

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI



DENEYSEL SEPTİK ARTRİT MODELİNDE EKLEM KIKIRDAĞI HASARI  
ÜZERİNE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN OZONUN ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

DR. MERT KARSLI

TEZ DANIŞMANI  
DR. ÖĞR. ÜYESİ GÜRDAL NUSRAN

ÇANAKKALE / 2023



**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SEPTİK ARTRİT MODELİNDE EKLEM KIKIRDAĞI HASARI**  
**ÜZERİNE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN OZONUN ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MERT KARSLI**

**ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZİN SUNULDUĞU TARİH: 22/12/2023**

**TEZ DANIŞMANI**

**DR. ÖĞR. ÜYESİ GÜRDAL NUSRAN**

**ÇANAKKALE / 2023**

## TEŞEKKÜR

Zorlu ve yorucu asistanlık yolcuğumda bana her zaman destek olan, bugünlere gelebilmemde büyük emekleri olan ve hayatın her anında yanımda hissettiğim canım annem, babam, ablam, tüm Karslı ailesi ve yakın arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç biliyor ve fazlasıyla emek vererek yazdığım uzmanlık tezimi onlara hediye ediyorum.

Uzmanlık eğitimim süresince, ortopedi ile ilgili bana kattığı mesleki becerilerin yanında tez çalışmam sırasında bilgi ve becerisiyle bana destek olan tez danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Gürdal Nusran hocama teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca uzmanlık eğitimimdeki süreçte bana her zaman ve her konuda iyi yönde örnek olan ve teorik ve pratik eğitimimde büyük emekleri olan, aynı zamanda ortopedi branşını sevdirmekle kalmayıp çoğu zaman bir hocadan çok abi yaklaşımı içinde olan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Hüseyin Yener ERKEN, Doç. Dr. Burak KAYMAZ, Doç. Dr. Ali BİLGE, Doç. Dr. Tolgahan KURU, Dr. Öğr. Üyesi Gürdal NUSRAN, Dr. Öğr. Üyesi Sedit Kıvanç MURATLI ve Dr. Öğr. Üyesi Kubilay Uğurcan CERİTOĞLU'na teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Asistanlık sürecimde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen, teorik ve pratik eğitimimde katkıları olan her daim saygıyla hatırlayacağım uzman abilerim Dr. Onur YILMAZ ve Dr. Ali Osman TAŞOVA'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Asistanlık sürecimde günün büyük kısmını birlikte geçirdiğim, gecesini gündüze katarak birlikte çalıştığım, her zaman abi kardeş gibi olduğum ve sevgiyle hatırlayacağım asistan arkadaşlarım Dr. Doğukan Anapa, Dr. Görkem Çıkrıkçıoğlu, Dr. Kerem Arda Mirel, Dr. Özgün Özarı, Dr. Çağrı Şataflı, Dr. Berna Kuru, Dr. Zeynep Pasin Efe, Dr. Kubilay Mert Binici, Dr. Onur Zengin, Dr. Furkan Uslu, Dr. Burak Efe, Dr. Mahmut Bali ve Dr. Ramazan Akelma'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca hayvan deneyi laboratuvarındaki yardımlarından dolayı Sait Elmas'a ve Ufuk Demir'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca mikrobiyoloji alanındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Alper Akçalı ve Dr. Ayça Bayrak'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu alışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: **TTU-2022-4291**

Mert Karlı  
anakkale, Aralık 2023



## ÖZET

### DENEYSEL SEPTİK ARTRİT MODELİNDE EKLEM KIKIRDAĞI HASARI ÜZERİNE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN OZONUN ETKİLERİ

Dr. Mert KARSLI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gürdal Nusran

İkinci Danışman: Prof. Dr. Hüseyin Yener ERKEN

22 /12/ 2023

**Amaç:** Çalışmanın amacı ratların diz eklemlerinde septik artrit oluşturduktan sonra meydana gelen eklem kıkırdağı hasarına intraartiküler uygulanan ozonun etkilerini histopatolojik yöntemle araştırmaktır.

**Materyal ve Metod:** Çalışma şartlarına uygun ortalama ağırlığı 300-350 gram olan Wistar Albino cinsi, 5-7 aylık 40 adet erkek rat çalışmaya alındı. Hayvanlarımızı seçmeden rastgele 8'erli olacak şekilde 5 adet gruba ayırdık. 1. grup kontrol grubu(K), 2. Grup debridman grubu(D), 3. grup antibiyotik grubu(AB), 4. Grup ozon grubu(O), 5. Grup ozon-antibiyotik grubu (OAB) olarak belirlendi. Ardından septik artrit oluşturulacak tüm hayvanlara(kontrol grubu hariç)  $1,5 \times 10^4$  cfu/ml yoğunluğundaki bakteriler insülin enjektörü yardımıyla 0,1 ml miktarında lateral portalden diz eklem içine verildi. Ardından klinik değerlendirmeler sonucunda septik artrit tanısı konuldu. Bakteri inokülasyonundan sonraki 7. Günde cerrahi müdahaleye başlandı ve D grubuna debridman+yıkama(günümüzde uygulanan geleneksel tedavi metodu) yaptık. AB grubuna debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak 7 gün süreyle her gün verilmek kaydıyla 75mg/kg dozunda antibiyotik(Sefazolin Sodyum) intramusküler yoldan verildi. O grubuna debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak haftada bir kez 3 hafta boyunca (1. Hafta, 2. Hafta ve 3. Haftada) intraartiküler ozon(20 µg/mL) uygulandı. OAB grubuna ise debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak 7 gün süreyle her gün verilmek kaydıyla 75mg/kg dozunda antibiyotik(Sefazolin Sodyum) intramusküler yoldan verildi ve yine ilave olarak haftada bir kez 3 hafta boyunca (1. Hafta, 2. Hafta ve 3. Haftada) intraartiküler ozon(20 µg/mL) uygulandı. Ratların hepsinin 2. ayın sonunda klinik değerlendirmeleri yapıp sakrifikasyonu gerçekleştirildi. Bu klinik değerlendirme

yapılırken diz eklemindeki septik artrit etkilerinin şiddetini belirlemek için artritik indeks denilen bir skorlama sistemi kullanıldı. Histopatolojik incelemede ise; kıkırdak hasarının ciddiyetini değerlendirmek için Salter ve arkadaşlarının geliştirdiği skorlama sistemi kullanıldı.

**Bulgular:** Tüm boyamaların ve artritik indeksin sonuçlarına bakıldığında K grubu ile D grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması bütün ratların dizlerinde septik artrit oluşturup kıkırdak hasarı oluşturabildiğimizi göstermektedir. Fizik muayene ve klinik değerlendirmelere göre yaptığımız artritik indeks sonuçlarında K grubunun diğer tüm gruplara göre arasında istatistiksel olarak anlamlı farkı vardı. O grubu D grubu ile kıyaslandığında artritik indeks değerleri daha düşük görülmüş ve bu değerler istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. O ile AB grubunun artritik indeksleri birbirine yakın olup istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. OAB grubunun artritik indeksi en düşük bulunmuştur ve OAB grubunun diğer tüm gruplara göre artritik indeksi karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Tüm boyamalarda ve tüm skorlarda en yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi. Tüm boyamalarda grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p<0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı.

**Çıkarımlar:** Tüm boyamaların ve artritik indeksin sonuçlarına bakıldığında; ozon grubunun antibiyotik grubuna çok yakın sonuçlar elde etmesi ve ayrıca ozon grubunun debridman grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması ozonun S. Aureus tipi septik artrit sonrası gelişen kıkırdak hasarını azaltmada etkili olabileceğini düşündürmektedir. OAB grubunun ise en düşük artritik indekse sahip olması ve Salter skorlamasına göre de bütün boyamalarda en düşük skora sahip olması ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımının kıkırdak hasarını azaltmada ve eklem enfeksiyonunu engellemede sinerjistik etki yarattığını göstermektedir ve bu da bize S. Aureus tipi septik artrit sonrasında gelişebilecek kıkırdak hasarlarında antibiyotik ile birlikte eklem içi ozon uygulamasının kullanılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Deneysel Septik Artrit Modeli, Kıkırdak Hasarı, Ozon

## ABSTRACT

### EFFECTS OF INTRAARTICULAR OZONE ON ARTICULAR CARTILAGE DAMAGE IN AN EXPERIMENTAL SEPTIC ARTHRITIS MODEL

Dr. Mert KARSLI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gürdal Nusran

İkinci Danışman: Prof. Dr. Hüseyin Yener ERKEN

22 /12/ 2023

**Purpose:** The aim of the study was to investigate the effects of intra-articular ozone on articular cartilage damage after septic arthritis in the knee joints of rats by histopathologic method.

**Materials and Methods:** Forty male rats of Wistar Albino breed with an average weight of 300-350 grams and 5-7 months of age were included in the study. We randomly divided the rats in our animal experiment study into 5 groups of 8. The 1st group was determined as control group (K), 2nd group as debridement group (D), 3rd group as antibiotic group (AB), 4th group as ozone group (O), 5th group as ozone-antibiotic group (OAB). Then, bacteria with a density of  $1.5 \times 10^4$  cfu/ml were administered to all animals (except the control group) with the help of an insulin syringe into the knee joint through the lateral portal in an amount of 0.1 ml, and septic arthritis was diagnosed as a result of clinical evaluations. Surgical intervention was started on the 7th day after bacterial inoculation and debridement+washing (the traditional treatment method applied today) was performed in the D group. AB group underwent debridement+washing and in addition, antibiotic (Cefazolin Sodium) was administered intramuscularly at a dose of 75mg/kg every day for 7 days. In the O group, debridement+washing was performed and intraarticular ozone (20 µg/mL) was administered once a week for 3 weeks (Week 1, Week 2 and Week 3). In the OAB group, debridement+washing was performed and antibiotic (Cefazolin Sodium) was given intramuscularly at a dose of 75 mg/kg for 7 days and intra-articular ozone (20 µg/mL) was applied once a week for 3 weeks (Week 1, Week 2 and Week 3). All rats were sacrificed after clinical evaluation at the end of the 2nd month. During this clinical evaluation, a scoring



system called arthritic index was used to determine the severity of the effects of septic arthritis in the knee joint. In histopathologic examination, the scoring system developed by Salter et al. was used to assess the severity of cartilage damage.

**Results:** When the results of all staining and arthritic index were analyzed, the statistically significant difference between the K group and the D group showed that we were able to cause septic arthritis and cartilage damage in the knees of all rats. In the results of the arthritic index, which we performed according to physical examination and clinical evaluations, there was a statistically significant difference between the K group compared to all other groups. When O group was compared with D group, arthritic index values were lower and these values were statistically significant. The arthritic indices of the O and AB groups were close to each other and there was no statistically significant difference between them. The arthritic index of the OAB group was the lowest and a statistically significant difference was found when the arthritic index of the OAB group was compared to all other groups. The highest (i.e., the worst) score in all stains and all scores was obtained in the D group, while the lowest (i.e., the best) score was obtained in the OAB group. The scores of the O and AB groups were close to each other. Statistical analysis of the scores of the groups in all stainings showed a highly significant ( $p < 0.001$ ) damage in the D group, while the application groups AB, O and OAB significantly ( $p < 0.05$ ) reduced the damage, respectively.

**Conclusions:** When the results of all stainings and arthritic index were analyzed, the fact that the ozone group obtained very close results to the antibiotic group and there was a statistically significant difference between the ozone group and the debridement group suggests that ozone may be effective in reducing cartilage damage after S. Aureus type septic arthritis. The fact that the OAB group had the lowest arthritic index and had the lowest score in all stains according to Salter scoring shows that the combined use of ozone and antibiotics creates a synergistic effect in reducing cartilage damage and preventing joint infection, and this suggests that intra-articular ozone application together with antibiotics can be used in cartilage damage that may develop after S. Aureus type septic arthritis.

**Keywords:** Experimental Septic Arthritis Model, Cartilage Damage, Ozone

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	ii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
TABLolar DİZİNİ .....	xiii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
BÖLÜM 2.....	2
GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 SEPTİK ARTRİT .....	2
2.1.1. TANIM .....	2
2.1.2. EPİDEMİYOLOJİ .....	2
2.1.3. PATOFİZYOLOJİ .....	2
2.1.4.KLİNİK DEĞERLENDİRME .....	3
2.1.5. RİSK FAKTÖRLERİ.....	4
2.1.6.TANI .....	5
2.1.7.TEDAVİ .....	8
MEDİKAL YÖNETİM .....	8
CERRAHİ YÖNETİM.....	10
2.1.8. PROGNOZ.....	12
2.2. OZON .....	12
2.2.1. OZON TEDAVİSİ ETKİ MEKANİZMALARI .....	13
2.2.2. OZON TEDAVİSİNİN ENDİKASYONLARI VE KONTRENDİKASYONLARI .....	15
2.2.3. DİZ OSTEOARTRİTİNDE OZON TEDAVİSİ .....	17
2.2.4. OZON TEDAVİSİNİN DİĞER KAS İSKELET SİSTEMİ HASTALIKLARINDA KULLANIMI	19
BÖLÜM 3.....	21
GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. HAYVANLAR VE ÇALIŞMA GRUPLARI.....	21
3.2. SEPTİK ARTRİT OLUŞTURACAK ETKENİN HAZIRLANMASI .....	21

3.3. BAKTERİYEL İNOKÜLASYON .....	22
3.4. SEPTİK ARTRİT TANISININ KONULMASI .....	23
3.5. OZON UYGULAMASI .....	24
3.6. CERRAHİ TEDAVİYLE DEBRİDMAN-YIKAMA, ANTİBİYOTİK VE OZON UYGULANMASI .....	25
3.7. RATLARA UYGULANAN CERRAHİ TEDAVİ SONRASINDA TAKİP .....	28
3.8. FİZİK MUAYENE VE KLİNİK DEĞERLENDİRME .....	28
3.9. RATLARIN SAKRİFİKASYONU .....	28
3.10. HİSTOPATOLOJİK ÇALIŞMA.....	29
3.11. İSTATİKSEL ÇALIŞMA .....	30
BÖLÜM 4.....	31
BULGULAR .....	31
4.1. FİZİK MUAYENE VE KLİNİK DEĞERLENDİRMEYE GÖRE ARTRİTİK İNDEKS SONUÇLARI .....	31
4.2. HİSTOPATOLOJİK VE İSTATİKSEL BULGULAR .....	33
BÖLÜM 5.....	48
TARTIŞMA .....	48
BÖLÜM 6.....	57
ÇIKARIMLAR VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR .....	59

## KISALTMALAR

O3	Ozon
ÖÇB	Ön Çapraz Bağ
WBC	Beyaz Kan Hücresi
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
RA	Romatoid Artrit
Ark	Arkadaşları
cfu	Colony forming unit
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
ESR	Sedimentasyon
CRP	C – Reaktif Protein
WCC	Beyaz Hücre Sayımı
IL	İnnterlökin
MRSA	Metisilin Dirençli Staphilococcus Aureus
MSSA	Metisilin Duyarlı Staphilococcus Aureus
SF	Serum Fizyolojik
ROS	Reaktif Oksijen Ürünleri
LOP	Lipid Peroksidaz Ürünleri
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
H2O2	Hidrojen Peroksit
HNE	Hidroksi hekzenal
ÇOMÜ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
K	Kontrol Grubu
D	Debridman Grubu
O	Ozon Grubu
AB	Antibiyotik Grubu
OAB	Ozon + Antibiyotik Grubu
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ARE	Antioksidan yanıt elementleri
Keap-1	Kelch benzeri ECH ilişkili protein
Nrf2	Nükleer faktör eritroid 2 ilişkili faktör
HE	Hematoksilen Eozin Boyası
PAS	Periyodik Asit Schiff Boyası
MT	Masson Trikrom Boyası
SAO	Safranin O Boyası
SD	Standart Deviasyon
ORT	Ortalama Değer
NS	Normal Sonuç
IFN	İnterferon
TNF	Tümör Nekroz Faktör
LBP	Low Back Pain
KOOS	Diz Yaralanması ve Osteoartrit Sonuç Analizi

HIF  
SOX  
OA  
VAS

Hipoxia İnducible Faktör  
SRV Related HMG Box  
Osteoartrit  
Vizüel Analog Skala



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Tıbbi ozon jeneratörü .....	13
Şekil 2. Ozon (O <sub>3</sub> ) oluşum mekanizması ve oksidatif strese dahil olan hücre içi yollar... 15	15
Şekil 3. Ozon tedavisinin ana uygulama yolları..... 17	17
Şekil 4. Koyun kanlı agarda bakterilerin görülmesi..... 22	22
Şekil 5. 1,5x10 <sup>4</sup> cfu/ml yoğunluğundaki bakterinin lateral portalden diz eklemine verilışı 23	23
Şekil 6. Koyun kanlı agarda besiyerlerinde bakteriyel üremenin görülmesi ..... 24	24
Şekil 7. Tıbbi Ozon Jeneratörü..... 24	24
Şekil 8. Diz eklemine yapılan cilt insizyonu..... 25	25
Şekil 9. Cilt insizyonu sonrası artrotomi yapılarak eklem görülmüşü ..... 26	26
Şekil 10. Enfekte diz eklemine serum fizyolojik ile yıkanması..... 26	26
Şekil 11. Eklem kapsülünün suturezasyonu..... 27	27
Şekil 12. Cildin suturezasyonu ..... 27	27
Şekil 13. Cerrahi öncesi ratların sağ dizlerindeki şişlik ve kızarıklık..... 31	31
Şekil 14. Sakrifikasyondan hemen önce D grubundaki bir ratın dizindeki şiddetli şişlik... 32	32
Şekil 15. Sakrifikasyon sonrası D grubundaki bir ratın eklem görüntüsü(fibröz ankilöz,yapışıklık, pannus ve hipertrofik kapsül)..... 33	33
Şekil 16. HE boyamalarda eklem kırırdağının normal hali olarak kırırdağ yüzeyi düzenli, hücre dağılımı ve kalınlık normal izlendi. Patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler gözlemlendi (HE, 200). ..... 34	34
Şekil 17. MT boyamalarda eklem kırırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler izlendi (HE, 200). ..... 37	37
Şekil 18. PAS boyamalarda eklem kırırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler (HE, 200). ..... 40	40
Şekil 19. SAO boyamalarda eklem kırırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler (HE, 200). ..... 43	43

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Septik Artritin Görülme Sıklığını Artıran Faktörler.....	4
<b>Tablo 2.</b> Sinovyal sıvı analizi.....	7
<b>Tablo 3.</b> Septik Artrit Tedavisinde Organizmaya Göre Antibiyotik Tedavi Rejimi .....	9
<b>Tablo 4.</b> Diz Septik Artritte Gachter Sınıflandırması.....	11
<b>Tablo 5.</b> Salter histolojik-histokimyasal skorlama sistemi (Salter, 1981).....	29
<b>Tablo 6.</b> Gruplardaki artritlik indeks puanına göre rat sayısı.....	32
<b>Tablo 7.</b> HE (Hücresele durum) boyamada grupların ortalama skorları.....	35
<b>Tablo 8.</b> HE (Hücresele durum) boyamada grupların istatikselle ortalamları .....	35
<b>Tablo 9.</b> HE (Hücresele durum) boyamada grupların istatistiği .....	36
<b>Tablo 10.</b> MT (Matriks hasarı) boyamada grupların ortalama skorları.....	38
<b>Tablo 11.</b> MT (Matriks hasarı) boyamada grupların istatikselle ortalamları .....	38
<b>Tablo 12.</b> MT (Matriks hasarı) boyamada grupların istatistiği .....	39
<b>Tablo 13.</b> PAS boyamada grupların ortalama skorları .....	41
<b>Tablo 14.</b> PAS boyamada grupların istatikselle ortalamları .....	41
<b>Tablo 15.</b> PAS (Kondrosit klonlanması) boyamada grupların istatistiği.....	41
<b>Tablo 16.</b> SAO (Adhezyon) boyamada grupların ortalama skorları .....	43
<b>Tablo 17.</b> SAO (Adhezyon) boyamada grupların istatikselle ortalamları.....	44
<b>Tablo 18.</b> SAO (Adhezyon) boyamada grupların istatistiği.....	44
<b>Tablo 19.</b> Tüm boyamaların skorları ve ortalamları.....	45
<b>Tablo 20.</b> Tüm boyamaların istatikselle ortalamları .....	46
<b>Tablo 21.</b> Tüm boyamalarda grupların istatistiği .....	46
<b>Tablo 22.</b> Grup ortalamları ve standart sapmaları .....	47
<b>Tablo 23.</b> Kontrol grubunun diğere gruplarla istatikselle karşılaştırılması.....	47
<b>Tablo 24.</b> Debridman, Antibiyotik, Ozon ve Ozon+Antibiyotik gruplarının istatikselle karşılaştırılması.....	47

# BÖLÜM 1

## GİRİŞ VE AMAÇ

Septik artrit, eklemden bir veya birkaç patojenik mikroorganizmanın varlığından kaynaklanan eklem inflamasyonudur. Tedavi gecikmesi eklem hasarının artmasına ve yüksek mortaliteye yol açacağı için tanının hızlıca konması gerekir (1, 2).

Septik artrit insidans oranları giderek artmaktadır; örneğin dizdeki septik artrit insidansı 20. yüzyılın ikinci yarısından bu yana beş kat arttı (3) ve multi- dirençli patojenler septik artritte daha fazla rol almaya başlamıştır (4, 5). Septik artrit insidansının artmasından dolayı tedavisiyle ilgili araştırmalar sıklaşmıştır ve öncelikle hayvan modellerinde test edilmesi gereken yeni tedavi alternatiflerinin araştırılması önemlidir.

Tıbbi O<sub>3</sub>, saf tıbbi oksijenin belirli bir akımda yüksek elektrik voltajına tabi tutulmasıyla elde edilir. Ozon toksik bir oksidan gaz olması sebebiyle tedavide kullanımı yıllarca sorgulanmıştır. Ancak; doza bağımlı olarak birçok etkisi bulunmuş ve uzun süredir tedavide kullanılmaktadır. Ozon tedavisi artık birçok hastalıkta güvenli bir şekilde kullanılabilir. Bu hastalıklardan bazıları osteoartrit, lomber herni, miyokard enfarktüsü ve bazı vasküler hastalıklardır. Ozonun antibiyotik tedavisiyle birlikte kullanımında enfektif ve bulaşıcı hastalıkların tedavisinde katkı sağlayacağından bahsedilmektedir. Eklem içi uygulanan ozonun (10 µg/m<sup>2</sup>) osteoartritli ratların dizlerinde dejenerasyon sürecini yavaşlattığını ve kıkırdak hasarını azalttığını gösteren bir çalışma yapılmıştır (6). Ozonun antimikrobiyal etkileri olduğuna dair çalışmalar da yapılmıştır (7).

