yöntemiyle toplanan örneklerdeki total bakteriyel yüke göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az bulundu ($p=0,05$). Her iki yöntemin ozon grupları karşılaştırıldığında ise total bakteriyel yük açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,777$). Kemik kazıyıcı yöntemiyle kontrol grubunda toplanan kemik örneklerindeki ortalama total bakteriyel yük Log₁₀ tabanına göre $7,7\pm0,6$ iken ozon uygulanan grupta toplanan kemik örneklerindeki ortalama total bakteriyel yükün Log₁₀ tabanına göre $5,7\pm1,2$ olduğu saptandı. Bu fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p=0,0001$). Kemik toplayıcı yöntemiyle kontrol grubunda toplanan kemik örneklerindeki ortalama total bakteriyel yük Log₁₀ tabanına göre $7,4\pm0,7$ iken ozon uygulaması sonrası toplanan kemik örneklerindeki ortalama total bakteriyel yükün

Log₁₀ tabanına göre 5,7±1,4 olduğu saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu tespit edildi (p=0,0001).

Kemik greft örneği alınan ve çalışmaya dahil edilen deneklerin tamamında katalaz pozitif ve katalaz negatif gram (+) kokların kolonize olduğu tespit edildi ve Tablo 4.7’de sonuçlar gösterildi. Kemik kazıyıcı grubu değerlendirildiğinde katalaz pozitif, gram pozitif kokların kontrol grubunda 30 örnekte (%100), ozon grubunda ise 19 örnekte (%63,33) üreme gösterdiği belirlendi (p=0,0001). Kemik toplayıcı grubu değerlendirildiğinde ise katalaz pozitif, gram pozitif kokların kontrol grubunda 30 örnekte (%100), ozon grubunda ise 21 örnekte (%70) üreme gösterdiği belirlendi (p=0,001). Ozon gazı uygulanması ile katalaz pozitif, gram pozitif kok üreyen örnek sayısının her iki grupta da yüksek oranda düştüğü gözlemlendi. Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 29 örnekte (%96,66), ozon grubunda ise 11 örnekte (%36,66) katalaz negatif, gram pozitif kokların üreme gösterdiği belirlendi (p=0,0001). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 30 örnekte (%100), ozon grubunda ise 17 örnekte (%56,66) katalaz negatif, gram pozitif kokların üreme gösterdiği belirlendi (p=0,014). Ozon ile muameleden sonra kemik kazıyıcı ile alınan örneklerden 11’inde (%36.66) ve kemik toplayıcı ile alınan örneklerden 17’sinde (%56.66) katalaz negatif gram pozitif kokların persiste ettiği görüldü. Oksidaz (+), gram negatif diplokokların üremeleri değerlendirildiğinde kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 17 örnekte (%56,66), ozon grubunda ise 4 örnekte (%13,33) üreme belirlendi (p=0,001). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 19 örnekte (%63,3), ozon grubunda ise 7 örnekte (%23,33) oksidaz (+), gram negatif diplokok üremesi tespit edildi (p=0,004). Difteroidlerin kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 8 örnekte (%26,7), ozon grubunda 6 örnekte (%20) üreme belirlendi (p>0,05). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 13 örnekte (%13,3), ozon grubunda 3 örnekte (%10) difteroidlerin üremesi belirlendi (p=0,007). Oksidaz (+), gram negatif basillerin kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 1 örnekte (%3,33), ozon grubunda 0 örnekte (%0) üreme gösterdiği belirlendi. Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 4 örnekte (%13,3), ozon grubunda 2 örnekte (%6,66) oksidaz (+), gram negatif basillerin üreme gösterdiği tespit edildi (p=0,671). Oksidaz (-), gram negatif basillerin hiçbir örnekte üreme göstermediği tespit edildi. Maya türlerinin kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda ve ozon grubunda 5 örnekte (%16,6) üreme gösterdiği tespit edildi (p=1,000). Kemik

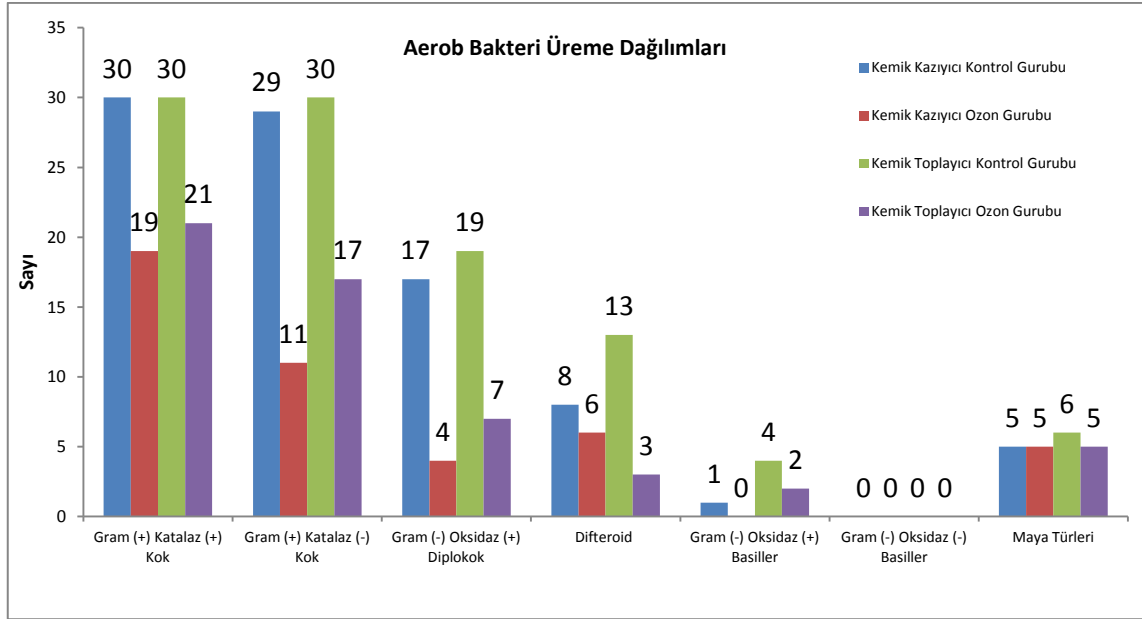
toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 6 örnekte (%20), ozon grubunda ise 5 örnekte (%16,66) maya türlerinin üreme gösterdiği belirlendi (p=1,000). Maya türü mantarların kemik toplayıcı yönteminde ürettiği 6 örnekte 5'inde (%16,66) üremenin devam ettiği, kemik kazıyıcı yönteminde ise üreme tespit edilen 5 örnekte 5'inde de (%16,6) üremenin devam ettiği yani mantar üreyen örnek sayısının değişmediği gözlemlendi. (Tablo 4.7, Şekil 4.2)

Kemik örneklerinden konvansiyonel kültür yöntemi ile izole edilen aerob bakterilerin fenotipik yöntemler ile yapılan tür tayinlerinde her iki grupta da örneklerin tamamında (%100) stafilokok ve mikrokokların yer aldığı micrococcacea ailesinden katalaz pozitif gram pozitif kokların ürettiği görüldü. Bu grup bakteriler içerisinde, farklı örneklerden, farklı staphylococcus türlerinin ürettiği görülmesine rağmen bütün örneklerde *Micrococcus luteus*'un üreyerek dikkat çektiği belirlendi. Yine her iki grupta gram pozitif katalaz pozitif kokları, enterekoklar ve farklı hemolitik aktivite gösteren streptokokların dahil olduğu streptococcacea ailesine ait gram pozitif katalaz negatif kokların izlediği buna karşılık en az sayıdaki örnekte de gram negatif çomakların ürettiği gözlemlendi. (Tablo 4.7, Şekil 4.2)

Tablo 4.7. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Aerob Bakteri Üreme Oranları ve Dağılımları

Mikroorganizmalar		Kemik Kazıyıcı					Kemik Toplayıcı				
		Kontrol Grubu		Ozon Grubu			Kontrol Grubu		Ozon Grubu		
		Sayı	%	Sayı	%	P	Sayı	%	Sayı	%	P
Gram(+) kok *	Katalaz (+)	30	100	19	63,33	0,0001	30	100	21	70	0,001
	Katalaz (-)	29	96,66	11	36,66	0,0001	30	100	17	56,66	0,014
Gram (-) diplokok	Oksidaz (+)	17	56,66	4	13,33	0,001	19	63,3	7	23,33	0,004
Difteroid		8	26,7	6	20	0,761	13	43,3	3	10,0	0,007
Gram (-) basiller	Oksidaz (+)	1	3,33	-	-	-	4	13,3	2	6,66	0,671
	Oksidaz (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maya türleri		5	16,6	5	16,6	1,000	6	20	5	16,66	1,000

**Micrococcus luteus* ekim yapılan tüm plaklarda üreme göstermiştir.



Şekil 4.2. Aerob bakteri üreme dağılımları

Güç üreyen enterokok ve oral streptokoklar için ekim yapılan Kanamisin Eskülin Azid agar besiyerinde tespit edilen üremeler ile normal kanlı besiyerinde sayım amaçlı ekim sonrası tespit edilen üremelerin benzer olduğu belirlendi. Oral streptokoklar ile birlikte üreyen enterokoklar incelendiğinde kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 20 örnekte (%66,7), ozon grubunda 12 örnekte (%40) *E. faecium* üremesi belirlendi ($p=0,618$). Kemik toplayıcı grubunda ise kontrol grubunda 21 örnekte (%70), ozon grubunda 8 örnekte (%26,66) *E. faecium* üremesi belirlendi ($p=0,002$). Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 5 örnekte (%16,6), ozon grubunda 2 örnekte (%6,6) *E. faecalis* üremesi belirlendi ($p=0,424$). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 7 örnekte (%23,3), ozon grubunda 3 örnekte (%10) *E. faecalis* üremesi belirlendi ($p=0,299$). Endo agar besiyerinde de oksidaz negatif gram negatif çomakların üremediği sadece sayım için ekim yapılan besiyerleri ile paralellik gösteren oksidaz pozitif gram negatif kolonilerin ürettiği ve fenotipik identifikasyonda bunların *Pseudomonas* cinsi bakteriler oldukları belirlendi. *Pseudomonas* cinsi bakterilerin kemik kazıyıcı grubunda yalnızca kontrol grubunda 1 örnekte (%3,33) üreme gösterdiği, ozon grubunda ise üreme göstermediği belirlendi ($p=1,000$). *Pseudomonas* cinsi bakterilerin kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 7 örnekte (%13,3), ozon grubunda ise 2 örnekte (%6,66) üreme gösterdiği belirlendi ($p=0,145$). (Tablo 4.8)

Tablo 4.8. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Enterokok ve Pseudomonas Üreme Oranları ve Dağılımları

Mikroorganizmalar		Kemik Kazıyıcı				P	Kemik Toplayıcı				P
		Kontrol Grubu		Ozon Grubu			Kontrol Grubu		Ozon Grubu		
		Sayı	%	Sayı	%		Sayı	%	Sayı	(%)	
Gram(+)	<i>E. faecium</i>	20	66,7	12	40	0,618	21	70	8	26,66	0,002
Katalaz (-)	<i>E. faecalis</i>	5	16,6	2	6,6	0,424	7	23,3	3	10	0,299
Gram (-) basiller Oksidaz (+)	<i>Pseudomonas</i>	1	3,33	-	-	1,000	7	13,3	2	6,66	0,145

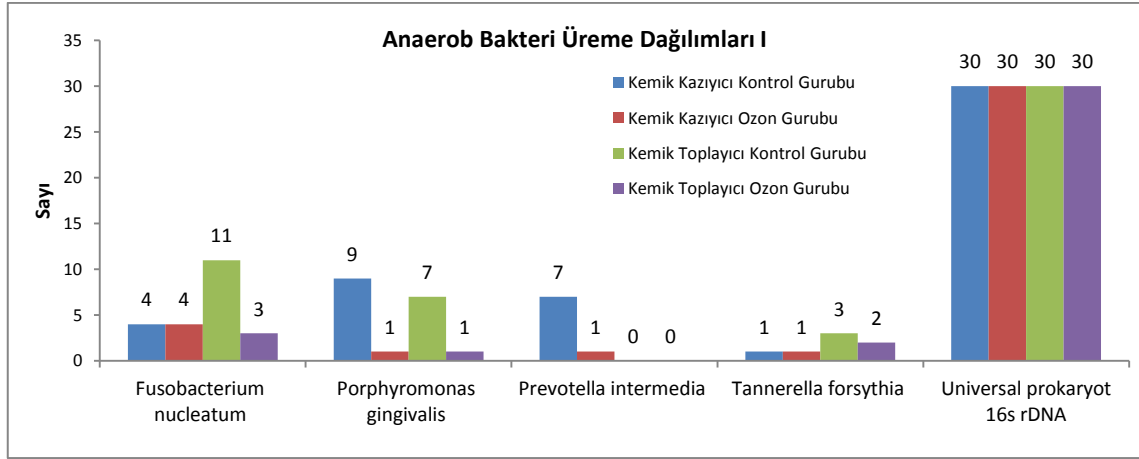
Aerob bakteri yükünün tespiti amacı ile santrüfuj ile çöktürölüp 10 ml Thioglikolat buyyon içinde yeniden süspanse edilen greft örneklerinin 1 ml'si bakteri sayımı için kullanıldıktan sonra kalan örnek derin dondurucuda -20°C'de saklandı. Örnek alım işlemleri tamamlandıktan sonra derin dondurucudan topluca çıkartılan buyyon içerisindeki örnekler oda ısısına getirildi. *F. nucleatum*, *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *T.forsythia* ve *Bacteriodes* cinsine tip ve grup spesifik primerlerin kullanıldığı in house-PCR yöntemi ile anaerob bakteri tespiti için kullanılmak üzere tekrar vortekslenildi ve 24.000 kHz'de sonike edildikten sonra 1 ml'si DNA ekstraksiyonu için alındı. DNA ekstraksiyonu cam boncukla parçalama (Mickle) yöntemi ile gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilen 120 örneğin tamamında prokaryotlar için spesifik olan 41 bp uzunluğundaki 16s rDNA fragmentinin amplifiye olduğu görüldü. Bu örneklerin 117'sinde (%97,5) kullandığımız primerler tarafından tanınan gen bölgelerinin olduğu tespit edildi. Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 4 örnekte (%13,3), ozon grubunda 4 örnekte (%13,3) *F. nucleatum* üremesi belirlendi (p=1,000). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda 11 örnekte (%36,66), ozon grubunda 3 örnekte (%10) *F. nucleatum* üremesi belirlendi (p=0,112). Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 9 örnekte (%30), ozon grubunda 1 örnekte (%3,33) *P. gingivalis* üremesi belirlendi (p=0,030). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grunda 7 örnekte (%23,3), ozon grubunda 1 örnekte (%3,33) *P. gingivalis* üremesi belirlendi (p=0,052). Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 7 örnekte (%23,3), ozon grubunda 1 örnekte

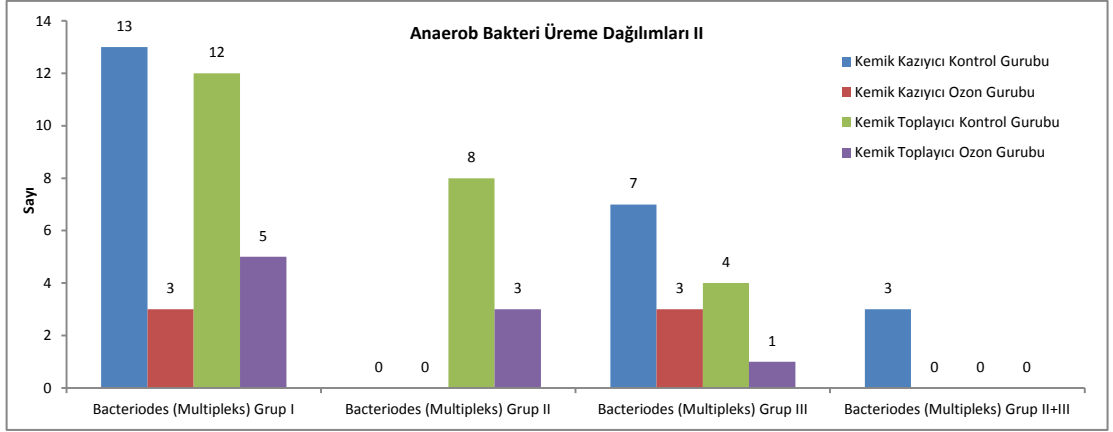
(%3,33) *P. intermedia* üremesi belirlendi ($p=0,052$). Kemik toplayıcı grubunun ise kontrol grubunda ve ozon grubunda hiçbir örnekte *P. intermedia* üremesi belirlenmedi. Kemik kazıyıcı grubunun kontrol grubunda 1 örnekte (%3,33), ozon grubunda 1 örnekte (%3,33) *T. forsythia* üremesi belirlendi ($p=1,000$). Kemik toplayıcı grubunun kontrol grubunda 3 örnekte (%10), ozon grubunda 2 örnekte (%6,66) *T. forsythia* üremesi belirlendi ($p=1,000$). Kemik kazıyıcının kontrol grubunda 13 örnekte (%43,3) *Bacteroides* Grup I, 0 örnekte (%0) *Bacteroides* Grup II, 7 örnekte (%23,3) *Bacteroides* Grup III, 3 örnekte (%10) *Bacteroides* GrupII+III üremesi belirlendi. Kemik kazıyıcının ozon grubunda 3 örnekte (%10) *Bacteroides* Grup I, 0 örnekte (%0) *Bacteroides* Grup II, 3 örnekte (%10) *Bacteroides* Grup III, 0 örnekte (%0) *Bacteroides* GrupII+III üremesi belirlendi. Ozon gazının kemik kazıyıcı yönteminde *Bacteroides* grupları arasında yalnızca *Bacteroides* Grup I için istatistiksel olarak anlamlı düzeyde üremeyi azalttığı belirlendi ($p=0,007$). Kemik toplayıcının kontrol grubunda 12 örnekte (%40) *Bacteroides* Grup I, 8 örnekte (%26,66) *Bacteroides* Grup II, 4 örnekte (%13,33) *Bacteroides* Grup III, 0 örnekte (%0) *Bacteroides* GrupII+III üremesi belirlendi. Kemik toplayıcının ozon grubunda 5 örnekte (%16,66) *Bacteroides* Grup I, 3 örnekte (%10) *Bacteroides* Grup II, 1 örnekte (%3,33) *Bacteroides* Grup III, 0 örnekte (%0) *Bacteroides* GrupII+III üremesi belirlendi. Ozon gazının kemik toplayıcı yönteminde *Bacteroides* grupları arasında yalnızca *Bacteroides* Grup III için istatistiksel olarak anlamlı düzeyde üremeyi azalttığı belirlendi ($p=0,001$). (Tablo 4.9, Şekil 4.3-4.9)

Tablo 4.9. Her İki Yöntem ile Alınan Örneklerdeki Anaerob Bakteri Oranları ve Dağılımları

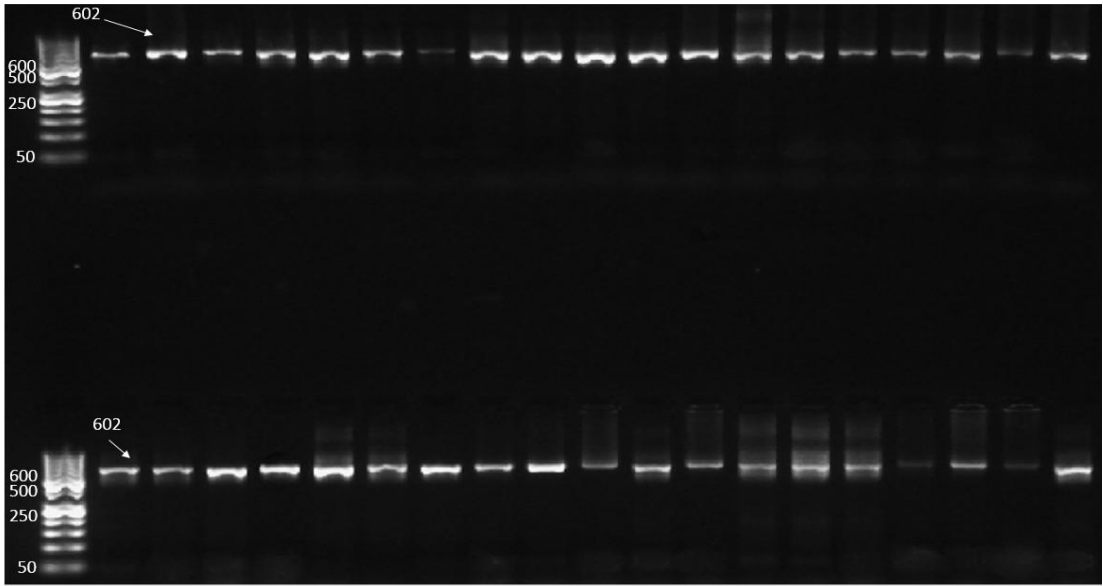
Mikroorganizmalar		Kemik Kazıyıcı					Kemik Toplayıcı					
		Kontrol Grubu		Ozon Grubu			P	Kontrol Grubu		Ozon Grubu		
		Sayı	%	Sayı	%			Sayı	%	Sayı		%
Fusobacterium nucleatum		4	13,3	4	13,3	1,000	11	36,66	3	10	0,112	
Porphyromonas gingivalis		9	30	1	3,33	0,030	7	23,3	1	3,33	0,052	
Prevotella intermedia		7	23,3	1	3,33	0,052	-	-	-	-	-	
Tannerella forsythia		1	3,33	1	3,33	1,000	3	10	2	6,66	1,000	
Universal prokaryot 16s rDNA		30	100	30	100	1,000	30	100	30	100	1,000	
Bacteriodes (Multipleks)	Grup I	13	43,3	3	10	0,007	12	40	5	16,66	0,084	
	Grup II	-	-	-	-	-	8	26,66	3	10	0,181	
	Grup III	7	23,3	3	10	0,299	4	13,33	1	3,33	0,001	
	Grup II+III	3	10	-	-	0,237	-	-	-	-	-	