Bu çalışmada diz ekleminde gelişen septik artritte intraartiküler uygulanan ozonun kıkırdak hasarı üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. İntraartiküler uygulanan ozonun, antibiyoterapiye göre kıkırdak hasarını engellemede birbirine üstünlüğünün olup olmadığı ve intraartiküler uygulanan ozonun antibiyotik tedavisiyle birlikte kullanımında kıkırdak hasarını engellemede sinerjistik etki yapıp yapmadığını da araştırmayı amaçlamaktayız. Septik artrit sonrasında gelişen eklem kıkırdağı harabiyetini engellemek için birçok çalışma yapılmış ve birçok tedavi yöntemi mevcuttur. Bu çalışmalar ışığında ve literatür taramalarında ozonun antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri ile septik artrit sonrasında gelişecek olan eklem kıkırdağı harabiyetini azaltacağı kanaatindeyiz. Bu kanatimizden dolayı ratların diz ekleminde enfeksiyon oluşturduktan sonra kıkırdak hasarı yarattık ve tedavide eklem içine uygulanan ozonun etkilerini görmeyi amaçladık.



## **BÖLÜM 2**

### **GENEL BİLGİLER**

#### **2.1. Septik Artrit**

##### **2.1.1. Tanım**

Eklem kapsülünün iltihaplanmasına septik artrit denir. Septik artrit bakteri, mikobakteri, virüs ve mantarlardan kaynaklanabilir. Septik artrit ayrıca piyojenik artrit, pürülan artrit veya pirartroz olarak da adlandırılabilir. Etiyolojiden en çok bakteriyel enfeksiyonlar sorumludur (8). Septik artrit şişlik, kızarıklık, ısı artışı yaratan ve pürülan sıvının arttığı eklemlere yol açan enfektif bir hastalıktır. Bakteriler eklem farklı şekillerde girer. Bakteriler çoğu zaman vücudun başka bir kısmından hematojen yolla eklemlere ulaşır. Septik artrit bazen eklem hasarına ve uzun süreli eklem sorunlarına yol açar (8, 9).

##### **2.1.2. Epidemiyoloji**

Genel popülasyonda yıllık septik artrit insidansı, yılda 100.000 kişide yaklaşık 2 ila 10 vaka olarak bildirilmiştir (10). Romatolojik hastalıkları olan(RA,SLE), artroplasti cerrahisi öyküsü olan, diabetes mellitus ve immünsüpresif ilaç kullanım öyküsü olan hastalarda septik artrit insidansı daha yüksektir (11, 12). Staphylococcus aureus, septik artrite en çok sebep olan patojendir, sonrasında gram-pozitif patojenler, özellikle de streptokok türleri sebep olur (13, 14). Özellikle intravenöz ilaç kullanımı öyküsü olan hastalarda septik artrit etkeni olarak atipik bakteri ve mantarları düşünmek gerekir (13).

##### **2.1.3. Patofizyoloji**

Dizdeki akut septik artrit hematojen yolla, direkt inokülasyon şeklinde, komşu bir enfeksiyon kaynağından yayılma ve iatrojenik inokülasyon ile gelişebilir (13, 15-17).

Septik artrit en yaygın gelişme mekanizması olan hematojen inokülasyon, bakteri ve bakteri yüklü fagositlerin sinovyal membrana yerleşmesiyle ortaya çıkar. Sinovyal membran bağ, vasküler ve lenfatik dokulardan oluşan karmaşık bir ağıdır (8). Kan damarları membrana girer ve sinovyumun en iç tabakası olan anastomotik pleksusu oluşturmak üzere dallanır (18). Sinovyal intimanın damarları bazal membrandan yoksun olduğundan büyük moleküllerin geçişine izin verir. Sinovyal membranın vasküleritesinin yoğunluğu bu filtrasyon işleminin gerçekleşmesini sağlar. Bazal membranın olmayışı ve yoğun vaskülerite aynı zamanda sinovyal membranın kan dolaşımıyla sürekli iletişim halinde olduğu anlamına

da gelir. Bu özelliklerden dolayı, bakteriyemi durumlarında bakteri yüklü fagositlerin sinovyuma geçişine izin verebileceği teorik olarak öne sürülmektedir (8, 15). Geçtiğimiz on yıldaki son literatür, septik artrit patogenezinde sinovyal lenfatik sistemin bir rolü olduğunu ileri sürmektedir (19). Lenfatik sistemdeki hücrelerin ve makromoleküllerin artan akışı, interstisyuma sızıntıya yol açarak eklem efüzyonlarına ve septik artritte gözlenen yüksek basınçlara neden olabilir. Kalıcı inflamasyon; lenf damarlarında hasara, lenf düğümü çökmesine ve sonunda şiddetli sinovit ve eklem hasarına neden olabilir (19).

Bakteriler eklem içine girdiğinde, sinovyal sıvı bakteriler için uygun bir kültür ortamı görevi görür. Diz eklemine doğrudan inokülasyonu travmatik veya iyatrojenik diz penetrasyonu sonucunda görülür. Artrosentez, intraartiküler enjeksiyonlar ve artroskopik prosedürlerin ardından iyatrojenik inokülasyon meydana gelebilir (16, 20). Geirsson ve ark. artroskopiden sonra %0,14 ve artrosentez sonrası ise %0,037'lik bir septik artrit görülme sıklığı bildirmiştir (21). Örneğin ön çapraz bağ (ÖÇB) rekonstrüksiyonu, Geirsson ve ark.'nın çalışmasında bildirilen orana uygun olarak tahmini %0,14 riskle septik artritle sonuçlanan patojenleri tanıtabilir (21, 22).

Sinoviyal membran enfekte olunca immün sistem hücreleri toplanır ve bu hücreler eklem boşluğuna proinflamatuvar faktörün salınmasına neden olur. Bu da diz eklemine şişlik, kızarıklık ve ağrıya sebep olur. Bağışıklık tepkisi devam ettikçe sinovyal hücreler proteolitik enzimler salgılamaya başlar (23). Kıkırdak hasarı enfeksiyondan 8 saat sonra ortaya çıkmaya başlar (24). Bu yıkıcı süreç ilerledikçe, inokülasyonun ardından 5. günde proteoglikanlar parçalanır ve kollajen 9. günde parçalanır (25). Enfeksiyon ilerledikçe, eklem içi basınç yükselir, bu da sinovyal vaskülatürün sıkışmasına ve trombozlaşmasına ve eklem kıkırdağının daha fazla tahrip olmasına neden olur (26).

#### **2.1.4.Klinik Değerlendirme**

Yetişkinlerde diz septik artritinin ortaya çıkışı genellikle subakuttur ve teşhis edilmesi zor olabilir. Tanı için altın standart laboratuvar değerlerinin yanısıra muayene eden hekimin klinik şüphesine de dayanmaktadır (27). Muayene eden hekimin ayrıntılı bir anamnez alması tanı için kritiktir. Tipik belirti ve semptomlar arasında muayenede sınırlı ve şiddetli ağrılı aktif ve pasif hareketle birlikte sıcak, şiş ve hassas bir diz yer alır (27, 28).

### 2.1.5. Risk Faktörleri

Septik artritın görülme sıklığını artıran faktörler >60 yaş, yakın tarihte sepsis öyküsü, diyabet, kemoterapi veya immünsüpresif tedavi gerektiren malignite, siroz, böbrek hastalığı, uyuşturucu veya alkol bağımlılığı, kortikosteroid enjeksiyonu öyküsü, uzun süreli kortikosteroid tedavisi, metilprednizolon alınmasını gerektiren dirençli sinüzit, yakın tarihte diş ile ilgili işlem yapılması veya dövme, genital travma ve artroplasti cerrahileridir (Tablo1)(12, 27, 29). Özellikle önemli olan, romatoid artritli hastaların septik artrit riskiyle karşı karşıya olmasıdır; bu risk genel popülasyona göre 4 ila 15 kat daha fazladır; Bu artan risk, hastalık sürecinin kendisi ile olduğu kadar onu tedavi etmek için kullanılan immünosüpresif tedavilerle de ilişkili olabilir (12, 17).

**Tablo 1.** Septik Artritın Görülme Sıklığını Artıran Faktörler

>60 yaş	Madde-ilaç bağımlılığı (drug abuse)
Yakın tarihte sepsis öyküsü	Alkol bağımlılığı
Travma veya artroplasti cerrahisi	Kronik prostatit
Steroid enjeksiyonu	Uzun süreli kortikosteroid tedavisi (astım,KOAH)
RA	Diyabet
Malignite (son 1 yıl içinde kemoterapi veya immunosüpresif kullanımı)	Metilprednizolon alınmasını gerektiren ınatçı sinüzit
Azalmış bağışıklık(anti tümör nekroz faktör tedavisi)	Yakın tarihte diş ile ilgili işlem yaptırılması
Siroz	Yakın tarihte dövme yaptırılması
Renal hastalık	Genital bölgeye travma

### 2.1.6. Tanı

Gut, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, akut septik artrit taklit edebilir ve fizik muayenede dizde şişlik, kızarıklık, ısı artışı ve efüzyon görülebilir (30). İlk değerlendirme öykü, fizik muayene, görüntüleme ve kan kültürlerini içeren laboratuvar çalışmaları ile başlamalıdır. Yüksek klinik şüphe varlığında, eklem aspirasyonu yapıp sinovyal sıvı analizi yapmak gerekir (8, 12). Özellikle kristal veya pıhtı varlığında gram boyama mikroskopunda yanlış negatif sonuçlar yüksek oranda bildirildiği için, tanı için bulgu ve semptomların bütünsel bir analizi gereklidir (31). Eğitimli personel mevcutsa, yanlış negatif aspirasyondan şüphelenilen vakalarda tanısal verimliliği artırmak için ultrason eşliğinde sinovyal biyopsi kullanılabilir (32).

Septik artrit düşünülen her hastada iyi bir fizik muayene ile birlikte ayrıntılı anamnez alınmalıdır. Dermisin ve subdermal ortamın herhangi bir ihlaline (piercing gibi), muayene sırasında dikkat edilmesi önemlidir. Couderc ve ark. şüphelenilen septik artritte klinik belirtilerin duyarlılığını, özgüllüğünü ve laboratuvar değerlerini belirlemek için prospektif bir çalışma gerçekleştirdi (33). Bulgularının çok değişkenli bir analizi, hiçbir klinik bulgunun veya laboratuvar testinin (pozitif sinovyal sıvı kültürü hariç) tek başına septik artrit tanısı koymada kesin sonuç vermediğini ortaya çıkardı. Çeşitli faktörlerin (klinik, laboratuvar ve radyografik) birlikteliğinin septik artrit düşündürecek şekilde bir araya gelebileceği ve gelecekteki prospektif çalışmaların septik artrit olasılığını tahmin etmek ve tedaviyi yönlendirmek için bir skor oluşturulmasına yardımcı olabileceği sonucuna vardılar.

Klinisyenin septik artrit tanısına yardımcı olacak bir dizi görüntüleme yöntemi vardır. Tam bir teşhis için ilgili eklem ortogonal radyografileri çekilmelidir. Septik artritteki erken değişiklikler arasında efüzyon, eklem aralığında genişleme ve yumuşak doku şişmesi yer alır. Lateral diz grafiği ayrıca hava veya hava-sıvı seviyelerini de gösterebilir. Juksta-artiküler osteoporoz, erozyonlar ve kortikal yıkımla birlikte eklem aralığında daralma geç bulgulardır (34). Ancak septik artrit tanısı için X-ray çok az kullanılmaktadır. Ayrıca ultrason, hastanın radyasyona maruz kalmaması nedeniyle iyi bir görüntüleme aracıdır. Artan hastane maliyetlerine ilişkin endişelerle birlikte, nispeten ucuz olması da avantajdır.

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kemik ödemi göstermede iyi bir görüntüleme aracıdır ve osteomyelit eşlik ediyorsa bunun belirlenmesinde kullanılır (11). Sinovyal hipertrofi ve eklem efüzyonunun saptanmasında çok duyarlı olmasına rağmen,

septik veya septik olmayan enfekte eklemlerde görülen bulgularda önemli ölçüde benzerlik vardır ve hiçbir bulgu septik artrit için patognomonik değildir (35). Bu nedenlerin yanı sıra pahalı olması ve çoğu uygulayıcı için uygun bir şekilde temin edilememesi nedeniyle, rutin olarak kullanılması tavsiye edilmiyor. Genel olarak görüntüleme yöntemleri septik artrit tanısını koymada işe yarayabilse de septik artrit acil bir durum olduğu için klinisyen tarafından çok sık kullanılmamaktadır; çünkü tanının gecikmesine sebep olur ve tedavide gecikmeler yaşanır. Bu nedenle klinik şüphenin yüksek olduğu durumlarda cerrahi müdahaleyi geciktirmemek için ileri görüntüleme çalışmaları dikkatli bir şekilde kullanılmalıdır.

Laboratuvar testleri rutin olarak tam kan hücresi sayımı, tüm metabolik panel, ESR ve CRP'yi içerir. Ancak beraberinde enflamatuvar bir eklem hastalığı varsa (RA) eritrosit sedimentasyon hızındaki artış çok anlamlı değildir.

Tanı, sinovyal sıvının steril koşullarda aspire edilerek alınmasıyla ve bu sıvının makroskopik, mikroskopik ve mikrobiyolojik değerlendirilmesi ile konulur. Sinovyal sıvı incelenmesinde bazı ölçütler kullanılmıştır (Tablo 2). Septik artrit aspirasyonu ile alınan eklem sıvısının rengi bulanıktır ve genellikle sarı, yeşildir. Eklem sıvısının viskozitesi azalmıştır. Sinovyal sıvının mikroskopik incelemesinde beyaz kan hücresi sayısı genellikle 50.000/mm<sup>3</sup>'ün üzerinde, sıklıkla da 100.000/mm<sup>3</sup>'ün üzerinde olur. Hücre sayısının 20.000 ile 50.000/mm<sup>3</sup> arasında olması tanıyı zorlaştırabilir. Lökosit sayısının 20.000/mm<sup>3</sup>'ün altında olması enfeksiyon olasılığını azaltır. Septik artrit hücrelerin %80'i polimorf çekirdekli lökositlerdir. Septik artrit varlığına rağmen malign hastalığı olanlarda, kortikosteroid kullananlarda ve intravenöz ilaç kullananlarda sinovyal sıvıdaki lökosit sayısı 50.000/mm<sup>3</sup>'ün altında olabilir.

**Tablo 2.** Sinovyal sıvı analizi

Grup	Görünüm	Hücre sayısı/ml	Nötrofil oranı (%)	Glukoz (Seruma göre %)	Kültür	Tanı
Normal	Temiz, berrak	<100	<25	75-100	-	-
Enflamasyon	Temiz, sarımsı renk	200-10.000	25-50	75-100	-	Dejeneratif atrit, travma, lupus, non spesifik sinovit
Şiddetli enflamasyon	Sarımsı, bulanık	2.000-75.000	50-75	50-100	-	Romatoid artrit, gut, psödogut
Septik	Bulanık, yeşil-sarı, yoğun	>50.000	>80	<50	+	Akut gut artrit, septik artrit

Sinovyal sıvının gram boyaması ve kültürü önemlidir. Sinovyal sıvıda mikroorganizma üretim oranı %25-97 arasında değişmektedir (36). Kültürlerde daha yüksek üreme oranları sağlamak için ekimin hem agar plakalarında hem de kan ortamında yapılması gerekir. Yaymaların gram boyaması ile gram pozitif bakteriler %75-80 oranında, gram negatif bakteriler ise %40-50 oranında tespit edilebilmektedir. Aerobik ve anaerobik bakterilerin üremesi için sıvının gecikmeden ve gerekli bilgilerle birlikte laboratuvara gönderilmesi gerekmektedir.

Eklem sıvısının yanı sıra kan kültürü, üretral akıntı, yara kültürü gibi kültürlerin de alınması gerekir. Kan kültürleri antibiyotik tedavisine başlamadan önce alınmalıdır. Weston ve arkadaşları 10 yıl boyunca Birleşik Krallık'taki bir hastaneye septik artrit tanısıyla başvuran tüm hastaları değerlendirdi (37). Sinovyal sıvı kültürleri pozitif olan 242 hastanın 58'inde (%24) kan kültürlerinin de pozitif olduğu belirlendi. Genel olarak çalışma, negatif kan kültürünün septik artrit tanısını engellememesi gerektiği fikrini desteklemektedir.

Septik artrit vakalarında sinovyal sıvıdan glukoz ve laktik asit belirlenebilir. Aynı anda alınan kan şekerinden eklem sıvısındaki glikoz düzeyinin 50 mg/dl'den fazla azalması septik artrit tanısını destekler. Ancak her zaman tespit edilen bir bulgu değildir. Laktik asit veya laktat dehidrojenazın artması bakteriyel bir etkeni destekleyen bir bulgudur (38).

Yeni çalışmalar daha çok, olası septik artritli bir hastanın değerlendirilmesinde kullanılabilecek yeni tanısal değerlerin belirlenmesine odaklanmıştır. Hügle ve arkadaşları septik artritli septik olmayan artritli hastaların ayırmada serum prokalsitoninin etkinliğini değerlendirdiler (39). Araştırmacılar, septik artritli hastaların, septik artritli olmayan hastalara kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek prokalsitonin konsantrasyonlarına sahip olduğunu bulmuşlardır. Ek olarak, 0,1 ng/mL'lik bir eşik değerinde septik artrit duyarlılığının %93 ve özgüllüğünün %75 olduğunu buldular. Özellikle, septik artritli olmayan ve aynı zamanda enfeksiyonu da olan hastalar hariç tutulduğunda, özgüllük %93'e yükseldi. Bu çalışma yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip bir belirteç belirlemiştir. Bu çalışma prokalsitoninin klinik ortama bağlı olarak septik artrit için oldukça duyarlı ve spesifik bir belirteç olduğunu göstermektedir. Daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Lenski ve arkadaşları septik artrit şüphesi olan 119 hastayı kapsayan retrospektif bir çalışma gerçekleştirdiler (40). 119 hastanın 62'sinde (%52) kültür pozitifliği tespit edildi. Bu hastalardan alınan sinovyal sıvı örneklerinin analizi, interlökin (IL)-6, toplam protein, glikoz, laktat ve sinovyal WCC'yi içeriyordu. En yüksek öngörücü değere sahip belirteçler %74,5 duyarlılık ve %87,2 özgüllük ile sinovyal laktat olurken, bunu %92,5 duyarlılık ve %64,1 özgüllük ile IL-6 izledi. Araştırmacılar, >10 mmol/L'lik sinovyal sıvı laktat seviyelerinin neredeyse septik artritli hastaları kanıtladığını buldu. <7.000 pg/mL'lik sinovyal IL-6 seviyeleri, neredeyse enfeksiyonu dışladı.

Bu yeni laboratuvar değerleri, septik artrit teşhisini kolaylaştırma açısından heyecan verici bir durum ortaya koyuyor. Ancak bu değerlerin septik artrit tanısında kullanılabilmesi için daha kapsamlı ve daha çok sayıda araştırmalara ihtiyaç vardır.

### **2.1.7. Tedavi**

#### **Medikal Yönetim**

Septik artrit düşünüldüğünde antibiyotik tedavisine hemen başlanması çok önemlidir (Tablo 3). Antibiyotiğe başlamadan önce kan kültürleri ve sinovyal sıvı örneklerinin alınması uygundur ancak bu testlerin uygun bir şekilde yapılması gerekir. Stengel ve arkadaşları çeşitli başlangıç rejimleri arasında hiçbir avantaj göstermeyen bir meta-analiz gerçekleştirmiştir (41). Aspirasyon sırasında alınan materyalin gram boyaması ile antibiyotik seçimi yapılır. Boyamada bakteri görülmez ancak hücre sayımında yoğun polimorf çekirdekli lökositler görülürse hastanın yaşı ve risk faktörleri dikkate alınarak en

uygun antibiyotiğe başlanır. Tedaviye intravenöz olarak başlanır. İlk 48 saat sonunda, alınan kültür sonuçlarına göre tedaviye yön verilir. Antibiyotik rejimleri, tercihen bir enfeksiyon hastalıkları uzmanı ile birlikte kültürlerle göre belirlenmelidir. Septik artrit şüphesi yüksek olan ve kültürleri negatif olan ancak ampirik antibiyotiklere yanıt veren hastalarda, tedavinin tamamının tamamlanması sakıncalı olabilir ve klinisyen tarafından hasta bazında karar verilmelidir (17).

**Tablo 3.** Septik Artrit Tedavisinde Organizmaya Göre Antibiyotik Tedavi Rejimi

Organizma	Antibiyotik rejimleri
MRSA	Vancomycin 1 g her 12 saatte bir veya linezolid 600 mg her 12 saatte bir
Coagulase-negative Staphylococcus species	Vancomycin 1 g her 12 saatte bir veya linezolid 600 mg her 12 saatte bir
Methicillin-sensitive S. aureus (MSSA)	Her 6 saatte bir nafcillin 2 g veya 8 saatte bir klindamisin 900 mg
Coagulase-negative Staphylococcus species	Her 6 saatte bir nafcillin 2 g veya 8 saatte bir klindamisin 900 mg
Group A streptococci, S. pyogenes	Penisilin G her 4 saatte bir 2 milyon birim veya her 6 saatte bir 2 g ampisilin
Group B streptococci, S. agalactiae	Penisilin G her 4 saatte bir 2 milyon birim veya her 6 saatte bir 2 g ampisilin
Enterococcus species	Ampisilin 6 saatte bir 2 g veya her 12 saatte bir vankomisin 1 g
Escherichia coli	Ampisilin-sulbaktam her 6 saatte bir 3 g
Proteus mirabilis	Ampisilin 6 saatte bir 2 g veya günde 500 mg levofloksasin
P. vulgaris, P. rettgeri, Morganella morganii	Sefotaksim 6 saatte bir 2 g, 6 saatte bir imipenem 500 mg veya günde 500 mg levofloksasin
Serratia marcescens	Her 6 saatte bir 2 g sefotaksim
Pseudomonas aeruginosa	Cefepime 12 saatte bir 2 g, piperacillin 6 saatte bir 3 g veya 6 saatte bir imipenem 500
Neisseria gonorrhoea	Seftriakson günde 2 g veya sefotaksim her 8 saatte bir 1 g
Bacteroides fragilis	Clindamycin 900 mg her 8 saatte bir veya metronidazol 500 mg her 8 saatte bir

Septik artrit vakalarında antibiyotik tedavisinin ne kadar sürmesi gerektiği konusunda fikir birliği yoktur. Genel eğilim, sistemik bulguların düzelmesiyle (ateşte azalma, lökosit ve C-reaktif proteinde azalma, ağrıda azalma) intravenöz tedaviden oral tedaviye geçilmesi yönündedir. Toplam tedavi süresi 2-4 haftadır.