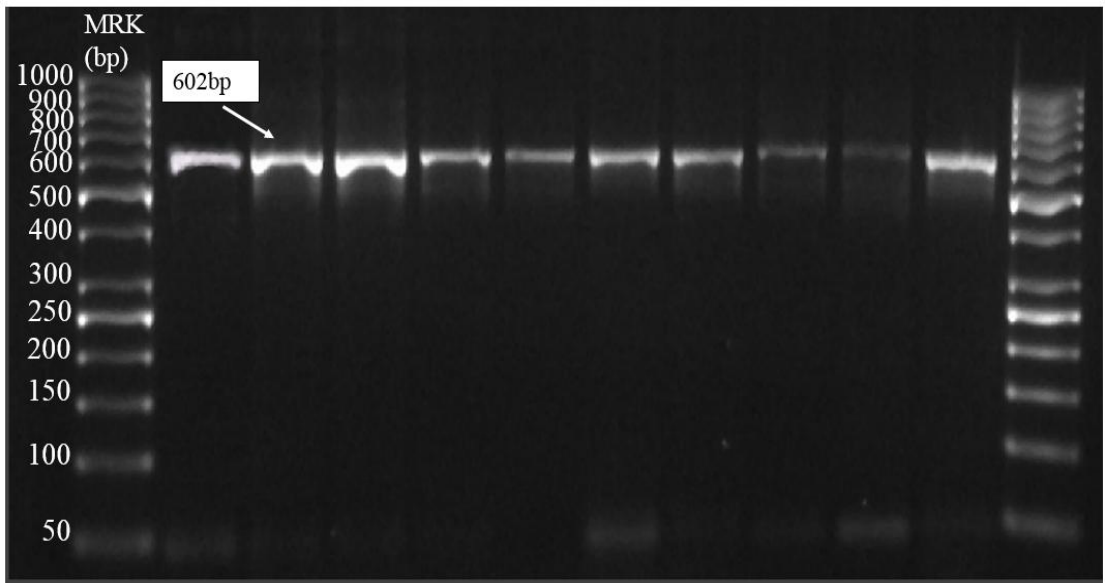
Şekil 4.3. Anaerob bakterilerin üreme dağılımları I



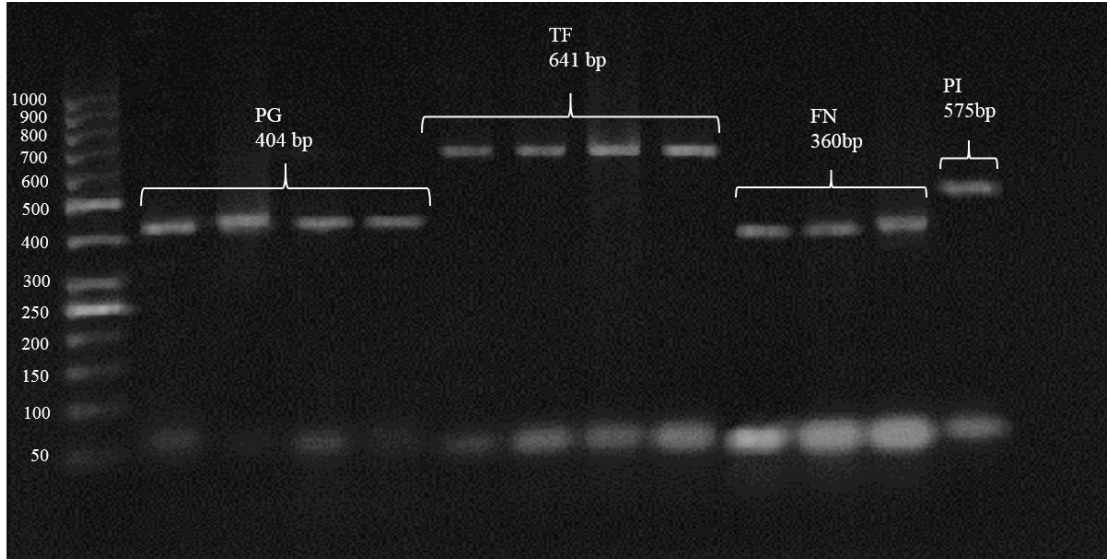
Şekil 4.4. Anaerob bakterilerin (*Bacteoides*) üreme dağılımları II



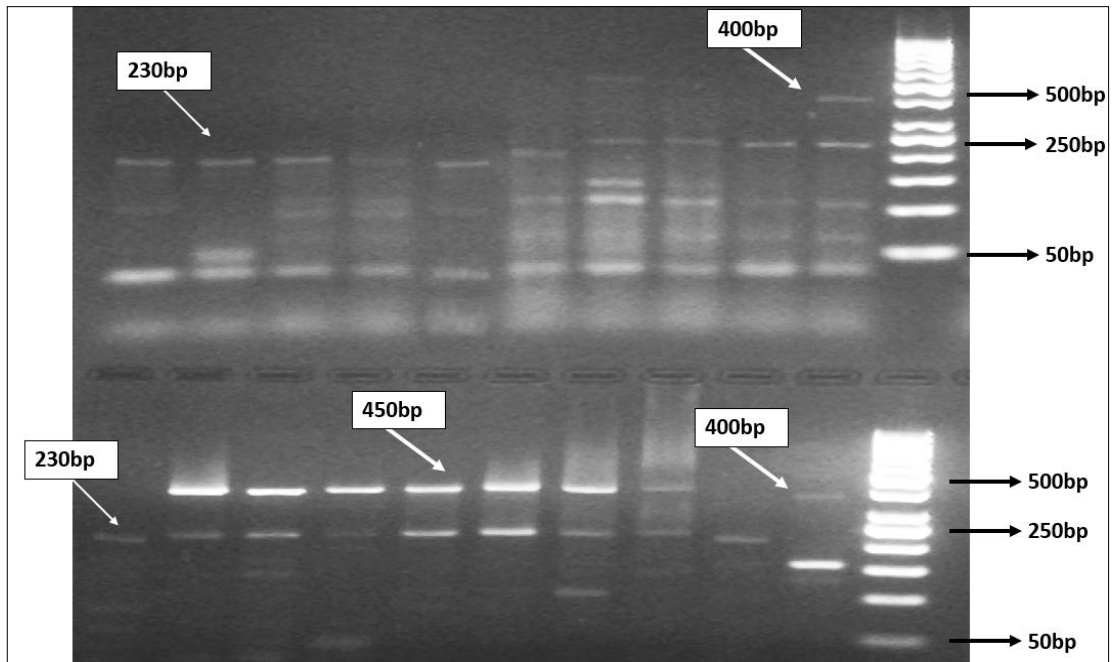
Şekil 4.5. 16s rDNA pozitifliğinin PCR görüntüsü



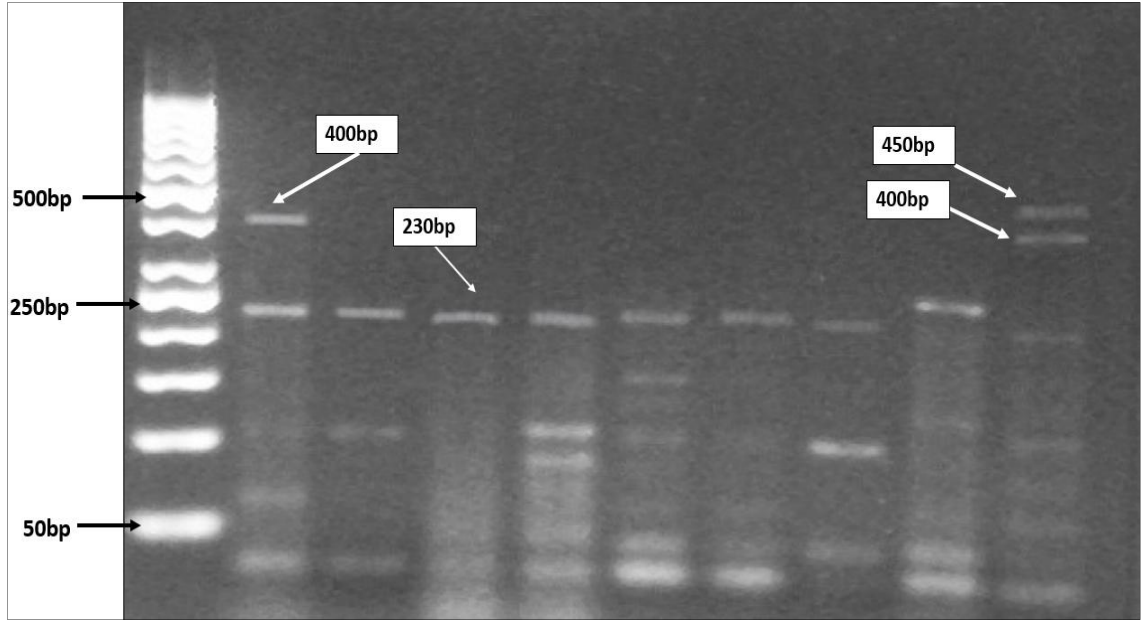
Şekil 4.6. 16s rDNA pozitifliğinin PCR görüntüsü



Şekil 4.7. FN: *Fusobacterium nucleatum*, PG: *Porphyromonas gingivalis*, PI: *Prevotella intermedia*, TF: *Tannerella forsythia*'nın bant büyüklükleri ve PCR görüntüsü



Şekil 4.8. *Bacteriodes* grubunun belirlenmesinde bantların büyüklükleri ve Multiplex PCR



Şekil 4.9. *Bacteriodes* grubunun belirlenmesinde bantların büyüklükleri Multiplex PCR görüntüsü

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kemik retansiyonlu gömülü üçüncü molar dişlerin açık çekimi esnasında kemik kazıyıcı (Medesy®, İtalya) ve kemik toplayıcı (Frios®, Dentsply, USA) aracılığıyla toplanan otojen greftlerde meydana gelen mikrobiyal kontaminasyon ve ozon gazının bu kontaminasyon üzerindeki antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. Bu araştırma ozon gazının kemik kazıyıcı (Medesy®, İtalya) ve kemik toplayıcı (Frios®, Dentsply, USA) aracılığıyla toplanan partiküllü otojen kemik greftinin mikrobiyal kontaminasyonu üzerindeki etkisinin incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır.

İleri derecede atrofiye uğramış rezorbe dişsiz alveolar kreterlerin augmentasyonunda, endodontik cerrahi ve kist operasyonu sonrası oluşan defektlerin onarımında, diş çekimi sonrası implant yerleştirilmesi planlanan soketlerin korunmasında, sekonder alveolar yarık onarımında pek çok kemik grefti çeşidi, bunların kombinasyonları ve bariyer membranlar gibi biyomateryaller kullanılmaktadır¹¹⁰⁻¹¹⁴. Kullanılan kemik greftleri arasında hastanın kendisinden elde edilen otojen kemik greftleri, insan kaynaklı allojenik kemik greftleri, hayvansal kaynaklı olan ksenojenik kemik greftleri ve sentetik olarak üretilen alloplastik kemik greftleri bulunmaktadır. Bu greft çeşitleri birbirleri ile kıyaslandıklarında pek çok avantaj ve dezavantaja sahiptir.