## Cerrahi Yönetim

Septik artrit ortopedik acil bir durumdur ve tedavideki gecikmeler eklemde bozulma, osteonekroz ve instabilite ile sonuçlanabilir (42). Cerrahi tedavinin hedefleri arasında eklemde temizlenmesi, eklemde anatomik yapısının korunması ve eklemde olduğu ekstremitenin rehabilitasyonu bulunur. Bu hedeflere ulaşmak için tedavide bazı cerrahi yöntemler uygulanabilir. Seçenekler şu anda artrotomi, artroskopik debridman ve seri kapalı iğne aspirasyonu yöntemidir (43-45).

Kalça eklemi gibi tekrarlanan aspirasyonun zor olduğu eklemlerde artrotomi ile drenaj yapılmalıdır. Cerrahın diz, omuz, dirsek ve ayak bileği eklemleri konusunda yeterli deneyimi varsa bu eklemlere artroskopik drenaj yapılabilir veya tekrarlayan aspirasyonlar yapılabilir. Hastalığın ilerlediği, çok yoğun enfeksiyon görünümünün olduğu veya tedavinin tamamlanamadığı ve kronikleştiği durumlarda ek sinovektomi yapılabilir.

Septik artritde eksizyonel debridmanla tedavisi temel bir tedavi yöntemidir. Willems, septik artritli hastalarda geniş artrotomiyi ve ardından erken aktif mobilizasyonu savunmuştur (46). 1941'de Heberling, septik artrit nedeniyle artrotomi uygulanan, ardından subkütanöz drenaj yerleştirilen ve erken aktif hareket uygulanan hasta serisini bildirdi (47). Kendisi, diğer yazarların yanı sıra, erken teşhis ve tedavinin başarılı sonuçlarla birlikte morbidite ve mortaliteyi de azalttığı sonucuna varmıştır (48).

Seri kapalı iğne aspirasyonu; romatoloji ve tıp literatüründe yaygın olarak bahsedilen, septik artrit tedavisi için bir yöntemdir. Ancak iğne ile tekrarlanan aspirasyonların etkili drenaj sağlamaya yetmeyebileceği, ne kadar süre tekrarlanması gerektiğinin belirsiz olduğu ve küçük çocuklarda işlemin uygulanmasının zor olduğu gibi sorunlar vardır. Bu yöntem tercih edilse bile aspirasyonlarla 48 saat içinde sistemik bulgular düzelmiyorsa ve sıvının pürülan karakterinde gerileme yoksa eklemde cerrahi drenaj şarttır.

Birçok yazar, septik artrit tedavisinde artroskopik debridmanı savunmaktadır (43, 44). Ivey ve Clark, diz septik artritinin artroskopik tedavisini değerlendiren ilk prospektif kohortlardan birini bildirdiler (49). Serilerindeki tüm hastalar normal aktivite düzeylerine döndüler ve hiçbir hastada ikinci bir operasyona ihtiyaç kalmadı. Dizdeki septik artrit tedavisinde artroskopik debridman; artroskopinin nekrotik sinoviyumun

debridmanını tam yapma imkanı sağladığından, eklemi kapsamlı bir şekilde değerlendirme avantajından ve minimal operatif tedaviyle morbiditeyi azalttığından bahsediyorlar (49).

Artroskopide yeterli yıkama sonrasında daha iyi bir gözlem sağlanır;bu sayede diz eklemi daha iyi değerlendirir ve Gachter sınıflandırmasına göre enfeksiyon evresinin belirlenmesine olanak sağlanır (Tablo 4)(43-45, 50). Eklem bu sınıflandırmaya göre evrelendirilmesi cerrahi tedaviyi yönlendirir ve prognostik etkileri olabilir. Çalışmalar, Gachter evre I ila II'nin artroskopik tedavisinin genellikle tek aşamada yeterli olduğunu bulmuştur (43, 44, 50). Gachter evre III'te artroskopi ile etkili bir şekilde tedavi edilebilir, ancak tipik olarak nekrotik veya cerahatli görünen alanların temizlenmesi için daha kapsamlı bir sinovektomi gerektirir (43, 44, 50). Gachter evre IV, kırık nekrozu ile birlikte kemik tutulumu ile tanımlanır; bu nedenle etkilenen eklem dışı yapıların uygun şekilde debridmanını sağlamak için açık tedavi önerilir (44, 51).

**Tablo 4.** Diz Septik Artritinde Gachter Sınıflandırması

<b>Stage</b>	<b>Artroskopik Bulgular</b>	<b>Radyografik Bulgular</b>
<b>I</b>	Sıvının opaklığı, sinoviyal membranın kızarıklığı	Radyografide bulgu yok
<b>II</b>	Ciddi inflamasyon, fibrinöz birikim, püy	Radyografide bulgu yok
<b>III</b>	Sinovyal membranın kalınlaşması, kompartman oluşumu	Radyografide bulgu yok
<b>IV</b>	Kırıkda infiltrasyonu ile kırıkdağı zayıflatan ciddi pannus	Subkondral osteoliz, olası kemik erozyonları ve kistler

İnflamatuar artropati öyküsü, büyük bir eklem (diz, omuz veya kalça) tutulumu, >85.000 hücre/mm<sup>3</sup> sinovyal sıvı hücre sayısı, S. aureus izolasyonu ve diyabet öyküsü olan hastalarda tek bir cerrahi debridman başarısızlıkla sonuçlanabilir. İkincil debridmana bu hastalarda daha fazla ihtiyaç duyulur. Gachter sınıflandırmasının kullanılması, hangi hastaların kapsamlı sinovektomiye ihtiyaç duyabileceğini ve hangi hastaların ikinci bir debridman gerektirme riskinin daha yüksek olduğunu belirlemede yardımcı olabilir.

### 2.1.8. Prognoz

Septik artritiden bildirilen ölüm oranı farklı çalışmalarda değişiklik göstermekle birlikte monoartiküler artrit için yaklaşık %11 olarak görülmektedir (52). Altta yatan romatizmal hastalıklar septik artrite benzer bulgular verebileceği için tanıda gecikmeler yaratabilir. Bu yüzden altta yatan eklem hastalıkları kötü prognozla ilişkilidir. Yaşlı hastalarda septik artrit sonrası mortalite yüksektir; çünkü diyabet, diğer eklem hastalıkları gibi birden çok komorbid durum vardır ve bunlar da kötü prognostik değerlerdir.

### 2.2. Ozon

Yaklaşık iki yüz yıl önce keşfedilen, çoğunlukla atmosferin stratosfer tabakasında yer alan ozon doğal bir dezenfektandır.

Ozon 1916'da Londra'da bir askeri hastanede yara iyileşmesinde antimikrobiyal özellikleri için kullanılmıştır (53). O zamandan beri, O<sub>3</sub> tıbbın farklı alanlarında incelenmeye başlanmış ve tedavide kullanılmaya başlanmıştır. O<sub>3</sub> terapisi, Nikola Tesla tarafından patenti alınan ilk O<sub>3</sub> jeneratörü ile 19. yüzyılda tıbbi tedavi olarak tanıtılmıştır (54).

Günümüzde, O<sub>2</sub> ve O<sub>3</sub>'ten oluşan bir tıbbi karışım, yüksek voltaj gradyanından (5-13 mV) geçen saf O<sub>2</sub>'den bir tıbbi jeneratör tarafından üretilir (Şekil1); ancak ne yazık ki O<sub>3</sub>'ün yüksek kararsızlığı nedeniyle (20 °C'de 40 dakikalık yarı ömür) saklanamaz (55). Ayrıca, tıbbi gaz karışımını konsantrasyonu %95'ten az O<sub>2</sub> ve %5'ten fazla O<sub>3</sub> içermemelidir (56). Son yıllarda, O<sub>2</sub>O<sub>3</sub> karışımının biyokimyasal özellikleri hakkında ciddi araştırmalar yapılmaktadır. Bazı makaleler O<sub>3</sub>'ün bakterisidal ve virüsidal özellikler, enflamatuar modülasyon ve dolaşım stimülasyonu gibi ilgili tıbbi özelliklerini öne sürmüş ve yara iyileşmesi, iskemik bozukluklar, enfeksiyonlar ve kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları gibi kronik enflamatuar durumlar dahil olmak üzere çeşitli tıbbi alanlarda çok sayıda uygulama önermiştir (57-63).



**Şekil 1.** Tıbbi ozon jeneratörü

### **2.2.1. Ozon Tedavisi Etki Mekanizmaları**

Tıbbi ozon, saf oksijen jeneratörü yardımıyla yüksek elektrik voltajı ile etkileşime sokularak elde edilir. Ortaya çıkan gaz bileşiğinin yaklaşık %5'i ozondan, geri kalanı ise oksijenden oluşur. Suda, bitkisel yağda, plazmada, fizyolojik salinde(SF) ve oksijende çözülür. Ozon 3 atomlu bir moleküldür ve oksijenden daha kararsızdır.

O<sub>3</sub> doğadaki en güçlü oksitleyici moleküllerden biridir fakat yüksek konsantrasyonlarda normal oksijene dönüşür (64). Bocci ve meslektaşları tarafından farklı çalışmalarda (65-67) bildirildiği üzere, O<sub>3</sub> insan sıvı ve dokularında su ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ile hızla reaksiyona girerek sırasıyla hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve esas olarak 4-HNE (omega-6 PUFA'dan) ve 4-HHE'den (omega-3 PUFA'dan trans-4 hidroksi-2-heksenal) oluşan bir lipid ozonlama ürünleri (LOP) karışımı oluşturur.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> temel reaktif oksijen türü (ROS) olarak kabul edilir ve ozon habercisi olarak görev yapar (68). Bununla birlikte, süperoksit iyonu ve hidroksil radikali (OH<sup>-</sup>) gibi ozon reaksiyonlarının bir ürünü olarak başka ROS'lar da tanımlanmıştır. Sinyal iletiminin rolü göz önüne alındığında, ROS'un her zaman zararlı olduğuna dair önceki kavram son zamanlarda gözden geçirilmiş ve en son kanıtlarla değiştirilmiştir. Böylece, ROS konak savunmasının

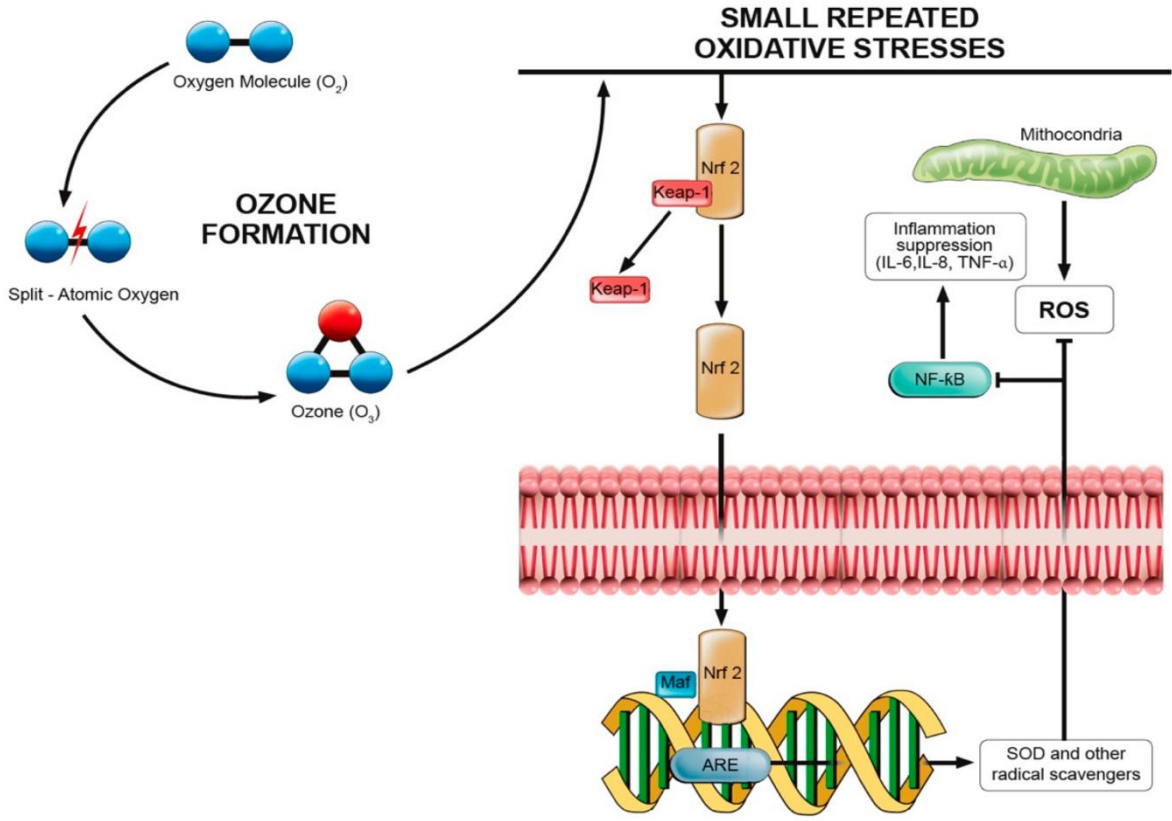
ve bağışıklık yanıtlarının aracıları olarak düşünülebilir (68). Bununla birlikte, yüksek reaktiviteleri göz önüne alındığında, ROS önemli hücre bileşenlerine zarar verebilir ve son derece kısa ömürleri (birkaç saniye) göz önüne alındığında üretimleri hassas bir şekilde kalibre edilmelidir.

İnsan dokularında, ROS'un neden olduğu ılımlı oksidatif stres, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve NADPH kinon-oksidoredüktaz gibi endojen radikal temizleyiciler tarafından etkisiz hale getirilir (69, 70). Küçük ve tekrarlayan oksidatif streslerin, antioksidan yanıt elementlerinin (ARE) transkripsiyonunda yer alan bir alan olan nükleer faktör-eritroid 2 ile ilişkili faktör 2'ye (Nrf2) aracılık eden transkripsiyonel faktörün aktivasyonunu indükleyebileceği gösterilmiştir (69).

İnsan sitozolü üzerinde yapılan önceki çalışmalar, Nrf2'nin genellikle Kelch benzeri ECH-ilişkili protein 1 (Keap-1) ile bağlandığını ve hücre içi alanda inaktif bir kompleks oluşturduğunu göstermiştir (71). Hafif oksidatif stresin Nrf2'nin bu kompleksten salınmasını ve çekirdeğe göçünü teşvik edebileceği, burada Maf proteini ile bağlanmanın DNA üzerindeki farklı ARE'lerin transkripsiyonunu teşvik edebileceği öne sürülmüştür (72). Bu yol Şekil 2'de ayrıntılı olarak açıklanmıştır

Dolayısıyla, tekrarlanan hafif oksidatif stresler yoluyla O<sub>3</sub>, Nrf2'nin yukarı regülasyonunu indükleyerek insan hücrelerini farklı ARE'leri transkript etmeye koşullandırabilir. Bu da çoğu kronik enflamatuar hastalıkta yaygın olan patolojik radikal strese karşı daha iyi bir yanıt verilmesini sağlayabilir. İlginç bir şekilde, Nrf2'nin inflamasyonun hücre içi sinyal yollarında da önemli bir rol oynadığı görülmektedir.

Ayrıca, hepatik ve kalp iskemi-reperfüzyonu üzerine yapılan çalışmalar, IL-6, IL-8 ve TNF-a gibi önemli enflamatuar aracılardan ve sitokinlerin baskılanmasıyla enflamatuar yanıtın doğrudan azaltılabileceğini öne sürmüştür (73). Benzer şekilde, düşük doz O<sub>3</sub> de prostaglandin sentezinin düzenlenmesinde, bradikinin salınımında ve makrofaj ve lökosit salgılarının artmasında rol oynayabilir (74, 75).



**Şekil 2.** Ozon (O<sub>3</sub>) oluşum mekanizması ve oksidatif strese dahil olan hücre içi yollar.

Tüm bu bulgular birlikte ele alındığında, ozonun çeşitli dokulardaki olumlu etkilerini, O<sub>3</sub>'ün biyolojik bileşenlerle etkileşimi sonucu ortaya çıkan ılımlı oksidatif strese bağlı olarak gösterebileceğini düşündürmektedir.

### 2.2.2. Ozon Tedavisinin Endikasyonları ve Kontrendikasyonları

Ozon tedavisi kronik inflamatuvar hastalıklar ve immün sistemin aşırı aktivasyonu ile karakterize olan hastalıklarda bir tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır. Kas iskelet sistemi hastalıklarının çoğunda bu 2 patofizyolojik süreç vardır. Kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları, temel olarak kas-iskelet sistemi ağrısıyla ilişkili, sağlık maliyetleri ve kalıcı sakatlık açısından tutarlı bir prevalans ve yük ile karakterize edilen çeşitli patolojik durumları içerir. Kas-iskelet sistemi rahatsızlıkları son yıllarda artan iş yükü ile birlikte oldukça artmıştır; bu nedenle, bu alanda ozon tedavisi uygulamasına olan ilgi de son yıllarda önemli ölçüde artmıştır.

Bel ağrısı(LBP) hastalarında yapılan çalışmalar; başarısız lomber operasyonlar yerine disk herniasyonu ve protrüzyonunda ozonun konservatif tedavide kullanımını önermişlerdir (76).

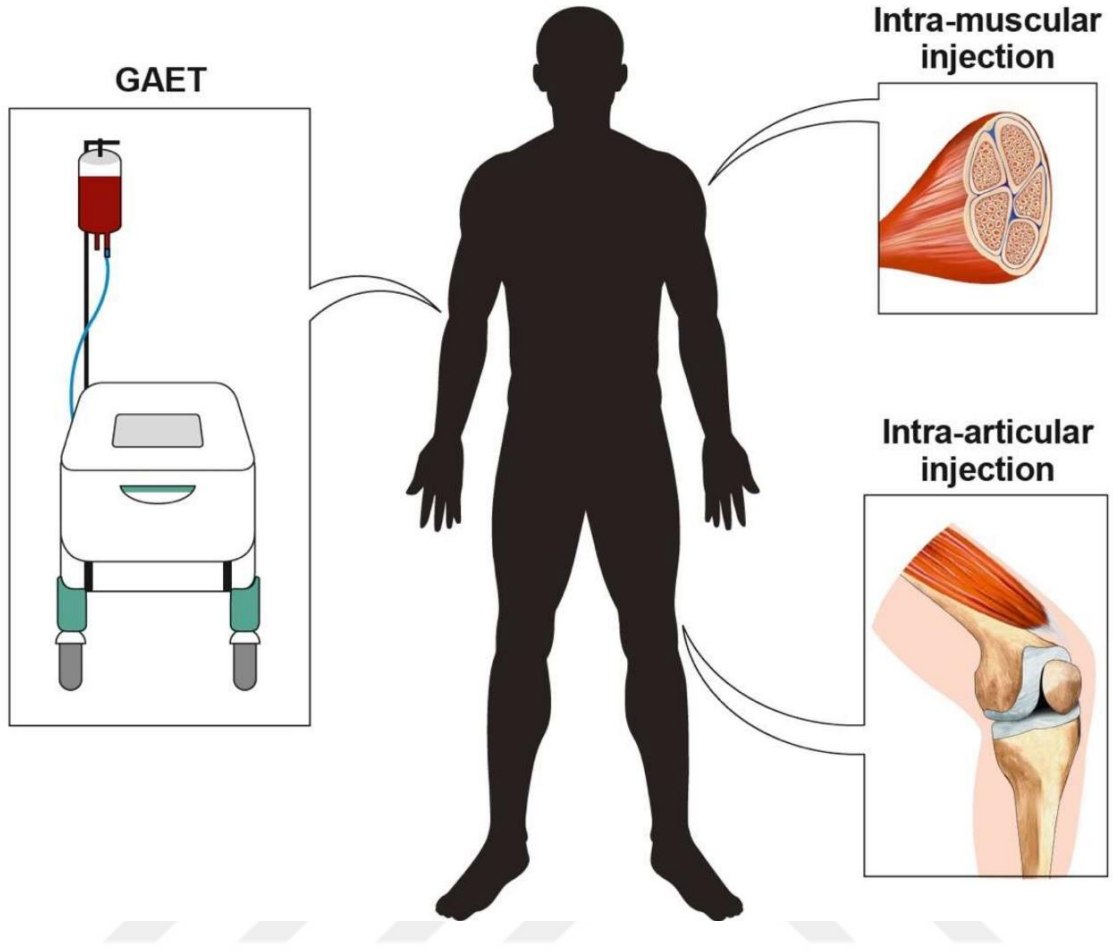
Ozon tedavisinin bir diğer kullanım alanı diz eklemidir. Diz osteoartriti olan hastalarda intraartiküler ozon uygulaması sonrasında diz ağrılarında çok ciddi bir azalma olduğu Sconza ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bildirilmiştir (77).

Yine tendinopati durumlarında ozon tedavisinin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Yakın tarihli bir çalışmada omuzda impingement (sıkışma) olan hastalara steroidin kontrendike olduğu durumlarda ozonun etkisi incelenmiş ve iyi sonuçlar elde edilmiştir (64). Yine tendinopatilerden lateral epikondilitte kullanımı yaygınlaşmıştır. Ayrıca fibromiyaljide de sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır.

Ayrıca ozon tedavisi, iyileşmeyen kronik yaralarda(diabetik yara) ve cilt lezyonlarında da kullanılır. Diyabetik ayak ülseri olan 61 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, konvansiyonel tedaviye ek olarak uygulanan ozon tedavisinin plasebo grubuna kıyasla daha yüksek oranda yara kapanması ile sonuçlandığı bildirilmiştir (78). Ozon tedavisi için en yaygın etki alanları ve uygulama modaliteleri Şekil 3'de gösterilmiştir.

Ozon tedavisinin kontrendikasyonları temel olarak bu karışımın(O<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) antioksidan özellikleriyle ilgilidir (55, 79). Kontrendikasyonlar arasında, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği, kontrolsüz hipertiroidizm, ağır myastenia, akut alkol intoksikasyonu, ağır trombositopeni, malign hipertansiyon ve hamilelik sayılabilir.

Güvenliği sağlamak için O<sub>2</sub>O<sub>3</sub> konsantrasyonları belirli bir aralığa ayarlanmalıdır; ancak hastalar enjeksiyon bölgesinde birkaç dakika içinde kendiliğinden azalan bir ağırlık hissi gösterebilir. Aksine, vagal kriz, ağrı, enjeksiyon bölgesinde hematoma, lokal enfeksiyonlar ve hatta ölüm dahil olmak üzere diğer yan etkiler yanlış uygulama tekniğiyle ilişkili olabilir (80).



Şekil 3. Ozon tedavisinin ana uygulama yolları.

### 2.2.3. Diz Osteoartritinde Ozon Tedavisi

Osteoartrit, kıkırdak yıkımı, ağrı, eklem sertliği, eklem hareketlerinde azalma ve ilerleyen aşamalarda deformiteler ile karakterize dejeneratif bir eklem hastalığıdır. Son yıllarda hastalığın tedavisinde eklem içi ozon enjeksiyonu kullanılmaktadır.