Allojenik, alloplastik ve ksenojenik kemik greftleri donör saha gereksinimini ortadan kaldırmak, skar oluşumunu önlemek, donör saha morbiditesini önlemek ve gerektiği miktarda ve istenilen formda ihtiyacı karşılamak gibi avantajlara sahiptirler. Bununla beraber allojenik kemik greftlerinin kullanımı, içerebildikleri antijenlerden ötürü immün cevap oluşumuna ve viral hastalıkların bulaşma riskine sebep olabilmektedir^{24,25}.

Ksenojenik kemik greftlerinin ise organik içerikleri hastada herhangi bir immünolojik reaksiyon gelişmemesi ve herhangi bir bulaşıcı etken kalmaması için tamamen uzaklaştırılmaktadır²⁰. Organik içerikleri tamamen uzaklaştırılan bu biyomateryaller hastada kullanıldığında yapısal bir matriks görevinde osteokondüktif olarak hizmet etmektedirler. Bununla birlikte bu greft materyalleri osteojenik ve osteoindüktif özelliklere sahip değildirler.

Alloplastik kemik greftleri ise tamamen sentetik olarak üretilmektedirler. Biyouyumlu olan bu greft materyalleri belli oranda osteokondüktif özellik

göstermektedirler fakat osteojenik ve osteoindüktif özelliğe sahip değildirler.

Bünyesinde osteojenik, osteoindüktif ve osteokondüktif özelliklerin tamamını bulunduran tek greft türü ise otojen kemik greftidir. Bu greft türü günümüzde hala altın standart olarak yerini korumaktadır. Donör saha gereksinimi, donör saha morbiditesi, donör sahada skar oluşumu, operasyon sonrası uzun süreli ağrı ve hareket kısıtlılığı görülebilmesi, bakım süresinin uzaması, rezorbsiyon oranının yüksek olması ve sınırlı miktarda ulaşılabilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bununla beraber kemik rejenerasyonunda en büyük katkıyı sağlayan greft materyali olması otojen kemik greftlerini her zaman ilk tercih yapmaktadır. Ayrıca otojen kemik greftleri hastanın kendisinden elde edildikleri için herhangi bir bulaş riski ve immünojenik reaksiyon riski taşımamaktadırlar²⁰.

Otojen kemik greftlerine özellikle az miktarda ihtiyaç duyulduğunda bu gereksinim genellikle ağız içi kaynaklardan karşılanmaktadır. Otojen blok greft ihtiyacı olmayan durumlarda uygulanması oldukça pratik olan kemik pensleri, kemik frezleri, aspiratöre bağlanan kemik toplayıcı filtreler, kemik kazıyıcılar gibi aletler kullanılmaktadır. Bu aletlerin kullanımı işlem süresinin kısalması, ikinci bir cerrahi sahaya gereksinim duyulmaması, operasyon sonrası hasta konforunun optimize edilmesi gibi pek çok avantajı beraberinde getirir. Buna karşılık bu aletler kullanılarak ağız içinden toplanan otojen kemik greftleri ağız içerisindeki zengin flora ile kontamine olmaktadır. Bu bağlamda yapılmış olan literatürde pek çok çalışma bulunmaktadır.

Young ve arkadaşları yaptıkları çalışmada implant cerrahisi esnasında toplanan kemik partiküllerinin mikrobiyal kontaminasyon seviyesini azaltmak için sıkı bir aspirasyon protokolü tanımlayarak bu protokolü çalışma için gerçekleştirdikleri operasyonlarda kullanmışlardır. Sıkı aspirasyon protokolünde iki ayrı aspiratör ucu kullanılarak kemik toplanması ve doku sıvı kontrolü sağlanmıştır. Bu protokolde bir aspiratör ucu ile kemik partikülleri, kan ve irrigasyon sıvısı aspire edilirken diğer aspiratör ucu ile tükürük akışı kontrol edilmiştir. Çalışma sonucunda sıkı aspirasyon protokolü kullanıldığında bile toplanan kemik partiküllerinin düşük bakteri seviyeleri taşıdığı sonucuna varılmıştır. Toplanan kemik partiküllerindeki mevcut bakterilerin ilişkili implant ve bariyer membranları kontamine edebilecekleri belirtilmiştir. Ayrıca toplanan kemik partiküllerindeki potansiyel patojenlerin varlığından ötürü bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kullanımının kontrendike olduğu rapor edilmiştir³.

Young ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada implant cerrahisi esnasında toplanan kemik partiküllerinde mevcut bakteriyel kontaminantlarda %0,1 klorheksidin diglukonat ağız gargarası ile yapılan operasyon öncesi gargaranın etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda toplanan kemik partikülleri implante edilecek ise sıkı bir aspirasyon protokolü ile preoperatif klorheksidin ağız gargarası kullanımını önermişlerdir. Diğer taraftan ciddi derecede kontamine kemik partiküllerinin implantasyonunun minör ve majör enfeksiyöz komplikasyon riskleri ile ilişkili olacağından ötürü kontrendike olduğunu belirtmişlerdir⁴.

Kürkçü ve arkadaşları ise profilaktik ve ortodontik amaçlar için gömülü mandibular üçüncü molar dişlerin çekimi esnasında toplanan kemik partiküllerinin mikrobiyal içeriğini azaltmada klorheksidin ağız gargarasının antimikrobiyal etkinliğini ve toplanan kemik partiküllerinin mikrobiyal içeriğini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda sıkı aspirasyon protokolü ile birlikte kullanıldığında cerrahiden hemen önce klorheksidinli ağız gargarası ile gargara yapmanın total mikrobiyal seviyeyi azalttığını belirtmişlerdir. Bununla beraber azalan mikrobiyal seviyelerin hala yüksek enfeksiyon riski taşıyabileceği ifade edilmiştir¹¹⁵.

Yaptığımız bu çalışmada tüm hastalara işlem öncesi klorheksidin içeren gargara yaptırılmıştır. Buna rağmen ozon uygulanmayan gruplarda yüksek mikrobiyal kontaminasyon tespit edilmiştir.

Lambrecht ve arkadaşları da oral cerrahi prosedürler esnasında toplanan kemik partiküllerinin bakteriyel kontaminasyonunu incelemişlerdir. Yapılan prosedürlerin çoğunluğunun tamamen ya da kısmi olarak retansiyonlu gömülü dişlerin cerrahi çekimleri olduğu belirtilmiştir. Hastaların preoperatif olarak 30 saniye betadin iyodür ağız gargarası kullandığı ve kemik partiküllerinin toplanması esnasında sıkı bir aspirasyon protokolünün kullanıldığı ifade edilmiştir. Çalışmanın sonucunda filtrelenmiş kemik partikülleri kullanılarak gerçekleştirilen kemik augmentasyon prosedürlerinde rutin bir protokol olarak hastalara profilaktik antibiyotik tedavisi uygulanması gerektiği rapor edilmiştir¹¹⁶.

Sivolella ve arkadaşları ise gömülü alt üçüncü molarların veya ortodontik sebeplerle alt üçüncü molar diş germelerinin çekimi esnasında piezocerrahi cihazı ve kemik tutucu ile toplanan otojen kemik partiküllerinin bakteriyel kontaminasyonunu değerlendirmişlerdir ve bakteriyel kontaminasyonunu azaltmak için rifamisin toplanan

kemik partikülleri üzerindeki etkinliğini incelemişlerdir. Ayrıca toplanan kemik partiküllerinin boyutlarını da belirlemişlerdir. Kemik partiküllerinin toplanması için sıkı aspirasyon protokolü kullanmışlardır. Kemik partiküllerinin ağırlığı alınmıştır ve kemik partiküllerinin eşit miktarları (0,4 gr.) mikrobiyolojik incelemeden önce 10 dk. süre ile rifamisin (16 ml, %0,5) ile veya fizyolojik solüsyon ile kontakta bırakılmıştır. Çalışma sonucunda toplanan kemik partiküllerinin bakteriyel kontaminasyonunu azaltmak için sıkı aspirasyon protokolünün kullanımı tavsiye edilmiştir ve toplanan kemik partiküllerinin rifamisin ile muamelesinin bakteriyel kontaminasyonu önemli derecede azalttığı belirtilmiştir¹¹⁷.

Bu çalışmalara ek olarak Takamoto ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada farklı cihazlar ile toplanan kemik talaşlarında kontaminasyonun derecesinin niceliksel olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada implant tedavisinin bir parçası olarak kemik augmentasyon cerrahisi esnasında kemik keskisi, kemik kazıyıcı, trefin frez ve kemik filtresi kullanılarak 12 hastadan her bir yöntem ile otojen kemik toplanmıştır ve her bir yöntem ile toplanan kemik talaşındaki total bakteriyel yük belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında trefin frez ile toplanan örneklerdeki bakteriyel yükün diğer yöntemlere göre önemli derecede daha az olduğu görülmüştür. Kemik kazıyıcı ve kemik filtresi ile alınan örneklerdeki bakteriyel yükün kemik keskisi ve trefin freze göre önemli derecede daha fazla olduğu belirtilmiştir. Ayrıca kemik kazıyıcı ile toplanan örneklerin her birinde kemik toplayıcı ile toplanan örneklerin her birine göre total bakteriyel yük açısından daha fazla kontaminasyon belirlenmiştir. Bunun yanında bu bakteriyel seviyelerin enfeksiyon riski taşıyabileceği ve kemik partiküllerinin augmentasyon prosedürlerinde kullanılması durumunda profilaktik antibiyotik tedavisinin endike olabileceği rapor edilmiştir².

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ise kemik toplayıcı ve kemik kazıyıcı yöntemleri kontaminasyon açısından birbirleri ile kıyaslanmıştır. İşlem öncesi % 0.2'lik klorheksidin ile 30 saniye gargara yapılmasına ve işlem esnasında sıkı aspirasyon protokolü uygulanmasına rağmen her iki yöntemle toplanan otojen kemik greftinde de yüksek miktarda kontaminasyon görülmüştür. Ayrıca iki yöntem arasında kontaminasyon açısından total bakteriyel yük değerlendirildiğinde kemik toplayıcı yönteminin kontrol grubunda kemik kazıyıcı yönteminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha az üreme belirlenmiştir. Bunun

nedeninin kemik toplayıcı ile greft toplanması esnasında ikinci bir aspiratör ile yapılan tükürük izolasyonu olduğu düşünülmektedir. Her iki yöntemin ozon grupları arasında ise total bakteriyel yük açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır.

Literatürde mevcut olan bu çalışmalar da göz önünde bulundurulduğunda ağız içerisinde çeşitli enstrümanlar yardımı ile otojen kemik grefti toplandığında elde edilen kemik partiküllerinin oral flora ile kontamine olduğu açıktır. Bu kontaminasyonun enfeksiyon riski taşıyabileceği belirtilmiştir ve kontaminasyonu azaltabilmek için antibiyotik profilaksisi uygulanması, antiseptik ağız gargarası ile gargara yapılması, ikinci bir aspiratör yardımı ile cerrahi sahadan tükürüğün sıkı bir şekilde izole edilmesi ve elde edilen greftin irrigasyon solüsyonları ya da antiseptik solüsyonlar ile yıkanması önerilmiştir.

Bu araştırma kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı ile toplanan partiküllü otojen kemik grefti üzerinde kontaminasyonu azaltmak amacıyla ozon gazının uygulandığı ilk çalışmadır. Lynch ozon gazının penetre olabilmesi için basınç altında uygulanması gerektiğini belirtmiştir¹¹⁸. Buradan yola çıkarak bu çalışmada ozon gazı uygulanacak partiküllü otojen kemik grefti örnekleri 10 ml'lik steril bir enjektör içerisine yerleştirilmiştir ve enjektörün iç hacmi 10 ml'de sabit kalacak şekilde örnekler basınç altında ozon gazı verilmesi amaçlanmıştır. Böylece ozon gazının örnekler daha iyi penetre olması ve antimikrobiyal etkinliğinin artırılması sağlanmıştır. Elde edilen otojen kemik grefti örneklerine ozon gazı uygulanırken 6 saniye, 12 saniye, 18 saniye ve 24 saniye programlarına sahip ozon gazı jeneratörünün (Prozone®, W&H, Avusturya) 24 saniyelik programı uygulanarak yüksek miktarda ozon gazı verilmesi ve antimikrobiyal etkinliğin artırılması amaçlanmıştır. Bunun sonucunda da kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı yöntemleriyle toplanan otojen greftte total bakteriyel yükün ozon uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür. Dolayısıyla ozon gazının total bakteriyel yükü azaltmada etkin olduğu tespit edilmiştir. Literatürde ozon gazının bu amaç için hangi dozda ve sürede kullanılması gerektiği ile ilgili bir bilgiye rastlanmamıştır. Lynch ozon gazının yeterli konsantrasyonda verildiğinde, uygun bir zaman aralığında ve doğru bir şekilde uygulandığında etkili olduğunu belirtmiştir¹¹⁹. Bu çalışmada greft üzerine uygulanan ozon gazının dozunun ve süresinin mikrobiyal yükü azaltmada anlamlı derecede etkili

olduğu belirlenmiş olmakla birlikte optimum ozon gazı konsantrasyonunu, uygulama süresini ve doğru uygulama yöntemini belirleyen çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bocci tarafından yayınlanmış olan bir çalışmada tıpta ozonun kullanımının bazı zararlı etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Bunlar arasındaki ilk neden ozonun güçlü bir oksidan olması ve asla solunmaması gerektiğidir. İkinci nedenin kronik oksidatif stres ve buna bağlı olarak oluşan gaz kaynaklı serbest radikaller tarafından kronikleştirilen bazı hastalıklar olduğu belirtilmiştir. Üçüncü sebebin ise akciğer embolisine neden olabilen intravenöz gaz karışımı (O₂-O₃) enjeksiyonları olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte Bocci ozon tedavisinin başarısının optimum ve güvenli dozda ozon uygulanmasına bağlı olduğunu belirtmiştir. Anormal ozon konstantrasyonlarının ve kronik olarak ozon gazına maruz kalmaya bağlı oluşan zehirli bileşiklerin kronik üretiminin akciğerlere ve diğer hayati organlara zarar verdiği belirtilmiştir. Bocci ozon gazını yeni bir ilaç olarak tanımlamıştır ve tüm ilaçların uygun yoğunluklarda ve dozlarda tedavi edici olduğunu uygun olmayan yoğunluklarda ve dozlarda ise toksik olduğunu belirtmiştir¹⁰².

Bu bağlamda ozon gazının oral floradan kaynaklı kontaminasyonu azaltmak için otojen kemik grefti üzerinde kullanıldığında greft içerisindeki hücrelerin canlılığı üzerindeki sitotoksik etkileri araştırmanın limitasyonlarından ötürü değerlendirilememiştir. Literatürde de herhangi bir bilgiye rastlanılmayan bu konu üzerinde araştırma yapmaya ihtiyaç vardır.

Literatürde ağız içi greft toplama yöntemlerinin bakteriyel kontaminasyon açısından birbirleri ile kıyaslandığı çalışmalar bulunmaktadır^{2,120}. Ancak oral flora ile kontamine olmuş otojen greftlerin kemik augmentasyonu işlemlerinde kullanımı sonrası başarısının değerlendirildiği sadece bir klinik çalışmaya rastlanılmıştır.

Verdugo ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada maksiller sinüs augmentasyonu için ağız içerisinden elde edilen otojen kemik partiküllerinde periodontal patojenlerin varlığı mikrobiyolojik analizler ile belirlenmiştir. Sinüs augmentasyonundan sonraki 6. ve 12. aylarda klinik ve radyografik olarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında 12 hastanın 10'unda periodontal patojenlerin (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [önceki ismi *Actinobacillus actinomycetemcomitans*], *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* [önceki ismi *T. forsythensis*], *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra* [önceki

ismi *Peptostreptococcus micros* veya *Micromonas micros*], *Campylobacter rectus*, enteric Gram-negatif rodlar ve *Dialister pneumosintes*) varlığı kültür, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) veya her iki yöntem ile tanımlanmıştır. Bu periodontal patojenlerin varlığının pozitif olduğu 10 hasta periodontal patojenlerin varlığının negatif olduğu diğer 2 hasta ile karşılaştırıldığında üremenin pozitif olduğu 10 hastada augmentasyon sonrası 6. ayda daha fazla kemik hacim kaybı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca PCR testlerinde *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* ve *P. intermedia*'nın üçünün de pozitif olduğu 5 hastada 6. ayda greftlenen sinüste belirgin hacim kaybı görüldüğü ifade edilmiştir. Mikrobiyal kontaminasyonun greftlemedeki etkisinin augmentasyon sonrası 6. ayda greftlenen sinüste kemik hacim kaybı ile sonuçlandığı bildirilmiştir. Sonuç olarak yazarlar spesifik mikrobiyal kontaminasyonun sinüs augmentasyonu sonrası kemik rejenerasyonu üzerinde olumsuz bir etkisinin olabileceğini belirtmişlerdir¹²¹.

Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmada ise anaerob mikroorganizmaların kültür ortamında incelenebilmesi için hastalardan alınan örneklerin, % 5 at kanı ve %0.001 vitamin-K1 içeren fastidious anaerob agar katı besiyerine damlatma yöntemi ile ekimi gerçekleştirilmiştir. Anaerob mikroorganizmaların tespiti için ekim yapılan besiyerleri anaerob gas generatin kit (BD GasPak TMEz Anaerobe Container System 260678) içeren kavanozlarda 37°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında hiçbir besiyerinde anaerobik bakteri üremesi görülememiştir. Bunun sebebi olarak anaerobik bakterilerin kültür ortamında üremelerinin oldukça zor olması gösterilebilmektedir.

Bu yüzden tüm hastalardan alınan örneklerde prokaryot 16s rDNA'yı hedef alan universal primerler kullanılarak bakteriyel DNA varlığının tespit edilmesi ve DNA varlığı belirlenen örneklerde *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* ve *Bacteroides* cinsine ait anaerob bakterilerin spesifik primerleri kullanılarak in house-PCR yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır ve total DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. PCR sonuçlarına bakıldığında *Porphyromonas gingivalis* için kemik kazıyıcı yönteminde, *Bacteroides* cinsine ait anaerob bakterilerde grup I için kemik kazıyıcı yönteminde ve de *Bacteroides* cinsine ait anaerob bakterilerde grup III için kemik toplayıcı yönteminde kontrol ve ozon grupları karşılaştırıldığında ozon gazının bakteriyel üremeyi istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalttığı söylenebilmektedir. Diğer taraftan ise her iki yöntem için (kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı) *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* türleri

ve *Bacteriodes* cinsine ait bakterilerin bir kısmında (grup II ve grup II+III) ozon gazının bakteriyel üreme üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde bir etkisi görülmemiştir. Ayrıca *Porphyromonas gingivalis* türü için de kemik toplayıcı yönteminde ozon gazının istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir. Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda ozon gazının bu spesifik anaerob bakteri türleri üzerine kısmi olarak bir etkisinin olduğu söylenebilmektedir ve buradan yola çıkarak Verdugo ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada belirtildiği üzere bakteriyel kontaminasyondan kaynaklı kemik rezorbsiyonu üzerine, ozon gazının olumlu anlamda kısmi bir etkisinin olabileceği düşünülebilmektedir. Ancak bu konuda daha ileri araştırmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Fating ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada odontojenik kaynaklı orofasiyal boşluk enfeksiyonlarında mevcut bulunan mikrobiyal flora tanımlanmıştır. Çalışmada odontojenik kaynaklı enfeksiyonu olan 26 hasta yaşları ve cinsiyetlerinden bağımsız olarak seçilmişlerdir. Püü örnekleri toplanarak anaerobik ve aerobik bakteri üremesi için ve antibiyotik duyarlılık profilleri için mikrobiyoloji laboratuvarında incelenmişlerdir. Hastaların demografik verilerine bakıldığında erkek hastaların kadın hastalara göre odontojenik enfeksiyonlara daha sık yakalandıkları görülmüştür ve hastalarda yaş grubu olarak en çok üçüncü ve dördüncü dekatta odontojenik enfeksiyon meydana gelmiştir. En sık etkilenen bölgenin submandibular boşluk olduğu belirtilmiştir. Alfa hemolitik streptokokların en sık görülen aerobik bakteri olduğu ve anaeroblar arasında en sık görülen bakterinin anaerobik streptokoklar ve onları takiben bakteriodesler olduğu belirtilmiştir. Klindamisin, gentamisin, linezolid ve imipenam türü antibiyotiklerin en etkili antibiyotikler olduğu ve aerobların % 20'sinin penisiline dirençli oldukları belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda yazarlar odontojenik kaynaklı orofasiyal enfeksiyonların en yaygın patojeninin hala streptokoklar olduğunu belirtmişlerdir¹²².

Celakovsky ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir diğer çalışmada ise derin boyun enfeksiyonlarının bakteriyolojisi incelenmiştir ve enfeksiyona neden olan bakterilerin insidansını etkileyen faktörler tanımlanmıştır. Çalışmada derin boyun enfeksiyonuna sahip 634 hastanın retrospektif analizleri gerçekleştirilmiştir. Hastaların yaşı, etiyoloji ve diabet ilişkisi gibi çeşitli durumlarda yaygın patojenlerin insidansını karşılaştırmak için istatistiksel analiz kullanılmıştır. 514 (% 81) kültürde bakteri izole

edilmiştir. 246 (% 39) kültürden aerobik bakteri ve 61 (% 10) kültürden anaerobik bakteri izole edilmiştir. 207 (% 32) kültürde ise hem aerobik hem de anaerobik bakteri izole edilmiştir. Çalışmada en yaygın görülen aerobik bakterilerin *Streptococcus pyogenes* (% 41) ve *Staphylococcus aureus* (% 32) olduğu belirtilmiştir. En yaygın görülen anaerobik bakterilerin ise *Peptostreptococcus* türleri (% 28), *Prevotella* türleri (% 8) ve *Propionibacterium* türleri (% 7) olduğu belirtilmiştir¹²³.