Ozon, neoanjiyogenez sonrası oksijenlenmeyi artırması, antiinflamatuvar özellikleri ve antinosiseptif sistem uyarımı ile sağladığı analjezik etki ile OA tedavisinde yer bulmuştur.

Ozonun sinovyal dokuyu uyararak lubrikasyonu artırdığı ve kıkırdak onarımını teşvik ettiği bildirilmektedir. Eklem içi vasküler yapılarda kompresyon ve stazı azaltarak mikrosirkülasyonu artırır, böylece oksijenlenmeyi sağlar. Ozonun eklemdeki



antiinflatuar aktivitesi, pro-enflatuar prostaglandin sentezini baskılaması, bradikinin salınımını inhibe etmesi ve pro-enflatuar sitokin antagonistlerinin salınımını artırmasından kaynaklanmaktadır (54).

İntraartiküler ozon uygulamalarının düşük yan etki profili ile kısa süreli ağrı giderimi sağladığı gösterilmiştir. En sık diz, kalça ve omuz olmak üzere dirsek, el bileği ve ayak bileği eklem osteoartriti tedavisinde kullanılabilir.

Uygulanacak ozon gazının dozu, gaz hacmi, seans sayısı ve sıklığı konusunda bir fikir birliği yoktur. Ancak, en yaygın uygulama bölgesi olan diz eklemi için, haftada bir kez 3-6 seans boyunca 10 µg/mL ve 10 mL ozon gazının eklem içi enjeksiyonu kullanılmaktadır. Tıbbi ozonun intraartiküler kullanımı ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıda olmakla birlikte bazı çalışmalar yapılmıştır.

Daha ayrıntılı olarak, 2016 yılında Giombini ve arkadaşları (81) ilk olarak diz osteoartritli hastalarda ozon, HA ve her ikisinin kombine tedavisinin intra-artiküler enjeksiyonunu karşılaştırmıştır. Anlamlı sonuçlar bildirmişlerdir. Tedavi döngüsünün sonunda ve iki aylık takip değerlendirmesinde her üç yaklaşımdan (ozon, HA ve bunların kombinasyonu) sonra ağrı azalması (VAS) ve sakatlık (Diz Yaralanması ve Osteoartrit Sonuç Puanı Analizi, KOOS) anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0,05$ ). Ayrıca, ozon ve HA tedavisi kombinasyonu, iki ay sonra önemli ölçüde daha iyi bir sonuca yol açmıştır.

2018 yılında, başka bir çalışma (82), diz osteoartritinden etkilenen hastalarda ozon tedavisinin etkinliğini HA eklem içi enjeksiyonu ile karşılaştırmıştır. Yazarlar, çalışma katılımcılarını rastgele iki gruba ayırmışlardır: ozon grubu ve HA grubu, her ikisi de üç haftalık enjeksiyonlardan oluşan bir protokolle tedavi edilmiştir. Yazarlar, altı aylık takipte iki müdahale arasında herhangi bir fark olmaksızın, diz ağrısı, sertlik ve fonksiyonun her iki grupta da önemli ölçüde iyileştiği sonucuna varmışlardır.

2020 yılında Sconza ve arkadaşları (77) diz osteoartrit hastalarında ozon tedavi etkinliği ile ilgili RKÇ'lerin sistematik bir incelemesini gerçekleştirmiştir. 858 hastayı içeren toplam 11 çalışma dahil edilmiştir; ancak dahil edilen çalışmaların hiçbiri "iyi kalite" standardına ulaşmamıştır. Bu nedenle yazarlar, ozonun diz osteoartriti için diğer yerleşik tedavilerle karşılaştırılmasından net bir endikasyon ortaya çıkmadığı, ancak bu tekniğin bu

hastalarda kısa-orta vadede ağrıyı azaltmada güvenli ve etkili olduğunun kanıtlandığı sonucuna varmışlardır.

Tüm bu bulgular birlikte ele alındığında, eklem içi ozon tedavisinin diz osteoartritinden etkilenen hastalarda kısa-orta vadede (altı aya kadar) güvenli ve etkili bir tedavi olarak düşünülebileceğini düşündürmektedir; ancak, bu umut verici konservatif müdahaleye ilişkin bilimsel bilginin geliştirilmesi için daha fazla yüksek kaliteli çalışma yapılması gerekmektedir.

#### **2.2.4. Ozon Tedavisinin Diğer Kas İskelet Sistemi Hastalıklarında Kullanımı**

Klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılan ozon tedavisinden diğer birçok kas-iskelet sistemi hastalığı faydalanabilir. Bununla birlikte, ozon tedavisinin sakatlığa yol açan diğer kas-iskelet sistemi hastalıkları (örneğin, servikal ağrı, tendinopatiler ve fibromiyalji) üzerindeki etkilerini araştıran sadece birkaç makale bulunmaktadır.

Servikal ağrı genellikle servikal spondiloliz veya osteoartritten kaynaklanmaktadır. Servikal osteoartrit ciddi sorunlara ve hastanın günlük aktivitesini engelleyen sonuçlara yol açacağı için konservatif yaklaşımlara ihtiyaç vardır. Literatürde bu konuyu ele alan az sayıda makale vardır, İntramüsküler-paravertebral ozon enjeksiyonları, servikal ağrısı olan hastalarda güvenli ve umut verici bir konservatif yaklaşımdır. Servikal ağrıdan muzdarip hastalarda ozonun ağrıyı ve ağrıya bağlı sakatlığı azaltmadaki rolünü daha iyi araştırarak ve özellikle bu yaklaşımın güvenlik profiline odaklanacak daha ileri prospektif çalışmaların yapılması zorunludur.

Tendon seviyesindeki akut ve kronik patolojik değişiklikler, ortopedi, spor hekimliği ve fizik tedavi uzmanları da dahil olmak üzere farklı alanlardan hekimlerin dahil olabileceği bir kas-iskelet sistemi hastalıkları havuzudur. Tendinopatilerde genellikle cerrahi tedavi yerine konservatif yaklaşım tercih edilir. Tendinopatilerde steroid enjeksiyonu yerine ozon tedavisi artık günümüzde yerini almaya başlamıştır.

Ulusoy ve arkadaşları (83), 2019 yılında, kronik lateral epikondilitli 80 hastada kortikosteroid ve ozon tedavisinin ağrı azaltma üzerindeki etkinliğini karşılaştıran bir çalışma gerçekleştirmiştir. Kortikosteroid enjeksiyonu haftada bir kez üç hafta uygulanırken, ozon enjeksiyonu sekiz kez (her üç günde bir) uygulanmıştır. Her iki tedavi de gruplar

arasında fark olmaksızın ağrıyı önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca, ozon enjeksiyonlardan üç, altı ve dokuz ay sonra ağrıyı azaltma açısından kortikosteroidlerden daha iyi sonuçlar göstermiştir ve bu da ozonun kronik lateral epikondilit tedavisinde etkili bir terapötik seçenek olarak düşünülebileceğini düşündürmektedir.

Fibromiyalji, yaygın kas ağrısı, yorgunluk ve hassasiyetle karakterize edilen bir kronik ağrı sendromudur. Tedavi, ağrıyı yönetmeyi ve yaşam kalitesini artırmayı hedefler. Fibromiyaljide ozon kullanımı günümüzde ciddi şekilde yaygınlaşmıştır.

Tirelli ve arkadaşları (84) fibromiyalji semptomlarının tedavisinde ozon otohemotransfüzyon tedavisinin etkinliğini değerlendirmiştir. Yazarlar, fibromiyalji tanısı olan 65 hastayı çalışmaya dahil etmişlerdir; bunlardan 55'i ozon otohemotransfüzyonu ve 10'u ozon rektal insuflasyon ile bir ay boyunca haftada iki kez ve daha sonra idame tedavisi olarak ayda iki kez tedavi edilmiştir. Hastaların 45'inde ağrı ve yorgunluk açısından belirgin bir iyileşme görülmüş ve tüm çalışma boyunca herhangi bir yan etki meydana gelmemiştir; bu da ozon tedavisinin fibromiyaljiden etkilenen hastalarda güvenli bir tamamlayıcı/bütünleyici tedavi olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, farklı uygulama yöntemlerinde (rektal insuflasyon ve otohemotransfüzyon) ozon tedavisi, tamamlayıcı bir müdahale olarak fibromiyalji hastalarının karmaşık multidisipliner yönetiminde bir role sahip olabilir. Bununla birlikte, bu konuyu daha iyi ele almak için gelecekte daha geniş örnekleri içeren daha fazla araştırma yapılmalıdır.

## BÖLÜM 3

### GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hayvanlar ve Çalışma Grupları

Hayvan deneyi çalışmamız, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (ÇOMÜDAM) hayvan laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamızı gerçekleştirebilmek için ÇOMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay aldık. Etik kurul onayından sonra hayvan deneyi çalışmamıza başladık. Çalışmamızda ÇOMÜDAM tarafından tarafımıza verilen Wistar Albino cinsi 40 adet erkek rat kullandık. Çalışmamızda kullandığımız ratların en küçüğü 5 aylık, en büyüğü 7 aylıktı. Kullandığımız ratların ortalama ağırlığı 300-350 gram civarında idi. Yani hayvanlarımızın ağırlıkları, boyutları ve yaşları birbirine çok yakındı. Hayvanlarımızı seçmeden rastgele 8'erli olacak şekilde 5 adet gruba ayırdık. Her grupta 3 adet kafes kullandık. Her grupta 1. Kafeste 3, 2. Kafeste 3, 3. Kafeste 2 adet rat bulundurduk. Laboratuvar ortamında ratların ölmemesi için her gün kontrol ederek sınırsız şekilde su ve yemleri verildi. Hayvan deneyi çalışmamızdaki ratları 5 adet gruba ayırdık. 1. grup kontrol grubu(K), 2. Grup debridman grubu(D), 3. grup antibiyotik grubu(AB), 4. Grup ozon grubu(O), 5. Grup ozon-antibiyotik grubu (OAB) olarak belirlendi.

#### 3.2. Septik Artrit Oluşturacak Etkenin Hazırlanması

Septik artrit oluşturacak etken patojenin hazırlanması amacıyla Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan metisiline duyarlı Staphylococcus aureus ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyon) 25923 suşu kullanılmıştır. Deneyin öncesinde suşun sefazolin sodyum antibiyotik diski kullanılarak yapılan antimikrobiyal duyarlılık testi sonucunda sefazoline duyarlılığı doğrulanmıştır. Suşun %5 koyun kanlı agar ekiminin yapılıp,  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 20 saat inkübasyonu sağlanmıştır (Şekil4). İnkübasyonun sonunda üreyen bakteriler %0,9 steril serum fizyoloji içerisine inoküle edilmiş olup, 0,5 McFarland değerinde bulanıklığa sahip bakteri süspansiyonu elde edilmiştir. Çalışmada  $1,5 \times 10^4$ cfu/ml (koloni oluşturan birim) miktarında bakteri kullanılması planlanmıştır. Bu amaçla 0,5 McFarland ( $1 \times 10^8$  cfu/mL bakteri içermektedir) bulanıklığındaki solüsyonunun %0,9 steril serum fizyolojik içerisinde seri dilüsyonu yapılarak  $1,5 \times 10^4$ cfu/ml bakteri solüsyonu hazırlanmıştır. Elde edilen bakteri sayısını doğrulamak amacıyla solüsyondan 0,001 µl'lik öze kullanılarak %5 koyun kanlı agar kontrol ekimi yapılmış ve 20 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan solüsyon bakteri sayısının

standardizasyonunu sağlamak amacıyla bekletilmeden çalışmada kullanılan farelerin dizlerine inoküle edilmiştir.



**Şekil 4.** Koyun kanlı agarda bakterilerin görülmesi

### **3.3. Bakteriyel İnokülasyon**

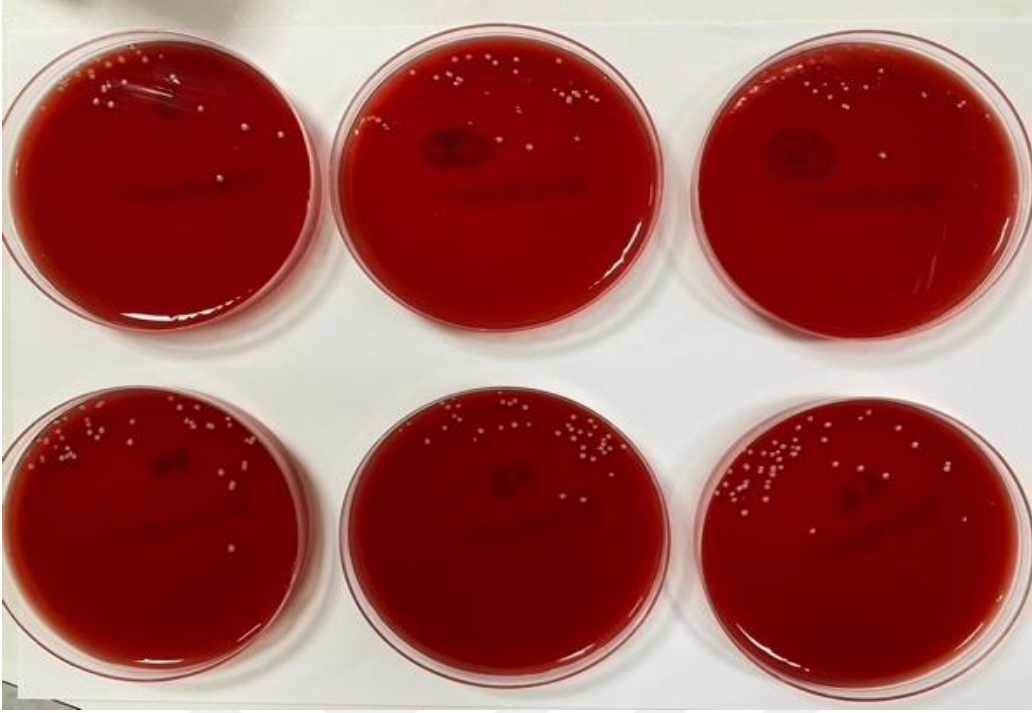
Deneysel septik artrit oluşturmak için *S.aureus* suşu kullanıldı. Septik artrit oluşturulacak tüm hayvanlara(kontrol grubu hariç) anestezi için Ketamine HCl (40 mg/kg dozunda) ve Xylazine HCl(5 mg/kg dozunda ) kullanıldı ve uygun bir şekilde karıştırılarak tüm hayvanlara(kontrol grubu hariç) intramusküler uygulandı. Cerrahi uygulayacağımız alan olan sağ dizdeki tüm tüyler alındı ve diz temizlendi. Ardından steril alana aldığımız ratlarımızın sağ diz eklemleri batikon(Batticon®, ADEKA, Türkiye) ile temizlendi. Tüm ratlarımıza bu işlemlerin hepsi adım adım yapıldı ve ardından  $1,5 \times 10^4$ cfu/ml yoğunluğundaki bakteriler insülin enjektörü yardımıyla 0,1 ml miktarında lateral portalden diz eklem içine verildi. Bakteriler diz eklemine verilirken eklemi şiştiği görüldü ve verilen süspansiyonun eklem dışına gitmediği görüldü (Şekil 5).



**Şekil 5.**  $1,5 \times 10^4$  cfu/ml yoğunluğundaki bakterinin lateral portalden diz eklemine verilışı

#### **3.4. Septik Artrit Tanısının Konulması**

Bakterileri inoküle ettikten sonraki 3. Günde hayvanlar inspeksiyonla değerlendirildi. Ratların sağ ayaklarında yürürken topallama net bir şekilde görülüyordu ve hareket kabiliyetleri oldukça azalmıştı. Diz çevresinde değişken düzeylerde kızarıklık ve şişlik var idi. Septik artrit tanısını koyabilmek için anestezi altında steril şartlarda; bakteri inoküle edilen 32 adet ratın kızarıklık ve şiş sağ diz eklemlerinden ponksiyon yapıldı. Bazı ratlardan direkt aspirasyon materyali elde edilirken bazılarında edilemedi. Tüm ratlardan diz eklem sıvısı elde edemediğimiz için gelmeyen ratların dizlerine steril SF verildi ve tüm ratlardan eklem sıvısı aspirasyon materyali oluşturuldu. Farelerin diz ekleminden elde edilen aspirasyon örnekleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Örneklerin %5 koyun kanlı agara ekimi yapılmış olup 20 saat inkübasyonu sağlanmıştır. İnkübasyon sonunda üreyen bakterilerin koloni morfolojisine bakılarak ve rutin mikrobiyolojik uygulamalar ile Staphylococcus aureus olduğu saptanmıştır (Şekil6). Elde edilen aspiratların koyun kanlı agara ekimi sonrasında S.Aureus(ATCC) üremesinin görülmesi sonrasında septik artrit tanısı konulmuş oldu.



**Şekil 6.** Koyun kanlı agarda besiyerlerinde bakteriyel üremenin görülmesi

### **3.5. Ozon Uygulaması**

Bakteriyel inokülasyondan sonraki 7,14 ve 21. günlerde Ozon(O) ve Ozon-Antibiyotik(OAB) gruplarındaki toplam 16 ratın sağ dizlerine intraartiküler yoldan 20µg/ml konsantrasyonunda ozon jeneratöründen (şekil7) aldığımız ozon gazı 1ml hacimde verilecek şekilde uygulandı.



**Şekil 7.** Tıbbi Ozon Jeneratörü

### 3.6. Cerrahi Tedaviyle Debridman-Yıkama, Antibiyotik ve Ozon Uygulanması

Bakterileri diz eklemine inoküle ettikten sonra 7. Günde kontrol grubu hariç tüm ratlara anestezi için Ketamine HCl (40 mg/kg dozunda) ve Xylazine HCl(5 mg/kg dozunda) kullanıldı ve uygun bir şekilde karıştırılarak tüm hayvanlara(kontrol grubu hariç) intramusküler uygulandı. Cerrahi uygulayacağımız alan olan sağ dizdeki tüm tüyler alındı ve diz temizlendi. Ardından steril alana aldığımız ratlarımızın sağ diz eklemleri batikon(Batticon®, ADEKA, Türkiye) ile temizlendi. Sonrasında diz eklemının anteriorundan 1-1,5 santimetrelik longitudinal insizyon ile cilt kesildi (Şekil8) ve ardından eklem kapsülü uygun bir şekilde açıldı. Ardından açık artrotomi yapılarak eklem görüldü ve infekte pürülan materyalin drenajı sağlandı (Şekil9). Ratların sağ dizlerine uygulanılan operasyonların hepsi aynı kişi tarafından yapıldı. Artrotomi yapıldıktan sonra diz eklemi makroskopik olarak görüldüğünde tüm ratlarda değişen düzeyde şişliğin olduğu ve yine değişen düzeylerde pürülan sıvının drene olduğu görüldü. Artrotomi sonrası tüm ratların diz eklemi 20 cc serum fizyolojik ile yıkandı ve debride edildi (Şekil 10).

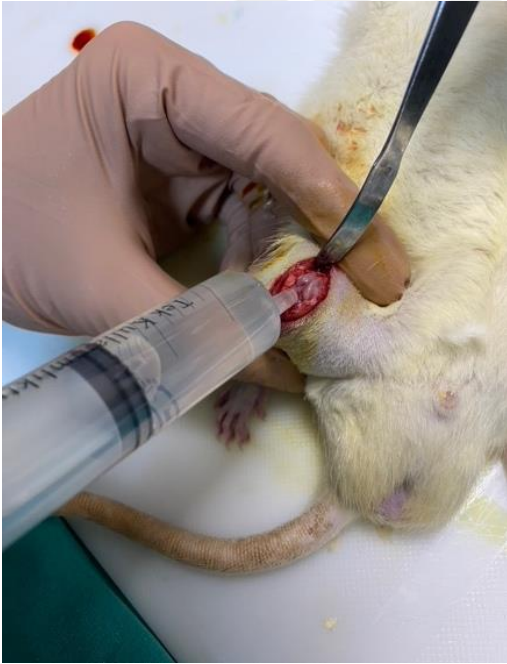


Şekil 8. Diz eklemine yapılan cilt insizyonu





**Şekil 9.** Cilt insizyonu sonrası artrotomi yapılarak eklemin görülmesi



**Şekil 10.** Enfekte diz ekleminin serum fizyolojik ile yıkanması

Yıkama işlemi yapıldıktan sonra eklem kapsülü uygun suture materyali ile kapatıldı (Şekil11). Ardından cilt uygun suture materyali ile kapatıldı (Şekil12).



**Şekil 11.** Eklem kapsülünün suturezasyonu



**Şekil 12.** Cildin suturezasyonu

Bakteri inokülasyonundan sonraki 7. Günde cerrahi müdahaleye başladık ve D grubuna debridman+yıkama(günümüzde uygulanan geleneksel tedavi metodu) yaptık. AB grubuna debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak 7 gün süreyle her gün verilmek kaydıyla 75mg/kg dozunda antibiyotik(Sefazolin Sodyum) intramusküler yoldan verildi. O grubuna debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak haftada bir kez 3 hafta boyunca (1. Hafta, 2. Hafta ve 3. Haftada) intraartiküler ozon(20 µg/mL) uygulandı. OAB grubuna ise debridman+yıkama yapıldı ve ilave olarak 7 gün süreyle her gün verilmek kaydıyla 75mg/kg

dozunda antibiyotik(Sefazolin Sodyum) intramusküler yoldan verildi ve yine ilave olarak haftada bir kez 3 hafta boyunca (1. Hafta, 2. Hafta ve 3. Haftada) intraartiküler ozon(20 µg/mL) uygulandı.

### **3.7. Ratlara Uygulanan Cerrahi Tedavi Sonrasında Takip**

Bakteri inokülasyonundan sonraki 7. günde yaptığımız cerrahi müdahale ve tedaviler sonrasında ratların dikiş yerleri her gün kontrol edildi. Pansumanları yapıldı. Her gün yara yerlerine batikon sürülerek ratların birbirlerinin uzuvlarını yemesi engellendi. Yine her gün yemleri ve suları kontrol edildi. Ratlara herhangi bir hareket kısıtlaması yapılmadı. Cerrahi müdahale sonrası takiplerimizde antibiyotik grubumuzdaki bir adet rat sebebi bilinmeyecek şekilde öldü. Ölen bu rat hayvan deneyi çalışmamızdan çıkartıldı.