Fating ve arkadaşları ile Celakovsky ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalara bakıldığında odontojenik enfeksiyonların genellikle mix kaynaklı olduğu söylenebilmektedir. Bununla beraber bu enfeksiyonların gelişiminde aerobik bakterilerin rolleri göz ardı edilemeyecek derecede önemlidir. Bizim çalışmamızda ise mikrobiyolojik analiz için incelenen örneklerin aerobik içeriklerine bakıldığında kemik greft örneği alınan ve çalışmaya dahil edilen deneklerin tamamında katalaz pozitif ve katalaz negatif kokların kolonize olduğu, 47 (%39.16) örnekte gram negatif diplokokların, 30 (% 25) örnekte difteroidlerin kolonize oldukları ve oksidaz negatif gram negatif çomakların ise örneklerin hiçbirisinden izole edilemediği görülmüştür. Kemik kazıyıcı yöntemine bakıldığında ozon gazının katalaz pozitif ve katalaz negatif olan gram pozitif kokların ve oksidaz pozitif olan gram negatif diplokokların miktarını istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca ozon gazının kemik kazıyıcı yönteminde difteroidler ve maya türleri üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Kemik toplayıcı yöntemine bakıldığında ise ozon gazının yine aynı şekilde katalaz pozitif ve katalaz negatif olan gram pozitif kokları ve oksidaz pozitif olan gram negatif diplokokları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı analiz edilmiştir. Buna ek olarak kemik kazıyıcı yönteminden farklı olarak kemik toplayıcı yönteminde ozon gazının difteroidlerin eliminasyonu üzerinde istatistiksel olarak etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca kemik toplayıcı yönteminde ozon gazının oksidaz pozitif gram negatif basilleri ve maya türlerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde elimine etmediği belirlenmiştir. Bu noktada ozon gazının kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı yöntemlerinin her ikisinde de, ökaryot hücre yapısına sahip maya türleri üzerine bir etkisinin bulunmadığı görülürken prokaryot hücre yapısına sahip bakteriler üzerine kısmi de olsa etkisinin bulunduğu vurgu yapmak önemlidir. İnsan vücudunda bulunan hücreler de ökaryot hücre yapısına sahiptir ve buradan yola çıkarak ozon gazının

çalışmada uygulanan dozlarda maya hücrelerine benzer şekilde hücre yapısına sahip olan insan hücreleri üzerinde de olumsuz bir etkisinin olmayacağı düşünülebilir.

Çalışmamızda ayrıca D grubu streptokoklar olan *Enterococcus faecalis* ile *Enterococcus faecium* ve *Pseudomonas* türü de ayrıca incelenmiştir. Bu bakteriler özellikle hastane kaynaklı enfeksiyonlarda rol almaları ve inatçı patojenler olmaları açısından önemlidirler.

Case ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada pasif ultrasonik aktivasyon kullanılarak ya da kullanılmayarak çekilmiş dişlerin kök kanallarında *E. faecalis* isimli bakterinin biyofilminde serum içerisine verilen ozon gazının etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada biyofilmler serum (negatif kontrol grubu) , 120 saniye boyunca % 1 sodyum hipoklorit (pozitif kontrol grubu) , ozon, pasif ultrasonik aktivasyon ve serum, ozon ve pasif ultrasonik aktivasyon ile tedavi edilmişlerdir. Tedaviden sonra biyofilmlerden örnekler alınmıştır ve mikrobiyolojik analiz yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına bakıldığında % 1 sodyum hipokloritin en etkili dezenfektan ajan olduğu belirtilmiştir. % 1'lik sodyum hipokloriti sırayla ozon ile kombine ultrasonik aktivasyon, tek başına ozon ve son olarak da tek başına ultrasonik aktivasyon takip etmiştir. Çalışmada yazarlar tedavi rejimlerinin hiçbirinin kullanılan şartlar altında güvenilir bir şekilde kök kanallarını steril hale getirme yeteneklerinin olmamasına rağmen kök kanallarında irrigasyon solüsyonları içerisine verilen ozon gazının endodontik dezenfeksiyon için bir yardımcı olarak faydalı olabileceğini belirtmişlerdir⁹⁴.

Bizim yapmış olduğumuz çalışmaya baktığımızda ise ozon gazı kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı yöntemlerinde *E. faecium*, *E. faecalis* türleri ve *Pseudomonas* cinsi bakteriler üzerinde bakterilerin üremesi açısından genel olarak bir azalma sağlamasına rağmen yalnızca kemik toplayıcı yönteminde *E. faecium* üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde bir azalma sağlamıştır. Bu noktada da ozon gazının bu bakteriler üzerinde kısmi antimikrobiyal etkilerinin olduğu söylenebilmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Ağız içerisindeki sahalardan otojen kemik grefti ihtiyacı olduğu durumlarda kemik kazıyıcı ya da kemik toplayıcı gibi enstrümanların kullanımı iyi bir alternatif olarak göz önünde bulundurulmalıdır.

- Hastaların işlem öncesinde %0,02 klorheksidin içeren gargara yapmasına rağmen her iki yöntemle toplanan otojen greftin mikrobiyal kontaminasyonu yüksek oranda bulunmuştur.

- Kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı ile toplanan otojen greftin kontaminasyonu açısından iki yöntem kıyaslandığında kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunurken ozon grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.

- Kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı yöntemleri ile toplanan otojen greft üzerine uygulanan ozon gazı mikrobiyal kontaminasyonu azaltmaktadır.

- Kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı yöntemleri ile toplanan ve oral flora ile kontamine olan otojen greftin augmentasyon amaçlı uygulanması sonrasında uzun dönem başarısı ile ilgili daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

- Toplanan otojen greftin kontaminasyonunu azaltmak amacıyla uygulanan ozon gazının kemik hücreleri üzerindeki etkisi histolojik olarak incelenmelidir.

- Toplanan otojen kemik greftine mikrobiyal kontaminasyonu azaltmak için uygulanan ozon gazının optimum dozunun ve ideal uygulama şeklinin araştırılması önerilir.

KAYNAKLAR

1. **Carini F, Longoni S, Amosso E, Paleari J, Carini S, Porcaro G.** Bone augmentation with TiMesh. autologous bone versus autologous bone and bone substitutes. A systematic review. *Annali di stomatologia*, 5(Suppl 2 to No 2) :27-36.
2. **Takamoto M, Takechi M, Ohta K, Ninomiya Y, Ono S, Shigeishi H, Tada M, Kamata N.** Risk of bacterial contamination of bone harvesting devices used for autogenous bone graft in implant surgery. *Head & face medicine*, **2013**; 9 :3.
3. **Young MP, Carter DH, Worthington H, Korachi M, Drucker DB.** Microbial analysis of bone collected during implant surgery: a clinical and laboratory study. *Clinical oral implants research*, **2001**; 12(2) :95-103.
4. **Young MPJ, Korachi M, Carter DH, Worthington H V, McCord JF, Drucker DB.** The effects of an immediately pre-surgical chlorhexidine oral rinse on the bacterial contaminants of bone debris collected during dental implant surgery. *Clinical oral implants research*, **2002**; 13(1) :20-29.
5. **Arita M, Nagayoshi M, Fukuizumi T, Okinaga T, Masumi S, Morikawa M, Kakinoki Y, Nishihara T.** Microbicidal efficacy of ozonated water against *Candida albicans* adhering to acrylic denture plates. *Oral microbiology and immunology*, **2005**; 20(4) :206-210.
6. **Kim JG, Yousef AE, Dave S.** Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *Journal of food protection*, **1999**; 62(9) :1071-1087.
7. **Buser D.** *20 Years of Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*. Quintessence Publishing Company; **2009**.
8. **Weiner S, Traub W, Wagner HD.** Lamellar bone: structure-function relations. *Journal of structural biology*, **1999**; 126(3) :241-255.
9. **Kalfas IH.** Principles of bone healing. *Neurosurgical FOCUS*, **2001**; 10(4) :1-4.
10. **Sarban S, Senkoylu A, Isikan UE, Korkusuz P, Korkusuz F.** Can rhBMP-2 containing collagen sponges enhance bone repair in ovariectomized rats?: a preliminary study. *Clinical orthopaedics and related research*, **2009**; 467(12) :3113-3120.
11. **Tanaka E, Miyawaki Y, del Pozo R, Tanne K.** Changes in the biomechanical properties of the rat interparietal suture incident to continuous tensile force application. *Archives of oral biology*, **2000**; 45(12) :1059-1064.
12. **Junqueira L., Carneiro J.** *Basic histology text and atlas*. London: McGraw Hill; **2005**.
13. **Teitelbaum SL, Ross FP.** Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nature reviews Genetics*, **2003**; 4(8) :638-649.
14. **Yang X, Karsenty G.** Transcription factors in bone: developmental and pathological aspects. *Trends in molecular medicine*, **2002**; 8(7) :340-345.
15. **Christoffersen J, Landis WJ.** A contribution with review to the description of mineralization of bone and other calcified tissues in vivo. *The Anatomical record*, **1991**; 230(4) :435-450.

16. **Miloro M, Ghali GE, Larsen PE WP.** *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery, 1. Cilt.*; **2004**.
17. **Bauer TW, Muschler GF.** Bone graft materials. An overview of the basic science. *Clinical orthopaedics and related research*, **2000**;(371) :10-27.
18. **Jensen SS, Brogini N, Hjørtting-Hansen E, Schenk R, Buser D.** Bone healing and graft resorption of autograft, anorganic bovine bone and beta-tricalcium phosphate. A histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. *Clinical oral implants research*, **2006**; 17(3) :237-243.
19. **Yuan H, De Bruijn JD, Zhang X, Van Blitterswijk CA, De Groot K.** Use of an osteoinductive biomaterial as a bone morphogenetic protein carrier. *Journal of materials science Materials in medicine*, **2001**; 12(9) :761-766.
20. **Nazirkar G, Singh S, Dole V, Nikam A.** Effortless effort in bone regeneration: a review. *Journal of international oral health : JIOH*, **2014**; 6(3) :120-124.
21. **Kainulainen VT, Sándor GKB, Clokie CML, Keller AM, Oikarinen KS.** The zygomatic bone as a potential donor site for alveolar reconstruction--a quantitative anatomic cadaver study. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, **2004**; 33(8) :786-791.
22. **Alfaro FH.** *Bone Grafting in Oral Implantology: Techniques and Clinical Applications.* Quintessence Publishing Company; **2006**.
23. **Garrett S.** Periodontal regeneration around natural teeth. *Annals of periodontology / the American Academy of Periodontology*, **1996**; 1(1) :621-666.
24. **Yavuz K, ŞAHİN S.** Demineralize Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogreftlerinin Periodontal Kemik Defektlerinde Uygulanımı ve Son Gelişmeler. *dishekdergi.hacettepe.edu.tr*, **2010**; 34(1-2):37-45.
25. **Burchardt H.** The biology of bone graft repair. *Clinical orthopaedics and related research*, **1983**;(174) :28-42.
26. **Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA.** Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *Journal of periodontology*, **2000**; 71(10) :1654-1661.
27. **Minichetti JC, D'Amore JC, Hong AYJ, Cleveland DB.** Human histologic analysis of mineralized bone allograft (Puros) placement before implant surgery. *The Journal of oral implantology*, **2004**; 30(2) :74-82.
28. **Misch CE.** *Contemporary Implant Dentistry.* Elsevier Health Sciences; **2008**.
29. **Buck BE, Malinin TI.** Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clinical orthopaedics and related research*, **1994**;(303) :8-17.
30. **Boyan BD, Ranly DM, McMillan J, Sunwoo M, Roche K, Schwartz Z.** Osteoinductive ability of human allograft formulations. *Journal of periodontology*, **2006**; 77(9) :1555-1563.
31. **Richardson CR, Mellonig JT, Brunsvold MA, McDonnell HT, Cochran DL.** Clinical evaluation of Bio-Oss: a bovine-derived xenograft for the treatment of periodontal osseous defects in humans. *Journal of clinical periodontology*, **1999**; 26(7) :421-428.

32. **Jensen SS, Aaboe M, Pinholt EM, Hjørtting-Hansen E, Melsen F, Ruyter IE.** Tissue reaction and material characteristics of four bone substitutes. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 11(1) :55-66.
33. **Proussaefs P, Lozada J, Valencia G, Rohrer MD.** Histologic evaluation of a hydroxyapatite onlay bone graft retrieved after 9 years: a clinical report. *The Journal of prosthetic dentistry*, **2002**; 87(5) :481-484.
34. **Parikh SN.** Bone graft substitutes: past, present, future. *Journal of postgraduate medicine*, **2002**; 48(2) :142-148.
35. **Turunen T, Peltola J, Helenius H, Yli-Urpo A, Happonen RP.** Bioactive glass and calcium carbonate granules as filler material around titanium and bioactive glass implants in the medullar space of the rabbit tibia. *Clinical oral implants research*, **1997**; 8(2) :96-102.
36. **Şimşek A, Çakmak G, Cila E.** Kemik Greftleri ve Kemik Greftlerinin Yerini Tutabilecek Maddeler.www.totbid.org.tr, **2004**; 3(3-4).
37. **Finkemeier CG.** Bone-grafting and bone-graft substitutes. *The Journal of bone and joint surgery American volume*, **2002**; 84-A(3) :454-464.
38. **Ashammakhi N, Ferratti P.** *Topics in tissue engineering. Volume I (Electronic book)*; **2003**.
39. **Haas R, Donath K, Födinger M, Watzek G.** Bovine hydroxyapatite for maxillary sinus grafting: comparative histomorphometric findings in sheep. *Clinical oral implants research*, **1998**; 9(2) :107-116.
40. **Aderriotis D, Sándor GK.** Outcomes of irradiated polyglactin 910 Vicryl Rapide fast-absorbing suture in oral and scalp wounds. *Journal (Canadian Dental Association)*, **1999**; 65(6) :345-347.
41. **Suuronen R, Haers P, Lindqvist C, Sailer H.** Update on Bioresorbable Plates in Maxillofacial Surgery. *Facial Plastic Surgery*, **2008**; 15(01) :61-72.
42. **Suuronen R, Kallela I, Lindqvist C.** Bioabsorbable plates and screws: Current state of the art in facial fracture repair. *The Journal of cranio-maxillofacial trauma*, **2000**; 6(1) :19-27; discussion 28-30.
43. **Suuronen JT, Meyer BJ.** Polylactic acid (PLA) root replica in ridge maintenance after loss of a vertically fractured incisor. *Endodontics & dental traumatology*, **1996**; 12(3) :155-160.
44. **Vesala A-L, Kallioinen M, Törmälä P, Kellomäki M, Waris T, Ashammakhi N.** Bone tissue engineering: treatment of cranial bone defects in rabbits using self-reinforced poly-L,D-lactide 96/4 sheets. *The Journal of craniofacial surgery*, **2002**; 13(5) :607-613.
45. **Walley S.** Essential microbiology for dentistry, 4th edition. *BDJ*, **2012**; 212(7) :350-350.
46. **Wade WG.** The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society*, **2013**; 69(1) :137-143.
47. **Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu W-H, Lakshmanan A, Wade WG.** The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*, **2010**; 192(19) :5002-5017.

48. **Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE.** Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of bacteriology*, **2001**; 183(12) :3770-3783.
49. **Lee SS, Zhang W, Li Y.** The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study. *Journal of the American Dental Association (1939)*, **2004**; 135(8) :1133-1141.
50. **Jain I, Jain P, Bisht D, Sharma A, Srivastava B, Gupta N.** Comparative Evaluation of Antibacterial Efficacy of Six Indian Plant Extracts against Streptococcus Mutans. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*, **2015**; 9(2) :ZC50-ZC53.
51. **Bagg J, MacFarlane TW, Poxton IR.** *Essentials of Microbiology for Dental Students*. Oxford University Press; **2006**.
52. **Huang S-C, Burne RA, Chen Y-YM.** The pH-dependent expression of the urease operon in Streptococcus salivarius is mediated by CodY. *Applied and environmental microbiology*, **2014**; 80(17) :5386-5393.
53. **Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR.** A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodour parameters. *Journal of Applied Microbiology*, **2006**; 100(4) :754-764.
54. **Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA.** Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis isolates collected in Sardinia (Italy). *Journal of medical microbiology*, **2003**; 52(Pt 6) :491-498.
55. **Aydın M, Mısırlıgil A.** *Ağız Mikrobiyolojisi*, Akademik Yayınlar | Medikal Kitabevi, **2012**.
56. **Creti R, Imperi M, Bertuccini L, Fabretti F, Orefici G, Di Rosa R, Baldassarri L.** Survey for virulence determinants among Enterococcus faecalis isolated from different sources. *Journal of medical microbiology*, **2004**; 53(Pt 1) :13-20.
57. **Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U.** Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, **1998**; 85(1) :86-93.
58. **Colak M, Evcil S, Bayindir YZ, Yigit N.** The effectiveness of three instrumentation techniques on the elimination of Enterococcus faecalis from a root canal: an in vitro study. *The journal of contemporary dental practice*, **2005**; 6(1) :94-106.
59. **McCarthy H, Rudkin JK, Black NS, Gallagher L, O'Neill E, O'Gara JP.** Methicillin resistance and the biofilm phenotype in Staphylococcus aureus. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **2015**; 5 :1.
60. **Sobol SE, Samadi DS, Wetmore RF.** Actinomycosis of the temporal bone: a report of a case. *Ear, nose, & throat journal*, **2004**; 83(5) :327-329.
61. **Gazzano E, Chanteret C, Duvillard C, Folia M, Romanet P.** A case of actinomycosis of the middle ear and a review of the literature. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology Extra*, **2010**; 5(2) :70-73.
62. **Takahashi N, Nyvad B.** The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *Journal of dental research*, **2011**; 90(3) :294-303.

63. **Tanner ACR, Kent RL, Holgerson PL, Hughes C V, Loo CY, Kanasi E, Chalmers NI, Johansson I.** Microbiota of severe early childhood caries before and after therapy. *Journal of dental research*, **2011**; 90(11) :1298-1305.
64. **Madinier I.** [Oral bacterial flora and its pathogenic potential]. *Journal de biologie buccale*, **1991**; 19(1) :3-15.
65. **Ingram RJ, Cornere B, Ellis-Pegler RB.** Endocarditis due to *Neisseria mucosa*: two case reports and review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, **1992**; 15(2) :321-324.
66. **Tronel H, Chaudemanche H, Pechier N, Doutrelant L, Hoen B.** Endocarditis due to *Neisseria mucosa* after tongue piercing. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **2001**; 7(5) :275-276.
67. **Atanasova KR, Yilmaz O.** Looking in the *Porphyromonas gingivalis* cabinet of curiosities: the microbium, the host and cancer association. *Molecular oral microbiology*, **2014**; 29(2) :55-66.
68. **Paessler M, Levinson A, Patel JB, Schuster M, Minda M, Nachamkin I.** Disseminated *Mycoplasma orale* infection in a patient with common variable immunodeficiency syndrome. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, **2002**; 44(2) :201-204.
69. **Bhateja S.** The miraculous healing therapy – “Ozone therapy” in dentistry. *Indian Journal of Dentistry*, **2012**; 3(3) :150-155.
70. **Azarpazhooh A, Limeback H.** The application of ozone in dentistry: a systematic review of literature. *Journal of dentistry*, **2008**; 36(2) :104-116.
71. **Stopka P.** Ozone. *Progresdent*, **2003**; (6): 8-11.
72. **Bocci VA.** Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Archives of medical research*, **2006**; 37(4) :425-435.
73. **Lynch E.** *Ozone: The Revolution in Dentistry*. Quintessence Publishing Company, **2005**.
74. **Kimbrough DR.** Ozone: molecule with a split personality. *ChemMatters*, **2001**.
75. **Solomon S.** Stratospheric ozone depletion: A review of concepts and history. *Reviews of Geophysics*, **1999**; 37(3) :275.
76. **Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M.** Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules. *Journal of endodontics*, **2004**; 30(11) :778-781.
77. **Ebensberger U, Pohl Y, Filippi A.** PCNA-expression of cementoblasts and fibroblasts on the root surface after extraoral rinsing for decontamination. *Dental traumatology : official publication of International Association for Dental Traumatology*, **2002**; 18(5) :262-266.
78. **Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T.** Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral microbiology and immunology*, **2004**; 19(4) :240-246.
79. **Celiberti P, Pazera P, Lussi A.** The impact of ozone treatment on enamel physical properties. *American journal of dentistry*, **2006**; 19(1) :67-72.

80. **Holmes J.** Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial. *Gerodontology*, **2003**; 20(2) :106-114.
81. **Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ.** Importance of high pKA acids in cariogenic potential of plaque. *Journal of dental research*, **1985**; 64(5) :786-792.
82. **Bocci V.** Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of inflammation*, **2004**; 13(1) :3-11.
83. **Baysan A, Whiley RA, Lynch E.** Antimicrobial effect of a novel ozone- generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries research*, 34(6) :498-501.
84. **Seidler V, Linetskiy I, Hubálková H, Stanková H, Smucler R, Mazánek J.** Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague medical report*, **2008**; 109(1) :5-13.
85. **Gupta G, Mansi B.** Ozone therapy in periodontics. *Journal of medicine and life*, **2012**; 5(1) :59-67.
86. **Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL.** Ozone therapy in medicine and dentistry. *The journal of contemporary dental practice*, **2008**; 9(4) :75-84.
87. **Garg R, Tandon S.** Ozone: A new face of dentistry. *The Internet Journal of Dental Science*, **2008**; 7(2).
88. **Loncar B, Mravak Stipetic M, Matosevic D, Tarle Z.** Ozone application in dentistry. *Archives of medical research*, **2009**; 40(2) :136-137.
89. **Virtej A, MacKenzie CR, Raab WH-M, Pfeffer K, Barthel CR.** Determination of the performance of various root canal disinfection methods after in situ carriage. *Journal of endodontics*, **2007**; 33(8) :926-929.
90. **Daif ET.** Role of intra-articular ozone gas injection in the management of internal derangement of the temporomandibular joint. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, **2012**; 113(6) :10-14.
91. **Agrillo A, Sassano P, Rinna C, Priore P, Iannetti G.** Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *The Journal of craniofacial surgery*, **2007**; 18(5) :1068-1070.
92. **Murakami H, Mizuguchi M, Hattori M, Ito Y, Kawai T, Hasegawa J.** Effect of denture cleaner using ozone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *E. coli* T1 phage. *Dental materials journal*, **2002**; 21(1) :53-60.
93. **Estrela C, Estrela CRA, Decurcio D de A, Silva JA, Bammann LL.** Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. *Brazilian dental journal*, **2006**; 17(2) :134-138.
94. **Case PD, Bird PS, Kahler WA, George R, Walsh LJ.** Treatment of root canal biofilms of *Enterococcus faecalis* with ozone gas and passive ultrasound activation. *Journal of endodontics*, **2012**; 38(4) :523-526.
95. **Cardoso MG, de Oliveira LD, Koga-Ito CY, Jorge AOC.** Effectiveness of ozonated water on *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, and endotoxins in root canals. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, **2008**; 105(3) :85-91.