### **3.8. Fizik Muayene ve Klinik Değerlendirme**

Tüm ratların sağ diz eklemleri, S.Aureus inokülasyonu sonrası 7. günde(cerrahi tedaviden hemen önce) ve 2. ayın sonunda ratları sakrifiye etmeden hemen önce muayene edilip değerlendirildi. Ratların sağ dizindeki şişlik, kızarıklık, ısı artışı ve eklem hareket açıklığı anestezi verilmeden önce değerlendirildi. Bu değerlendirme yapılırken yardımcı bir asistan ratları tuttu ve klinik değerlendirme aynı hekim tarafından yapıldı. Bu klinik değerlendirmeyi yaparken diz eklemindeki septik artrit etkilerinin şiddetini belirlemek için artrit indeks denilen bir skorlama sistemini kullandık (85). Bu skorlama sisteminde diz eklemleri değerlendirildi ve 0 ile 3 arası puanlar verildi. Puanlama yapılırken; 0 puan dizde herhangi bir patoloji yok, 1 puan diz ekleminde minimal şişlik ve kızarıklık, 2 puan diz ekleminde orta düzeyde şişlik ve kızarıklık, 3 puan ise diz ekleminde ciddi şişlik ve kızarıklık olarak belirlendi ve uygulandı.

### **3.9. Ratların Sakrifikasyonu**

Ratlar 8. haftanın sonunda sakrifiye edildi. Ratların septik artrit oluşturulan sağ diz eklemleri ve sağlıklı olan kontrol grubunun sağ diz eklemleri cilt insizyonu ve kapsül kesisi sonrasında ortaya çıkarıldı. Ardından distal femur suprakondiler seviyeden uygun osteotom ile kesildi. Kesildikten sonra uygun sıyrıcılar yardımı ile distal femur yumuşak dokulardan tamamen ayrıldı ve bütün doku örnekleri yapılacak olan histopatolojik çalışma için %10 formol içerisinde korumaya alındı. Histopatolojik incelemede ise; kırıldak hasarının ciddiyetini değerlendirmek için Salter ve arkadaşlarının geliştirdiği skorlama sistemini kullandık.

### 3.10. Histopatolojik Çalışma

Diz ekleminden femur distalinden alınan eklem kıkırdağı %10 nötr tamponlu formalinde sabitlendi. Kemikteki kalsiyumu uzaklaştırmak için dekalsifikasyon işlemi uygulandı. (M101728 Merck). EDTA solüsyonunda (%20, pH7,2) 4 hafta süreyle kireçleri çözüldü ve parafin içine gömüldüler. Ardından hematoksilin eozin (HE), Mason Trikrom (MT), Periyodik Asit Schiff (PAS) ve safranin O (SAO) ile boyama için örnekler bir mikrotom ile sagittal düzlemde 5µm kalınlığında seri olarak kesildi. HE kartilaj hücrelerin kaybı, MT kıkırdaktaki bağ doku, matriksin ve kalsifiye kıkırdağın azalması, PAS kartilaj kondrositlerin durumu ve SAO matriks ve proteoglikanların değerlendirilmesinde kullanıldı. Tüm örnekler kör olarak incelendi ve skorlama için de Salter ve arkadaşlarının (86) geliştirdiği skorlama sistemi kullanılmıştır (Tablo 5).

**Tablo 5.** Salter histolojik-histokimyasal skorlama sistemi (Salter, 1981)

	<b>Skor</b>
<b>1. Kıkırdağın selülaritesi:</b>	
Normal .....	0
%10 .....	1
%10-%25 .....	2
> %25 .....	3
<b>2. Matriks kaybı (Erozyonlar):</b>	
Normal .....	0
< %10 .....	1
%10-%25 .....	2
> 25 .....	3
<b>3. Kondrositlerin klonlanması:</b>	
Normal .....	0
< %10 .....	1
%10-%25 .....	2
> %25 .....	3
<b>4. Adezyonlar (Pannus):</b>	
Adezyon .....	0
Kıkırdağın sadece kenarını kaplar .....	1
< %50 .....	2
> %50 .....	3
<b>5. Safranin-O ile ortokromazi:</b>	
Normal .....	0
Hafif ve yer yer kayıp .....	1
Orta derecede kayıp .....	2
İleri derecede kayıp .....	3

### 3.11. İstatiksel Çalışma

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) olarak sunuldu. İstatistiksel analizler GraphPad Prism kullanılarak yapıldı (Windows için sürüm 5; GraphPad Yazılımı, Inc., La Jolla, CA). Farklılıklar gruplar arasında tek yönlü ANOVA ile istatistiksel anlamlılık açısından incelendi. Tukey'nin HSD testi. Aradaki istatistiksel farklar  $p < 0,05$  ise anlamlı bulundu.



## BÖLÜM 4

### BULGULAR

#### 4.1. Fizik Muayene ve Klinik Değerlendirmeye Göre Artritik İndeks Sonuçları

Kontrol grubu hariç S.Aureus verdiğimiz diğer bütün gruplarda bakteri inokülasyonu sonrası ilk 3 gün içinde sağ dizde kızarıklık ve ısı artışı başladı. İnokülasyon sonrası 3. günde kızarıklık ve ısı artışına diz eklemlerinde değişen düzeylerde şişlik de eşlik etmeye başladı (Şekil 13). Şişlik eşlik etmeye başladıktan sonra ratlarda hareket kısıtlılığı görülmeye başlandı. Ayrıca ratlarda yürürken topallama da görülmeye başlandı. Bütün ratların diz eklemleri artrotomi ile ortaya çıkarıldığında farklı miktarlarda enfekte pürülan sıvı drenajı görüldü.

Sakrifikasyondan hemen önce, debridman grubunda belirgin olmak üzere, septik artritten etkilenen sağ dizde ciddi boyutlarda şişlik ve kızarıklık mevcut idi (şekil14). Bu şişliğin özellikle debridman grubunda dizden proksimale doğru yayıldığı gözlemlendi. Yine özellikle debridman grubunda sağ diz eklem hareketleri ciddi şekilde kısıtlanmıştı. AB ve O gruplarında sağ diz eklemlerinde hafif-orta düzeyde şişlik mevcuttu. AB ve O gruplarındaki ratlarda genel olarak sağ diz eklem hareketleri orta düzeyde kısıtlıydı. OAB grubundaki ratlarda şişlik ve kızarıklık yok denecek kadar az idi ve bu gruptaki ratların sağ diz eklem hareketleri hafif kısıtlı idi. Kontrol grubundaki ratlarda ise herhangi bir patoloji görülmedi.



Şekil 13. Cerrahi öncesi ratların sağ dizlerindeki şişlik ve kızarıklık



**Şekil 14.** Sakrifikasyondan hemen önce D grubundaki bir ratın dizindeki şiddetli şişlik

Fizik muayene ve klinik değerlendirmelere göre artritik indeks en yüksek D grubunda görülmüştür. Artritik indeksin en düşük olduğu grup ise OAB grubu olarak görüldü (Tablo6). O ve AB gruplarında artritik indeks sonuçları birbirine çok yakın idi. K grubunda septik artrit oluşturulmadığı için artritik indeks sıfır idi.

**Tablo 6.** Gruplardaki artritik indeks puanına göre rat sayısı

Artritik indeks (puan)	Gruplar				
	Kontrol	Debridman	Antibiyotik	Ozon	Ozon + Antibiyotik
0	8	0	0	0	1
1	0	0	2	1	6
2	0	2	4	6	1
3	0	6	1	1	0

Sakrifikasyon sonrasında inflamasyona makroskopik olarak bakıldığında; özellikle D grubunda tibianın eklem yüzünde ve femur kondillerinde ciddi kırıkta hasarı mevcut olup bunlara yapışıklıklar ve pannus oluşumu da eşlik ediyordu (Şekil15). Yine makroskopik olarak eklem içi değerlendirildiğinde D grubunda belirgin olmak kaydıyla ve OAB grubunda daha az görülmesi kaydıyla eklem kapsülünün hipertrofiye uğradığı, sinovyumun hipertrofiye uğradığı, hareketi kısıtlayan fibrotik dokuların eklemi doldurduğu ve eklem sıvısının renginin çok koyulaştığı ve süpüratif karakter içerdiği gözlenmiştir.

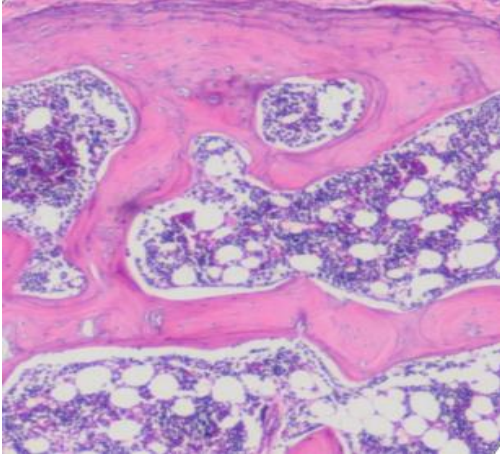


**Şekil 15.** Sakrifikasyon sonrası D grubundaki bir ratın eklem görüntüsü(fibröz ankilöz,yapışıklık, pannus ve hipertrofik kapsül)

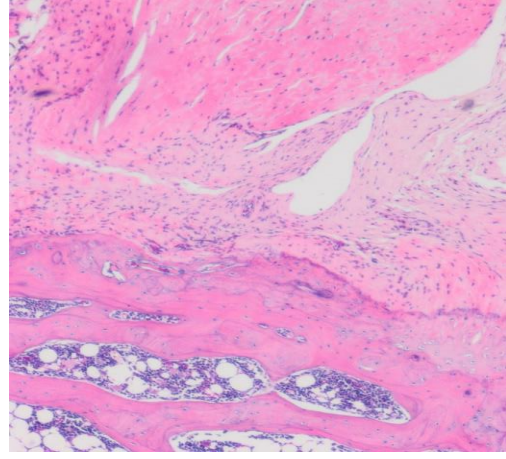
#### **4.2. Histopatolojik ve İstatiksel Bulgular**

HE boyamalarında K grubu normal eklem kırıktağının ışık mikroskopide histolojik görünümü hücre kaybının olmadığı, kırıktağ erozyonunun olmadığı, normal bağ dokusu içerdiği, yüzey kaybının olmadığı, kondrositlerde kümeleşme bulunmadığı, pannus oluşmadığı alanlar olarak izlendi. D grubunda, kırıktağ yüzeyinde transizyonel ve bazılarında derin zona kadar uzanan fissürler, disorganizasyon, hiposelülerite, proteoglikan düzeyinde azalma, subkondral kemikte kalınlaşma gibi osteoartrit bulguları gözlemlendi. O, AB ve OAB olgularında K ve D grubu arasında değişen düzeyde oluşan histopatolojik değişikliklerin azaldığı saptandı (Şekil16).

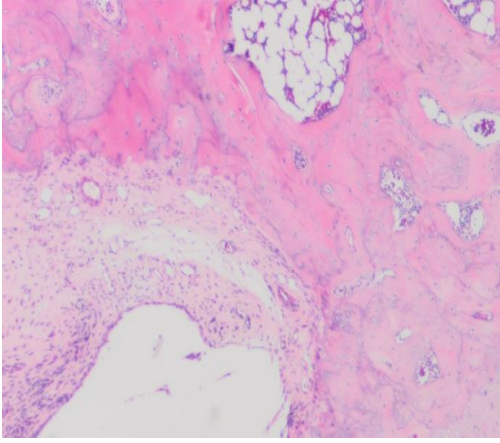




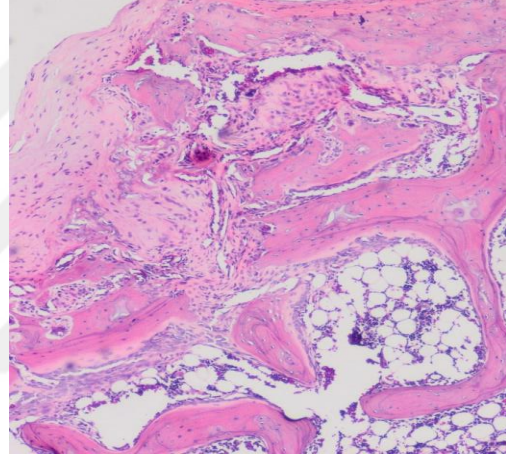
**K**



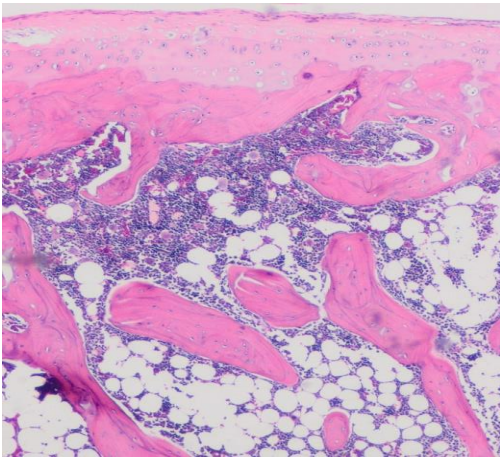
**D**



**O**



**AB**



**OAB**

**Şekil 16.** HE boyamalarda eklem kıkırdagının normal hali olarak kıkırdak yüzeyi düzenli, hücre dağılımı ve kalınlık normal izlendi. Patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler gözlemlendi (HE, 200).

HE boyamalarında bütün grupların ortalama skorları, standart sapmaları ve istatistiksel ortalamaları oluşturuldu. En yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi (Tablo7,8).

**Tablo 7.** HE (Hücreseel durum) boyamada grupların ortalama skorları

	<b>K</b>	<b>D</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>	<b>OAB</b>
<b>1</b>	0,50	1,50	2,50	1,00	0,50
<b>2</b>	1,00	2,00	2,00	1,50	1,00
<b>3</b>	0,50	3,00	1,00	1,50	0,50
<b>4</b>	1,00	2,50	1,50	1,00	1,00
<b>5</b>	1,00	2,00	1,00	1,50	1,50
<b>6</b>	1,00	2,50	2,00	2,00	1,50
<b>7</b>	1,50	3,00	1,00	2,50	1,00
<b>8</b>	1,00	2,50	1,50		1,00
<b>ORT</b>	<b>0,94</b>	<b>2,38</b>	<b>1,56</b>	<b>1,57</b>	<b>1,00</b>
<b>SD</b>	<b>0,32</b>	<b>0,52</b>	<b>0,56</b>	<b>0,53</b>	<b>0,38</b>

**Tablo 8.** HE (Hücreseel durum) boyamada grupların istatistiksel ortalamaları

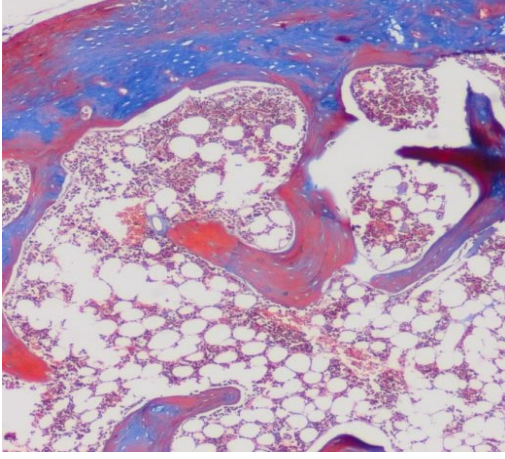
<b>Group</b>	<b>Points</b>	<b>Mean</b>	<b>Deviation</b>	<b>Mean</b>	<b>Median</b>
<b>K</b>	8	0.9375	0.3204	0.1133	1.000
<b>D</b>	8	2.375	0.5175	0.1830	2.500
<b>O</b>	8	1.563	0.5630	0.1990	1.500
<b>AB</b>	7	1.571	0.5345	0.2020	1.500
<b>OAB</b>	8	1.000	0.3780	0.1336	1.000

HE boyamalarında grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı (Tablo 9)

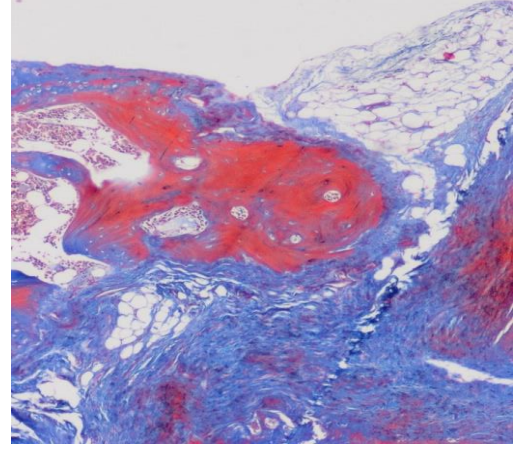
**Tablo 9.** HE (Hücresel durum) boyamada grupların istatistiği

<b>Comparison</b>	<b>Difference</b>	<b>q</b>	<b>P value</b>
<b>K vs D</b>	-1.438	8.641	*** P<0,001
<b>K vs O</b>	-0.6250	3.757	ns P>0,05
<b>K vs AB</b>	-0.6339	3.682	ns P>0,05
<b>K vs OAB</b>	-0.06250	0.3757	ns P>0,05
<b>D vs O</b>	0.8125	4.884	* P<0,05
<b>D vs AB</b>	0.8036	4.667	* P<0,05
<b>D vs OAB</b>	1.375	8.266.	*** P<0,001
<b>OZ vs AB</b>	-0.008929	0.05185	ns P>0,05
<b>OZ vs OAB</b>	0.5625	3.381	ns P>0,05
<b>AB vs OAB</b>	0.5714	3.319	ns P>0,05

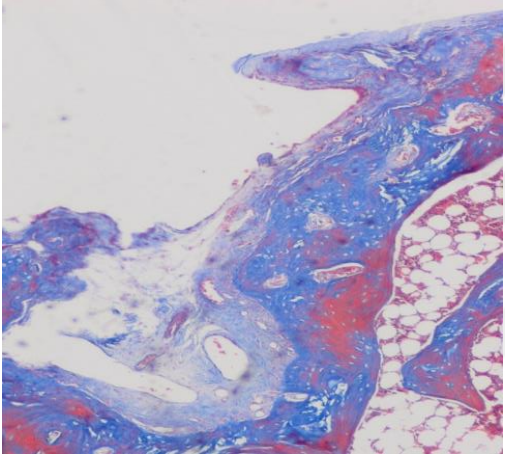
MT boyamalarında K grubu normal eklem kıkırdağının ışık mikroskopide histolojik görünümü hücre kaybının olmadığı, kıkırdak erozyonunun olmadığı, normal bağ dokusu içerdiği, yüzey kaybının olmadığı, kondrositlerde kümeleşme bulunmadığı, pannus oluşmadığı alanlar olarak izlendi. D grubunda tüm histopatolojik değişikliklerin varlığı gözlemlendi. O, AB ve OAB olgularında K ve D grubu arasında değişen düzeyde oluşan histopatolojik değişikliklerin azaldığı saptandı (Şekil17).



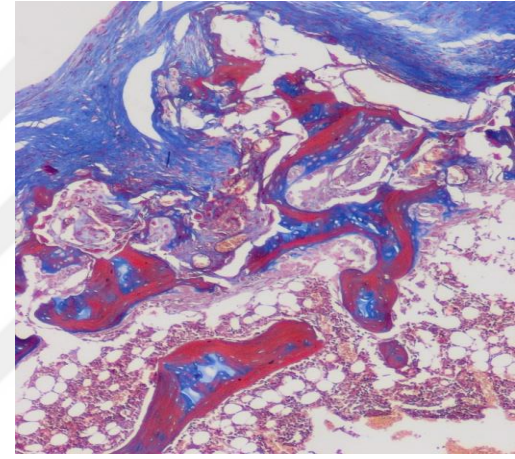
K



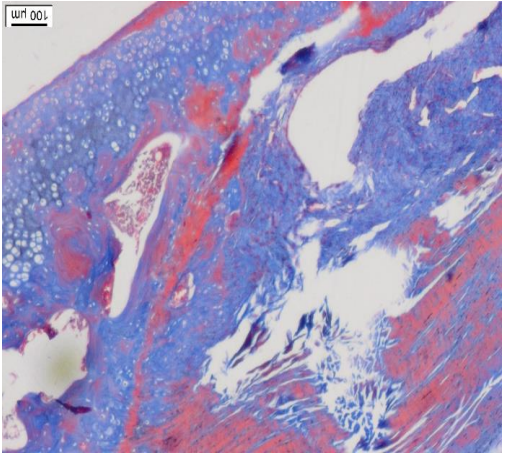
D



O



AB



OAB

**Şekil 17.** MT boyamalarda eklem kıkırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler izlendi (HE, 200).

MT (Matriks hasarı) bütün grupların ortalama skorları, standart sapmaları ve istatistiksel ortalamaları oluşturuldu. En yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi (Tablo 10, Tablo 11).

**Tablo 10.** MT (Matriks hasarı) boyamada grupların ortalama skorları

	<b>K</b>	<b>D</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>	<b>OAB</b>
<b>1</b>	1,00	1,50	1,00	1,00	0,50
<b>2</b>	0,50	2,00	2,50	2,00	1,50
<b>3</b>	0,50	3,00	1,00	0,50	0,50
<b>4</b>	1,50	2,50	1,50	1,00	1,00
<b>5</b>	0,50	2,50	1,00	1,00	1,50
<b>6</b>	1,00	2,50	1,50	1,50	0,50
<b>7</b>	1,00	3,00	2,00	2,50	1,00
<b>8</b>	1,00	2,50	1,50		1,00
<b>ORT</b>	<b>0,88</b>	<b>2,44</b>	<b>1,50</b>	<b>1,36</b>	<b>0,94</b>
<b>SD</b>	<b>0,35</b>	<b>0,50</b>	<b>0,53</b>	<b>0,69</b>	<b>0,42</b>

**Tablo 11.** MT (Matriks hasarı) boyamada grupların istatistiksel ortalamaları

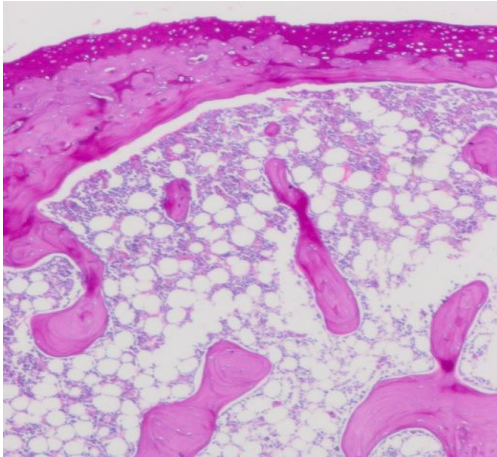
<b>Group</b>	<b>Points</b>	<b>Mean</b>	<b>Deviation</b>	<b>Mean</b>	<b>Median</b>
<b>KR</b>	8	0.8750	0.3536	0.1250	1.000
<b>D</b>	8	2.438	0.4955	0.1752	2.500
<b>O</b>	8	1.500	0.5345	0.1890	1.500
<b>AB</b>	7	1.357	0.6901	0.2608	1.000
<b>OAB</b>	8	0.9375	0.4173	0.1475	1.000

MT boyamalarında grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı (Tablo 12).

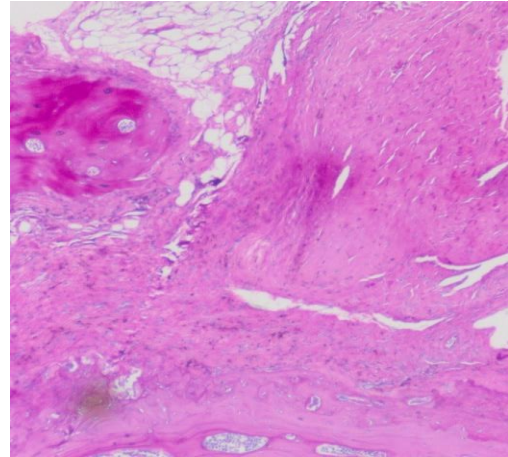
**Tablo 12.** MT (Matriks hasarı) boyamada grupların istatistiği

Comparison	Difference	q	P value
<b>K vs D</b>	-1.563	8.752	*** P<0,001
<b>K vs O</b>	-0.6250	3.501	ns P>0,05
<b>K vs AB</b>	-0.4821	2.609	ns P>0,05
<b>K vs OAB</b>	-0.06250	0.3501	ns P>0,05
<b>D vs O</b>	0.9375	5.251	** P<0,01
<b>D vs AB</b>	1.080	5.846	** P<0,01
<b>D vs OAB</b>	1.500	8.402	*** P<0,001
<b>O vs AB</b>	0.1429	0.7730	ns P>0,05
<b>O vs OAB</b>	0.5625	3.151	ns P>0,05
<b>AB vs OAB</b>	0.4196	2.271	ns P>0,05

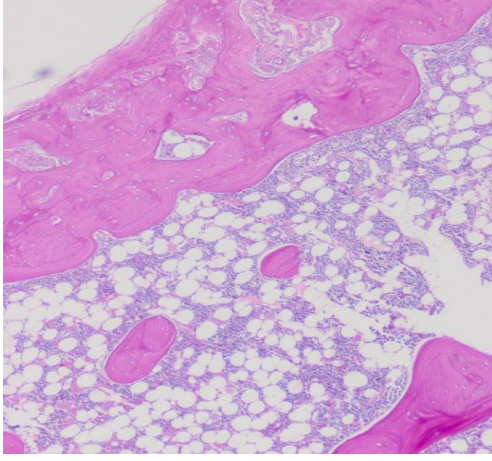
PAS boyamalarında K grubu normal eklem kıkırdağının ışık mikroskopide histolojik görünümü hücre kaybının olmadığı, kıkırdak erozyonunun olmadığı, normal bağ dokusu içerdiği, yüzey kaybının olmadığı, kondrositlerde kümeleşme bulunmadığı, pannus oluşmadığı alanlar olarak izlendi. D grubunda tüm histopatolojik değişikliklerin varlığı gözlemlendi. O, AB ve OAB olgularında K ve D grubu arasında değişen düzeyde oluşan histopatolojik değişikliklerin azaldığı saptandı (Şekil 18).



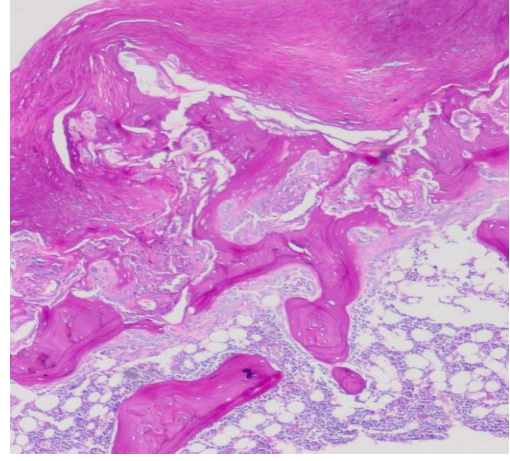
K



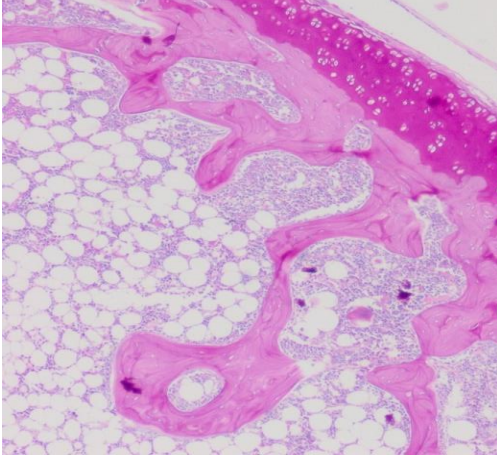
D



O



AB



OAB

**Şekil 18.** PAS boyamalarda eklem kıkırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler (HE, 200).

PAS (Kondrosit klonlanması) boyamalarında bütün grupların ortalama skorları, standart sapmaları ve istatistiksel ortalamaları oluşturuldu. En yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi (Tablo 13, Tablo 14).

**Tablo 13.** PAS boyamada grupların ortalama skorları

	<b>K</b>	<b>D</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>	<b>OAB</b>
<b>1</b>	1,00	1,50	0,50	0,50	1,50
<b>2</b>	0,50	3,00	2,00	2,00	0,50
<b>3</b>	1,00	2,50	1,00	1,00	1,00
<b>4</b>	0,50	3,00	1,50	1,50	1,00
<b>5</b>	0,50	1,50	2,00	1,50	0,50
<b>6</b>	1,50	2,50	1,00	0,50	1,50
<b>7</b>	1,50	3,00	2,50	2,50	1,50
<b>8</b>	0,50	2,50	1,50		0,50
<b>ORT</b>	<b>0,88</b>	<b>2,44</b>	<b>1,50</b>	<b>1,36</b>	<b>1,00</b>
<b>SD</b>	<b>0,44</b>	<b>0,62</b>	<b>0,65</b>	<b>0,75</b>	<b>0,46</b>

**Tablo 14.** PAS boyamada grupların istatistiksel ortalamaları

<b>Group</b>	<b>Points</b>	<b>Mean</b>	<b>Deviation</b>	<b>Mean</b>	<b>Median</b>
<b>K</b>	8	0.8750	0.4432	0.1567	0.7500
<b>D</b>	8	2.438	0.6232	0.2203	2.500
<b>O</b>	8	1.500	0.6547	0.2315	1.500
<b>AB</b>	7	1.357	0.7480	0.2827	1.500
<b>OAB</b>	8	1.000	0.4629	0.1637	1.000

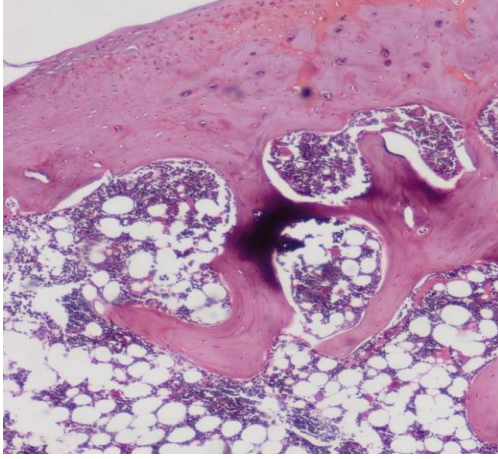
PAS (Kondrosit klonlanması) boyamalarında grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı (Tablo 15).

**Tablo 15.** PAS (Kondrosit klonlanması) boyamada grupların istatistiği

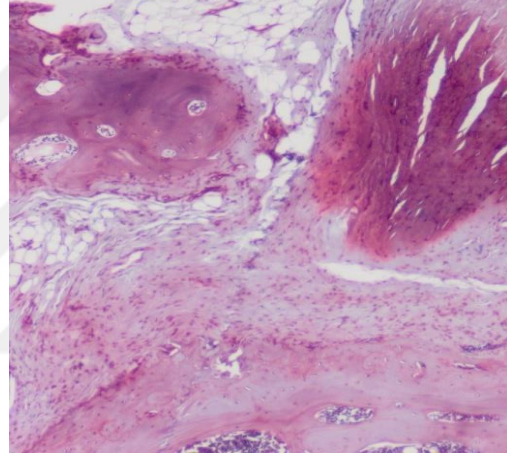
<b>Comparison</b>	<b>Difference</b>	<b>q</b>	<b>P value</b>
<b>K vs D</b>	-1.563	7.454	*** $P < 0,001$
<b>K vs O</b>	-0.6250	2.982	ns $P > 0,05$
<b>K vs AB</b>	-0.4821	2.222	ns $P > 0,05$
<b>K vs OAB</b>	-0.1250	0.5963	ns $P > 0,05$
<b>D vs O</b>	0.9375	4.473	* $P < 0,05$
<b>D vs AB</b>	1.080	4.979	* $P < 0,05$
<b>D vs OAB</b>	1.438	6.858	*** $P < 0,001$
<b>O vs AB</b>	0.1429	0.6584	ns $P > 0,05$
<b>O vs OAB</b>	0.5000	2.385	ns $P > 0,05$
<b>AB vs OAB</b>	0.3571	1.646	ns $P > 0,05$



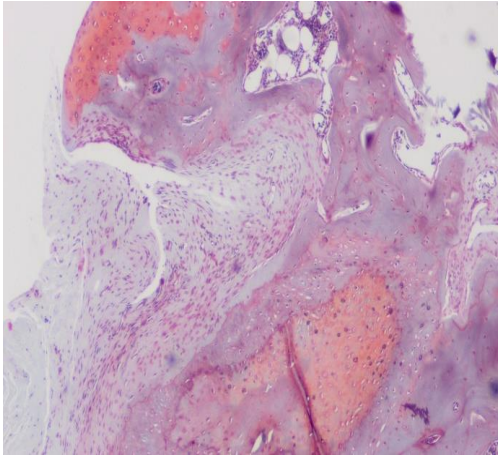
SAO boyamalarında proteoglikanların kaybı ile ilişkili değişiklikler saptandı. K grubu normal eklem kıkırdağının ışık mikroskopide histolojik görünümü hücre kaybının olmadığı, kırıldak erozyonunun olmadığı, normal bağ dokusu içerdiği, yüzey kaybının olmadığı, kondrositlerde kümeleşme bulunmadığı, pannus oluşmadığı alanlar olarak izlendi. D grubunda dejeneratif değişiklik, bazı alanlarda derin fissürler ve kayıplar ve bunun sonucunda kalsifiye bölgenin açığa çıkmasıyla bozulma ve düzensizlik, kondrositlerin hiposelülaritesi, eklem kıkırdağında yapısal değişiklik fibrilasyon ile düzensiz yüzey tabakası tüm histopatolojik değişikliklerin varlığı gözlemlendi. O, AB ve OAB olgularında K ve D grubu arasında değişen düzeyde oluşan histopatolojik değişikliklerin azaldığı saptandı (Şekil 19).



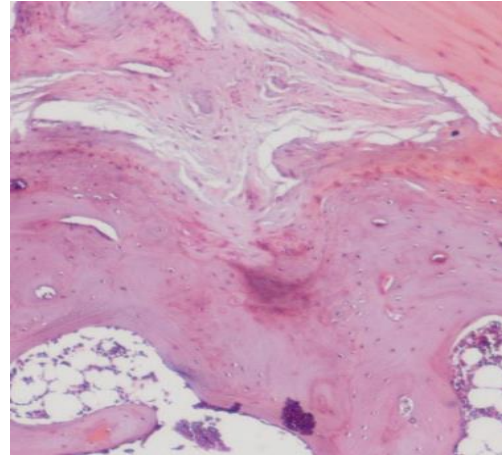
K



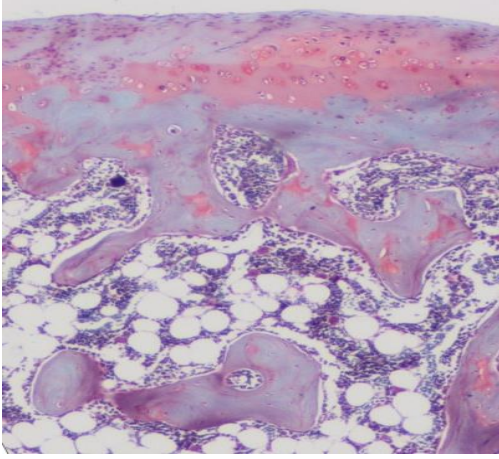
D



O



AB



OAB

**Şekil 19.** SAO boyamalarda eklem kıkırdağının normal ve patolojik halleri ile yapılan uygulamalara bağlı azalan histopatolojik değişiklikler (HE, 200).

SAO (Adhezyon) boyamalarında bütün grupların ortalama skorları, standart sapmaları ve istatistiksel ortalamaları oluşturuldu. En yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi (Tablo 16, Tablo 17).

**Tablo 16.** SAO (Adhezyon) boyamada grupların ortalama skorları

	<b>K</b>	<b>D</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>	<b>OAB</b>
<b>1</b>	1,00	1,50	1,00	1,00	0,50
<b>2</b>	1,00	3,00	1,50	1,00	1,00
<b>3</b>	1,00	2,50	1,00	1,50	1,00
<b>4</b>	0,50	3,00	1,50	1,50	1,00
<b>5</b>	0,50	3,00	2,50	1,50	0,50
<b>6</b>	1,50	2,50	1,00	2,50	2,00
<b>7</b>	1,00	1,50	2,50	0,50	1,50
<b>8</b>	0,50	2,50	1,00		0,50
<b>ORT</b>	<b>0,88</b>	<b>2,44</b>	<b>1,50</b>	<b>1,36</b>	<b>1,00</b>
<b>SD</b>	<b>0,35</b>	<b>0,62</b>	<b>0,65</b>	<b>0,63</b>	<b>0,53</b>

**Tablo 17.** SAO (Adhezyon) boyamada grupların istatistiksel ortalamaları

Group	Points	Mean	Deviation	Mean	Median
<b>K</b>	8	0.8750	0.3536	0.1250	1.000
<b>D</b>	8	2.438	0.6232	0.2203	2.500
<b>O</b>	8	1.500	0.6547	0.2315	1.250
<b>AB</b>	7	1.357	0.6268	0.2369	1.500
<b>OAB</b>	8	1.000	0.5345	0.1890	1.000

SAO (Adhezyon) boyamalarında grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p < 0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı (Tablo 18).

**Tablo 18.** SAO (Adhezyon) boyamada grupların istatistiği

Comparison	Difference	q	P value
<b>K vs D</b>	-1.563	7.787	*** $P < 0,001$
<b>K vs O</b>	-0.6250	3.115	ns $P > 0,05$
<b>K vs AB</b>	-0.4821	2.321	ns $P > 0,05$
<b>K vs OAB</b>	-0.1250	0.6230	ns $P > 0,05$
<b>D vs O</b>	0.9375	4.672	* $P < 0,05$
<b>D vs AB</b>	1.080	5.202	** $P < 0,01$
<b>D vs OAB</b>	1.438	7.164	*** $P < 0,001$
<b>O vs AB</b>	0.1429	0.6878	ns $P > 0,05$
<b>O vs OAB</b>	0.5000	2.492	ns $P > 0,05$
<b>AB vs OAB</b>	0.4286	2.113	ns $P > 0,05$

Tüm boyamalarda bütün grupların ortalama skorları, standart sapmaları ve istatistiksel ortalamaları oluşturuldu. En yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi (Tablo 19, Tablo 20).

**Tablo 19.** Tüm boyamaların skorları ve ortalamaları

	<b>K</b>	<b>D</b>	<b>O</b>	<b>AB</b>	<b>OAB</b>
<b>1</b>	0,5	1,5	2,5	1	0,5
<b>2</b>	1	2	2	1,5	1
<b>3</b>	0,5	3	1	1,5	0,5
<b>4</b>	1	2,5	1,5	1	1
<b>5</b>	1	2	1	1,5	1,5
<b>6</b>	1	2,5	2	2	1,5
<b>7</b>	1,5	3	1	2,5	1
<b>8</b>	1	2,5	1,5	1	1
<b>9</b>	1	1,5	1	2	0,5
<b>10</b>	0,5	2	2,5	0,5	1,5
<b>11</b>	0,5	3	1	1	0,5
<b>12</b>	1,5	2,5	1,5	1	1
<b>13</b>	0,5	2,5	1	1,5	1,5
<b>14</b>	1	2,5	1,5	2,5	0,5
<b>15</b>	1	3	2	0,5	1
<b>16</b>	1	2,5	1,5	2	1
<b>17</b>	1	1,5	0,5	1	1,5
<b>18</b>	0,5	3	2	1,5	0,5
<b>19</b>	1	2,5	1	1,5	1
<b>20</b>	0,5	3	1,5	0,5	1
<b>21</b>	0,5	1,5	2	2,5	0,5
<b>22</b>	1,5	2,5	1	1,00	1,5
<b>23</b>	1,5	3	2,5	1	1,5
<b>24</b>	0,50	2,50	1,50	1,5	0,50
<b>25</b>	1,00	1,50	1,00	1,5	0,50
<b>26</b>	1	3	1,5	1,5	1
<b>27</b>	1	2,5	1	2,5	1
<b>28</b>	0,5	3	1,5	0,5	1
<b>29</b>	0,5	3	2,5		0,5
<b>30</b>	1,5	2,5	1		2
<b>31</b>	1	1,5	2,5		1,5
<b>32</b>	0,5	2,5	1		0,5
<b>ORT</b>	<b>0,89</b>	<b>2,42</b>	<b>1,52</b>	<b>1,41</b>	<b>0,98</b>
<b>SD</b>	<b>0,35</b>	<b>0,54</b>	<b>0,57</b>	<b>0,62</b>	<b>0,43</b>

**Tablo 20.** Tüm boyamaların istatistiksel ortalamaları

Group	Points	Mean	Deviation	Mean	Median
<b>K</b>	32	0.8906	0.3532	0.06244	1.000
<b>D</b>	32	2.422	0.5405	0.09554	2.500
<b>O</b>	32	1.516	0.5748	0.1016	1.500
<b>AB</b>	28	1.411	0.6244	0.1180	1.500
<b>OAB</b>	32	0.9844	0.4304	0.07608	1.000

**Tablo 21.** Tüm boyamalarda grupların istatistiği

Comparison	Difference	q	P value
<b>K vs D</b>	-1.531	16.950	*** P<0,001
<b>K vs O</b>	-0.6250	6.919	*** P<0,001
<b>K vs AB</b>	-0.5201	5.562	** P<0,01
<b>K vs OAB</b>	-0.09375	1.038	ns P>0,05
<b>D vs O</b>	0.9063	10.032	*** P<0,001
<b>D vs AB</b>	1.011	10.814	*** P<0,001
<b>D vs OAB</b>	1.438	15.913	*** P<0,001
<b>O vs AB</b>	0.1049	1.122	ns P>0,05
<b>O vs OAB</b>	0.5313	5.881	*** P<0,001
<b>AB vs OAB</b>	0.4263	4.559	* P<0,05

Artritik indeks sonuçlarının karşılaştırılması için Mann Whitney U testi kullanıldı. Kontrol grubu ile diğer tüm gruplar arasında oldukça anlamlı sonuçlar elde edildi ( $p<0,001$ ). D grubu O,AB ve OAB grupları ile karşılaştırıldığında yine anlamlı sonuçlar elde edildi ( $p<0,05$ ). AB grubu OAB grubu ile karşılaştırıldı ve sonuç anlamlı idi ( $p<0,05$ ). O grubu OAB grubu ile karşılaştırıldı ve yine sonuçlar anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). AB grubu, O grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamadı.

**Tablo 22.** Grup ortalamaları ve standart sapmaları

	<b>Gruplar</b>				
	Kontrol	Debridman	Antibiyotik	Ozon	Ozon + Antibiyotik
<b>Artritlik indeks (puan)</b>	0	2,75±0,46	1,85±0,69	2±0,53	1±0,53

**Tablo 23.** Kontrol grubunun diğer gruplarla istatistiksel karşılaştırılması

	<b>Gruplar (p değeri)</b>			
	Kontrol vs Debridman	Kontrol vs Antibiyotik	Kontrol vs Ozon	Kontrol vs Ozon+ Antibiyotik
<b>Artritlik indeks (puan)</b>	<0,001	<0,001	<0,001	0,001

**Tablo 24.** Debridman, Antibiyotik, Ozon ve Ozon+Antibiyotik gruplarının istatistiksel karşılaştırılması

	<b>Gruplar (p değeri)</b>					
	Debridman vs Antibiyotik	Debridman vs Ozon	Debridman vs Ozon+ antibiyotik	Antibiyotik vs Ozon	Antibiyotik vs Ozon+ Antibiyotik	Ozon vs Ozon+ antibiyotik
<b>Artritlik indeks (puan)</b>	0,016	0,013	0,001	0,627	0,021	0,004

## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Tuttuğu eklemde tedavi edilmezse hızlıca ilerleyip ciddi sekeller bırakan ve yine tedavi edilmediği takdirde yüksek ölüm riski yaratan bir enfektif hastalık olan septik artrit günümüzde oldukça sık görülmektedir. Genel popülasyonda septik artritin yıllık insidansı, yılda 100.000 kişide yaklaşık 2 ila 10 vaka olarak belirtilmiştir (12). Septik artritin insidans oranları giderek artmaktadır ve dirençli patojenler septik artritte daha fazla rol almaya başlamıştır (4, 5).

Septik artrit bir eklem boşluğuna hematojen yolla, direkt inokülasyon, iatrojenik inokülasyon veya komşu bir enfeksiyon kaynağından bulaş yoluyla ulaşabilir (15, 17-19). En sık hematojen yolla yayılır. Yıllardır süregelen çok ciddi araştırmalara rağmen, özellikle immun sistemi zayıf olan çocuklar ve komorbid hastalıkları bulunan yaşlı hastalarda daha sık görülmekle birlikte ciddi morbidite ve mortalite sebebidir.

Septik artritin tedavisi tutulan eklemde debridmanı, enfekte eklem sıvısının drenajı ve etken patojene yönelik antibiyotikleri içermektedir. Bu bahsedilen tedavilere akut dönemde hemen başlanılsa dahi geri dönüşü olmayan eklem hasarı olabilir (87). Tedavinin hedefleri eklem enfeksiyonunun ortadan kaldırılması, dekompresyon ve eklemde restorasyondur. Septik artritin klinik tanısını koyar koymaz tedaviye başlamak çok önemlidir. Tedavisi gecikmiş septik artrit ciddi eklem hasarına ve uzun süreli eklem sorunlarına yol açar (10, 11).

Septik artrit insidansının artmasından dolayı tedavisiyle ilgili araştırmalar son zamanlarda sıklaşmıştır ve öncelikle hayvan modellerinde test edilmesi gereken yeni tedavi alternatifleri araştırılmaktadır. Septik artritin birçok hayvan modeli, seçilen mikroorganizmaların intravasküler enjeksiyonuna dayanmaktadır. Bu tür modellerin uygulanması kolaydır, ancak iki ana eksiklikleri vardır: birincisi, varsa hangi eklemde enfekte olacağını tam olarak tahmin etmek imkansızdır; ve ikincisi, eklemi enfekte etmek için gereken bakteriyel yük bilinmemektedir. Hematojen modellere özgü bu sınırlamalar, bilinen bir inokulumun seçilen bir eklemde doğrudan enjeksiyonu ile kolayca aşılabilir (88). Bununla birlikte, eklem içi artrit modellerinin çoğu tavşanlar için geliştirilmiştir (89-91). Kemirgenlerle ilgili olarak, jambon ve kobaylar için birkaç model geliştirilmiştir (92). Ancak ratlar şimdiye kadar bu tür modellerden yoksundu. Belki de kemirgenler için eklem içi

modellerin azlığı, ratlar gibi küçük hayvanların eklemlerinin delinmesinde beklenen teknik zorluklarla açıklanabilir. Ancak, ratlar biyomedikal araştırmalarda, özellikle de enfeksiyon ve toksisite modellerinde en sık kullanılan hayvanlardır (93).

Teknik zorlukların pratikle aşılması koşuluyla, eklem içi modellerin hematojen modellere kıyasla birçok doğal avantajı vardır: hem enfekte edilecek spesifik eklemi hem de inoküle edilecek bakteri yükünü önceden seçmek mümkündür; kontralateral eklemler kontrol görevi gördüğünden örneklem büyüklüğü yarıya indirilebilir; ve hematojen modellere özgü bakteriyemi oranları eklem içi modellerde de azaltılabileceğinden hayvan refahı daha iyi olacaktır (94).

Biz de bu otörlerin verdikleri bilgiler ışığında ratlarla ilgili septik artrit çalışmalarına bir yenisini katmak ve oluşan kıkırdak hasarında ozon tedavisinin etkisini görmek amacıyla ratların diz eklemine intraartiküler *S. Aureus* inokülasyonu yapıp septik artrit oluşturmayı ve tedavi sonuçlarını görmeyi planladık.

*S. aureus* suşunun seçilmesinin nedeni, insanlarda septik artrit ve enfekte artroplastilerde en sık izole edilen etiyolojik mikroorganizma olmasıdır. Tüm yaş gruplarında akut septik artrite en sık neden olan organizma *Staphylococcus aureus*'tur. Septik eklemlerde başka birçok organizma izole edilmiştir. Bildirilen diğer etken organizmalar arasında *Streptococcus pyogenes* (Grup B), *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus sp*, *Salmonella sp*, *Serratia marcescens*, *Clostridium welchii*, *Neisseria sp*, *S. albus*, *Aerobacter sp*, *Bacteroides sp* ve *paracolon basili* bulunmaktadır. 1966 yılında, *Haemophilus influenzae* tip b'nin 6 ay ile 2 yaş arasındaki bebeklerde yaygın bir etken organizma olduğuna dikkat çekilmiştir, ancak şu anda aktif olan bağışıklama programları bunun görölme sıklığını önemli ölçüde azaltmıştır. Klinik tanı konulan ve bu temelde tedaviye başlanan hastaların yaklaşık yarısında etken organizma tespit edilememektedir (95).

Tavşanlarda,  $10^5$  *S. aureus* organizmasının diz eklemine intraartiküler enjeksiyonu büyük eklem yıkımına neden olurken, *N. gonore* veya *S. epidermidis*'in aynı dozdaki enjeksiyonları eklem iltihabına neden olmamıştır (13). Bu da bize *S.Aureus*'un septik artrit oluşurmada daha etkili olduğunu düşündürebilir.



B grubu Streptococcus'un diz eklemine inoküle edildiği bir fare modelinde aktive edilmiş T hücreleri tarafından üretilen sitokin olan gama interferon (IFN- $\gamma$ ), bakteriyel inokülasyondan 18 saat sonra verildiğinde ölüm oranını ve eklem tahribatını azaltmıştır (96). Ancak bu modelde enfekte edici organizma olarak S. aureus kullanıldığında, (IFN- $\gamma$ ) septik artrit sıklığını ve şiddetini arttırırken aynı zamanda fareleri septisemiden korumuştur (97).

Tüm yaş gruplarında akut septik artrite en sık neden olan organizmanın Staphylococcus aureus olması sebebi ile hayvan deneyi çalışmamızda diz eklemine enfeksiyon oluşturmak için etken organizma olarak S. Aureus'u seçtik.

Kemirgenlerde, eklem içine bir S. aureus suşu aşılandıktan sonra üretilen ve hamster, kobay ve fareleri içeren üç diz artrit modeli bulunmuştur. Hamster (50.000.000 CFU) (92) ve kobay (100.000.000 CFU) (92) içeren modellerde kullanılan inokül konsantrasyonları amacımız için çok yüksek bulunmuş ve dikkate alınmamıştır. Bununla birlikte, farelerde 24.000 ila 29.000 CFU (98) arasında değişen konsantrasyonlarda inokulum enjekte edilerek akut septik diz artrit başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Ratların dizlerinde septik artrit oluşturmak için gerekli doz ve miktar hakkında hala kesin bir fikir birliği bulunmamakla birlikte bu konuyla ilgili çok daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Ratların diz eklemlerine inoküle edilecek doz ve miktar çok önemlidir;çünkü artrite neden olacak kadar yeterli olmalı ama aynı zamanda bakteriyemi oluşturmamalı ve hayvan refahını da etkilememelidir. Ratlarda yapılan bir çalışmada S. aureus suşunun 15.500 CFU'sunun doğrudan diz eklemine inoküle edilmesiyle ratlarda akut septik artrit oluşturulmuş olup aynı zamanda hayvanlar bakteriyemiye girip ölmemiştir (94).

Bu bilgiler doğrultusunda  $1,5 \times 10^4$  cfu/ml dozunda S. aureus ATCC 25923 suşunun ratların dizlerinde hem septik artrit oluşturup oluşturmadığını test etmek ve bu dozun ratları sepsise sokup öldürüp öldürmeyeceğini belirlemek amacıyla çalışma öncesinde 3 adet ratın diz eklemine  $1,5 \times 10^4$  cfu/ml dozunda S. aureus inoküle edildi. Bu ratlar her gün kontrol edilip, muayene edildi. Ratlar bakteriyemiye girip ölmedi ve 2. günden sonra 3 ratın da dizinde şişlik ve kızarıklık oluştu. Şişliğin artmasıyla birlikte 3. günden sonra 3 ratta da topallama ve yürüyüş bozukluğu başladı. 3 ratın da hareket kabiliyeti azalmıştı. Bu çalışmalar ışığında ve kontrol çalışmamız sonrasında biz de çalışma dozumuzu  $1,5 \times 10^4$  (cfu/ml) olarak belirledik.

Kıkırdak hasarı enfeksiyondan 8 saat sonra ortaya çıkmaya başlar (24). Bu yıkıcı süreç ilerledikçe, inokülasyonun ardından 5. günde proteoglikanlar parçalanır ve kollajen 9. günde parçalanır (25). Enfeksiyon ilerledikçe, eklem içi basınç yükselir, bu da sinovyal vaskülatürün sıkışmasına ve trombozlaşmasına ve eklem kıkırdağının daha fazla tahrip olmasına neden olur (26).

Riegels-Nielsen ve arkadaşlarının yaptığı deneysel bir septik artrit çalışmasında, septik dizlerde başlangıçta sadece astar hücre proliferasyonu ve akut idamatuvar reaksiyon belirgindi. 5. günden itibaren sinovyal enflamasyon, kıkırdak ara yüzeyinin altına uzanarak marjinal bölgede gevşeme ile birlikte muazzam boyutlara ulaştı ve altta yatan kemikte yaygın olarak intraosseöz vasküler konjesyon meydana geldi. Glikozaminoglikan tükenmesi artık marjinal alanlarda en belirgin olmak üzere yaygın bir boyanma kaybı olarak açıkça gözleniyordu. Sinovyal enflamatuvar cephe marjinal kıkırdakta erozyon gösterdi ve 7. günden itibaren altı dizin dördünde kıkırdak yüzeyinde küçük fissürler görüldü. Yani bakteri inokülasyonundan sonra 5 ile 7. günler arasında kıkırdak hasarları ciddi şekilde belirginleşmeye başlamıştı ve 3. haftada da kıkırdak tamamen hasarlı hale gelmişti (99). Bu bilgiler doğrultusunda kıkırdak hasarları aslında enfeksiyondan hemen saatler sonra başlamakla birlikte 1. haftada belirginleşmeye başladığı için ratlardaki septik artrit çalışmamızın tedavi kısmına 1. haftada başlamayı tercih ettik.

Tedavide antibiyotiklere erken başlamak bakterileri yok eder ama eklemdeki tahribatı durduramayabilir. Ama yine de profilaktik antibiyotiğin eklem enfeksiyonlarında kıkırdak hasarını engellemede rolü önemlidir. Smith ve arkadaşlarının çalışmalarında tek başına antibiyotik kullanımının stafilokok enfeksiyonunu ortadan kaldırdığı ancak kıkırdak hasarını önlemediği gösterilmiştir (24).

Wysenbeek ve arkadaşlarının sistemik antibiyotiklerin ve eklem içi kortikosteroidlerin stafilokokal septik artrit üzerindeki etkilerinin araştırıldığı 3 gruplu başka bir çalışmada ise Salter histolojik-histokimyasal skorlama değerlendirmesine göre antibiyotiklerle birlikte steroid uygulanan grubun en düşük skora sahip olduğu ve bu grubun sadece antibiyotik verilen gruba benzer sonuçlar çıktığı görüldü. Antibiyotik profilaksisi yapılmayan grupta ise daha fazla pannus, daha fazla proteoglikan kaybı, daha fazla kıkırdak kaybı ve daha fazla sinovyal enflamasyon görülmüştür (87). Bu sonuçlardan dolayı septik artritte antibiyotik profilaksisinin öneminden bahsedebiliriz.

Solak ve ark.'nın tavşan dizlerinde S. Aureus ile oluşturduğu septik artirite: Birinci tavşan grubunda antibiyotiğe profilaktik olarak başlandı; 2. grupta enfeksiyonun inokülasyonundan sonra antibiyotiğe başlandı; 3. grupta ise enfeksiyonun inokülasyonundan sonra sistemik antibiyotikle birlikte nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanıldı. Üç haftanın sonunda hayvanlar öldürüldü ve eklemler makroskopik ve mikroskopik olarak incelendi. Histopatolojik değerlendirme yapılırken bu çalışmada Salter'in skorlama sistemi kullanılmıştır. Grup 1'de belirgin bir kıkırdak harabiyeti saptanamadı. Diğer iki grupta ise histolojik olarak saptanan yüzey erozyonu, pannus formasyonu ve selülarite açısından kıkırdak kaybını gösteren bulgular vardı. Tedavide geç kalınmış septik artrit olgularında enfeksiyonu tedavi etmek mümkün olsa bile kıkırdak hasarı kaçınılmazdır. Bu çalışmada profilaktik başlanan antibiyotiğin kıkırdak hasarını engellemedeki önemli rolünden bahsedebiliriz (100).

Yine başka bir çalışmada Kafadar ve arkadaşları tavşan dizlerinde S.Aureus ile deneysel septik artrit oluşturmuş ve eklem içine uygulanan propolisin oluşan kıkırdak hasarına etkisini Salter'in tanımladığı skorlama sistemi ile araştırmıştır (101)

Salter'in skorlama sistemi septik artrit sonrası oluşan histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için iyi bir sınıflama sistemidir ve yaygın olarak kullanılmaktadır (87, 100, 101). Biz de çalışmamızda eklem kıkırdak hasarını değerlendirmek için Salter'in histolojik-histokimyasal skorlama sistemini kullandık.

Çalışmamızda tüm gruplara uygulanmak üzere 4 farklı boyama yöntemi kullanılmıştır. Birincisi HE kartilaj hücrelerin kaybı, ikincisi MT kıkırdaktaki bağ doku, matriksin ve kalsifiye kıkırdağın azalması, üçüncüsü PAS kartilaj kondrositlerin durumu ve dördüncüsü ise SAO olup matriks ve proteoglikanların değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

Sonuçlarımıza göre tüm boyamalarda K grubunda normal eklem kıkırdağının ışık mikroskopide histolojik görünümü hücre kaybının olmadığı, kıkırdak erozyonunun olmadığı, normal bağ dokusu içerdiği, yüzey kaybının olmadığı, kondrositlerde kümeleşme bulunmadığı, pannus oluşmadığı alanlar olarak izlendi. Yine tüm boyamalarda D grubunda K grubuna göre oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) bir hasar görülmüş ve bu da yaptığımız çalışmada ratların diz eklemine inoküle ettiğimiz S. aureusun septik artrit oluşturup diz eklemine zarar verdiğini göstermektedir.

Yine tüm boyamalarda; AB grubu D grubu ile karşılaştırıldığında tüm skorlarda daha düşük sonuçlar elde edildi ve istatikselsel olarak da anlamlı ( $p < 0,01$ ) idi. Antibiyotikle birlikte intraartiküler ozon verdiğimiz grup(OAB) ise D grubu ile karşılaştırıldığında tüm skorlarda çok daha düşük sonuçlar elde edildi ve istatikselsel olarak da oldukça anlamlı ( $p < 0,001$ ) sonuçlar elde edildi. AB grubu OAB grubu ile karşılaştırıldığında ise yine tüm skorlarda OAB grubunda daha düşük sonuçlar elde edilse de aralarında istatikselsel olarak anlamlı bir sonuç elde edilmedi ( $p > 0,05$ ). AB ve O grupları karşılaştırıldığında ise tüm skorlamalarda birbirlerine çok yakın skorlar elde edilmiş olup, istatikselsel olarak fark bulunmadı ( $p < 0,05$ ).

Bu bulgular doğrultusunda diz eklemine S. Aureus inoküle edildikten sonraki birinci haftada başlanılan ve 7 gün süre ile devam edilen antibiyotik tedavimizin kıkırdakta koruyucu bir etki yaptığını düşünmekteyiz. Hatta antibiyotik tedavisinin intraartiküler ozonla birlikte kullanıldığında sinerjistik etki yaratıp kıkırdak iyileştirmesini bir miktar artırdığı kanaatindeyiz.

Ratlarda ozonun diz eklemindeki kıkırdak hasarlarında intraartiküler kullanımının yapıldığı ve araştırıldığı deneyler çok az sayıdadır. Spassim ve ark tarafından intraartiküler uygulanan ozonun(10 µg/mL) osteoartritli ratların dizinde dejenerasyon sürecini yavaşlattığına ve kıkırdak hasarını azalttığına dair bir çalışma yapılmıştır (6).

YU ve arkadaşlarının ratlarda diz ön çapraz bağları kesip medial menisküsün 3'te 1'ini çıkarmalarıyla oluşturdukları osteoartrit modelinde hayvanlar 5 gruba ayrılmış ve 1. Grup kontrol, 2. Grup debridman, 3. Grup hava, 4. Grup 35 µg/ml O3'ün intraartiküler uygulandığı ve 5. Grup 70 µg/ml O3'ün intraartiküler uygulandığı grup olarak ayrıldı. Hayvanlar dört hafta sonra HE boyama ve transmisyon mikroskobu altında gözlem için femurun kondiler kıkırdağını almak üzere öldürüldü. Mankin indeksleri kaydedildi. Bu çalışmada 2. Grupta(debridman) OA modellerinde mikroskop altında belirgin dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir ve 2. grubun sonuçları 5. grubun sonuçları ile çok benzer çıkmıştır. 35 µg/ml dozunun kullanıldığı 4. grup ise kıkırdak hasarının en az olduğu grup çıkmıştır. 35 µg/ml O3 eklem kıkırdağının dejenerasyonunu önleyebilir ve serbest radikalleri temizleme yeteneğini artırabilir, ancak 70 µg/ml O3 doku ve hücrelerin peroksidatik reaksiyonuna neden olarak eklem kıkırdağı hasarına yol açabilir (102). Bu da bizlere intraartiküler uygulanacak ozonun dozu ve miktarının çok önemli olduğu sonucunu göstermektedir.

Ayrıca haftada 1 kez 3 hafta boyunca verilen intraartiküler ozonun (20 µg/mL) diz osteoartritli ratlarda kıkırdak dokusunda HIF1 ve SOX9 ekspresyonunu iyileştirdiğine dair çalışma da vardır (103).

Biz de yapılan çalışmalar doğrultusunda 20 µg/mL dozundaki ozonun intraartiküler kullanımında kıkırdak dokusuna herhangi bir zarar vermeyeceğini ve bu dozun tedavide kıkırdak iyileşmesinde etkili olabileceğini düşündük. Bu yüzden 3 hafta boyunca haftada bir defa 20 µg/mL dozundaki ozonu enfekte diz eklemlerine uyguladık.

Ozon antiseptik özelliklere sahip güçlü bir oksitleyici gazdır. Bakteriler, sporlar ve virüsler ozona maruz kaldıktan sonra birkaç dakika içinde etkili bir şekilde etkisiz hale gelir ve gıda ve su endüstrilerinde dezenfektan olarak yaygın bir şekilde kullanılır. Ozon tedavisi, yıllarca sorgulanmıştır. Ancak; doza bağlı olarak çok yönlü etkilere sahip olduğu fark edilmiş ve uzun zamandır terapötik bir ajan olarak kullanılmaktadır. Ozonun antibiyotik tedavisini destekleyebileceği ve bulaşıcı hastalıkların tedavisinde fayda sağlayabileceği öne sürülmüştür. Ozonun antimikrobiyal etkileri olduğuna dair çalışmalar da yapılmıştır (104). Ozonun atopik dermatitli hastalarda Staphylococcus Aureus koloni yoğunluğunu azaltıcı etkisi olduğuna dair çalışma yapılmıştır (105). Ayrıca deneysel metisiline dirençli Staphylococcus aureus mediastinitinde vankomisine ek olarak uygulanan ozon tedavisi, enfekte sternal ve mediastinal dokularda bakteriyel eliminasyonun artmasına yol açmaktadır. Bu da bize ozonun metisiline dirençli Staphylococcus Aureus mediastinitinde dahi bakterisidal etkisi olduğunu göstermektedir (106). Yapılan bu çalışmalar bize ozonun septik artrit sonucunda gelişebilecek inflamasyonu baskılayacağı ve antibakteriyel etkilerinin olabileceğini düşündürmüştür. Yapılan çalışmalar ışığında ve literatür taramalarında ozonun antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkileri ile septik artrit sonrasında gelişecek olan eklem kıkırdağı harabiyetini azaltacağı kanaatinde olduğumuz için tedavide ozon uyguladık.

Tüm boyamaların ve artritik indeksin sonuçlarına bakıldığında; ozon grubunun antibiyotik grubuna çok yakın sonuçlar elde etmesi ve ayrıca ozon grubunun debridman grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması ozonun S. Aureus tipi septik artrit sonrası gelişen kıkırdak hasarını azaltmada etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Fizik muayene ve klinik değerlendirmelere göre yaptığımız artritik indeks sonuçlarında K grubunun diğer tüm gruplara göre arasında istatikselsel olarak anlamlı farkın olması S. Aureus inoküle ettiğimiz 4 grupta da septik artrit oluşturabildiğimizi göstermektedir.

O grubu D grubu ile kıyaslandığında artritik indeks değerleri daha düşük görülmüş ve bu değerler istatikselsel olarak da anlamlı bulunmuştur. O ile AB grubunun artritik indeksleri birbirine yakın olup istatikselsel olarak aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar ozonun; S. Aureus tipi septik artrit sonrası gelişen kıkırdak hasarını azaltmada etkili olabileceğini düşündürtmektedir; fakat bizim oluşturduğumuz septik artrit S. Aureus ATCC 25923 tipi ile oluşturulmuştur. Ozonun diğer etken patojenlerle oluşan septik artrit sonrasında gelişen kıkırdak hasarlarındaki koruyucu etkinliğini bu çalışmada tahmin edememekteyiz.

OAB grubunun ise en düşük artritik indekse sahip olması ve OAB grubunun diğer tüm gruplara göre karşılaştırıldığında istatikselsel olarak anlamlı fark bulunması ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımının kıkırdak hasarını azaltmada sinerjistik etki yarattığını göstermektedir.

Bizim alışmamızda tüm boyamalarda ve tüm skorlarda en yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi. Tüm boyamalarda grupların skorları üzerinden yapılan istatikselsel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p<0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı. Salter skorlamasına göre en düşük skorların hep OAB grubunda olması ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımının kıkırdak hasarını azaltmada sinerjistik etki yarattığını göstermektedir.

Sakrifikasyon sonrasında inflamasyona makroskopik olarak bakıldığında;özellikle D grubunda tibianın eklem yüzünde ve femur kondillerinde ciddi kıkırdak hasarı mevcut olup bunlara yapışıklıklar ve pannus oluşumu da eşlik ediyordu. Yine makroskopik olarak eklemi içi değerlendirildiğinde D grubunda belirgin olmak kaydıyla ve OAB grubunda daha az görülmesi kaydıyla eklem kapsülünün hipertrofiye uğradığı, sinovyumun hipertrofiye uğradığı, hareketi kısıtlayan fibrotik dokuların eklemi doldurduğu ve eklem sıvısının renginin çok koyulaştığı ve süpüratif karakter içerdiği gözlenmiştir. Sonuç olarak

D grubunda ciddi eklem hasarı olduğu, OAB grubunda ise eklem hasarının çok az olduğu görülmüştür. Bu da bizlere ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımında eklem hasarında ciddi düzeyde azalma olduğunu göstermektedir. O ve AB gruplarındaki ratların diz eklemlerinde makroskopik olarak çok fark görülmemiştir.

Çalışmamızın bazı eksiklikleri de bulunmaktadır. Birincisi, bu bir hayvan deneyi olduğu için sonuçlar her zaman klinik çalışmalarla tutarlı olmayabilir. İkinci limitasyonumuz ise çalışmamızın süresidir. Çalışmamızı 8 haftada sonlandırdık ancak bilindiği üzere kırkırdak hasarı 8. haftadan sonra da iyileşmeye devam etmektedir. Gruplardaki tedavi sonuçlarının daha uzun sürede nasıl olduğunun de araştırılması gerekmektedir. Ayrıca intraartiküler ozon tedavisi hala denenmekte olan bir tedavidir ve en etkin tedavi dozu hala belirlenememiştir. Yaptığımız çalışmada tek bir doz şeması denenmiş olup, farklı dozlarda farklı sonuçlar alınabilmesi de mümkündür.

## BÖLÜM 6

### ÇIKARIMLAR VE ÖNERİLER

1- S.aureus'un hematojen yol yerine direkt enfekte edilecek eklemeye verilmesi deneysel septik artrit çalışmalarının güvenilirliğini artırmaktadır;çünkü hem enfekte edilecek spesifik eklemeye seçip daha rahat septik artrit oluşturabilmekteyiz hem de inoküle edilecek bakteri yükünü önceden belirlediğimiz için hayvanların bakteriyemi sebebi ile ölmesini engellemekteyiz.

2-Tüm boyamaların ve artritik indeksin sonuçlarına bakıldığında K grubu ile D grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olması çalışmamızda bütün ratların dizlerinde septik artrit oluşturup kıkırdak hasarı oluşturabildiğimizi göstermektedir.

3- Fizik muayene ve klinik değerlendirmelere göre yaptığımız artritik indeks sonuçlarında K grubunun diğer tüm gruplara göre arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olması S. Aureus inoküle ettiğimiz 4 grupta da septik artrit oluşturabildiğimizi göstermektedir. O grubu D grubu ile kıyaslandığında artritik indeks değerleri daha düşük görülmüş ve bu değerler istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. O ile AB grubunun artritik indeksleri birbirine yakın olup istatistiksel olarak aralarında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar ozonun; S. Aureus tipi septik artrit sonrası gelişen kıkırdak hasarını azaltmada etkili olabileceğini düşündürmektedir. OAB grubunun ise en düşük artritik indekse sahip olması ve OAB grubunun diğer tüm gruplara göre artritik indeks açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunması ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımının kıkırdak hasarını azaltmada ve enfeksiyonu engellemede sinerjistik etki yarattığını göstermektedir.

4- Tüm boyamalarda ve tüm skorlarda en yüksek(yani en kötü) skor D grubunda alınırken en düşük(yani en iyi) skor OAB grubunda alındı. O ve AB gruplarının skorları birbirine yakın idi. Tüm boyamalarda grupların skorları üzerinden yapılan istatistiksel incelemede D grubunda oldukça anlamlı ( $p<0,001$ ) bir hasar görülürken uygulama gruplarının sırası ile AB, O ve OAB ile anlamlı ( $p<0,05$ ) olarak hasarı azalttığı saptandı. Salter skorlamasına göre en düşük skorların hep OAB grubunda olması ozon ve antibiyotiğin birlikte kullanımının kıkırdak hasarını azaltmada sinerjistik etki yarattığını göstermektedir.



5- Tüm boyamaların ve artritik indeksin sonuçlarına bakıldığında; ozon grubunun antibiyotik grubuna çok yakın sonuçlar elde etmesi ve ayrıca ozon grubunun debridman grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı farkın bulunması ozonun S. Aureus tipi septik artrit sonrası gelişen kıkırdak hasarını azaltmada etkili olabileceğini düşündürmektedir. Fakat bizim oluşturduğumuz septik artrit S. Aureus ATCC 25923 tipi ile oluşturulmuştur. Ozonun diğer etken patojenlerle oluşan septik artrit sonrasında gelişen kıkırdak hasarlarındaki koruyucu etkinliğini bu çalışmada tahmin edememekteyiz.

6- Septik artrit sonrası eklemde gelişen kıkırdak hasarlarında ozonun intraartiküler kullanımının etkilerini daha net görebilmek için daha fazla sayıda hayvan deneyi çalışması yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Colavite-Machado PM, Ishikawa LL, França TG, Zorzella-Pezavento SF, da Rosa LC, Chiuso-Minicucci F, et al. Differential arthritogenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from biological samples. *BMC Infect Dis.* 2013;13:400.
2. Ghosh C, Bishayi B. Toll-like receptor 2 and 6 interdependency in the erosive stage of *Staphylococcus aureus* induced septic arthritis mediated by IFN- $\gamma$  and IL-6--A possible involvement of IL-17 in the progression of the disease. *Immunobiology.* 2015;220(7):910-23.
3. Newman JH. Review of septic arthritis throughout the antibiotic era. *Ann Rheum Dis.* 1976;35(3):198-205.
4. Cavanaugh DL, Berry J, Yarboro SR, Dahners LE. Better prophylaxis against surgical site infection with local as well as systemic antibiotics. An in vivo study. *J Bone Joint Surg Am.* 2009;91(8):1907-12.
5. Zhao M, Lepak AJ, Andes DR. Animal models in the pharmacokinetic/pharmacodynamic evaluation of antimicrobial agents. *Bioorg Med Chem.* 2016;24(24):6390-400.
6. Spassim MR, Dos Santos RT, Rossato-Grando LG, Cardoso L, da Silva JS, de Souza SO, et al. Intra-articular ozone slows down the process of degeneration of articular cartilage in the knees of rats with osteoarthritis. *Knee.* 2022;35:114-23.
7. Badhe H, Kalaskar R, Balasubramanian S, Kamki H, Kalaskar A. Antimicrobial effect of ozone therapy in deep dentinal carious lesion: a systematic review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry.* 2022;15(Suppl 2):S252.
8. Nade S. Septic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2003;17(2):183-200.
9. Cherry J, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases E-Book: 2-Volume Set: Elsevier Health Sciences; 2013.
10. Clerc O, Prod'homme G, Greub G, Zanetti G, Senn L. Adult native septic arthritis: a review of 10 years of experience and lessons for empirical antibiotic therapy. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(5):1168-73.
11. Mathews CJ, Weston VC, Jones A, Field M, Coakley G. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet.* 2010;375(9717):846-55.
12. Mathews CJ, Coakley G. Septic arthritis: current diagnostic and therapeutic algorithm. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20(4):457-62.

13. Shirliff ME, Mader JT. Acute septic arthritis. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(4):527-44.
14. Morgan DS, Fisher D, Merianos A, Currie BJ. An 18 year clinical review of septic arthritis from tropical Australia. *Epidemiol Infect.* 1996;117(3):423-8.
15. Sreenivas T, Nataraj AR, Menon J. Acute hematogenous septic arthritis of the knee in adults. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2013;23(7):803-7.
16. Charalambous CP, Tryfonidis M, Sadiq S, Hirst P, Paul A. Septic arthritis following intra-articular steroid injection of the knee--a survey of current practice regarding antiseptic technique used during intra-articular steroid injection of the knee. *Clin Rheumatol.* 2003;22(6):386-90.
17. Sharff KA, Richards EP, Townes JM. Clinical management of septic arthritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2013;15(6):332.
18. Curtiss PH, Jr. The pathophysiology of joint infections. *Clin Orthop Relat Res.* 1973(96):129-35.
19. Bouta EM, Bell RD, Rahimi H, Xing L, Wood RW, Bingham CO, 3rd, et al. Targeting lymphatic function as a novel therapeutic intervention for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14(2):94-106.
20. Kirchoff C, Braunstein V, Paul J, Imhoff AB, Hinterwimmer S. Septic arthritis as a severe complication of elective arthroscopy:clinical management strategies. *Patient Saf Surg.* 2009;3(1):6.
21. Geirsson AJ, Statkevicius S, Víkingsson A. Septic arthritis in Iceland 1990-2002: increasing incidence due to iatrogenic infections. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(5):638-43.
22. Indelli PF, Dillingham M, Fanton G, Schurman DJ. Septic arthritis in postoperative anterior cruciate ligament reconstruction. *Clin Orthop Relat Res.* 2002(398):182-8.
23. Dingle JT. The role of lysosomal enzymes in skeletal tissues. *J Bone Joint Surg Br.* 1973;55(1):87-95.
24. Smith RL, Schurman DJ, Kajiyama G, Mell M, Gilkerson E. The effect of antibiotics on the destruction of cartilage in experimental infectious arthritis. *J Bone Joint Surg Am.* 1987;69(7):1063-8.
25. McCarthy JJ, Dormans JP, Kozin SH, Pizzutillo PD. Musculoskeletal infections in children: basic treatment principles and recent advancements. *Instr Course Lect.* 2005;54:515-28.

26. Morrey BF, Bianco AJ, Rhodes KH. Suppurative arthritis of the hip in children. *J Bone Joint Surg Am.* 1976;58(3):388-92.
27. Mathews CJ, Kingsley G, Field M, Jones A, Weston VC, Phillips M, et al. Management of septic arthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis.* 2007;66(4):440-5.
28. Gupta MN, Sturrock RD, Field M. A prospective 2-year study of 75 patients with adult-onset septic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2001;40(1):24-30.
29. Kaandorp CJ, Van Schaardenburg D, Krijnen P, Habbema JD, van de Laar MA. Risk factors for septic arthritis in patients with joint disease. A prospective study. *Arthritis Rheum.* 1995;38(12):1819-25.
30. Margaretten ME, Kohlwes J, Moore D, Bent S. Does this adult patient have septic arthritis? *Jama.* 2007;297(13):1478-88.
31. Stirling P, Faroug R, Amanat S, Ahmed A, Armstrong M, Sharma P, et al. False-negative rate of gram-stain microscopy for diagnosis of septic arthritis: suggestions for improvement. *Int J Microbiol.* 2014;2014:830857.
32. Coiffier G, Ferreyra M, Albert JD, Stock N, Jolivet-Gougeon A, Perdriger A, et al. Ultrasound-guided synovial biopsy improves diagnosis of septic arthritis in acute arthritis without enough analyzable synovial fluid: a retrospective analysis of 176 arthritis from a French rheumatology department. *Clin Rheumatol.* 2018;37(8):2241-9.
33. Couderc M, Pereira B, Mathieu S, Schmidt J, Lesens O, Bonnet R, et al. Predictive value of the usual clinical signs and laboratory tests in the diagnosis of septic arthritis. *Cjem.* 2015;17(4):403-10.
34. Weissman BN. *Imaging of arthritis and metabolic bone disease: Elsevier Health Sciences; 2009.*
35. Graif M, Schweitzer ME, Deely D, Matteucci T. The septic versus nonseptic inflamed joint: MRI characteristics. *Skeletal Radiol.* 1999;28(11):616-20.
36. Hamed KA, Tam JY, Prober CG. Pharmacokinetic optimisation of the treatment of septic arthritis. *Clin Pharmacokinet.* 1996;31(2):156-63.
37. Weston VC, Jones AC, Bradbury N, Fawthrop F, Doherty M. Clinical features and outcome of septic arthritis in a single UK Health District 1982-1991. *Ann Rheum Dis.* 1999;58(4):214-9.
38. Ross JJ. Septic arthritis. *Infect Dis Clin North Am.* 2005;19(4):799-817.

39. Hügler T, Schuetz P, Mueller B, Laifer G, Tyndall A, Regenass S, et al. Serum procalcitonin for discrimination between septic and non-septic arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2008;26(3):453-6.
40. Lenski M, Scherer MA. The significance of interleukin-6 and lactate in the synovial fluid for diagnosing native septic arthritis. *Acta Orthop Belg*. 2014;80(1):18-25.
41. Stengel D, Bauwens K, Sehouli J, Ekkernkamp A, Porzolt F. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet Infect Dis*. 2001;1(3):175-88.
42. Hunter JG, Gross JM, Dahl JD, Amsdell SL, Gorczyca JT. Risk factors for failure of a single surgical debridement in adults with acute septic arthritis. *J Bone Joint Surg Am*. 2015;97(7):558-64.
43. Peres LR, Marchitto RO, Pereira GS, Yoshino FS, de Castro Fernandes M, Matsumoto MH. Arthrotomy versus arthroscopy in the treatment of septic arthritis of the knee in adults: a randomized clinical trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2016;24(10):3155-62.
44. Böhler C, Dragana M, Puchner S, Windhager R, Holinka J. Treatment of septic arthritis of the knee: a comparison between arthroscopy and arthrotomy. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2016;24(10):3147-54.
45. Stutz G, Kuster MS, Kleinstück F, Gächter A. Arthroscopic management of septic arthritis: stages of infection and results. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2000;8(5):270-4.
46. Willems C. Treatment of purulent arthritis by wide arthrotomy followed by immediate active mobilization. *Surg Gynecol Obstet*. 1919;28(6):546-54.
47. HEBERLING JA. A review of two hundred and one cases of suppurative arthritis. *JBJS*. 1941;23(4):917-21.
48. Watkins MB, Samilson RL, Winters DM. Acute suppurative arthritis. *JBJS*. 1956;38(6):1313-20.
49. Ivey M, Clark R. Arthroscopic debridement of the knee for septic arthritis. *Clin Orthop Relat Res*. 1985(199):201-6.
50. Aïm F, Delambre J, Bauer T, Hardy P. Efficacy of arthroscopic treatment for resolving infection in septic arthritis of native joints. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2015;101(1):61-4.

51. Wirtz DC, Marth M, Miltner O, Schneider U, Zilkens KW. Septic arthritis of the knee in adults: treatment by arthroscopy or arthrotomy. *Int Orthop*. 2001;25(4):239-41.
52. Coakley G, Mathews C, Field M, Jones A, Kingsley G, Walker D, et al. BSR & BHPR, BOA, RCGP and BSAC guidelines for management of the hot swollen joint in adults. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):1039-41.
53. Stoker G. THE SURGICAL USES OF OZONE. *The Lancet*. 1916;188(4860):712.
54. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Biol Med*. 2011;2(1):66-70.
55. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*. 2006;37(4):425-35.
56. Bocci V. *OZONE*: Springer; 2011.
57. Kadir K, Syam Y, Yusuf S, Zainuddin M. Ozone Therapy on Reduction of Bacterial Colonies and Acceleration of Diabetic Foot Ulcer Healing. *Home Healthc Now*. 2020;38(4):215-20.
58. Eliakim R, Karmeli F, Rachmilewitz D, Cohen P, Zimran A. Ozone enema: a model of microscopic colitis in rats. *Dig Dis Sci*. 2001;46(11):2515-20.
59. Hernández A, Viñals M, Pablos A, Vilás F, Papadacos PJ, Wijeyesundera DN, et al. Ozone therapy for patients with COVID-19 pneumonia: Preliminary report of a prospective case-control study. *Int Immunopharmacol*. 2021;90:107261.
60. Moreo G, Mucchi D, Carinci F. Efficacy ozone therapy in reducing oral infection of periodontal disease: a randomized clinical trial. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2020;34(4 Suppl. 1):31-6. Special issue: Ozone therapy.
61. Martinelli M, Giovannangeli F, Venditto T, Travagli V. The use of oxygen ozone therapy in the treatment of cervicobrachial pain: case series study. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2020;34(4 Suppl. 1):47-55. Special issue: Ozone therapy.
62. Alexandre A, Zalaffi A. Electromyographic analysis of the results given by lumbar discal herniation treatment with intradiscal oxygen-ozone gas mixture injection. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2020;34(4 Suppl. 1):57-61. Special issue: Ozone therapy.
63. Herrera-Peco I, Santillan-García A, Cuesta-Lozano D, Pastor-Ramon E, García-Puente M, Aguirre O, et al. Critical appraisal of the systematic review and meta-analysis of intra-articular ozone therapy efficiency to attenuate pain in knee osteoarthritis. *Complement Ther Med*. 2020;54:102244.

64. Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. *Int J Biol Macromol.* 2007;41(5):504-11.
65. Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci.* 1999;56(4):270-9.
66. Bocci V. *Oxygen-ozone therapy: a critical evaluation: Springer Science & Business Media; 2002.*
67. Bocci V. The case for oxygen-ozonotherapy. *Br J Biomed Sci.* 2007;64(1):44-9.
68. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 2000;486(1):10-3.
69. Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017;7(3):212-9.
70. Inal M, Dokumacioglu A, Özcelik E, Ucar O. The effects of ozone therapy and coenzyme Q<sub>10</sub> combination on oxidative stress markers in healthy subjects. *Ir J Med Sci.* 2011;180(3):703-7.
71. Motohashi H, Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol Med.* 2004;10(11):549-57.
72. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? *Med Gas Res.* 2011;1:29.
73. Di Filippo C, Marfella R, Capodanno P, Ferraraccio F, Coppola L, Luongo M, et al. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. *Inflamm Res.* 2008;57(10):445-9.
74. Peralta C, Xaus C, Bartrons R, Leon OS, Gelpi E, Roselló-Catafau J. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free Radic Res.* 2000;33(5):595-605.
75. Mancuso C, Pistritto G, Tringali G, Grossman AB, Preziosi P, Navarra P. Evidence that carbon monoxide stimulates prostaglandin endoperoxide synthase activity in rat hypothalamic explants and in primary cultures of rat hypothalamic astrocytes. *Brain Res Mol Brain Res.* 1997;45(2):294-300.
76. Migliorini F, Maffulli N, Eschweiler J, Bestch M, Tingart M, Baroncini A. Ozone injection therapy for intervertebral disc herniation. *Br Med Bull.* 2020;136(1):88-106.
77. Sconza C, Respizzi S, Virelli L, Vandenbulcke F, Iacono F, Kon E, et al. Oxygen-Ozone Therapy for the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Arthroscopy.* 2020;36(1):277-86.

78. Wainstein J, Feldbrin Z, Boaz M, Harman-Boehm I. Efficacy of ozone-oxygen therapy for the treatment of diabetic foot ulcers. *Diabetes Technol Ther.* 2011;13(12):1255-60.
79. Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* 2009;29(4):646-82.
80. Schwartz A, Sánchez GM, Sabah F. Madrid declaration on ozone therapy. ISCO3. 2010.
81. Giombini A, Menotti F, Di Cesare A, Giovannangeli F, Rizzo M, Moffa S, et al. Comparison between intrarticular injection of hyaluronic acid, oxygen ozone, and the combination of both in the treatment of knee osteoarthritis. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2016;30(2):621-5.
82. Raeissadat SA, Rayegani SM, Sadeghi F, Rahimi-Dehgolan S. Comparison of ozone and lidocaine injection efficacy vs dry needling in myofascial pain syndrome patients. *J Pain Res.* 2018;11:1273-9.
83. Ulusoy GR, Bilge A, Öztürk Ö. Comparison of corticosteroid injection and ozone injection for relief of pain in chronic lateral epicondylitis. *Acta Orthop Belg.* 2019;85(3):317-24.
84. Tirelli U, Cirrito C, Pavanello M, Piasentin C, Lleshi A, Taibi R. Ozone therapy in 65 patients with fibromyalgia: an effective therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(4):1786-8.
85. Abdelnour A, Arvidson S, Bremell T, Rydén C, Tarkowski A. The accessory gene regulator (agr) controls *Staphylococcus aureus* virulence in a murine arthritis model. *Infect Immun.* 1993;61(9):3879-85.
86. Salter RB, Bell RS, Keeley FW. The protective effect of continuous passive motion in living articular cartilage in acute septic arthritis: an experimental investigation in the rabbit. *Clin Orthop Relat Res.* 1981(159):223-47.
87. Wysenbeek AJ, Leitman M, Amit M, Lushkov G, Robinson D, Boldur I, et al. Experimental septic arthritis in rabbits treated by a combination of antibiotic and steroid drugs. *Clin Exp Rheumatol.* 1996;14(5):507-12.
88. Kuyucu E, Çabuk H, Güler Y, Çabuk F, Kiliç E, Bülbül M. Is Intraarticular Antibiotic Administration Effective in the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*? *Acta Chir Orthop Traumatol Cech.* 2019;86(4):276-80.



89. Mahowald ML, Peterson L, Raskind J, Raddatz DA, Shafer R, Gerding D. Antigen-induced experimental septic arthritis in rabbits after intraarticular injection of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*. 1986;154(2):273-82.
90. Bayer AS, Norman D, Anderson D. Efficacy of ciprofloxacin in experimental arthritis caused by *Escherichia coli*--in vitro--in vivo correlations. *J Infect Dis*. 1985;152(4):811-6.
91. Orchard RA, Stamp WG. Early treatment of induced suppurative arthritis in rabbit knee joints. *Clin Orthop Relat Res*. 1968;59:287-93.
92. Lindberg L. Experimental staphylococcal arthritis in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1969;76(1):117-25.
93. Van Wijngaerden E, Peetermans WE, Vandersmissen J, Van Lierde S, Bobbaers H, Van Eldere J. Foreign body infection: a new rat model for prophylaxis and treatment. *J Antimicrob Chemother*. 1999;44(5):669-74.
94. Achaerandio-de Nova A, Gómez-Juárez Sango M, Escudero-Jiménez Á, Losa-Palacios S, Berenguer-Romero MD, Gerónimo-Pardo M. Development of an experimental model of septic knee arthritis in rats through intra-articular inoculation of *Staphylococcus aureus*. *Lab Anim*. 2021;55(3):270-80.
95. Nade S. Acute septic arthritis in infancy and childhood. *The Journal of Bone and Joint Surgery British volume*. 1983;65(3):234-41.
96. Puliti M, von Hunolstein C, Bistoni F, Mosci P, Orefici G, Tissi L. Influence of interferon-gamma administration on the severity of experimental group B streptococcal arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000;43(12):2678-86.
97. Zhao YX, Nilsson IM, Tarkowski A. The dual role of interferon-gamma in experimental *Staphylococcus aureus* septicaemia versus arthritis. *Immunology*. 1998;93(1):80-5.
98. Jonsson IM, Mazmanian SK, Schneewind O, Verdrengh M, Bremell T, Tarkowski A. On the role of *Staphylococcus aureus* sortase and sortase-catalyzed surface protein anchoring in murine septic arthritis. *J Infect Dis*. 2002;185(10):1417-24.
99. Riegels-Nielson P, Frimodt-Møller N, Jensen JS. Rabbit model of septic arthritis. *Acta Orthop Scand*. 1987;58(1):14-9.
100. Solak Ş, Aydın E, Akdoğan M, Adabağ C, Adabağ A, Bilgili H. Joint Cartilage Alterations in Experimental Septic Arthritis with Antibiotic and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Treatment. *Eklemler Hast Cerrahisi*. 2000;11(1):60-4.

101. Oner M, Kafadar I, Guney A, Halici M, Deniz K, Turk Y, et al. Effect of intraarticular propolis in an experimental septic arthritis model. *Journal of Pediatric Orthopaedics B*. 2011;20(1):8-13.
102. Yu B, Lin Q, Wang B, Zhu Q, He X. Effect of intra-articular ozone injection on degenerative knee cartilage in rats. *Int J Ozone Ther*. 2010;9(1):14-20.
103. Asadi S, Farzanegi P, Azarbayjani MA. Combined therapies with exercise, ozone and mesenchymal stem cells improve the expression of HIF1 and SOX9 in the cartilage tissue of rats with knee osteoarthritis. *Physiol Int*. 2020;107(2):231-42.
104. Badhe H, Kalaskar R, Balasubramanian S, Kamki H, Kalaskar A. Antimicrobial Effect of Ozone Therapy in Deep Dentinal Carious Lesion: A Systematic Review. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2022;15(Suppl 2):S252-s60.
105. Lu J, Li M, Huang J, Gao L, Pan Y, Fu Z, et al. Effect of ozone on *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic dermatitis. *Zhong nan da xue xue bao Yi xue ban= Journal of Central South University Medical Sciences*. 2018;43(2):157-62.
106. Gulmen S, Kurtoglu T, Meteoglu I, Kaya S, Okutan H. Ozone therapy as an adjunct to vancomycin enhances bacterial elimination in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* mediastinitis. *J Surg Res*. 2013;185(1):64-9.