96. **Kuştarci A, Sümer Z, Altunbaş D, Koşum S.** Bactericidal effect of KTP laser irradiation against *Enterococcus faecalis* compared with gaseous ozone: an ex vivo study. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, **2009**; 107(5) :73-79.
97. **Sorokina S, Lukinych L.** Ozone Therapy as a Part of a Complex Treatment of a Parodontium Disease. 2. *International Symposium on Ozone Applications Havana*, **1997**.
98. **Filippi A.** The effects of ozonized water on the epithelial wound healing . *Dtsch Zahnarzt Z*, **2001**;56: 104-108.
99. **Baysan A, Lynch E.** Clinical reversal of root caries using ozone: 6-month results. *American journal of dentistry*, **2007**; 20(4) :203-208.
100. **Petrucci MT, Gallucci C, Agrillo A, Mustazza MC, Foà R.** Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematologica*, **2007**; 92(9) :1289-1290.
101. **Ripamonti CI, Cislighi E, Mariani L, Maniezzo M.** Efficacy and safety of medical ozone (O(3)) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I-II study. *Oral oncology*, **2011**; 47(3) :185-190.
102. **Bocci V.** Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicology and applied pharmacology*, **2006**; 216(3) :493-504.
103. **Tager IB, Balmes J, Lurmann F, Ngo L, Alcorn S, Künzli N.** Chronic exposure to ambient ozone and lung function in young adults. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*, **2005**; 16(6) :751-759.
104. **Gomes BPFA, Jacinto RC, Pinheiro ET, Sousa ELR, Zaia AA, Ferraz CCR, Souza-Filho FJ.** Molecular analysis of *Filifactor alocis*, *Tannerella forsythia*, and *treponema denticola* associated with primary endodontic infections and failed endodontic treatment. *Journal of endodontics*, **2006**; 32(10) :937-940.
105. **Weisburg WG, Barns SM, Pelletier DA, Lane DJ.** 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of bacteriology*, **1991**; 173(2) :697-703.
106. **Chang Y-C, Tsai C-H, Yang S-H, Liu C-M, Chou M-Y.** Induction of cyclooxygenase-2 mRNA and protein expression in human gingival fibroblasts stimulated with nicotine. *Journal of periodontal research*, **2003**; 38(5) :496-501.
107. **Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Reit C.** *Textbook of Endodontology*: Wiley-Blackwell; **2010**.
108. **Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J.** Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral microbiology and immunology*, **1996**; 11(4) :266-273.
109. **Liu C, Song Y, McTeague M, Vu AW, Wexler H, Finegold SM.** Rapid identification of the species of the *Bacteroides fragilis* group by multiplex PCR assays using group- and species-specific primers. *FEMS microbiology letters*, **2003**; 222(1) :9-16.
110. **Baslé MF, Grizon F, Pascaretti C, Lesourd M, Chappard D.** Shape and orientation of osteoblast-like cells (Saos-2) are influenced by collagen fibers in xenogenic bone biomaterial. *Journal of biomedical materials research*, **1998**; 40(3) :350-357.

111. **Hallman M, Lundgren S, Sennerby L.** Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clinical implant dentistry and related research*, **2001**; 3(2) :87-96.
112. **Buser D, Hoffmann B, Bernard JP, Lussi A, Mettler D, Schenk RK.** Evaluation of filling materials in membrane--protected bone defects. A comparative histomorphometric study in the mandible of miniature pigs. *Clinical oral implants research*, **1998**; 9(3) :137-150.
113. **Pretorius JA, Melsen B, Nel JC, Germishuys PJ.** A histomorphometric evaluation of factors influencing the healing of bony defects surrounding implants. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 20(3) :387-398.
114. **Cabbar F, Güler N, Kürkcü M, Işeri U, Sençift K.** The effect of bovine bone graft with or without platelet-rich plasma on maxillary sinus floor augmentation. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, **2011**; 69(10) :2537-2547.
115. **Kürkcü M, Oz IA, Köksal F, Benlidayi ME, Güneşli A.** Microbial analysis of the autogenous bone collected by bone filter during oral surgery: a clinical study. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, **2005**; 63(11) :1593-1598.
116. **Lambrecht JT, Glaser B, Meyer J.** Bacterial contamination of filtered intraoral bone chips. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, **2006**; 35(11) :996-1000.
117. **Sivolella S, Berengo M, Scarin M, Mella F, Martinelli F.** Autogenous particulate bone collected with a piezo-electric surgical device and bone trap: a microbiological and histomorphometric study. *Archives of oral biology*, **2006**; 51(10) :883-891.
118. **Lynch E.** Comment on "The application of ozone in dentistry: A systematic review of the literature". *Journal of dentistry*, **2009**; 37(5) :406-410; author reply 411-412.
119. **Lynch E.** Evidence-based efficacy of ozone for root canal irrigation. *Journal of esthetic and restorative dentistry : official publication of the American Academy of Esthetic Dentistry . [et al]*, **2008**; 20(5) :287-293.
120. **Manzano-Moreno FJ, Herrera-Briones FJ, Linares-Recatala M, Ocaña-Peinado FM, Reyes-Botella C, Vallecillo-Capilla MF.** Bacterial contamination levels of autogenous bone particles collected by 3 different techniques for harvesting intraoral bone grafts. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, **2015**; 73(3) :424-429.
121. **Verdugo F, Castillo A, Moragues MD, Pontón J.** Bone microbial contamination influences autogenous grafting in sinus augmentation. *Journal of periodontology*, **2009**; 80(8) :1355-1364.
122. **Fating NS, Saikrishna D, Vijay Kumar GS, Shetty SK, Raghavendra Rao M.** Detection of Bacterial Flora in Orofacial Space Infections and Their Antibiotic Sensitivity Profile. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, **2014**; 13(4) :525-532.
123. **Celakovsky P, Kalfert D, Smatanova K, Tucek L, Cermakova E, Mejzlik J, Kotulek M, Vrbacky A, Matousek P, Stanikova L, Hoskova T.** Bacteriology of deep neck infections: analysis of 634 patients. *Australian dental journal*, **2015**; 60(2) :212-215.

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Adana’da doğdu. İlköğrenimini 1997 yılında Konya’da Hazım Uluşahin İlkokulu’nda, orta öğrenimini 2001 yılında Adana’da İsmail Safa Özler Anadolu Lisesi’nde ve lise öğrenimini 2004 yılında Karaman’da Karaman Milli Piyango Fen Lisesi’nde tamamladı. 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden mezun oldu. Yaklaşık bir yıl Adana’da özel bir poliklinikte diş hekimliği yaptı. 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde doktora eğitimine başladı. 2014 yılında Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı’na araştırma görevlisi olarak atandı. Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nde görevli olduğu süreç içerisinde klinik ve akademik çalışmalarda yer aldı. 2014 yılında Büşra POLAT KEÇELİ ile evlenerek hayatını birleştirdi.

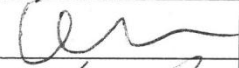
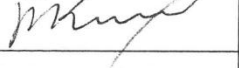
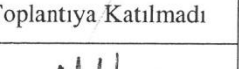
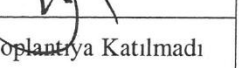
EKLER

Ek 1: Etik Kurulu Onay Formu

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Toplantı Sayısı		Tarih
18		4 Nisan 2013

KARAR NO 6- Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nın ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nın bilimsel işbirliğiyle, Yrd. Doç. Dr. Emre Benlidayı yönetiminde, Doç. Dr. Mehmet Kürkcü'nün, Prof. Dr. Sait Polat'ın, Araş. Gör. Leman Sencar'ın, Prof. Dr. Fatih Köksal'ın, Araş. Gör. Melda Meral'in katkılarıyla, Dt. Onur Keçeli tarafından yürütülmesi öngörülen, "Kemik Toplayıcı ve Kemik Kazıyıcı ile Toplanan Otojen Kemik Greftine Ozon Gazının Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı doktora tez projesi araştırma etiği yönünden değerlendirildi. Toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN	Doç Dr Selim Kadioğlu Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	
ÜYELER	Prof Dr Mülkiye Kasap Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	
	Prof Dr Dinçer Yıldızdaş Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Prof Dr Mehmet Kanadaşı Kardiyoloji Anabilim Dalı	
	Doç Dr Gürhan Sakman Genel Cerrahi Anabilim Dalı	
	Doç Dr Gülşah Seydaoğlu Biyoistatistik Anabilim Dalı	
	Doç Dr Suat Gezer Göğüs Cerrahisi Anabilim Dalı	Toplantıya Katılmadı
	Av. Zehra Bulut Hukukçu Üye	
	Dr Neşe Kayrın Kurum Dışı Üye	Toplantıya Katılmadı

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, Balcalı 01330 Adana
Telefon: 0322 338 60 60 dahili 3465, Faks: 0322 338 67 22

Ek 2: Hasta Onam Formu

HASTA ONAM FORMU

Bu bilimsel araştırmada alt çenenizde tamamen kemik içerisinde gömülü olan ve çekilmesi gereken yirmi yaş dişlerinizin çekilmesi esnasında normal şartlarda dişe ulaşmak için uzaklaştırılan ve aspiratör yardımıyla emilen kemik dokusu kemik kazıyıcı ve kemik toplayıcı aracılığıyla toplanacaktır. Toplanan kemik dokusu üzerinde mikrobiyolojik ve histolojik incelemeler yapılacaktır. Kemiğın bu yöntemler ile toplanmasının yapılacak olan diş çekimleri üzerinde olumlu veya olumsuz bir etkisi yoktur.

Araştırmaya katılıp katılmama konusunda serbestsiniz ve katılmayı kabul etmezseniz tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. Katılmayı kabul ederseniz bunun için size ek bir ödeme yapılmayacak veya ek bir ücret talep edilmeyecektir. Kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Elde edilen veriler bilimsel amaç için kullanılacaktır.

Yukarıda yazılanları okudum ve anladım. Kendi isteğimle araştırmaya katılmayı kabul ediyorum.

Hasta Adı Soyadı:

Dr. Adı Soyadı:

Hasta Velisi Adı Soyadı:

Tarih:

Tarih:

İmza:

İmza: