

**T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA
CERRAHİ OLMAYAN PERİODONTAL TEDAVİYE EK
OLARAK
KLOORHEKSİDİN JEL UYGULAMASININ
KLİNİK VE MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİ**

**DOKTORA TEZİ
Renan ENDOĞRU**

**Danışman
Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU**

KONYA-2009

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

KRONİK PERİODONTİTİS HASTALARINDA
CERRAHİ OLMAYAN PERİODONTAL TEDAVİYE EK OLARAK
KLOORHEKSİDİN JEL UYGULAMASININ
KLİNİK VE MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ
Renan ENDOĞRU

Danışman
Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 06102043 nolu proje ile desteklenmiştir.

KONYA-2009

ÖNSÖZ

Doktora yaparken bana hep güvenen ve inanan; maddi-manevi yardımlarını esirgemeyen, bana tüm bildiklerimi öğreten canımdan çok sevdiğim babam Prof.Dr. Hüseyin Endoğru'ya, annem Öğr. Ayşen Endoğru'ya, ablam Dr. Elvan Endoğru'ya,

Ümidimi kaybedip depresyonun derinliklerine saplandığımda bile beni güldürebilen kuzenim, küçük kardeşim Zeynep Selin Keykubat'a;

Mikrobiyoloji ve PCR konusunda bana çok şey öğreten ve tezimde yardımını esirgemeyen Dr. Uğur Arslan'a,

Doktoram süresince emeği geçen Periodontoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyelerine,

İyi günde kötü günde hep yanımda olan dostlarım Burcu Yiğit'e, Özlem Üstün'e, Müge Kamacı'ya, Özgen Kara'ya, Gül Öztürk'e ve Murat Baş'a,

Beni örneklerimle ODTÜ'ye taşıyan dostlarım Esra Fırat Yazıcı & Emre Yazıcı'ya,

Bölümdeki tüm arkadaşlarıma ve dostlarıma;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

1.GİRİŞ	1
2.GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.BULGULAR	33
4.TARTIŞMA	50
5.SONUÇ ve ÖNERİLER	56
5.ÖZET	57
6.SUMMARY	58
7.KAYNAKLAR	59
8.ÖZGEÇMİŞ	65

KISALTMALAR

Aa	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
Dak	Dakika
DOS	Dişeti oluğu sıvısı
DPT	Destekleyici Periodontal Terapi
Fn	Fusobacterium nucleatum
Gİ	Gingival İndeks
G	Gram
KAS	Klinik Ataşman Seviyesi
KJ	Klorheksidin Jel
KYD	Kök yüzeyi düzleştirme
Log 10	Logaritma 10
Maks	Maksimum
Median	Ortanca
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimol
MIC	Minimum Inhibition Concantration
Min	Minimum
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
ort	Ortalama
PCR	Polymerase Chain Reaction
Pg	Porphyromonas gingivalis
Pi	Prevotella intermedia
PI	Plak İndeksi
Pm	Peptostreptococcus micros
Pmol	pikomol
Rpm	<i>Revolutions per minute</i>
SCD	Sondlama Cep Derinliği
SKİ	Sondlamada Kanama İndeksi
sn	Saniye

SS	Standart Sapma
Tf	Tanneralla forshythensis
U	Ünite
W/v	Sıvı ağırlık birimi

1. GİRİŞ

Periodontitis dişleri çevreleyen destek dokuların mikroorganizmalara karşı oluşturdukları lokalize enflamatuvar reaksiyonlarla başlayıp cep oluşumu ve/veya dişeti çekilmesi ve alveoler kemik kaybı gelişen, sonrasında da dişlerin kaybı ile sonuçlanabilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Lindhe ve ark 1978, Slots 1979, Slots ve Rams 1992, Loesche ve ark 1985).

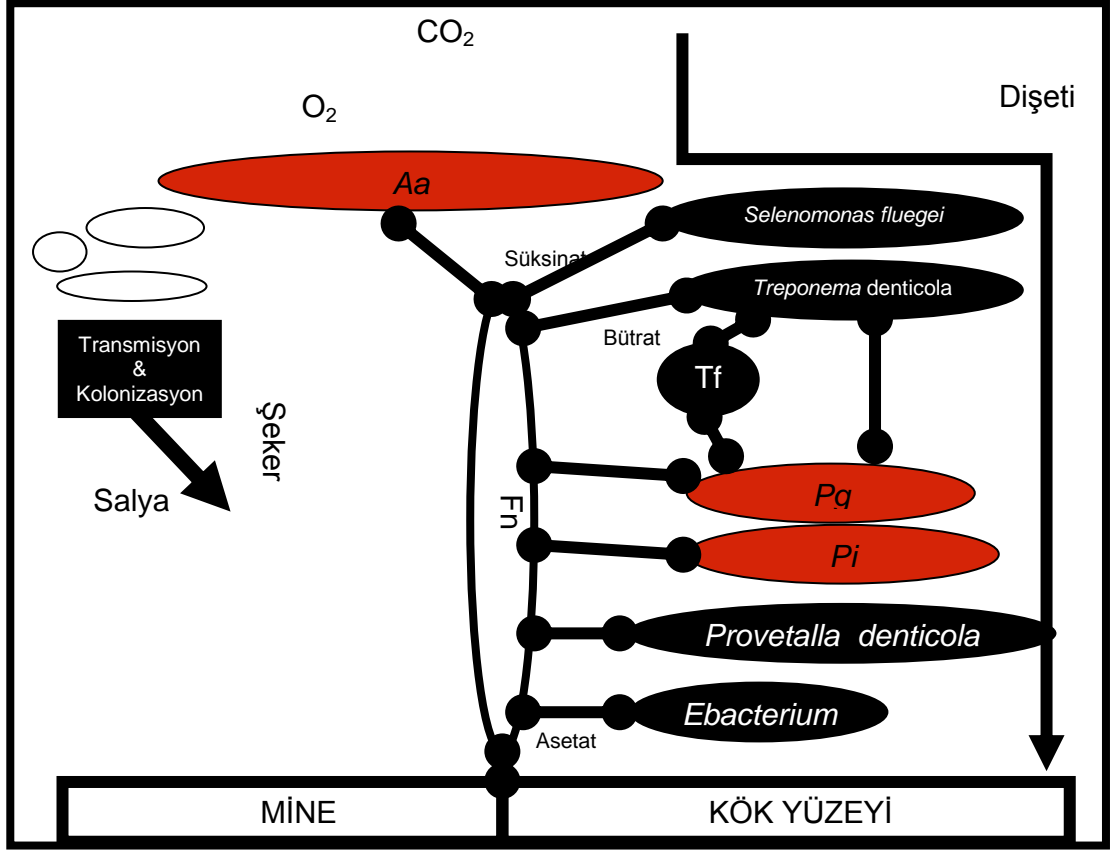
1.1.Etiyoloji

Periodontal hastalık, mikrobiyal dental plak etkisi ile başlayan yumuşak ve sert doku yıkımı ile birlikte görülen kronik enflamatuvar bir nitelik taşır. Mikrobiyal dental plak varlığı periodontal hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde en önemli etiyolojik faktördür (Oosterwaal ve ark 1991a,b, Haake ve ark 2002, Tezal ve ark 2006).

1.1.1. Mikrobiyal dental plak

Biyofilm, ıslak yüzeylere yapışan kompleks bakteriyel yapı olarak bilinir (Socransky ve Haffjee 1992, Walter ve Weiger 2006). Bu biyofilm konak ilişkilidir ve matriks bariyer olarak fonksiyon görür. Ağız boşluğunda diş ve diğer sert dokulara yapışan biyofilmin form kazanması ile oluşan yumuşak birikim mikrobiyal dental plaktır. Ortamdaki mikroorganizmaların özelliklerini değiştirebilir. Biyofilm; önce diş-bakteri sonra mikrobiyal kitle-farklı türler arasındaki fizyolojik ve fiziksel etkileşimle oluşur (Bowen 1976). Klinik olarak bu yapının bakteriyi antimikrobiyal ajanlardan olduğu kadar konak immün sisteminden de koruduğu bilinmektedir. Bu yüzden biyofilm zor bir terapötik hedefdir (Socransky ve Haffjee 1992, Walter ve Weiger 2006). Mikroskopik olarak incelendiğinde; 1 gram plakta yaklaşık 2×10^{11} bakteri olduğu, 500 farklı mikroorganizma içerdiği, tükürük, dişeti oluğu sıvısı (DOS), bakteri ürünlerinden oluştuğu, inorganik ve organik bileşenleri olduğu görülmüştür. Organik bileşenleri; glikoproteinler, polisakaritler (dekstran baskındır), proteinler (albumin vb), lipidlerdir. İnorganik bileşenleri ise baskın olarak kalsiyum ve fosfor, sodyum, potasyum ve florudur. Supragingival plağın organik içeriğinin primer kaynağı tükürüktür. Subgingival plağın inorganik yapısı ise DOS'tan kaynaklanır (Rölla ve ark 1993).

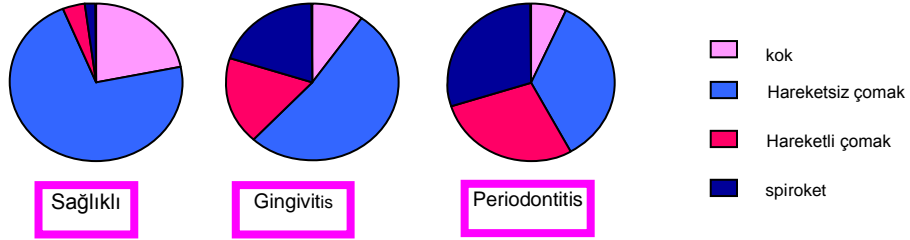
Plak oluşumunun üç aşaması vardır: a)*pellikil formasyonu*: ağız boşluğundaki tüm yüzeyler pellikil ile kaplanır. Pellikil; konak doku hücre ürünleri, debris, ve bakterilerden olduğu kadar DOS ve tükürkten kaynaklanır. Pellikil; ortamda bulunan makromoleküllerin yüzeylere selektif adsorbsiyonu ile şekillenir. Elektrostatik kuvvetler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik kuvvetler formasyona katılan mekanizmalardır. Pellikilin önemi plak gelişimine yol açan bakterilerin yapışması için sert yüzeylerde substrat oluşturmasıdır (Haake ve ark 2002). b)*başlangıç kolonizasyon*: pellikil kaplı diş yüzeyine kolonize olan ilk bakteriler çoğunlukla Gram(+) fakültatif (*Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sanguis* gibi) mikroorganizmalardır. Bunlar pellikildaki reseptörlerle etkileşen yüzeylerindeki ‘adhezin’ler aracılığıyla yapışırlar. Plak kitlesi bu yapışan türlerin ve diğer türlerin büyümesi ve kolonizasyonu ile olgunlaşmış (matür) hale gelir (Fives-Taylor ve Thompson 1985). c)*sekonder kolonizasyon ve plak maturasyonu*: temiz diş yüzeyine kolonize olamayan sekonder kolonizörler; *Prevotella intermedia (Pi)*, *Prevotella loescheii*, *Fusobacterium nucleatum (Fn)*, *Porphyromonas gingivalis (Pg)*’tir. Bu mikroorganizmalar plak kitlesindeki bakterilere yapışırlar (Kolenbrander ve London 1993) *Koagregasyon*; plak mikroorganizmalarının ve diğerler mikroorganizmaların birbirlerine yapışabilme yeteneğidir. Formasyonun geç safhalarında farklı Gram(-) türler arasındaki koagregasyon baskındır. (Örneğin; *Fn*’nin *Pg* veya *Trepenoma denticola* ile koagregasyonu) (Kolenbrander ve Andersen 1989, Kolenbrander ve ark 1995).



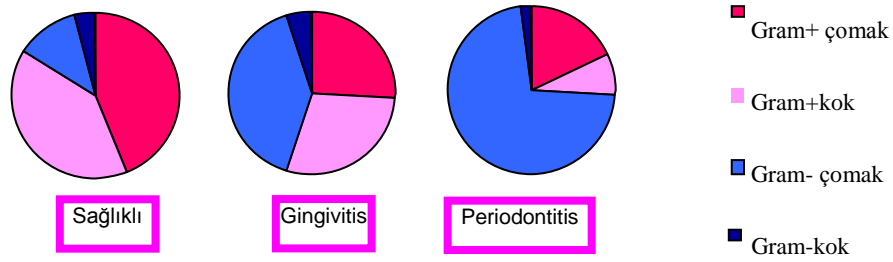
Şekil 1.1. Patojenik biyofilm olarak subgingival plağın mikrobiyal ekolojisi (Nishihara ve Koseki 2004).

Periodontal olarak sağlıklı bölgelerde primer olarak Gram(+) fakültatifler, *Streptococcus*'lar ve *Actinomyces*'ler (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces viskosus* ve *Actinomyces naeslundii* gibi) baskındır. Az sayıda Gram(-) türler (*Pi*, *Fn*, *Capnocytophaga*, *neisseria*, *Vellonella spp* gibi), spiroketler ve diğer hareketli bakteriler bulunur. Deneysel gingivitisin başlangıç mikroflorası Gram(+) çomaklar, Gram(+) ve Gram(-) koklardan ibarettir. Dışeti dokusundaki enflamatuvar değişiklikler gingivitise geçişe neden olur ve buna önce Gram(-) çomakların ve filamentlerin; sonra spiroketlerin ve hareketli mikroorganizmaların görünmesi eşlik eder. Plağa bağlı gingivitiste; %56 Gram(+) (baskın olarak *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus intermedia*, *Streptococcus oralis*, *Actinomyces viskosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Peptostreptococcus*'lar), %45 Gram(-) (baskın olarak *Fn*, *Pi*, *hemofilus*, *Capnocytophaga*, *Campylobacter spp*) bulunur. Kronik periodontiste yüksek seviyede *Pg*, *Tf*, *Pi*, *Campylobacter rectus*, *Eikenalla corrodens*, *Fn*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*), *Peptostreptococcus micros*, *Treponema* ve *Eubacterium spp* vardır. Aktif alanlar inaktif alanlarla

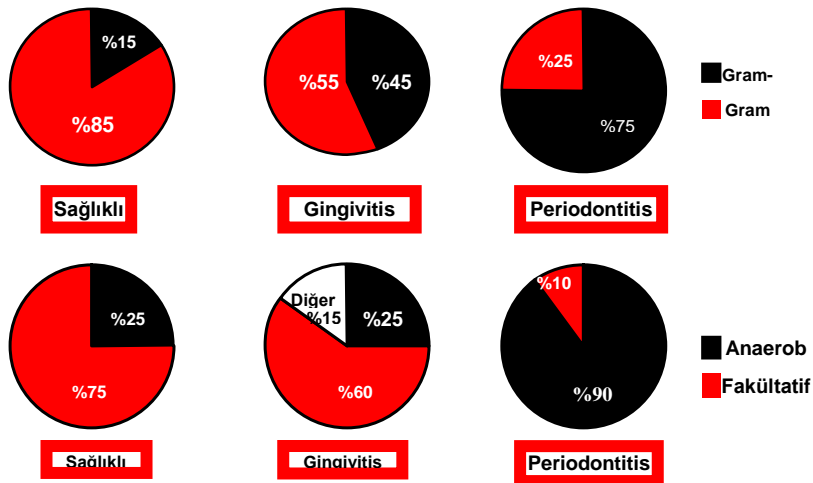
karşılaştırıldığında; aktif alanlarda; *Campylobacter rectus*, *Pg*, *Pi*, *Fn*, *Tf* bulunur (Socransky ve Haffajee 1992).



Grafik 1.1 Subgingival floradaki bakteriyel morfortiplerin yüzde dağılımı (Solts ve Rams 1992)



Grafik 1.2 Subgingival floradaki bakteriyel Gram(+) ve Gram(-) rod ve koklar (Solts ve Rams 1992)



Grafik 1.3 Subgingival floradaki anaerobik, fakültatif, Gram(+) ve Gram(-) türlerin dağılımı (Solts ve Rams 1992)

1900'lü yılların ortalarında dental plak miktarının zamanla artarak konak cevabını azalttığı ve yaşlanma ile birlikte konak hassasiyetinin arttığına inanılırken (Russel 1967), daha sonra Loesche (1976) tarafından *non-spesifik ve spesifik plak hipotezi* ileri sürülmüştür. Hipoteze göre plak miktarı arttıkça zararlı ürünlerin oranı artar; dolayısı ile periodontal doku yıkımı da artar. Oysa *spesifik plak hipotezine* göre dental plağın sadece bir kısmı patojeniktir ve içeriğinde bulunan spesifik periodontal patojenlerin düzeyi periodontal doku yıkım şiddetini belirlemektedir (Lander ve ark 1986, Umeda ve ark 2004). Lokalize agresif periodontitis'te *Aa*'nın şüpheli periodontopatojen olarak tespit edilmesi bu hipotezi güçlendirmiştir. Genelde, kesitsel veya uzun süreli çalışmalarda spesifik Gram(-) fakültatif anaerobik yada anaerobik mikroorganizmaların aktif doku yıkımı ile yakın ilişkili olduğu bulunmuştur (Socransky ve Haffajee 1992, Umeda ve ark 2004). Özellikle, periodontitiste yüksek düzeyde *Aa*, *Pg*, *Pi*, *Trepenoma denticola*, *Tf*, *Fn*, *Campylobacter rectus*, *Peptostreptococcus micros* ve *Eikenalla corrodens* tespit edilmiştir (Page 1991, Genco 1992, Offerbacher 1996, Shaddox ve ark 2007). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, sondlama cep derinliği ve ataşman düzeyi ölçümleri ile kronik periodontitis lezyonlarından elde edilen örneklerde *Herpesvirus*, *Epstein-Barr Virus-1* ve *Human Cytomegalovirus* varlığı arasında ilişki olduğu bulunmuştur (Saygun ve ark 2002, Ling ve ark 2004, Tabanella ve Nowzari 2005, Imbronito ve ark 2008). Ayrıca, subgingival floradaki *Pg*, *Tf*, *Pi* ve *Trepenoma denticola*'nın oranının artışıyla birlikte *Epstein-Barr Virus-1* ve *Human Cytomegalovirus* virüslerine rastlanmıştır (Contreras ve ark 1999, Ximénez-Fyvie ve ark 2000, Dawson ve ark 2009).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans; Gram(-), fakültatif, anaerob kokobasildir ve periodontitisin agresif formlarındaki major patojenlerden biridir. Oral floranın daimi üyelerindedir ve periodontal olarak sağlıklı olgularda da bulunabilir. Konak hücre fonksiyonlarını değiştiren, kemik rezorbsiyonuna neden olan lökotosin gibi virülan faktörler üreten fırsatçı bir patojendir. Aynı zamanda konak hücre döngüsünü (siklusunu) değiştiren bazı proteinleri ve çeşitli proenflamatuvar sitokin ve kemokinleri üretir (Holt & Ebersole 2005). *Aa*'yı mekanik debridmanla elimine etmek zordur (Takamatsu ve ark 1999).

Porphyromonas gingivalis; kronik periodontitisin ilerlemesinde önemli rol oynar. Bu küçük, Gram(-), siyah pigmente anaerob gerçek bir periodontopatojendir. *Pg*'nin *in vitro* kültürü, endotoksini, dış membran proteini ve metabolik son ürünleri gibi çeşitli komponentlerinin analizi bu mikroorganizmanın düzenli, bir dizi önemli virulan faktör ürettiğini ortaya koyar (Holt & Ebersole 2005). Periodontitis varlığında subgingival plaktaki *Pg* düzeyi sağlıklı alanlara göre önemli oranda daha fazla bulunur (Tanaka ve ark 2002, Mineoka ve ark 2008). Bu durum *Pg*'nin periodontal hastalığın patogeneğinde önemli rol oynadığını gösterir (Mineoka ve ark 2008). Kronik periodontitiste özellikle derin periodontal ceplerden alınan subgingival plak örneklerinden sıklıkla izole edilir (Tanaka ve ark 2002). Kapsül, fimbria, lipopolisakkariti ve pek çok proteolitik enzimi içeren çok sayıda virulan faktörü vardır. Spesifik olarak genomik DNA'sında DNA sarmalında PCR ile tespit edilebilen 40-kDa dış membran proteinine sahip olduğundan en iyi tanımlanan periodontopatojenlerden biridir (Nozaki ve ark 2001). Gram(+) ve diğer Gram(-) bakteriler ve *Pg*'nin biraraya gelerek birikmelerinde (koagregasyonunda) kendi ürettiği 40-kDa dış membran proteini aracılık eder (Hamada ve ark 2007). Dış membran proteini diğer bakterilerin koagregasyonunda ve konak savunma sistemi ile etkileşiminde önemli rol oynar. Pek çok enfeksiyöz hastalıkta meydana gelen ilk olay patojenin dokuya yapışması ve derin dokulara ilerlemesidir, ağız boşluğunda epitel bir savunma mekanizması olarak bakterilerin doku invazyonunu engeller. Dış membran proteini sayesinde *Pg* bu savunma mekanizmasını aşarak derin dokulara doğru ilerleyebilir. Periodontal tedavide mekanik debridmanla *Pg* miktarı azaltılabilmektedir (Takamatsu ve ark 1999).

Prevotella intermedia'nın özellikle pubertal ve hamilelik gingivitisinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir. Derin periodontal ceplerden alınan subgingival plakta çok sayıda *Pi* tespit edilmiştir. *Prevotella intermedia*'nin virulans faktörü membran proteindir (Tanaka ve ark 2002). Mekanik debridmanla sayısı azalabilir (Takamatsu ve ark 1999).

Socransky bir mikroorganizmanın periodontopatojen olarak tanımlanabilmesi için bazı kriterler ileri sürmüştür. Bu kriterler; a)hastalık bölgesinde periodontopatojen mikroorganizma sayısındaki artış ile hastalığın seyri ilişkili olmalıdır, b)hastalığın tedavisi sonrası bölgenin patojen mikroorganizmadan arındırılmış olmalı, c)patojen mikroorganizma hücresel veya humoral immün cevap

geliştirebilmeli, d)deneysel hayvan modellerinde benzer lezyonu oluşturabilmeli, e)periodontal dokuların yıkımına neden olabilecek virulans faktörlerine sahip olmalı (Socransky ve Haffaje 1992).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans bir periodontopatojen olarak bu kriterleri sağlamaktadır, örneğin lokalize agresif periodontitis ve bazı kronik periodontitis lezyonlarında florada artış gösterir, başarılı tedaviler sonrası ortamdan uzaklaştırılır veya florada baskılanır, rekürrent lezyonlarda bulunur, lokalize agresif periodontitiste serumda ve lokal olarak periodontal dokularda *Aa*'ya karşı yüksek antikor titrasyonları gözlenir, ratlarda, periodontal doku derinliklerine ilerleyebilmekte, lökotoxin, kollajenaz, endotoksin, epiteliotoksin, fibroblast inhibe edici faktör, kemik rezorbsiyonu indükleyen faktör gibi virulans faktörlerine sahiptir (Socransky ve Haffaje 1992).

Diğer şüpheli periodontopatojenlerden *Pg* ve *Pi*; periodontal lezyonlarda florada artış gösterirler, başarılı tedaviler sonrası ortamdan uzaklaştırılırlar veya florada baskılanırlar, tekrarlayan (rekürrent) lezyonlarda bulunurlar, periodontitiste lokal ve sistemik olarak periodontal dokularda *Pg*'ye ve *Pi*'ye karşı yüksek antikor titrasyonları gözlenir, deney hayvanlarında periodontitis geliştirebilme yeteneğine sahiptirler. *Porphyromonas gingivalis* PMN fonksiyonunu etkileyen kollajenaz, tripsin benzeri enzim, fibrinoloisin, fosfolipaz A, fosfataz, endotoksin gibi virulans faktörlere sahiptir. (Socransky ve Haffaje 1992). *Prevotella intermedia*'nın virulans faktörü ise membran proteinidir (Socransky ve Haffaje 1991).

1.1.2. Konak Cevabı

Spesifik periodontal mikroorganizmalar bazı bireylerde subgingival florada tespit edilse bile periodontal hastalık gelişmeyebilir (Offenbacher 1996). Bu durum konağın bağışıklık sisteminin verdiği yanıt ve konağın hastalığa yatkınlığının da periodontal hastalığın etiolojisinde rol oynadığını gösterir. Periodontal hastalık, “çevresel”, “genetik”, “kazanılmış” ve “konağın hastalığa yatkınlığı” gibi bağışıklık sisteminin verdiği yanıtı değiştirebilen çok sayıda faktörün etkisi altındadır (Seymour 1991, Offenbacher 1996, Nunn 2003). Konağın periodontal hastalığa yatkınlığı büyük oranda genetik faktörlerce belirlenmektedir (Seymour 1991, Offenbacher 1996, Page 1991). Bireylerin genetik özelliğine göre, hastalığa yatkın veya dirençli olabilir (Nares 2003). Doku yıkımında değişimlerin olmadığı durumda ağız

boşluğundaki mikroorganizmalar ve konak arasında denge vardır. Ancak, *Aa*, *Pi*, *Pg* gibi bir mikroorganizma tarafından denge bozulursa veya çevresel faktörlerin etkisi ile bağışıklık sistemi baskılanırsa hastalık ilerler (Offenbacher 1996). Fakat bu durumun hastalığa yatkınlığı olan bireylerde nasıl geliştiği tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Son otuz yılda yapılan çalışmalarda bağışıklık sisteminin hastalık patolojisine karşı verdiği yanıt üzerine yoğunlaşmıştır. Histolojik çalışmalar, dental plak mikroorganizmaları ve bağışıklık sistemi arasında ilişki olduğunu desteklemektedir (Miyasaki ve ark 2002). Periodontal enfeksiyon varlığında iltihaplı doku sıvısında lenfositler ve makrofajlar yoğun olarak bulunurken (Miyasaki ve ark 2002) “yerleşmiş lezyon”da T lenfositler, “ilerleyen lezyon”da ise B hücreleri ve plazma hücreleri daha yoğun olarak bulunurlar (Seymour 1991).

Doku yıkımına katkıda bulunan medyatörler (proteinazlar, sitokinler ve prostoglandinler) konak cevabının bir parçası olarak üretilirler (Miyasaki ve ark 2002). Bağışıklık sisteminin yanıtını belirleyen ve böylece hastalığa neden olan mikroorganizmaya karşı direnç gelişiminin veya duyarlılığın oluşumunu sağlayan komşu hücreleri doğrudan etkilediğinden sitokinlerin immünopatolojide önemli bir yeri vardır ve yeterli miktarda sitokin salgılanması koruyucu bir bağışıklık sisteminin gelişebilmesi için gereklidir. Ancak, bağışıklık sisteminin şüpheli patojen için doğru yanıtı nasıl seçtiği kesin olarak ortaya konulamamıştır (Seymour 1991, Genco 1992).

Başlangıç tedavisi, cerrahi olmayan periodontal tedavi, neden ilişkili periodontal tedavi ve etiyolojik faz terapisi olarak da adlandırılan Faz-I terapinin hedefi gingival ve periodontal hastalıklar için mikrobiyal etiyolojiyi ve diğer faktörleri değiştirmek veya azaltmaktır (Xu Yi ve ark 2004, Knöfler ve ark 2007). Amerikan Periodontoloji Akademisi'nin Faz-I tedavi için içermesini öngördüğü parametreler şunlardır: a)sistemik risk faktörlerinin belirlenmesi ve değiştirilmesi (sistemik hastalık, sigara, ilaç kullanımı gibi), b)hastaya plak kontrolünün öğretilmesi, c)diş yüzeyinden mikrobiyal plak ve diştasının uzaklaştırılması, d)plak örnekleme ve antibiyotik hassasiyet testlerinden sonra uygun antimikrobiyal ajan ve lokal salınım sistemlerinin kullanımı, e)uygun olmayan restorasyonların yenilenmesi, çürüklerin tedavisi, ümitsiz dişlerin çekimi, okluzal travmanın ve gıda sıkışması olan alanlar gibi lokal faktörlerin kontrolü veya eliminasyonu (Jolkovsky ve Ciancio 2002, Pattison 2002, Perry 2002, Perry ve Schmid 2002).

Periodontal hastalık için bütün terapötik yaklaşımlar supra ve subgingival plağı oluşturan bakteriyel birikimin diş yüzeyinden mekanik olarak uzaklaştırmasını içerir (Badersten ve ark 1981, Oosterwaal ve ark 1991a,b, Vinholis ve ark 2001, Umeda ve ark 2004, Tezal ve ark 2006, Geisinger ve ark 2007). Diş yüzeyi temizliği, polisaj ve KYD işlemleri bu amaçla yapılır (Genco 1992, Ünsal ve ark 1994). Pek çok çalışma bu işlemlerin dental plak biyofilmi uzaklaştırmada en etkin yol olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar periodontitisli bireylerde başlangıç tedavisi sonrası sondlama cep derinliğinde, klinik ataşman seviyesinde, gingival indeks skorlarında ve sondlamada kanamada ciddi düzelme olduğu konusunda hemfikirdirler (Badersten ve ark 1981, Umeda ve ark 2004, Pawlowski ve ark 2005, Tezal ve ark 2006, Walter ve Weiger 2006).

Supragingival plak kontrolü klinik parametrelerde kısmen düzelmeye neden olmaktadır. Ancak tam bir başarı için hasta tarafından uzaklaştırılmayan subgingival plak da kontrol altına alınmalıdır. Subgingival plak organize olmuş haliyle konağın savunma mekanizmalarından kendisini koruyabilmekte ve kemoterapötik ajanın etkisini de azaltabilmektedir. Dolayısıyla subgingival plağın uzaklaştırılabilmesi için KYD'ni içeren mekanik debridman başarılı bir periodontal tedavi için şarttır. Yukarıda bahsedilen klinik parametrelerdeki düzelmelerin yanı sıra KYD floranın baskın Gram(-) türden Gram(+) türe geçmesini ve siyah pigmente

türler ve spiroketler gibi bazı mikroorganizmaların azalmasını sağlar (Umeda ve ark 2004).

Periodontal dokulara penetre olmuş veya ulaşılabilen kök yüzeylerine yerleşmiş mikroorganizmaların varlığı, bireyin periodontal hastalığa yatkın olması gibi durumlarda konvansiyonel mekanik tedaviye rağmen doku yıkımı devam edebilir. Bu gibi durumlarda derin dokulara penetre olmuş mikroorganizmaları yok etmek, konağın kemik kaybına direncini arttırmak, periodontal cerrahiye duyulan gereksinimi azaltmak veya ortadan kaldırmak için KYD sonrası antibiyotik ve kemoterapötik ajanlar cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak kullanılır (Kalaitzakis ve ark 1993, Sindet-Pedersen 1997, Jolkovsky ve Ciancio 2002, Tezal ve ark 2006, Cosyn ve ark 2007a,b).

Periodontal hastalıklarda sistemik ve lokal olmak üzere iki tip ilaç uygulama yöntemi bulunmaktadır, (Goodson ve ark 1983, Ünsal ve ark 1994, Jolkovsky ve Ciancio 2002).

1.2.1. Sistemik ilaç uygulaması

Periodontal tedavide hastalığın enfeksiyöz tabiatı temel alınır. Konvansiyonel mekanik tedavilere rağmen periodontal doku yıkımının devam ettiği olgularda tedaviye ek olarak sistemik antibiyotikler uygulanır (Sindet-Pedersen 1997, Slots 2004). İdeal olarak hastalığa neden olan mikroorganizmalar belirlenmeli ve antibiyotik hassasiyet testleri kullanılarak en etkili ajan seçilmelidir, fakat bu yöntem rutin klinik işlemlerde uygulamak zordur (Ünsal ve ark 1994, Xu Yi ve ark 2004).

Periodontal hastalıkların tedavisi için ideal antibiyotik; a)periodontopatojene spesifik olmalı, b)allojenik, non-toksik olmalı, c)dayanıklılığı olmalı, d)ucuz olmalı, e)diğer hastalıkların tedavisi için genel kullanımda olmamalıdır (Jolkovsky ve Ciancio 2002).

Tetrasiklinler (tetrasiklin, minosiklin, doksisisiklin), penisilinler (amoksisilin), makrolidler (eritromisin, spiramisin, azitromisin), nitroimidazoller (metronidazol, ornidazol), linkozamidler (klindamisin) periodontal hastalık tedavisinde en çok tercih edilen antimikrobiyal ilaçlardır (Slots ve Ting 2002, Pawlowski ve ark 2005).

1.2.1.1.Tetrasiklinler

Tetrasiklinler geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve protein sentezini inhibe ederek bakteriyostatik etki gösterirler. Lokalize agresif periodontitis tedavisinde *Aa* üzerine etkileri ile ön plana çıkmışlardır. Tetrasiklinler DOSnda serum konsantrasyonunun 2 ile 10 kat fazla oranda bulunurlar ve periodontal cep içinde yüksek konsantrasyonda bulunması önemli bir üstünlük sağlar. Bunun dışında tetrasiklinler doku yıkımında önemli rol oynayan kollajenaz enzimini inhibe ederler. Bu antikollajenaz etki de tetrasiklinlerin agresif periodontal hastalık tedavisinde kullanılan bir ilaç olmasını sağlamıştır. Gastrointestinal sistem, karaciğer, hematolojik sistem üzerine olan olumsuz etkileri, fotosensitizasyona neden olmaları ve gelişim çağında kalsifiye dokulara birikmeleri önemli yan etkileridir (Silver ve Bostian 1993, Dural 2002, Slots ve Ting 2002).

1.2.1.2. Penisilinler

Penisilinler hücre duvarı sentezini inhibe ederler ve bakterisid etkilidirler. Periodontal hastalık yapan bakterilerin büyük bölümü penisilini etkisiz kılan beta laktamaz enzimi ürettiklerinden periodontal tedavide tek başlarına kullanılmazlar. Bu gruptan amoksisilin klavunat potasyumla kombine edildiğinde bakteriler tarafından üretilen penisilinaz enzimine dirençli hale gelir ancak bu şekilde periodontal tedavide özellikle agresif periodontitislerde yardımcı amaçlı kullanılabilirler. En önemli yan etkileri alerjik reaksiyon oluşturmalarıdır. Hastaların yaklaşık %10'u penisilinlere karşı alerjik reaksiyon gösterebilirler (Silver ve Bostian 1993, Dural 2002, Slots ve RTing 2002).

1.2.1.3. Makrolidler

Duyarlı mikroorganizmaların ribozomlarına bağlanarak protein sentezini inhibe ederler. Terapötik dozlarda bakteriyostatik etkili iken, yüksek konsantrasyonda çok duyarlı bakterilere karşı bakterisid etki de gösterirler. Toksisiteleri ve yan etkileri diğer antimikrobiyal ilaçlara göre daha azdır. Eritromisin DOS'da çok düşük konsantrasyondadır; bu nedenle periodontolojide kullanılmaz. Spiramisin tükürükte yüksek konsantrasyonda bulunduğu gibi, dişeti ve kemik dokusuna penetrasyonu da iyi ve uzun sürelidir. İlerlemiş periodontal olgularda klinik iyileşmeyi olumlu yönde desteklediği araştırmalarda ortaya konmuştur. Azitromisin anaerob ve Gram(-) çomaklara etkilidir ve periodontal yıkımın bulunduğu dokularda sağlıklı dişetine

göre anlamlı şekilde daha yüksektir (Silver ve Bostian 1993, Slots ve Ting 2002, Mascarenhas ve ark 2005, Pahkla ve ark 2005, Pawlovski ve ark 2005).

1.2.1.4. Nitroimidazoller

Özellikle Gram negatif anaerob bakteriler üzerine etkilidirler ve etkilerini hücre membranından geçip DNA transkripsiyonu ve replikasyonunu inhibe ederek “bakterisid” olarak gösterirler. *Aa*, *Pg* ve *Pi* üzerine etkilidir. Aktif ceplerin gerilemediği kronik ve agresif periodontitislerde ve nekrotizan ülseratif hastalıklarda kullanılabilir. Gastrointestinal sistem ve merkezi sinir sistemi üzerine yan etkileri vardır. Alkollerle birlikte alındığında antabus etki gösterirler (Silver ve Bostian 1993, Slots ve Ting 2002).

1.2.1.5. Linkozamidler

Duyarlı bakterilerin ribozomlarına bağlanarak protein sentezini baskılar ve bakteriyostatik etki gösterir. Anaerob bakterilere etkilidir ve penisiline alerjisi olan hastalarda kullanılabilir. Periodontal tedavide tetrasiklinin kullanılmadığı alanlarda ve inatçı periodontitis olgularında kullanılmaya çalışılmıştır. En önemli istenmeyen etkisi psödomembranöz kolit gelişmesidir. (Silver ve Bostian 1993, Slots ve Ting 2002, Tezal ve ark 2006)

1.2.2. Lokal ilaç uygulaması

Diş yüzeyi temizliği, KYD işlemleri ve subgingival irrigasyon yöntemi derin periodontal cep bölgelerinde her zaman başarılı olamadığı için tedaviye ek olarak değişik antimikrobiyal ajanların kullanımı önerilmektedir (Carvalho ve ark 2007, Cosyn ve ark 2007a,b, Rodrigues ve ark 2007). Sistemik uygulamaların alerji, direnç gelişimi, süperenfeksiyon gibi bazı ciddi yan etkileri vardır (Xu Yi ve ark 2004, Mızrak ve ark 2006). Ayrıca ilacın kullanım şekli ve dozu, her ne kadar hekim önerse de, hastanın elindedir ve bunun kontrolü zordur (Walter ve Weiger 2006). Aynı zamanda yapılan pek çok çalışma sistemik antimikrobiyal kullanımında periodontal cepte istenilen etkin konsantrasyona ulaşamadığını göstermiştir. Tüm bu dezavantajlar lokal antimikrobiyal kullanımını ön plana çıkarmaktadır (Xu Yi ve ark 2004, Mızrak ve ark 2006, Walter ve Weiger 2006).

Orta ve şiddetli periodontitis olgularında; lokal antimikrobiyal uygulaması biyofilmi yok etmek (Rodrigues ve ark 2007), ortamdaki antimikrobiyal

konsantrasyonunu arttırmak, total dozu ve sistemik yan etkileri azaltmak amacıyla yapılır (Garrett ve ark 1999, Machion ve ark 2004, Rodrigues ve ark 2007).

1.2.2.1 Lokal Uygulamada Antibiyotikler

Antibiyotikler, periodontal hastalıkların tedavisinde enfeksiyon alanında antimikrobiyal etkinlik için uygun zamanda etkin seviyede lokal konsantrasyona ulaşmalı, minimum yan etki göstermeli veya hiç yan etki göstermemelidir (Goodson ve ark 1985). Sistemik antibiyotiklerin yan etkilerinin yanı sıra istenilen alanda uygun konsantrasyona ulaşamamaları (Vinholis ve ark 2001, Xu Yi 2004), gargaraların ve irrigasyon yöntemlerinin limitasyonlarından dolayı yakın geçmişte alternatif lokal salınım sistemleri geliştirilmiştir (Vinholis ve ark 2001, Jolkovsky ve Ciancio 2002, Rodrigues ve ark 2007).

1.2.2.1.1 Tetrasiklin fiberler

İlk lokal salınım aracı 0.5mm çapında, tetrasiklin içeren, etilen/vinil asetat kopolimer fiberdir. Periodontal cep içine uygulandığında doku tarafından iyi tolere edilir. On gün boyunca uygun konsantrasyonda (1300µg/ml) kalabilir. Cepten izole edilen patojenlerin gelişimi ve çoğalmasını inhibe etmek için gerekli olan konsantrasyon ise 32-64µg/ml'dir. Oysa sistemik uygulamada; 10 günde 250mg'lık kapsül günde 4 kere alındığında tetrasiklinin DOS konsantrasyonu sadece 4-8µg/ml'dir.

Yapılan çalışmalarda KYD ile birlikte veya tek başına tetrasiklin fiber uygulamasının sondlama cep derinliğinde, sondlamada kanamada ve periodontopatojen sayısında azalmaya neden olduğu ve klinik ataşman kazancı sağladığı ve tetrasikline direnç gelişimi olmadığı rapor edilmiştir. Yerleştirilmesinin zaman alıcı olması, fiberi on gün sonra almak için hastanın tekrar çağırılması ve ağızda 12'den fazla dişe yerleştirildiğinde oral kandida gelişebilmesi dezavantajlarıdır (Goodson ve ark 1985, Jolkovsky ve Ciancio 2002).

1.2.2.1.2. Doksisisiklin jel

Günümüzde %10 doksisisiklin içeren jel formunda ürünler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda doksisisiklinin tek başına kullanımında klinik ataşman kazancı, cep derinliğinde ve sondlamada kanamada azalma gözlenmiş ve direnç gelişimi olmamıştır. Ayrıca KYD ile karşılaştırıldığında doksisisiklinin klinik ataşman kazancı ve cep derinliği azalmasında monoterapi olarak KYD'ye eşit etkinlikte olduğu

görülmüştür (Garrette ve ark 1999, Jolkovsky ve Ciancio 2002, Machion ve ark 2004, Shaddox ve ark 2007).

1.2.2.1.3. Minosiklin merhem

Günümüzde %2'lik minosiklin hidroklorid içeren, rezorbe olabilen ve kontrollü salınan merhem formunda ürünler kullanılır. Minosiklin merhem; salya ve DOS'la etkileştikten sonra cep içinde sertleşir. Yapılan kimi çalışmalarda 2., 4., 6., ve 12. haftalarda *Pg* ve *Pi*'de; 6. ve 12. haftalarda ise *Aa*'da önemli derecede azalma olduğu görülmüştür (Sindet-Pedersen 1997, Jolkovsky ve Ciancio 2002, Bonita ve ark 2005, Cortelli ve ark 2006).

1.2.2.1.4. Metronidazol jel

Yağ bazlı (gliseril mono-oleat ve susam yağı), %25 metronidazol içeren dental jel formunda bulunmaktadır. Viskoz kıvamda cep içine yerleştirilir, vücut ısısı ile sıvılaşır, su ile temas sonrası tekrar sert kristal form alır. Yapılan çalışmalar KYD ile aynı etkiye sahip olduğu, ama ek bir fayda sağlamadığı gösterilmiştir (Jolkovsky ve Ciancio 2002, Bonita ve ark 2005, Leiknes ve ark 2007).

1.2.2.2 Lokal uygulamada Antiseptikler

Antiseptiklerin supragingival ve subgingival olmak üzere iki tip uygulanma şekli vardır. Supragingival olarak gargara şeklinde ve nabızsal basınçlı irrigasyon cihazı yardımı ile kullanılırlar. Yapılan çalışmalarda nabızsal basınçlı irrigasyon cihazı ile 6mm'den derin olmayan ceplerde penetrasyonun yarı yarıya olduğu bulunmuştur. Gargaralar ise diş yüzeyi temizliği ve polisaj işlemlerinden sonra normal oral hijyen yöntemlerine ek olarak kullanıldığında gingivitis hastalarında enflamasyonun önlenmesinde faydalı olabilirler. Ancak gargaraların ağızda her bölgeye eşit dağılmaması, özellikle interdental bölgelere ulaşmaması gibi limitasyonları vardır (Caton ve ark 1999).

Subgingival bakteriyel enfeksiyonu elimine etmek ve supragingival plak kontrolü ile subgingival alanın yeniden bakterilerce istilasını engellemek amacıyla kullanılan antiseptik ajanlar; listerin, triklosan, çinko, bakır, kalay gibi metal iyonları, povidon iyodin ve klorheksidindir.

1.2.2.2.1 Fenol içeren Yağlar

Bakteriyel enzimlerle çakışarak, hücre membranlarının lipitlerine bağlanarak ve transmembran transportta değişiklik yaparak fonksiyon gösterir. Tadının acı ve keskin olması ve yanma hissi vermesi dışında önemli bir yan etkisi yoktur ve diş macunları ile etkileşim göstermez. Prostaglandin ve lökotrien oluşumunu önler, yani antienflamatuvar etki gösterir. Aynı zamanda analjezik etkisi de vardır. Fakat plak gelişimini engellemede klorheksidin kadar etkili değildir (Sindet-Pedersen 1997, Dural 2002, Ciancio 2003, Santos 2003).

1.2.2.2.2 Triklosan

Toksisitesi düşük, fenol türevi, bisfenol, non-iyonik germisittir. Güçlü pozitif yüklü olduğundan oral dokulara iyi bağlanamaz. Etki mekanizması fenol içeren yağlara benzer fakat plağa daha az bağlandığından anti-gingivitis özelliği yanında anti-plak etkinliği daha sınırlıdır (Rölla ve ark 1997, Sindet-Pedersen 1997, Dural 2002, Kim ve ark 2005).

1.2.2.2.3 Metal iyonları

Lokal uygulamada çinko, bakır, kalay gibi metal iyonları içinde en çok kalay florid kullanılır. Kalayın bakteri hücre yüzeyine bağlanması; kalsiyum iyonlarının yer değiştirmesine böylece enzim fonksiyonlarının bozulmasına; yani antibakteriyel etkiye neden olur. Antibakteriyel etkisi ile ilişkili anti-gingivitis etkisi ve zayıf da olsa anti-plak özelliği vardır. Kalay, asit formasyonunu azaltır, fakat dişlerde boyama yapar (Sindet-Pedersen 1997). Bakır da dişlerde boyama yaptığından ağız hijyeni için hazırlanan materyallerin içine konulmamaktadır. Çinko düşük konsantrasyonlarda birçok diş macunu ve gargaranın içerisinde kullanılmaktadır, fakat tek başına plak üzerine çok az etki gösterir (Dural 2002).

1.2.2.2.4 Povidon İyodin

Geniş spektrumlu potansiyel antiseptiktir. Bakterileri hızlı bir şekilde öldürür. Periodontopatojenlere karşı in-vitro şartlarda 15 saniye gibi kısa bir temas süresinde, in-vivo şartlarda 5 dakikada etkilidir (Riberio ve ark 2006). Germisit, virüs, bakterisit ve fungusit olmasının yanı sıra antikoagulan ve analjezik etkisi vardır. Bakteri direnç gelişimi ve sistemik toksisitesi düşüktür (Dural 2002, Riberio ve ark 2006).

1.2.2.2.5 Klorheksidin glukonat

Klorlu fenilguanidin türevi katyonik bir moleküldür (Dural 2002, Stoeken ve ark 2007). Sabunlar, anyonik maddelerle etkileri azalır. Geniş etki spektrumu vardır. Bakteri membranına kuvvetli şekilde adsorbe olur ve sitoplazmadaki proteinlerin presipite olmasına ve küçük moleküllerin sızıntısına neden olur. Mikroorganizmaların osmotik dengesini bozarak bakterisid etki gösterir . Etki mekanizması pozitif yüklü olması ve salya pellicülüne affinitesine dayanır (Dural 2002, Bascones ve ark 2005, Faveri ve ark 2006). Gram(+) ve Gram(-) bakterileri öldürür. Psödomonaslara güçlü etki gösteremez bu yüzden stok solüsyonlara bu bakterinin üremesini önlemek için alkol ilave edilir. Klorheksidin glukonat %20W/v suda solüsyon haline gelir. Klorheksidin glukonat'ın diğer antiseptiklere göre üstünlükleri; düşük konsantrasyonlarda güçlü etki oluşturması, sistemik toksisitesinin zayıf olması, doku içine iyi etki edebilmesidir (Cosyn ve ark 2007a,b). Ancak klorheksidin uzun süreli kullanılması ciddi olmamakla birlikte çeşitli yan etkilere neden olabilir (Dural 2002, Bascones ve ark 2005).

1.2.2.2.6.1 Klorheksidin Glukonat'ın Yan Etkileri

Dil ve dişlerde renk değişikliğine neden olabilir. Klorheksidin kullanımı kesildikten sonra, boyanmış alanda soyulma ile dildeki renk değişikliği kendiliğinden ortadan kalkar. Dişlerdeki renk değişikliği ise hastaların diş macunu ve fırçası ile, yani uygun ağız bakım işlemleri ile büyük çapta ortadan kalkar. Kalan renk değişiklikleri ise diş hekimi tarafından kolaylıkla giderilebilir. Ender de olsa bazı hastalarda geçici tat alma değişiklikleri oluşabilir (Santos 2003). Etkinliği alkali ortamda fazla, asidik ortamda azdır ve organik maddelerle (kan, irin, nekrotik doku, eksüda) temas edince azalır (Dural 2002).

1.2.2.2.6.2 Klorheksidin'in formları

Klorheksidin gargaralar; 30 yılı aşkın bir süredir etkili antimikrobiyal ajan olarak dental plak ve gingivitis azaltmaktadır. Periodontal tedavi işlemlerinden sonra patojen bakterileri azaltarak profilaksi sağlar. Dişeti sağlığını koruyan, bakteriyel plağı inhibe eden birçok madde tanımlanmıştır. Bunlardan klorheksidin glukonat en iyi tanınan ve en yaygın kullanılanıdır. Dişhekimliğinde ağız antiseptiği ve gargara olarak kullanılır. Daha fazla ağızda kalması, oral yüzeylere adsorbe olması ve aktif formda yavaşça salınması, kritik misel konsantrasyonunun oldukça

yüksek olmasından dolayı mükemmel anti-plak özelliğe sahiptir (Rölla ve ark 1997). Mükemmel plak inhibisyon özelliğinden ve oral dokulara bağlanma yeteneğinden dolayı yıllardır altın standart anti-plak ajan olarak kullanılmaktadır (Lander ve ark 1986, Bozkurt ve ark 2005). Klorheksidin'in gargara olarak topikal uygulanması supragingival bakterilerin tümüne karşı etkili olmuştur. Bu sebepten plak bakterilerinin debridmanına kimyasal yardımcı olarak klorheksidin kullanımı gündeme gelmiştir (Tezal ve ark 2006). Yapılan çalışmalarda da mekanik debridman ve klorheksidin ile subgingival irrigasyonun kombine kullanımının subgingival mikroflora üzerine daha etkili olduğu bulunmuştur (Lander ve ark 1986, Kalaitzakis ve ark 1993, Vinholis ve ark 2001, Cosyn ve ark 2007a,b).

Klorheksidin solüsyonlar; içeriğindeki klorheksidin konsantrasyonu düşük olduğundan ve periodontal cep içinde yeterli süre durmadığından subgingival irrigasyon sonrası zayıf etkilidirler (Oosterwaal ve ark 1991a,b).

Klorheksidin çip; biyolojik olarak rezorbe olabilen çip içeriğindeki 2.5mg klorheksidin yavaş yavaş subgingival alana salınır. Böylece klorheksidin DOS'taki yüksek konsantrasyonunu 8-10 gün süreyle korur. Bu konsantrasyon periodontal cepten izole edilen subgingival mikroorganizmaların %99'u için MIC değeridir (Walter ve Weiger 2006). Yapılan bazı çalışmalar çip kullanımının KYD ile cep derinliği, sondlamada kanama gibi bazı klinik parametrelerde önemli oranda düzelmeye sonuçlandığını ama klinik ataşman düzeyine önemli etkisinin olmadığını göstermiştir (Reddy ve ark 2003, Bonita ve ark 2005, Rodrigues 2007). Bazı çalışmalar ise çip kullanımının klinik ve mikrobiyolojik faydası olmadığını göstermiştir (Cosyn ve Wyn 2006, Tansel ve ark 2006, Carvalho ve ark 2007).

Klorheksidin jel klorheksidin solüsyondan 5-15 kat daha viskozdur. Jelin yüksek viskozitesinden dolayı periodontal cepten aktif ajanın yıkanması daha yavaş olur. Bu sayede jelin cep içinde kalma süresi ve bakteri ile temas süresi uzamış ve lokal bakterisidal etki için uygun şartlar sağlanmış olur (Oosterwaal ve ark 1991a,b, Kalaitzakis ve ark 1993, Vinholis ve ark 2001, Cosyn ve ark 2007a,b).

Literatürde lokal ilaç kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların çoğu 'tetrasiklin fiber, klorheksidin çip, metronidazol jel veya minosiklin jel' gibi lokal salınım gereçleri ile ilgilidir. Bu gereçlerin ağrı, kaşıntı gibi hasta şikayetlerinin yanı sıra pü oluşumuna neden olması, uygulamasının zor olması ve uygun taşıyıcılarının

olmaması gibi pek çok dezavantajları vardır. Önemli dezavantajlarından biri de maliyetin çok yüksek olmasıdır. Düşük maliyetli, kolay uygulanan klorheksidin jel kullanımını ile subgingival florada daha fazla periodontopatojene etki edilip, hastalığın ilerlemesinin engellenmesi veya ciddi anlamda azaltılması ve hastanın destekleyici periodontal tedavi (DPT) fazında daha uzun aralıklarla seanslara çağırılabilceği umut edilmektedir (Cosyn ve ark 2007a,b).

1.3. Mikrobiyolojik Diağnoz

Bakteriyel plağın periodontitisin başlamasındaki ve ilerlemesindeki en önemli etiyolojik faktör olduğu, *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Pi*'nin yetişkinlerde periodontitisin güçlü patojenlerinden olduğu ve bu türlerin hastalığın ilerlemesinde rol oynadığı bilinmektedir (Boutaga ve ark 2007). Mikrobiyolojik diağnoz periodontitisin teşhisinde olmazsa olmaz değildir, fakat etiyoloji hakkında bilgi edinmedeki tek diağnostik prosedürdür. Subgingival biyofilmin kompozisyonu, spesifik patojenlerin varlığı ve sayısı, periodontal yıkımın klinik ve radyografik değerlendirilmesi tanıyı destekleyebilir ve periodontal enfeksiyon kontrolü ile ilişkili spesifik tedavi planına yardımcı olabilir (Casas ve ark 2007). Periodontal hastalığın mikrobiyolojik tanısı bakteri türlerini ve bu türlerin sayısını belirlemeyi hedefler. Bu hedef doğrultusunda tükürük veya subgingival plak örneği incelenir. Tükürüğün elde edilmesi kolaydır fakat oral mukoza, supra ve subgingival plak gibi ağzın farklı bölgelerinden etkilendiğinden mikrobiyolojik tanıda daha doğru sonuç için subgingival plak örnekleri kullanılır (Boutaga ve ark 2007).

Küret, dişipi, kağıt koni (*paper point*) gibi gereçlerle subgingival plak örnekleri elde edilebilir (Boutaga ve ark 2007). Kornman (1986) küretle örnek alındığında ekosistemin diğer örnekleme yöntemlerinden daha fazla etkilendiğini savunsa da, Loomer (2004) kağıt koni ile örnek alındığında cebin en derin bölgesine ulaşamadığını ve bu yüzden küretle alınan örnekteki total bakteri sayısının daha fazla sayıda olduğunu savunmuştur (JervØe-Storm ve ark 2007).

Dişler üzerindeki biyofilmin bir kısmında veya ağzın yumuşak dokularında kolonize olan çok sayıda bakteri olmasına rağmen bu bakterilerin küçük bir kısmının periodontal dokuların yıkımına neden olma potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. Bu potansiyele sahip patojen kabul edilen mikroorganizmaları belirlemek için

kullanılan pek çok yöntem vardır (Nishihara ve Koseki 2004, Nonnenmacher ve ark 2005).

1.3.1. Bakteriyel kültür

Tarihsel olarak kültür yöntemi subgingival mikrofloranın kompozisyonunu belirlemede en çok kullanılan yöntem olup yeni mikrobiyal tanı yöntemlerinin performansına bakıldığında hala referans, hatta 'Altın Standart' yöntemdir. Genel olarak plak örnekleri selektif veya selektif olmayan vasat kullanılarak anaerobik ortamda kültüre edilir ve patojen kabul edilen mikroorganizmalar belirlenir. Bu yöntemin avantajı kültüre edilen türlerin göreceli ve tam sayı vermesi ve antibiyotik hassasiyetini belirlemek için yapılan tek *in-vitro* yöntem olmasıdır. Dezavantajları ise sadece canlı bakterilerin teşhis edilebilmesi ve *Treponema* türleri ve *Tf* gibi bazı patojenlerin kültürünün çok zor olmasıdır. Ayrıca hassasiyeti düşüktür, çok malzeme ve tecrübeli eleman gerektirir (Sanz ve Newman 2002).

1.3.2. Direk Mikroskopi

Karanlık alan veya faz kontrast mikroskopi plak örneğindeki bakterinin morfolojisini ve motilitesini hızlı ve doğrudan gösterebilen; kültür yöntemine alternatif bir yöntemdir. Periodontal hastalığın durumunu belirlemede idame programını yapılandırmada kullanılır. Fakat *Aa*, *Pg*, *Tf* gibi pek çok periodontopatojeni belirlemede başarısızdır. Ayrıca yaşayan bakterilerin vitalitesi hakkında bilgi vermez (Sanz ve Newman 2002, Lander ve ark 1986, Kalaitzakis ve ark 1993). Dolayısıyla periodontal hastalık tanısında pek kullanılmaz (Sanz ve Newman 2002).

1.3.3. İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal tanı yöntemlerinde hedef mikroorganizmayı belirlemek için spesifik bakteriyel antijenleri tanıyan antikorlar kullanılır. Bu testler direk ve indirek immünohistokimyasal mikroskopi, flow sitometry, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), membran assay ve latex agglutination'dır. Direk immünohistokimyasal mikroskopi genelde *Aa*, *Pg*'yi belirlemede kullanılır. Diğer immünohistokimyasal testler de *Aa*, *Pg* ve *Pi*'nin belirlenmesinde kullanılabilir. (Özellikle Membran Assay (Evalusite®)) Fakat bu yöntemlerin hepsi PCR'a göre periodontopatojenleri belirlemede daha az başarılıdır (Sanz ve Newman 2002).

1.3.4. Enzimatik Yöntemler

Pg, Tf, Td, Capnocytophaga türleri enzimatik aktivite gösterirler, tripsin benzeri enzimleri vardır. Bu enzimin aktivitesi renksiz madde, N-benzoyl-dl-arginine-2-naphthylamide (BANA)'in hidrolizi ile ölçülebilir. Hidroliz meydana geldiği zaman, solüsyona *fast garnet* (azo boyar madde) eklendiğinde rengi turuncu-kırmızıya dönen chromophore β -naphthylamide salınır. İzole edilen plaktaki bakteri profilinin belirlenmesinde bu yöntemi kullanan diagnostik kitler geliştirilmiştir. Fakat periodontal olarak sağlıklı alanlarda da pozitif ölçülebilmesi ve sınırlı sayıda periodontopatojeni belirlemesi dezavantajıdır (Sanz ve Newman 2002).

1.3.5. Deoksiribonükleik Asit Prob (*DNA Probe*) teknolojisi

1.3.5.1. Nükleik Asit Prob (*Nucleic Acid Probe*)

Aa, Pg, Pi, Cr, Ec, Fn ve *Td* gibi çok sayıda bakteri türlerini hızlı bir şekilde test etmede kullanılır. Yöntem ortamdaki 10^2 - 10^4 kadar az sayıda bakteriyi tespit edebilir. Sensitivitesi ve spesifitesi karışık kültür örneklerindeki ilişkisiz bakterilerin varlığından etkilenmez (Sanz ve Newman 2002).

1.3.5.2. Restriksiyon Endonükleaz (*Restriction Endonuclease*) Analizi

Bu teknik de *Aa, Pg, Pi, Ec, Fn, Td* gibi pek çok oral bakterinin doğal türlerinin moleküler genetik analizi için uygulanır. Aile bireyleri arasındaki periodontopatojen kabul edilen mikroorganizmaların geçiş paternlerini çalışmak için çok uygun bir yöntemdir (Sanz ve Newman 2002).

1.3.5.3. Polimeraz Zincir reaksiyonu (*Polymerase Chain Reaction*) (PCR)

Hedef türler için seçilmiş spesifik primerlerle DNA bölgesinin tekrarlanarak çoğaltılmasından ibarettir. Bu spesifik ürünler hedef mikroorganizmanın varlığını gösterir. Farklı nükleik asit metotları arasında PCR hassasiyet sınırları en iyi olan yöntemdir (Sanz ve Newman 2002, Shaddox ve ark 2007). Cosyn ve ark (2007a,b) bakterilerin belirlenmesinde bu yöntemin laboratuvar aşamalarının daha hassas olduğunu, çok zaman almadığını, örnekleme esnasında ve taşıma ile kontamine olmadığını; bu yüzden de kültürden daha üstün olduğunu savunur. Farklı tipleri vardır. Bunlardan multipleks PCR farklı bakteriyel türleri tespit edebilir. Bu yöntem niteliksel bir yöntemdir. Bir başka tipi gerçek zamanlı (*real-time*) PCR'dır. Nicel bir yöntemdir. Periodontal mikroorganizmalar için ideal tespit yöntemi olma potansiyeli

vardır. Örnek içinde çok az sayıda olan patojeni belirleyebilen hassas bir yöntemdir (Sanz ve Newman 2002, Boutaga ve ark 2007). Oysa bu durum kültürde yanlış negatif sonuca yol açar; çünkü kültürle patojenlerin belirlenmesi için yüksek eşik değeri gerekirken PCR’da düşük eşik değeri de yeterlidir (Casas ve ark 2007). İnvaziv olmayan bir yöntemdir, hızlı ve uygulaması nispeten kolaydır (Sanz ve Newman 2002, Boutaga ve ark 2007). Mükemmel tarama sınırları ve optimal şartlar altında çok az çapraz reaktivite gösterir (Sanz ve Newman 2002). Kinetik analizlerde oldukça başarılı ileri PCR tekniklerinden biridir (Nonnenmacher ve ark 2005).

Toplumumuzda görece sık görülen kronik periodontitisin tedavisinde cerrahi olmayan periodontal tedavinin sonuç verici olduğu bilinmekle beraber, tedavinin belirli süreler için tekrarlanması gerekliliği açıktır. Gerek tedavi etkinliğini artırmak, gerekse tedavinin tekrarlanma süreçlerini uzatabilmek amaçlı çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Yukarıda da belirtilen tüm bu bilgilerin ışığında, bu çalışmada; kronik periodontitisli sigara içen ve içmeyen hastalarda; cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak subgingival klorheksidin jel uygulamasının, subgingival floradan bakterilerin uzaklaştırılması ve klinik periodontal parametrelerde iyileşmeye ek bir faydasının olup olmadığı sorusuna cevap aranmaktadır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1 Çalışma grupları

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji kliniğine Ocak 2007-Mart 2008 tarihleri arasında gelen, klinik ve radyolojik olarak “kronik periodontitis” teşhisi konmuş, 44 hasta üzerinde yürütüldü. Çalışmaya dahil edilen hastalar; ağızında en az 14 diş bulunan, en az 3 bölgesinde ≥ 6 mm sondlama cep derinliği olan, sistemik problemi olmayan, son 6 ay içinde antibiyotik kullanmamış ve periodontal tedavi görmemiş, 35 yaşın üstünde bireylerdi.

Çalışma öncesi Selçuk Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Etik Kurulu’ndan onay alınarak gerçekleştirildi (Etik kurul no: 2006/23-1). Çalışmaya katılan bireylere araştırmmanın detayları anlatıldı ve bilgilendirilmiş onam formunu inceleyen bireyler formu imzalayarak çalışma kapsamına alındı. Bu bireylerin detaylı anamnezi alınıp, sigara içip içmedikleri kaydedildi.

Çalışmaya katılan bireyler klinik periodontal durum, yaş ve cinsiyete bakılmaksızın dört gruba ayrıldı: 1) Sigara içmeyen, cerrahi olmayan periodontal tedavi ve klorheksidin jel uygulanan grup (Chx), 2) Sigara içen, cerrahi olmayan periodontal tedavi ve klorheksidin jel uygulanan grup (ChxS), 3) Sigara içmeyen, cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanan ve serum fizyolojik ile subgingival yıkama yapılan grup (Sf) ve 4) Sigara içen, cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulanan ve serum fizyolojik ile subgingival yıkama yapılan grup (SfS) grup (SfS).

2.2. Klinik Periodontal Değerlendirme

Çalışma gruplarındaki hastaların ağızdaki bütün doğal dişlerden Sondlama Cep Derinliği (SCD), Klinik ataşman seviyesi (KAS), Plak İndeksi (Pİ) ve Gingival İndeks (Gİ) ve Sondlamada Kanama İndeksi (SKİ) ölçümleri yapıldı.

2.2.1. Sondlama Cep Derinliği (SCD)

Florida Probe* yardımıyla dişeti kenarı ile sulkus/cep tabanı arası mesafe, vestibul ve palatinalde, mezial, orta ve distal olmak üzere, dişin altı noktasından ölçüldü. Ölçüm esnasında sondun, dişin uzun aksına paralel olmasına dikkat edildi.

* Florida Disk Probe, The Florida Probe Corporation, Gainesville, FL

2.2.2. Klinik ataşman seviyesi (KAS)

Williams periodontal sond^o kullanılarak mine-sement sınırından sulkus/cep tabanına olan mesafe, vestibul ve palatinalde, mezial, orta ve distal olmak üzere, dişin 6 noktasından milimetrik olarak ölçüldü. Değerler toplanıp altıya bölünerek her hastaya ait ortalama KAS hesaplandı.

2.2.3. Plak İndeksi (Silness ve Løe 1964) (Pİ)

Pİ ölçümü için değerler her dişin mezial, distal, vestibül ve palatinal olmak üzere 4 yüzeyinden elde edildi. Değerler toplanıp dörde bölünerek her bir dişe ait Pİ skoru saptandı. Skorlama şu şekilde yapıldı.

0: Diş yüzeyinin dişeti bölgesinde hiç bakteri plağı yok.

1: Göz ile dişin yüzeyinde bakteri plağı görülmemekte fakat sondlama işleminden sonra sondun ucunda bakteri plağı izlenmektedir.

2: Dişeti bölgesi ince ve orta düzeyde bakteri plağı ile kaplıdır ve bu birikinti göz ile seçilebilmektedir.

3: Fazla miktarda yumuşak birikinti vardır, kalınlığı dişeti oluşunu tamamen doldurmuştur ve interdental bölge yumuşak birikinti ile doludur.

2.2.4. Gingival İndeks (Løe ve Silness 1963) (Gİ)

Gİ ölçümü için değerler her dişin mezial, distal, vestibül ve palatinal olmak üzere dört yüzeyinden elde edildi. Değerler toplanıp dörde bölünerek her bir dişe ait Gİ skoru saptandı. Skorlama şu şekilde yapıldı.

0: Sağlıklı dişeti.

1: Hafif enflamasyon, hafif renk değişikliği ve ödem var ama sondlamada kanama yok.

2: Orta dereceli enflamasyon, ödem, kızarıklık ve parlaklık, sondlamada kanama var.

3: Şiddetli enflamasyon ve kızarıklık, ödem, ülserasyon ve spontan kanamaya eğilim var.

2.2.5. Sondlamada Kanama İndeksi (SKİ)

Her dişin vestibul, lingual, mezial ve distal yüzeylerinde (-) veya (+) skoru verildi. Her diş için verilen skorlar toplanıp diş sayısına bölünerek tüm ağız için sondlamada kanama yüzdesi belirlendi.

^o Hu-Friedy, Chicago, Illinois, USA

(-): Sondlamada kanama yok.

(+): Sondlamada kanama var.

2.3 Plak örnekleme alanlarının belirlenmesi ve Subgingival plak örnekleme

Klinik periodontal değerlendirme sonrası çalışma gruplarına dahil edilen her hastada en derin periodontal cep ($SCD \geq 6mm$) plak örnekleme alanı olarak belirlendi. Örneklere havuzlama yapılmadı; her hastadan tek bir örnek alındı.

Klinik periodontal değerlendirmeden bir hafta sonra hastalar plak örnekleme için tekrar çağırıldı. Örnekleme öncesi ilgili alan çevresine pamuk tamponlar yerleştirilip, supragingival plak steril bir kretuarla dişeti irrite edilmeden uzaklaştırıldı. Örnekleme alanı hafifçe hava ile kurutuldu, steril bir Gracey küret yardımıyla subgingival plak örnekleri alındı ve serum fizyolojik içeren Ependorf tüplerine aktarıldı. Tüpler daha sonra $-80C^0$ 'de saklandı. Örnekleme işlemi periodontal tedavi sonrası 1., 3., ve 6. aylarda tekrarlandı.

2.3. Tedavi

İlk seansta SCD, KAS, Pİ, Gİ ve SK kaydedildi ve çalışma alanı olarak belirlenen dişlerden plak örnekleri alındı. Aynı seans diş yüzeyi temizliği, polisaj ve oral hijyen motivasyonu uygulamaları yapıldı. Bir hafta sonra ikinci seansta KYD işlemleri tamamlandı. Chx ve ChxS grubundaki hastalara bu seansta *klorheksidin jel* *10cc'lik enjektör yardımıyla subgingival cep içine uygulandı. Sf ve SfS grubundaki hastalarda ise sadece serum fizyolojikle subgingival yıkama yapıldı. Tüm hastalar 1, 3 ve 6 ay sonra tekrar kontrole çağırıldı. Kontrol seanslarında tüm ölçümler ve örnekleme işlemleri ve cep derinliği 6mm'den fazla olan bölge varsa KYD işlemleri tekrarlandı fakat *klorheksidin jel* (KJ) tekrar uygulanmadı.

2.4 Mikrobiyolojik değerlendirme

2.4.1 PCR

Aa, *Pg* ve *Pi* bakterilerinin DNA'sının çoğaltılması amacıyla PCR tekniği kullanıldı. Bu teknikte 50µl'lik reaksiyon hacmi içinde 100ng DNA, 1.25 ünite (U) Taq polimeraz enzimi, 5µl 10X PCR tamponu (reaksiyon içinde konsantrasyonu 1X), 5µl 2mM dNTP, 25pmol/µl konsantrasyonunda uygun primerler (Çizelge 2.4)

* Paroex, Butler GUM, Italy.

ve 1mM MgCl₂ bulunmaktaydı. Karışım üzerine ddH₂O (distile su) eklenerek hacim 50µl'ye tamamlandı.

Üç reaksiyonda da Çizelge 2.1'de yer alan 5 dakika 95C⁰'de başlangıç denatürasyon sıcaklığı, 60C⁰ 1 dakika bağlanma ve 72C⁰'de 7 dakika son uzama sıcaklığı kullanılmıştır. Çizelge, her bir reaksiyon için kullanılan primer çiftlerini, çoğaltılan hedef bölgeleri, her bölge için uygun PCR sıcaklıklarını (sırasıyla denatürasyon, primerlerin bağlanması ve uzama için gerekli sıcaklıklar) ve PCR döngü sayılarını içermektedir.

Çizelge 2.1. *Real-Time* PCR koşulları

Çoğaltılan Bölge	Reaksiyon Koşulları		Siklus Sayısı
<i>Aa</i> <i>Pg</i> <i>Pi</i>	Başlangıç Denatürasyonu	95°C 5 dak	1
	Denatürasyon	95°C 60 sn	35
	Bağlanma (Annealing)	95°C 60 sn	
	Uzama	72°C 60 sn	
	Son Uzama	72°C 7 dak	1

2.4.1.1 Kantitasyon standartlarının oluşturulması

Kantitasyon çalışmalarını yapmak için klonlama prosedürü kullanılarak hedef bakterilerdeki çoğaltılmış bölgeler klonlandı. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Pg*, *Pi*'den pozitif elde edilen PCR amplikasyonları ayrı ayrı farklı plazmid vektörlere sokulmuştur; rekombinant vektörler gerekli özellikleri taşıyan *Escherichia coli*'ye transforme edilmiştir. İnsersiyon, restriksiyon enzim analizi ve agaroz jel elektroforeziyle doğrulanmıştır. Plazmidler, plazmid saflaştırma kitleri ile saflaştırılmıştır. İzole edilen plazmidler çoklu seyreltme spektrofotometri ile sayılmış ve moleküler kütle hesaplanarak temel alınmıştır. Hedef DNA'nın ölçümü önceki standartlara göre 10³'ten 10⁸'e kadar olan plazmid kopyalarının bir dizi 10 kat seri dilüsyonları yapılmıştır. Duplikasyonda ve ortalama değerlerde kullanılan plazmid standartlar ve klinik örnekler bakteriyel yükün hesaplanmasında kullanılmıştır. Aşağıda bu işlemler sırasıyla yer almaktadır.

2.4.1.1.1 PCR Amplifikasyonlarının Topo-XL Vektörlerine Klonlanması

PCR sonucu elde edilen amplifikasyon ürünleri Topo-XL vektörüne, üretici firmanın *Topo-XL PCR Cloning* kiti* içerisinde bulunan prosedür klavuzundaki yöntem izlenerek klonlandı. Elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jele yüklenerek, jelin yürütülmesinden sonra jel ekstaksiyonu yapıldı. Agaroz (0.5g) 50ml 1X TAE tamponuyla karıştırıldı. Mikrodalga fırında agaroz eriyene kadar ısıtıldı. Fırından çıkarıldı ve 3 dakika soğuması için beklendi. Kristal violet boyası (30µl) eklendi ve karıştırıldı. Tarak jel kutusuna yerleştirildi ve jel döküldü. Jel donduğunda tarak çıkarıldı ve üzerini kaplayacak kadar 1X TAE tamponu eklendi. PCR amplifikasyon ürünü (40µl) 8 µl 6X kristal violet yükleme tamponu ile karıştırıldı ve jeldeki kuyucuklara yüklendi ve 80 voltta 30-40 dakika yürütüldü. Beyaz ışık altında jelde bulunan DNA bantları görüntüledi. İstenilen bant bistürü yardımıyla jelden kesilip çıkarıldı. Çıkarılan parça küçük parçacıklara bölünerek 1.5ml'lik bir Ependorff tüpüne kondu. Üzerine jelin hacminin (1mg yaklaşık 1µl gelmekte) 2.5 katı kadar 6,6M Sodyum iyodür solüsyonu eklendi ve vortekslendi. Jel 50°C'de tamamen eriyene kadar inkübasyona bırakıldı. Oda sıcaklığında toplam hacmin 1.5 katı kadar bağlama tamponu (*binding buffer*) eklendi ve vortekslendi. Elde edilen karışım *synaptosomal-associated protein* (SNAP) pürifikasyon kolonuna yüklendi. Oda sıcaklığında 2000-3000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Altta kalan sıvı atıldı ve SNAP pürifikasyon kolonuna 400µl 1X yıkama solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında 2000-3000 rpm'de 30 saniye santrifüj edildi. Altta kalan sıvı atıldı ve SNAP pürifikasyon kolonuna 800µl 1X yıkama solüsyonu eklendi. Altta kalan sıvı atıldı ve SNAP pürifikasyon kolonu boş olarak maksimum hızda 2 dakika santrifüj edildi. Tris-EDTA (TE) (40µl) tamponu filtrenin tam ortasına gelecek şekilde pipetlendi ve 1 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Oda sıcaklığında maksimum hızda santrifüj yapılarak DNA dilüe edildi. Jelden pürifikasyonu yapılan PCR ürününden 4µl ve kanamisin direnç geni taşıyan PCR-XL-TOPO vektöründen 1µl, 1.5ml'lik steril bir ependorf tüpünde karıştırıldı. Oda sıcaklığında 5 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 1µl 6X *TOPO Cloning Stop* solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında karıştırıldı. Tüpün çeperlerindeki sıvının aşağı çökmesi için hafifçe santrifüj edildi ve tüp buz üzerine kondu.

* Invitrogen, California, USA

2.4.1.1.2 Transformasyon

Klonlama reaksiyonu ürününden 2µl'yi "One Shot Competent" *E. Coli* hücrelerine eklendi ve dikkatlice karıştırıldı. Buz üzerinde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası 42°C'de 30 saniye bekletildi. Sonrasında tüp hemen buz üzerine kondu ve 2 dakika inkübasyona bırakıldı. Hücrelerin üzerine 250µl *Super Optimal Broth* (S.O.C medyumu) eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Daha önceden hazırlanmış 50µg/ml kanamisin içeren *Luria Bertani Broth*'a (katı LB besiyeri) 50-150µl hücre yayıldı ve 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı.

2.4.1.1.3 Topo Klonlaması sonrası plazmid ekstraksiyonu ve Klonların Analizi

Büyüyen koloniler steril bir kürdan yardımıyla kanamisin içeren 2ml sıvı LB besiyerine aktarıldı ve 37°C'de bir gece inkübasyona bırakıldı. Plazmid DNA ekstraksiyonu, üretici firmanın *Plazmid DNA Purification* kiti* içerisinde bulunan prosedür klavuzundaki yöntem izlenerek yapıldı. Bir gece süre ile 37°C'de büyütülen kolonilerin 50µl'si, pozitif klonların tekrar büyütülüp sonraki çalışmalarda kullanılabilmesi amacıyla dondurularak saklanmak üzere ayrı ayrı tüplere üzere ayrıldı. Kalan hücreler 30 saniye 11000 rpm'de santrifüj edilerek çöktürüldü ve üstte kalan besiyeri atıldı. Hücreler 250µl RNaz içeren A1 tamponu ile tekrar süspansiyon edildi. Sonrasında 250µl A2 tamponu eklenip iyice karıştırıldı ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. A3 tamponu (300µl) eklenip, karıştırıldı ve 11000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası pellet atıldı ve süpernatant *NucleoSpin* kolonuna aktarıldı, 11000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtreden geçen sıvı atıldı ve 600µl A4 yıkama tamponu eklendi, 11000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Filtreden geçen sıvı atıldı ve 11000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. vKolon 1.5ml'lik steril bir Ependorff tüpüne kondu ve üzerine 50µl absorpsiyon-elüzyon tamponu eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakıldı ve 11000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilerek plazmid DNA elüzyonu yapıldı.

* Macherey-Nagel, GERMANY

2.4.1.1.4 Elde Edilen Plazmidlerin Jelde Görüntülenmesi ve Analizi

Agaroz (5g) 50ml 1X TBE (*tris-borate-EDTA*) tamponuyla karıştırılıp %1 agaroz jel hazırlandı. Mikrodalga fırında agaroz eriyene kadar ısıtıldı. Fırından çıkarıldı ve 3 dakika soğuması için beklendi. Etidyum bromür boyası eklenip karıştırıldı. Tarak jel tabağına yerleştirilip jel döküldü. Jel donduğunda tarak çıkarılıp üzerini kaplayacak kadar 1X TBE tamponu eklendi. Plazmid DNA (5µl) 6X kristal violet yükleme tamponu (1µl) ile karıştırıldı ve jeldeki kuyucuklara yüklendi. Sonra 100 voltta 1 saat kadar yürütüldü. Ultraviyole ışığı altında DNA bandı görüntüledi. Uygun boydaki plazmid DNA'sına (vector+PCR ürününe) sahip pozitif koloniler jelde tespit edildi.

2.4.1.1.5 Pozitif Kolonilerin Dondurulması ve Saklanması

Jelde uygun boyda plasmid DNA'sı tespit edilen kolonilerden daha önce ayrılan 50µl hücre süspansiyonu 1.75ml kanamisin içeren LB medyumunda 37°C'de 1 gece büyütüldü.

Hücrelerin üzerine %10 gliserol (200µl) eklendi ve -80°C'de saklandı.

2.4.1.1.6 DNA Dizi Analizi

TOPO-XL vektörüne klonlama yapıldıktan sonra üretici firmanın *Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing* kiti^β içerisinde bulunan prosedür klavuzundaki yöntemler izlendi.

Çizelge 2.2. DNA dizi analizinin PCR reaksiyonunun içeriği

Reaksiyon İçeriği	Volüm
Big Dye Karışımı	6 µl
Primer ¹	4 µl
Template (Örnek DNA)	5 µl
ddH ₂ O (distile su)	5 µl
Toplam Volüm	20 µl

¹ Vektör DNAsı içinden uygun universal primer seçilir (Örneğin M13 Forward)

^β Applied Biosystems, Fostercity, USA

Çizelge 2.3. DNA dizi analizinin PCR reaksiyonunun şartları. Sekans PCR'ı sonrasında sekans temizlemesi yapılır ve sekans cihazına^ψ yüklenir.

Reaksiyon Koşulları		Siklus sayısı
96°C	30 saniye	1
96°C	10 saniye	30
50°C	5 saniye	
60°C	4 dakika	

2.4.1.2 Real Time PCR yöntemi ile kantitasyon

Real Time PCR çalışması için gerekli bütün primerler Bioneer[¥] tarafından sentezlenmiştir. Probe dizileri de bu firmadan temin edilmiş olup probler FAM boyası ile işaretlenmiştir. Primer ve Prob dizileri Çizelge 2.4'te yer almaktadır.

Çizelge 2.4. Real-Time PCR için Reaksiyon içeriği

Primer no	Primer dizisi (5' → 3')	Prob	Çoğaltılan baz çifti (bç)
Aa Forward	CCA GTG TGA TTA GGT AGT TGG TGG G	ATC GCT AGC TGG TCT GAG AGG ATG	219
Aa Revers	CCT TCC TCA TCA CCG AAA GAA GCC		
Pg Forward	TGG AAC TTG CCT TAC AGA GGG	ACT TGT AAG ATA GGC ATG CGT	343
Pg Revers	ACT CGT ATC GCC CGT TAT TC CCC ATT AGC TA		
Pj Forward	CCA CAT ATG GCA TCT GAC GTG	ACT TGT AAG ATA GGC ATG CGT	232
Pj Revers	TCA ATC TGC ACG CTA CTT GG CCC ATT AGC TA		

Real-Time PCR çalışması için *Light Cyler TaqMan Master* kiti^β kullanılmıştır. Reaksiyon içeriği Çizelge 2.4'e göre hazırlanmıştır. Çalışma Roche

^ψ ABI 3100 genetic analyser, USA

[¥] Bioneer Oligo Synthesis Report, KOREA

^β Roche, GERMANY

Lightcycler 1.2 Real-time PCR^B cihazında (Resim 2.1) yapılmıştır. PCR çalışması için Çizelge 2.5'te yer alan döngü siklusları kullanılmıştır.



Resim 2.1. *Real-time PCR* (Roche, GERMANY)

Çizelge 2.5. Real-Time PCR çalışmasında kullanılan PCR siklusları ve döngü

Çoğaltılan Bölge	Reaksiyon Koşulları		Siklus Sayısı
<i>A.actinomycetemcomitans</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i>	Başlangıç denatürasyonu	95°C 10dak	1
	Denatürasyon Bağlanma (Annealing) Uzama	95°C 30 s 60°C 60 s 40°C 40 s	40
	Son Uzama	72 °C 7dak	1

2.5.Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi bilgisayar ortamında istatistik paket programı* kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik verilere, örneklerde belirlenen bakteri sayılarına, dağılımın normalize, varyansın stabilize edilebilmesi için Log_{10} transformasyonu uygulandı. Klinik periodontal parametrelerin ve mikrobiyolojik verilerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak tespit edildi. Verilerin normal dağılmaması ve istenen yeterli sayıda olmaması sebebiyle bağımlı gruplarda Friedman, bağımsız gruplar karşılaştırılmasında Kruskal Wallis parametrik olmayan varyans analizleri kullanılmıştır.

Test sonuçlarının değerlendirilmesi 0.05 anlamlılık düzeyine göre yapılmış, okuyucunun değerlendirebilmesi için p değerleri de verilmiştir.

* SPSS for Windows 15.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA

3. BULGULAR

Çalışmaya 50 gönüllü hastayla başlandı, fakat 6 hasta cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası takip döneminde randevularına gelmediği için çalışma dışı bırakıldı. Böylece 11'i kadın 33'ü erkek toplam 44 hastayla araştırma tamamlandı. İki üst ikinci büyük azı, üç üst ikinci küçük azı, iki üst birinci küçük azı, altı üst kanin, beş üst yan keser, yedi üst santral keser; bir alt ikinci büyük azı, bir alt birinci büyük azı, bir alt ikinci küçük azı, iki alt birinci küçük azı, dört alt kanin, dört alt yan keser, altı alt santral keser diş olmak üzere 44 diştan 44 örnek alındı. Çalışma gruplarındaki hastalarda uygulanan tedaviye bağlı herhangi bir komplikasyon görülmedi. Chx ve ChxS gruplarındaki hastalarda uygulanan klorheksidin jel hastalarca iyi tolere edildi, herhangi bir yan etkiye yol açmadı.

3.1. Tüm ağız klinik periodontal durum

Sigara içen ve içmeyen Chx ve Sf gruplarına ait klinik periodontal parametre ortalamaları, standart sapmaları başlangıç, 1., 3. ve 6. ay ortalamaları Çizelge 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4 ve 3.1.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.1.1. Çalışma gruplarında tüm ağız SCD ortalamaları ve standart sapmaları

	n	0 Ort±Ss (mm)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	3.25±0.71	2.71± 0.65	2.82± 0.82	2.89± 0.96
ChxS	11	3.35±0.60	2.90±0.43	2.91± 0.43	3.15± 0.50
Sf	11	2.78±0.33	2.47±0.36	2.63± 0.40	2.75±0.44
SfS	11	3.36±0.37	2.86± 0.36	2.87± 0.32	3.16± 0.34

Çizelge 3.1.2. Çalışma gruplarında tüm ağız klinik ataşman seviyesi ortalamaları ve standart sapmaları

	n	0 Ort±Ss (mm)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	3.37± 0.69	2.83± 0.62	2.93± 0.79	3.03± 0.96
ChxS	11	3.45± 0.60	3.00± 0.43	3.01± 0.42	3.25± 0.51
Sf	11	2.92± 0.32	2.62± 0.38	2.78± 0.39	2.89± 0.44
SfS	11	3.50± 0.32	2.99± 0.32	3.00±0.36	3.28± 0.33

Çizelge 3.1.3. Çalışma gruplarında tüm ağız Pİ ortalamaları ve standart sapmaları

	n	0 Ort±Ss	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	2.27±0.40	1.35±0.42	1.36±0.32	1.57±0.35
ChxS	11	2.42± 0.29	1.12± 0.38	1.37±0.40	1.79±0.38
Sf	11	1.93±0.14	1.04± 0.06	1.19±0.16	1.43±0.16
SfS	11	2.17± 0.17	1.15± 0.07	1.21±0.10	1.48±0.14

Çizelge 3.1.4. Çalışma gruplarında tüm ağız Gİ ortalamaları ve standart sapmaları

	n	0 Ort±Ss	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	2.10±0.49	1.36±0.44	1.34±0.31	1.48±0.39
ChxS	11	2.42±0.29	1.18±0.35	1.39±0.38	1.80±0.37
Sf	11	1.75±0.19	0.99±0.11	1.16±0.19	1.31±0.19
SfS	11	2.05±0.21	1.12±0.08	1.18±0.11	1.33±0.14

Çizelge 3.1.5. Çalışma gruplarında tüm ağız sondlamada kanama yüzdesi (%) ve standart sapmaları

	n	0 Ort±Ss (%)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	77 ± 21	32 ± 38	33 ± 31	44 ± 30
ChxS	11	95 ± 8	25 ± 28	40 ± 33	68 ± 25
Sf	11	51 ± 11	12 ± 14	23 ± 19	34 ± 14
SfS	11	86 ± 11	13 ± 8	18 ± 11	34 ± 13

3.2. Örnekleme alanındaki mikroorganizmaların sayısal değerleri

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki örneklerdeki ortanca (median), minimum (min) ve maksimum (mak) *Aa*, *Pg* ve *Pi* sayıları Çizelge 3.2.1’de verilmiştir.

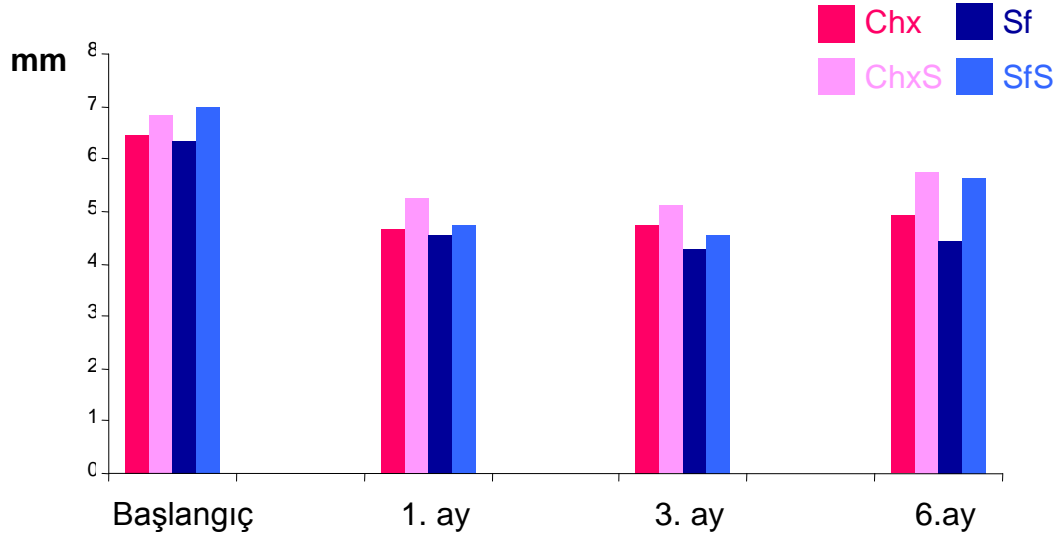
Çizelge 3.2.1. Çalışma gruplarında tüm örnekleme zamanlarında *Aa*, *Pg*, *Pi* sayıları

GRUP	MO	0 Median(x10 ⁴) (Min-Mak)(x10 ⁴)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	<i>Aa</i>	190.0 (2.8-4400.0)	5.4 (0.12-5000.0)	10.0 (0.61-200.0)	91.0 (5.2-7000.0)
	<i>Pg</i>	71.0 (1.5-1800.0)	2.2 (0-150.0)	2.5 (0.52-35.0)	58.0 (0.045-10000.0)
	<i>Pi</i>	39.0 (0.15-110000.0)	2.2 (0-2000.0)	1.4 (0.0018-520000.0)	2.0 (0.0012-4400.0)
ChxS	<i>Aa</i>	29.0 (0.44-2200.0)	2.8 (0.11-1300.0)	1.8 (0.16-2200.0)	180.0 (0.95-7200.0)
	<i>Pg</i>	2200.0 (0.015-41000.0)	1.8 (0.41-910.0)	4.8 (0.018-25.0)	180.0 (0.15-53000.0)
	<i>Pi</i>	180.0 (1.5-81000.0)	23.0 (0.19-2000.0)	18.0 (0.019-52000.0)	1800.0 (0.99-520000.0)
Sf	<i>Aa</i>	15.0 (0.19-7900.0)	0.23 (0.12-1300.0)	2.2 (0.19-190.0)	17.0 (0.15-2500.0)
	<i>Pg</i>	22.0 (0.82-22000.0)	1.1 (0.087-72.0)	13.0 (0.12-44.0)	35.0 (0.54-22000.0)
	<i>Pi</i>	4100.0 (0.19-41000.0)	120.0 (0-10000.0)	220.0 (0.15-23000.0)	4500.0 (0.15-61000.0)
SfS	<i>Aa</i>	45.0 (0.41-2100.0)	1.1 (0-1300.0)	1.3 (0-2200.0)	41.0 (0.82-3300.0)
	<i>Pg</i>	18.0 (0.026-78000.0)	0.23 (0-91.0)	2.8 (0-11000.0)	29.0 (0.012-24000.0)
	<i>Pi</i>	2200.0 (180.0-81000.0)	41.0 (1.1-450.0)	110.0 (1.4-1.50000.0)	510.0 (0.18-5100.0)

3.3. Örnek alınan dişle ilgili klinik bulgular

3.3.1. Sondlama Cep derinliği

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki cep derinlikleri ortalamaları Çizelge 3.3.1.1 ve 3.3.1.2’de ve Grafik.3.3.1’inde verilmiştir. Grup-İçi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç SCD değerlerinin anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği ($p<0.05$), ancak ChxS ve SfS gruplarında Chx ve Sf gruplarından farklı olarak 3. aya göre 6. ayda anlamlı SCD artışı olduğu saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.3.1.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında SCD ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge3.2.1.2).



Grafik 3.3.1 Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince milimetrik olarak sondlama cep derinlikleri

Çizelge 3.3.1.1 Sondlama cep derinliğinin tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri (Ki-kare, Friedman)

	Chx Ort±Ss (mm)	ChxS	Sf	SfS
	n:11	n:11	n:11	n:11
0	6.45±0.69(b)	6.82±0.98(c)	6.36±0.67(b)	7.00±1.00(c)
1.ay	4.64±0.92(a)	5.27±0.91(a,b)	4.55±1.13(a)	4.73±1.01(a)
3.ay	4.73±1.35(a)	5.09±1.04(a)	4.27±1.19(a)	4.55±0.93(a)
6.ay	4.91±1.64(a)	5.73±1.01(b)	4.45±1.44(a)	5.64±0.92(b)
p-değeri	0.001	<0.001	<0.001	<0.001

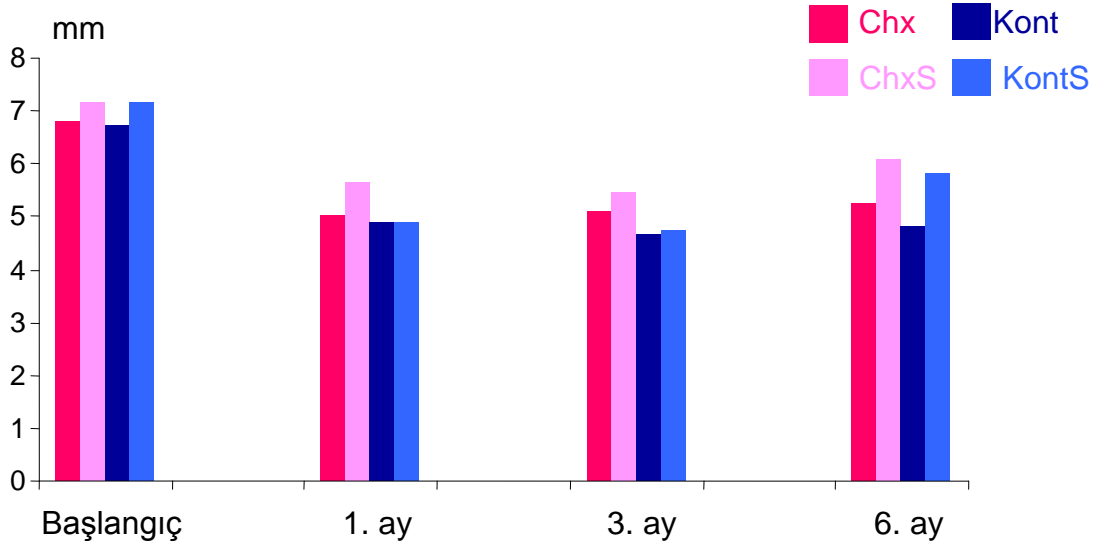
*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.3.1.2 Sondlama cep derinliğinin tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss (mm)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	6.45±0.69	4.64±0.92	4.73±1.35	4.91±1.64
ChxS	11	6.82±0.98	5.27±0.91	5.09±1.04	5.73±1.01
Sf	11	6.36±0.67	4.55±1.13	4.27±1.19	4.45±1.44
SfS	11	7.00±1.00	4.73±1.01	4.55±0.93	5.64±0.92
p-değeri		0.267	0.219	0.504	0.111

3.3.2. Klinik Ataşman Seviyesi

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki klinik ataşman seviyesi ortalamaları Çizelge 3.3.2.1 ve 3.3.2.2’de ve Grafik 3.3.2’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç KAS değerlerinin anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği görüldü ($p<0.05$). Ancak ChxS ve SfS gruplarında Chx ve Sf gruplarından farklı olarak 3. aya göre 6. ayda klinik ataşman seviyelerinde anlamlı artış olduğu saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.3.2.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında KAS ölçümleri açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.3.2.2).



Grafik 3.3.2 Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince milimetrik olarak klinik ataşman seviyeleri

Çizelge 3.3.2.1 Klinik ataşman seviyelerinin tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri (Ort±Ss (mm) (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss (mm)	ChxS	Sf	SfS
n	11	11	11	11
0	6.82±0.75(b)	7.18±0.87(c)	6.73±0.90(b)	7.18±0.87(c)
1.ay	5.00±0.89(a)	5.64±0.92(a,b)	4.91±1.38(a)	4.91±0.94(a)
3.ay	5.09±1.38(a)	5.46±0.93(a)	4.64±1.50(a)	4.73±0.79(a)
6.ay	5.27±1.56(a)	6.09±1.14(b)	4.82±1.60(a)	5.82±0.87(b)
p-değeri	0.001	<0.001	<0.001	<0.001

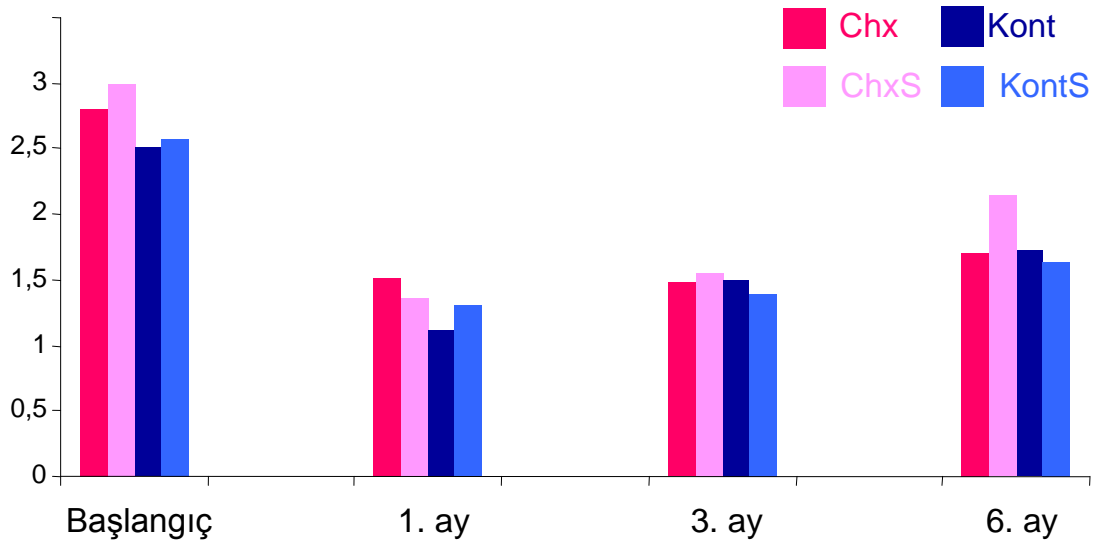
*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.3.2.2 Klinik ataşman seviyelerinin tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss (mm)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	6.82±0.75	5.00±0.89	5.09±1.38	5.27±1.56
ChxS	11	7.18±0.87	5.64±0.92	5.46±0.93	6.09±1.14
Sf	11	6.73±0.90	4.91±1.38	4.64±1.50	4.82±1.60
SfS	11	7.18±0.87	4.91±0.94	4.73±0.79	5.82±0.87
p-değeri		0.471	0.243	0.292	0.197

3.3.3 Plak İndeksi Skorları

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki plak indeksi skorları Çizelge 3.3.3.1 ve 3.3.3.2’de ve Grafik.3.3.3’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç plak indeksi skorlarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği ($p<0.05$), ancak tüm gruplarda 3. aya göre 6. ayda Pİ skorlarında anlamlı artış olduğu saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.3.2.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tedavi sonrası 6. ayda Pİ skorları açısından anlamlı farklılık varken ($p<0.05$) 1. ve 3. ayda fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.3.2.2).



Grafik 3.3.3 Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince plak indeksi skorları

Çizelge 3.3.3.1 Plak indeksi skorlarının tüm örnekleme zamanlarında grup içi değişimleri (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss	ChxS	Sf	SfS
n	11	11	11	11
0	2.80±0.29(c)	3.00±0.00(d)	2.50±0.37(d)	2.57±0.43(d)
1.ay	1.52±0.51(a,b)	1.36±0.30(a)	1.11±0.13(a)	1.30±0.27(a)
3.ay	1.48±0.38(a)	1.55±0.40(b)	1.50±0.22(b)	1.39±0.28(b)
6.ay	1.71±0.25(b)	2.14±0.39(c)	1.73±0.28(c)	1.64±0.30(c)
p-değeri	0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

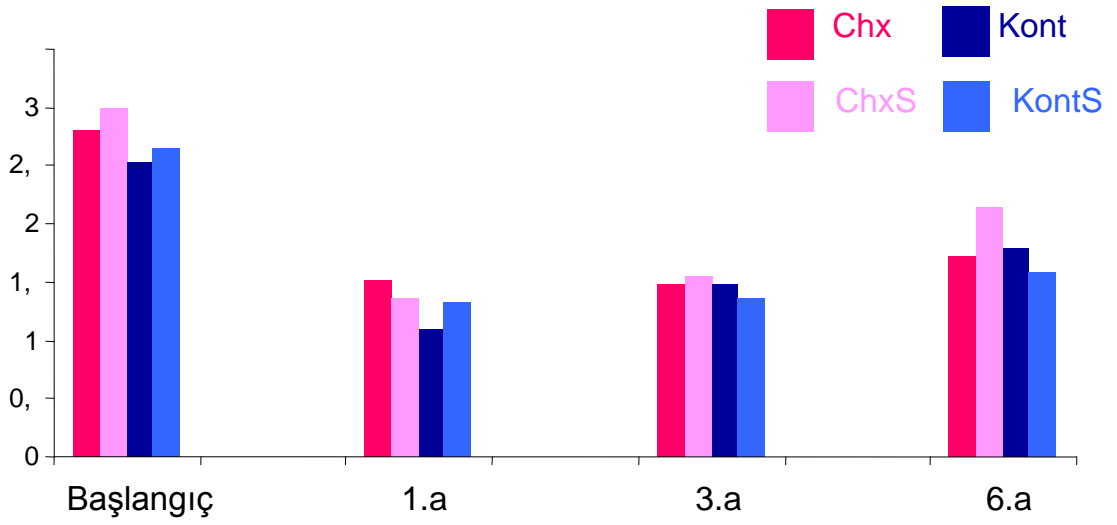
Çizelge 3.3.3.2 Plak indeksi skorlarının tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	2.80±0.29(c)	1.52±0.51	1.48±0.38	1.71±0.25(a,b)
ChxS	11	3.00±0.00(d)	1.36±0.30	1.55±0.40	2.14±0.39(c)
Sf	11	2.50±0.37(a)	1.11±0.13	1.50±0.22	1.73±0.28(a)
SfS	11	2.57±0.43(b)	1.30±0.27	1.39±0.28	1.64±0.30(b)
p-değeri		0.004	0.116	0.720	0.012

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

3.3.4 Gingival İndeks

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki gingival indeks skorları Çizelge.3.3.4.1 ve 3.3.4.2’de ve Grafik.3.3.4’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç Gİ skorlarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın çalışma süresince devam ettiği ($p<0.05$), ancak bütün gruplarda 6. ayda 3. aya göre anlamlı artış olduğu saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.3.4.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tedavi sonrası 6. ayda Gİ skorları açısından anlamlı farklılık varken ($p<0.05$) 1. ve 3. ayda fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 3.3.4.2).



Grafik 3.3.4 Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince gingival indeksi skorları

Çizelge 3.3.4.1 Gingival indeks skorlarının tüm örnekleme zamanlarında gruplar içi değişimleri (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss	ChxS	Sf	SfS
	n:11	n:11	n:11	n:11
0	2.80±0.27(b)	3.00±0.00(d)	2.52±0.38(d)	2.64±0.44(c)
1.ay	1.52±0.51(a)	1.36±0.32(a)	1.09±0.13(a)	1.32±0.34(a)
3.ay	1.48±0.36(a)	1.55±0.40(b)	1.48±0.26(b)	1.36±0.26(a)
6.ay	1.73±0.24(c)	2.14±0.39(c)	1.80±0.33(c)	1.59±0.26(b)
p-değeri	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.3.4.2 Gingival indeks skorlarının tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası karşılaştırılması (Ki-kare Kruskal Wallis)

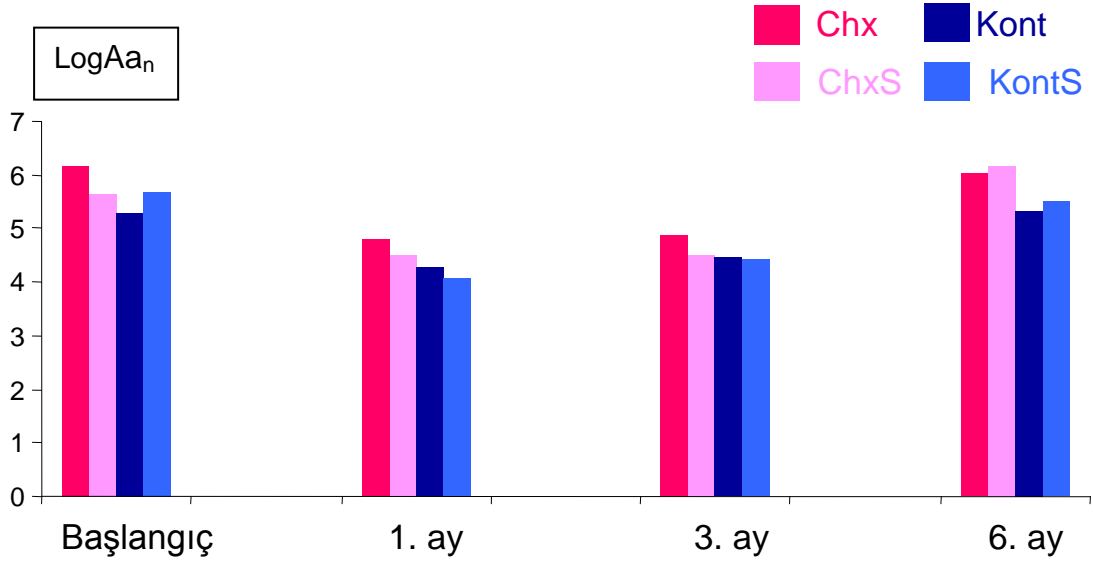
	n	0 Ort±Ss	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	2.80±0.27(c)	1.52±0.51	1.48±0.36	1.73±0.24(b)
ChxS	11	3.00±0.00(d)	1.36±0.32	1.55±0.40	2.14±0.39(d)
Sf	11	2.52±0.38(a)	1.09±0.13	1.48±0.26	1.80±0.33(c)
SfS	11	2.64±0.44(b)	1.32±0.34	1.36±0.26	1.59±0.26(a)
p-değeri		0.008	0.062	0.635	0.005

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

3.4. Mikrobiyolojik Bulgular

3.4.1. Aa profili

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki örneklerdeki Aa sayısının Log10 tabanındaki () verileri Çizelge 3.4.1.1 ve 3.4.1.2’de ve Grafik 3.4.1’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç Aa miktarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın 1. ve 3. ayda devam ettiği ($p<0.05$), ancak 6. ayda Chx, Sf ve SfS gruplarında Aa miktarının başlangıçtaki değerlere döndüğü ($p>0.05$), ChxS grubunda ise başlangıca göre daha da arttığı saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.4.1.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında Aa miktarı açısından anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Çizelge 3.4.1.2).



Grafik 3.4.1 Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince Aa miktarının (LogAa_n) değişimi

Çizelge 3.4.1.1 Subgingival plak örneklerinde Aa sayılarının (LogAa_n) tüm örnekleme zamanlarında grup-içi değişimlerinin varyans analiz sonuçları (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss	ChxS	Sf	SfS
n	11	11	11	11
0	6.15 ± 1.11(b)	5.65 ± 1.47(b)	5.30 ± 1.68(b)	5.67 ± 1.33(b)
1.ay	4.82 ± 1.29(a)	4.49 ± 1.35(a)	4.27 ± 1.48(a)	4.09 ± 1.93(a)
3.ay	4.86 ± 0.73(a)	4.48 ± 1.14(a)	4.47 ± 0.96(a)	4.44 ± 1.99(a)
6.ay	6.02 ± 0.86(b)	6.16 ± 1.42(c)	5.32 ± 1.46(b)	5.50 ± 1.37(b)
p-değeri	0.001	<0.001	0.01	<0.001

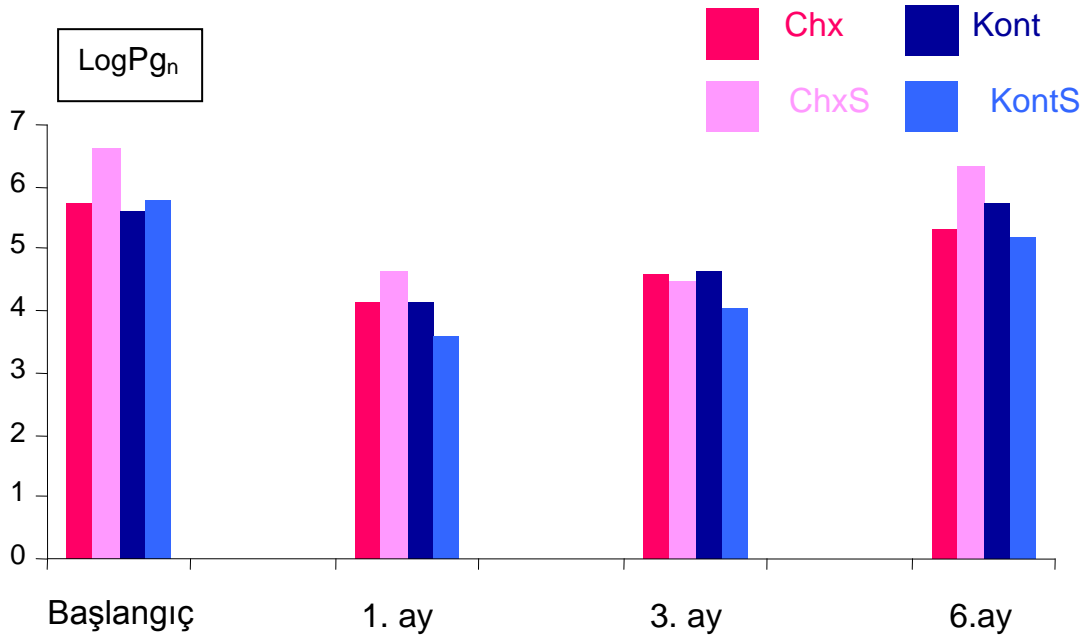
*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.4.1.2 Subgingival plak örneklerinde Aa sayılarının (LogAa_n) tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası varyans analiz sonuçları (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss(Log10)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	6.15 ± 1.11	4.82 ± 1.29	4.86 ± 0.73	6.02 ± 0.86
ChxS	11	5.65 ± 1.47	4.49 ± 1.35	4.48 ± 1.14	6.16 ± 1.42
Sf	11	5.30 ± 1.68	4.27 ± 1.48	4.47 ± 0.96	5.32 ± 1.46
SfS	11	5.67 ± 1.33	4.09 ± 1.93	4.44 ± 1.99	5.50 ± 1.37
p-değeri		0.499	0.631	0.630	0.461

3.4.1. *Pg* profili

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki örneklerdeki *Pg* sayısının Log10 tabanındaki () verileri Çizelge 3.4.2.1 ve 3.4.2.2’de ve Grafik.3.4.1’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç *Pg* miktarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın 1. ve 3. ayda devam ettiği, ancak 6. ayda tüm gruplarda *Pg* miktarının başlangıçtaki değerlere döndüğü saptandı ($p < 0.05$) (Çizelge 3.4.2.1). Çalışma grupları arasında başlangıçta ve tüm örnekleme zamanlarında *Pg* miktarı açısından anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$) (Çizelge 3.4.2.2).



Grafik 3.4.2. Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince *Pg* miktarının (LogPg_n) değişimi

Çizelge 3.4.2. Subgingival plak örneklerinde Pg sayılarının (LogPg_n) tüm örnekleme zamanlarında grup-içi değişimlerinin varyans analiz sonuçları (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss(Log10)	ChxS	Sf	SfS
n	11	11	11	11
0	5.74± 0.79(b)	6.61± 1.82(b)	5.61± 1.55(b)	5.79± 2.52(b)
1.ay	4.14± 1.60(a)	4.62± 0.86(a)	4.15± 1.16(a)	3.58± 2.19(a)
3.ay	4.59± 0.65(a)	4.47± 0.90(a)	4.64± 0.98(a)	4.04± 2.62(a)
6.ay	5.30± 1.46(b)	6.31± 1.56(b)	5.75± 1.42(b)	5.18± 2.39(b)
p-değeri	<0.001	<0.001	0.001	<0.001

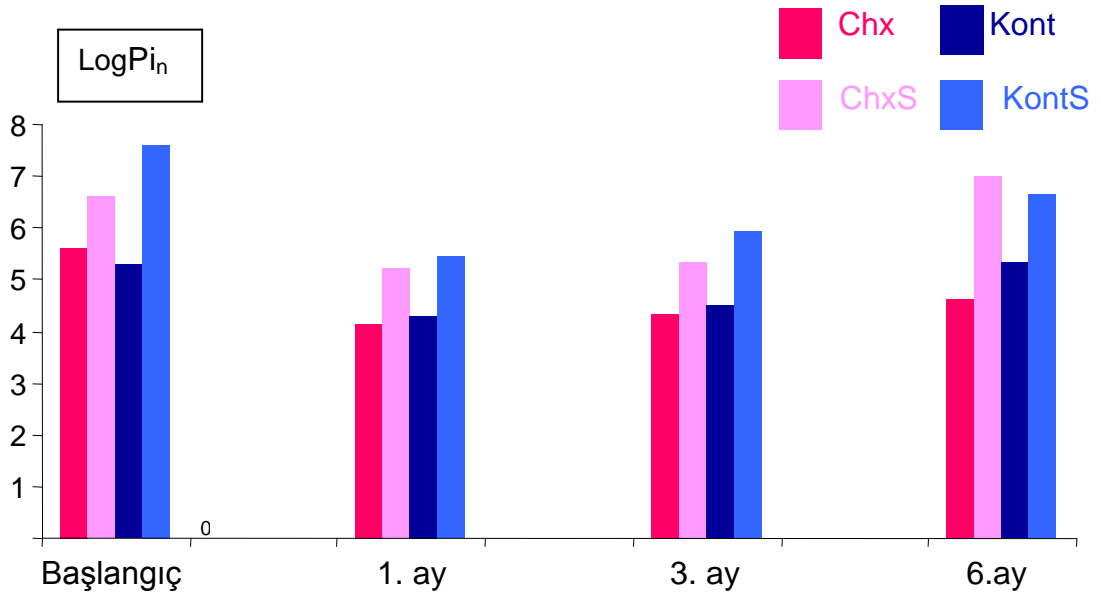
*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.4.2.2 Subgingival plak örneklerinde Pg sayılarının (LogPg_n) tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası varyans analiz sonuçları (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss(Log10)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	5.74± 0.79	4.14± 1.60	4.59± 0.65	5.30± 1.46
ChxS	11	6.61± 1.82	4.62± 0.86	4.47± 0.90	6.31± 1.56
Sf	11	5.61± 1.55	4.15± 1.16	4.64± 0.98	5.75± 1.42
SfS	11	5.79± 2.52	3.58± 2.19	4.04± 2.62	5.18± 2.39
p-değeri		0.427	0.625	0.826	0.503

3.4.3. *Pi* Profili

Tüm gruplarda çalışma alanlarında başlangıç ve tedavi sonrası 1., 3., 6. aylardaki örneklerdeki *Pi* sayısının Log10 tabanındaki (LogPi_n) verileri Çizelge 3.4.3.1 ve 3.4.3.2’de ve Grafik 3.4.3’de verilmiştir. Grup-içi karşılaştırmalarda; tedavi sonrası tüm gruplarda başlangıç *Pi* miktarının anlamlı azalma gösterdiği ve bu azalmanın Chx grubunda çalışma süresince devam ettiği, ancak ChxS, Sf ve SfS gruplarında 6. ayda *Pi* miktarının başlangıçtaki değerlere döndüğü saptandı ($p<0.05$) (Çizelge 3.4.3.1). Gruplar arası karşılaştırmalarda başlangıçta ve 3. ayda Chx ve Sf grupları *Pi* miktarı açısından benzerlik gösterirken diğer gruplar arasında anlamlı bir fark vardı. Tedavi sonrası 6. ayda ise ChxS ve SfS grupları *Pi* miktarı açısından benzerken, diğer gruplar arasındaki farklar anlamlıydı ($p<0.05$) (Çizelge 3.4.3.2).



Grafik 3.4.3. Chx, ChxS, Sf ve SfS gruplarının başlangıç ve tedavi süresince *Pi* miktarının (LogPi_n) değişimi

Çizelge 3.4.3.1. Subgingival plak örneklerinde P_i sayılarının ($\text{Log}P_{i,n}$) tüm örnekleme zamanlarında grup-içi değişimlerinin varyans analiz sonuçları (Ki-kare Friedman)

	Chx Ort±Ss(Log10)	ChxS	Sf	SfS
n	11	11	11	11
0	5.61± 1.53(b)	6.62± 1.53(b)	5.30± 1.68(b)	7.60± 0.82(c)
1.ay	4.14± 2.01(a)	5.23± 1.14(a)	4.28± 1.49(a)	5.45± 0.93(a)
3.ay	4.33± 2.19(a)	5.34± 1.76(a)	4.48± 0.96(a)	5.95± 1.38(b)
6.ay	4.60± 1.63(a)	7.00± 1.74(b)	5.32± 1.46(b)	6.64± 1.22(b,c)
p-değeri	0.016	<0.001	0.010	0.003

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

Çizelge 3.4.3.2 Subgingival plak örneklerinde P_i sayılarının ($\text{Log}P_{i,n}$) tüm örnekleme zamanlarında gruplar arası varyans analiz sonuçları (Ki-kare Kruskal Wallis)

	n	0 Ort±Ss(Log10)	1.ay	3.ay	6.ay
Chx	11	5.61± 1.53(a)	4.14± 2.01	4.33± 2.19(a)	4.60± 1.63(a)
ChxS	11	6.62± 1.53(b)	5.23± 1.14	5.34± 1.76(b)	7.00± 1.74(c)
Sf	11	5.30± 1.68(a)	4.28± 1.49	4.48± 0.96(a)	5.32± 1.46(b)
SfS	11	7.60± 0.82(c)	5.45± 0.93	5.95± 1.38(c)	6.64± 1.22(c)
p-değeri		0.004	0.083	0.025	0.002

*Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı ifade eder.

4. TARTIŞMA

Periodontitis dişleri çevreleyen destek dokuların dental plak mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları lokalize enflamatuvar reaksiyonlarla başlayıp cep oluşumu, dişeti çekilmesi, alveoler kemik kaybı ve diş kaybı ile sonuçlanabilen enfeksiyöz bir hastalıktır (Lindhe ve ark 1978, Slots 1979, Loesche ve ark 1985). Mikrobiyal dental plak varlığı periodontal hastalığın başlamasında ve ilerlemesinde en önemli etiyolojik faktördür (Oosterwaal ve ark 1991a,b, Tezal ve ark 2006, Haake ve ark 2002).

Periodontal hastalığın tedavisi diş yüzeyi temizliği, KYD ve oral hijyen uygulamaları ile periodontopatojenleri azaltmayı veya yok etmeyi hedefler (Vinholis ve ark 2001, Kalaitzakis ve ark 1993, Garrett ve ark 1999). Ancak, periodontal dokulara penetre olmuş veya ulaşılamayan kök yüzeylerine yerleşmiş mikroorganizmaların varlığı, bireyin periodontal hastalığa yatkın olması konvansiyonel mekanik tedaviye rağmen doku yıkımının devam etmesine yol açabilir. Bu gibi durumlarda derin dokulara penetre olmuş mikroorganizmaları yok etmek, konağın kemik kaybına direncini arttırmak, periodontal cerrahiye duyulan gereksinimi azaltmak veya ortadan kaldırmak için KYD ile birlikte antibiyotik ve kemoterapötik ajanlar cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak kullanılmaktadır (Sindet-Pedersen 1997, Jolkovsky ve Ciancio 2002, Cosyn ve ark 2007a,b, Kalaitzakis ve ark 1993, Tezal ve ark 2006).

Bu bilgilerden yola çıkarak, bu çalışmada kronik periodontitisli hastaların tedavisinde diş yüzeyi temizliği, polisaj ve KYD işlemlerine ek olarak subgingival KJ uygulaması yapılmış ve elde edilen sonuçlar klinik ve mikrobiyolojik açıdan değerlendirilmiştir. Ancak çalışma sonunda mekanik tedaviye ek olarak KJ uygulanmasının gerek klinik parametreler üzerine, gerekse periodontopatojen mikroorganizmaları azaltmak ve/veya yok etmek açısından ek bir fayda sağlamadığı bulunmuştur.

Günümüze kadar cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak listerin, triklosan, çinko, bakır, kalay gibi metal iyonları, povidon iyodin, klorheksidin gibi farklı antiseptikler subgingival irrigasyon yoluyla uygulanmıştır (Rölla ve ark 1997, Sindet-Pedersen 1997, Dural 2002, Ciancio 2003, Santos 2003, Kim ve ark 2005, Riberio ve ark 2006). Bu ajanlardan bazılarının periodontal cebin yumuşak ve/veya

sert doku duvarına yapışarak cep içerisinde adeta bir ilaç rezervuarı oluşturma yeteneği vardır. Uygulama sonrası biyolojik olarak aktif formda olan ilaç tutunduğu yüzeylerden serbest kalırken, DOS'un yıkayıcı etkisi de ilacın konsantrasyonunun giderek azalmasına katkıda bulunur. Sonuçta ilacın periodontal cep ortamından atılma yarı ömrü uzamış olur, bu duruma *substantivite* denir. Substantivite ilk olarak klorheksidin için 1970'lerde tanımlanmıştır. Bu özellik ilacın konsantrasyonu, oral yapılarla solüsyonun temas süresi, pH, ısı gibi parametrelerden etkilenir. Klorheksidin mükemmel plak inhibisyon etkisi büyük ölçüde substantivitesi ile ilişkilidir (Lang ve ark 1997). Bu çalışmada da düşük konsantrasyonlarda güçlü etki oluşturan, yüksek substantivitesi ve mükemmel antiplak özelliği ile ön plana çıkan, sistemik toksisitesi zayıf olan, doku içine iyi etki edebilen bir antiseptik olan klorheksidin tercih edilmiştir (Cosyn ve ark 2007a,b, Lander ve ark 1986, Bozkurt ve ark 2005).

Subgingival alandaki bakteriyel enfeksiyonun kontrolünde subgingival irrigasyon yönteminin yetersizlikleri nedeniyle yakın geçmişte alternatif lokal salınım sistemleri geliştirilmiştir (Jolkovsky ve Ciancio 2002, Vinholis ve ark 2001, Rodrigues ve ark 2007). Cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak tetrasiklin fiberler (Jolkovsky ve Ciancio 2002), doksisisiklin jel (Shaddox ve ark 2007), minosiklin merhem (Cortelli ve ark 2006), metronidazol jel (Leiknes ve ark 2007) klorheksidin çip (Carvalho ve ark 2007) gibi farklı formlarda farklı antimikrobialler kullanılmıştır. Bu değişik formlardaki ajanların ağrı, kaşıntı gibi hasta şikayetlerinin yanı sıra pü oluşumuna neden olması, uygulamasının zor, maliyetinin yüksek olması ve uygun taşıyıcılarının olmaması gibi çeşitli dezavantajları vardır (Cosyn ve ark 2007a,b). Bu çalışmada antimikrobiyal ajan olarak yüksek viskozitesi ile periodontal cep ortamından daha yavaş yıkanan, daha uzun süre kalan ve bakteri ile daha uzun süre temas edebilen %0.12'lik KJ uygulandı (Kalaitzakis ve ark 1993, Oosterwaal ve ark 1991a,b, Vinholis ve ark 2001, Cosyn ve ark 2007a,b). Çalışma sonunda hastalarda uygulanan tedaviye bağlı herhangi bir komplikasyon görülmedi, klorheksidin jel hastalarca iyi tolere edildi, herhangi bir yan etkiye yol açmadı.

Sigara periodontal hastalıklarda bir risk faktörüdür ve periodontitisin patogenezinde rol oynadığı ve iyileşmeyi olumsuz etkilediği bilinmektedir (Bergström 2005, Gomes ve ark 2006, Grossi ve ark 2007). Sigara içen hastalar

içmeyen hastalara göre periodontal tedaviye daha zayıf cevap verdiğiinden (Ah ve ark 1994, Kaldahl ve ark 1996, Grossi ve ark 2007, Shaddox ve Ark 2007), bu çalışmada sigara kullanan ve kullanmayan hastalar ayrı değerlendirildi. Sigara kullanan ve kullanmayan tüm bireylerde, cep derinliği ve klinik ataşman ölçümleri açısından, tedavi sonrası 1. ve 3. ayda düzelme gözlemlendi. Ancak sigara kullanan bireylerde 6. ayda tekrar kötüleşme saptandı. Bazı çalışmalarda sigara içen hastalarda subgingival antimikrobiyal uygulamasının periodontal tedaviye klinik cevabı olumlu etkilediği görüldüyse de (Lowenguth ve ark 1995, Shaddox ve ark 2007), elde edilen veriler, en azından bu çalışmanın sınırları içerisinde, KJ uygulamasının sigaranın periodontal tedavi üzerine olumsuz etkilerini ortadan kaldırmadığını göstermektedir.

Periodontal hastalıkların mikrobiyolojik tanısında bakteri türleri ve bu türlerin sayısının belirlenmesi hedeflenir. Bu hedef doğrultusunda tükrük veya subgingival plak örneği incelenir. Tükrüğün elde edilmesi kolaydır, fakat oral mukoza, supra ve subgingival plak gibi ağzın farklı bölgelerinden mikrobiyal eklentiler taşıdığından mikrobiyolojik tanıda daha spesifik sonuç için subgingival plak örnekleri kullanılır. Subgingival plak örnekleri küret, dişipi, kağıt koni (*paper point*) gibi gereçlerle elde edilebilir (Boutaga ve ark 2007). Bu çalışmada subgingival plak örnekleri küretle alındı. Kornman (1986) küretle örnek alındığında ekosistemin diğer örnekleme yöntemlerinden daha fazla etkilendiğini savunsa da, Loomer (2004) kağıt koni ile örnek alındığında cebin en derin bölgesine ulaşamadığını ve bu yüzden küretle alınan örnekteki total bakteri sayısının daha fazla olduğunu savunmuştur (JervØe-Storm ve ark 2007).

Literatürde bu çalışmaya benzer kurguya sahip, periodontal tedaviye ek olarak antimikrobisallerin uygulandığı ve periodontopatojen mikroorganizmalar üzerine etkinin incelendiği çalışmalarda farklı mikrobiyolojik diagnostik yollar izlenmiştir. Bakteriyel kültür yöntemi (Jolkovsky ve ark 1990, Oosterwaal ve ark 1991a,b, Jorgensen ve ark 2004), karanlık alan mikroskopisi (Lander ve ark 1986, Oosterwaal ve ark 1991a,b, Kalaitzakis ve ark 1993) eskiden en sık tercih edilen yöntemlerdir. Ancak son yıllarda DNA probe teknolojileri ve üstünlükleri gündeme gelmiştir (Sanz ve Newman 2002, Shaddox ve ark 2007). Özellikle Polimeraz Zincir Reaksiyonu (*Polymerase Chain Reaction*) (PCR) sensitivitesi ve spesifitesisi yüksek olduğu için son yıllarda en çok kullanılan mikrobiyolojik yöntem olmuştur

(Gomes ve ark 2006, Sanz ve Newman 2002, Shaddox ve ark 2007). Ayrıca PCR kalitatif ve kantitatif değerlendirme yapılmasına olanak sağlamaktadır (Gomes ve ark 2006). Bu çalışmada da plak örneklerinde *Aa*, *Pg* ve *Pi* miktarları real-time PCR ile tespit edildi.

Klorheksidin jel uygulamasından beklenti klinik parametrelerin yanı sıra subgingival plak florasında hedef periodontopatojenler *Aa*, *Pg* ve *Pi*'nin varlığını mümkünse yok etmesi, en azından belirgin oranda düşürmesi ve düşük seviyede kalmasının sağlanmasıydı. Çalışma sonunda gerek mikrobiyal parametreler, gerekse klinik parametreler açısından beklenti gerçekleşmedi ve uygulama bu çalışmadaki şekliyle cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek bir yarar sağlamadı. Literatür incelendiğinde bu sonucu açıklayabilecek kimi verilere rastlanabilmektedir. Klorheksidine karşı bakteriyel direnç gelişiminin düşük olduğu belirtilmekle beraber (Riberio ve ark 2006, Dural 2002), Grenier ve ark (1995) *Pg*'nin klorheksidini bağlayan, majör komponenti lipopolisakkaritler olan veziküller ortama bıraktığını ve böylece hem kendisini, hem de diğer oral bakterileri klorheksidinden koruyabildiğini belirtmişlerdir. Yine klorheksidininin subgingival alandaki tükrüğe, serum proteinlerine ve kana olan affinitesine bağlı olarak kök yüzeyine zayıf tutunduğunu (Rölla ve ark 1970, Stabholz ve ark 1993, Rabe ve Hillier 2000) ve bu nedenle substantivitesinin düştüğünü gösteren çalışmalar vardır. İn-vitro çalışmalar yüksek konsantrasyonda uygulanan klorheksidin ancak 10 dakika temas süresinden sonra bakterisid etkili olduğunu ve periodontal cebe irrigasyonla uygulanan jelin birkaç dakikada ortadan kaybolduğunu göstermiştir (Caufield 1987, Oosterwaal ve ark 1989, 1991a,b, Kalaitzakis ve ark 1993).

Bu çalışmada KJ KYD işlemini takiben sadece bir kere uygulanmıştır. Benzer kurguya sahip çalışmalarda farklı sayı ve zaman aralıklarında uygulama yapıldığı görülmektedir. Çalışmaların bir kısmında, bu çalışmada olduğu gibi, KJ'nin yalnızca bir kere (Lander ve ark 1986, Ünsal ve ark 1994), bir kısmında bir ay boyunca haftada bir kere (Perinetti ve ark 2004, Vinholis ve ark 2001) bir kısmında iki gün üst üste birer kere (Kalaitzakis ve ark 1993) ve bir kısmında da 10 dakikada 3 kere (Cosyn ve Sabzevar 2005, Oosterwaal ve ark 1991a,b) uygulanmıştır. Periodontal cebe uygulanan jelin farmakokinetiğine yönelik çalışmalarda yarılanma ömrünün sadece 1 dakika olduğu saptanmıştır (Goodson 1989, Oosterwaal ve ark 1990). Subgingival cep ortamında 20µl/saat akış hızında bir saat içinde sıvı içeriğini

40 kez değişmesini sağlayan sabit DOS akışı varlığı göz önünde tutulduğunda jelin viskozitesinin önemsiz kaldığı belirtilmiştir (Binder ve ark 1987). Subgingival ortamda MIC elde edebilmek için, kısa sürede etkili olabilen klorheksidin kullanılsa bile, jel taşıyıcı seçildiğinde tekrarlayan uygulamaların gerekli olduğu, ceplerin subgingival mikroflorayı 100 kat azaltmak için %2'lik klorheksidin ile 10 dakika içinde üç kez irriğe edilmesinin şart olduğu ileri sürülmüştür (Oosterwaal ve ark 1991a,b). Bu bilgiler doğrultusunda jelin de 10 dakikada 3 kere uygulanması gerektiğini, ancak debridmanın periodontal cepteki bakterileri zaten azalttığından mekanik debridman optimum yapıldığında jelin ek faydasının belirlenmesinin imkansızlaştığını savunanlar da olmuştur (Cosyn ve Sabzevar 2005, Oosterwaal ve ark 1991a,b). Nitekim bazı araştırmacılar periodontal cebin mekanik debridmanı ile klinik parametrelerin zaten anlamlı derecede düzeldiğini (Badersten ve ark 1981, 1984, Lindhe & Nyman 1985, Oosterwaal ve ark 1991a,b); ek olarak topikal klorheksidin, kalay florid gibi uygulamaların klinik ve mikrobiyolojik açıdan artı bir etkisi olmadığını belirtmişlerdir (Wennström ve ark 1987, Oosterwaal ve ark 1991a,b, Kalaitzakis ve ark 1993).

Bu çalışmada kontrol grubunda taşıyıcı plasebo jel yerine serum fizyolojik kullanıldı. *Pg*'in bakteri hücre yüzeyinde bulunan bazı moleküllerin serum fizyolojik içinde çözülebildiği ve bu çözünen materyalin *in vitro* biyolojik aktivite gösterdiği ortaya konmuştur (Meghji ve ark 1992). Bu bilgiye dayanarak KYD sonrası periodontal cebin serum fizyolojik ile irriğasyonun klinik parametre ölçümlerini olumsuz etkileyebileceği ileri sürülmüştür (Ünsal ve ark 1994). Ancak bazı çalışmalarda da serum fizyolojik ile irriğasyonun ek bir terapötik etkisinin olabileceği belirtilmiştir (Keyes ve ark 1978). Goodson ve ark (1985) ise lokal uygulanan fiber gibi antimikrobiyal taşıyıcıların kitlesinin mekanik olarak iyileşmenin erken safhalarını kötü etkileyebileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmanın kurgusu içinde kullanılan serum fizyolojinin veya taşıyıcı jelin kendisinin klinik ve mikrobiyolojik sonuçlara olumlu veya olumsuz etkisini saptamak mümkün olmamakla birlikte böyle bir olasılık da göz ardı edilmemelidir.

Periodontal tedavide lokal uygulanan ilacın farmakodinamik potansiyelinin net olarak değerlendirilebilmesi için mekanik debridman yapılmaksızın subgingival alana ilaç monoterapi olarak uygulanmalıdır. Monoterapi uygulamasının kısa dönem iyileşme sonuçlarını etkileyebileceği hipoteziyle yola çıkarak KJ'in etkisini

kültür yöntemi ve karanlık alan mikroskopisi ile inceleyen araştırmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Gram(-) ve hareketli çomakların, spiroketlerin KJ uygulamadan sonra 12. haftaya kadar azalmaya devam ettiğini rapor eden çalışmaların yanında (Wennström ve ark 1987); 12. haftada (Oosterwaal ve ark 1991a,b) hatta KJ uygulanan grupta 4. haftada, plasebo jel uygulanan grupta 1. haftada (Lander ve ark 1986) başlangıç seviyesine döndüğünü gösteren çalışmalar da vardır. Periodontal hastalığın ilerlemesi ve mikroorganizmaların kolaylıkla çoğalması risklerini taşıdığından, lokal ilaç uygulamasının monoterapi olarak cerrahi olmayan periodontal tedavide yeri olmadığı düşünölmektedir (Cosyn ve Sabzevar 2005). Bu çalışmada da ilaç uygulaması cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak uygulandığından, KJ'in elde edilen sonuçlara gerçek katkısını algılamak zordur. Ancak mekanik tedaviden elde edilen klinik ve mikrobiyolojik iyileşmenin boyutunun büyüklüğü içinde maskelenmiş olabileceği de unutulmamalıdır.

Sonuç olarak bu çalışmada kronik periodontitisli hastaların tedavisinde diş yüzeyi temizliği, polisaj ve KYD işlemlerine ek olarak subgingival KJ uygulanmasının, bu çalışmanın sınırları içerisinde, gerek klinik parametreler üzerine, gerekse periodontopatojen mikroorganizmaları azaltmak veya yok etmek açısından ek bir fayda sağlamadığı anlaşılmaktadır. Subgingival alanın mekanik debridmanının periodontopatojenleri azaltmada ve paralel olarak klinik parametreleri düzeltmede çok daha etkili olduğu görölmektedir. Ancak bu çalışmada, çalışma protokolu gereği, KJ mekanik debridmanı takiben sadece bir kere uygulanmıştır. Oysa literatürde farklı uygulamalara rastlanmaktadır (Perinetti ve ark 2004, Vinholis ve ark 2001, Kalaitzakis ve ark 1993, Lander ve ark (1986), Ünsal ve ark 1994, Cosyn ve Sabzevar 2005, Oosterwaal ve ark 1991a,b) ve önerildiği gibi 10 dakikada 3 kere uygulama ile klinik ve mikrobiyolojik açıdan belirgin farklılıklar elde edilebilir. Ancak söz konusu farklı uygulama protokolleri ile de elde edilen klinik ve mikrobiyolojik düzelmelerin de sınırlı süre ile geçerli olduğu unutulmamalı ve destekleyici periodontal tedavi fazına alınan hastalar için yapılacak takip programlarında göz önünde tutulmalıdır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1- Kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedavi klinik parametrelerde düzelmeye ve mikroorganizmaların sayısında azalmaya neden olurken bu etki yaklaşık üç ay sürdü.

2- Cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak uygulanan %0.12'lik subgingival klorheksidin jel hastalar tarafından iyi tolere edildi ve herhangi bir komplikasyona, yan etkiye neden olmadı.

3- Kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak bir kez %0.12'lik subgingival klorheksidin jel uygulanmasının klinik parametreleri düzeltmeye ve bu çalışmada izlenen periodontopatojen mikroorganizmaları (*Aa*, *Pg*, *Pi*) azaltma ve/veya yok etmeye yönelik ek bir faydası saptanamamıştır.

4- Sigara kullanan kronik periodontitisli hastalarda da cerrahi olmayan periodontal tedavi ile birlikte klorheksidin jel uygulaması klinik ve mikrobiyolojik parametreler açısından ek fayda sağlamamıştır.

5- Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında destekleyici periodontal tedavi programına alınan kronik periodontitisli hastalarda subgingival mekanik temizliğin 3 ayda bir tekrarlanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kronik Periodontitis Hastalarında Cerrahi Olmayan Periodontal Tedaviye Ek Olarak Klorheksidin Jel Uygulamasının Klinik ve Mikrobiyolojik Etkileri

Dt. Renan ENDOĞRU

Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU

Periodontoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2009

Bu çalışmanın amacı, kronik periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak klorheksidin jel (KJ) uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik etkilerini araştırmaktır.

Çalışma grubu kronik periodontitis teşhisi konulmuş (35 yaş üstü, 11 kadın ve 33 erkek), sigara kullanan veya kullanmayan, toplam 44 gönüllüden oluşturuldu. Çalışmanın başında sondlama cep derinliği (SCD), klinik ataşman seviyesi (KAS), plak indeksi (PI) ve gingival indeks (GI) skorları kaydedildi. Her bir hastanın en derin periodontal cebinden (SCD \geq 6) subgingival plak örneği alındı. Başlangıç ölçümleri ve subgingival plak örneklemeleri tamamlandıktan sonra çalışmaya dahil edilen bireylere diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirmesi (KYD)'ni içeren cerrahi olmayan periodontal tedavi uygulandı. Çalışmaya katılan bireylerin bir kısmına ek olarak KJ uygulandı. Sonuç olarak KJ uygulama ve sigara kullanımına göre dört ayrı çalışma grubu oluşturuldu; a) sigara içmeyen sadece KYD uygulanan grup (Sf, n:11), b) sigara içen sadece KYD uygulanan grup (SfS, n:11), c) sigara içmeyen KYD+KJ uygulanan grup (Chx, n:11), ve d) sigara içen KYD+KJ uygulanan grup (ChxS, n:11). Tedaviden 1, 3 ve 6 ay sonra klinik ölçümler ve subgingival plak örneklemeleri tekrarlandı. Subgingival plak örnekleri real-time PCR ile incelenerek *Aa*, *Pg* ve *Pi* miktarları belirlendi. Yapılan istatistiksel analizler sonucu tüm gruplarda uygulanan cerrahi olmayan periodontal tedavinin klinik parametrelerde düzelmeye ve mikroorganizmaların sayısında azalmaya neden olduğu görüldü ($p<0.05$). Mekanik tedaviye ek olarak KJ uygulanmasının klinik parametreler üzerine ve periodontopatojen mikroorganizmaları (*Aa*, *Pg*, *Pi*) azaltma ve/veya yok etmeye ek bir fayda sağlamadığı bulundu ($p>0.05$). Fakat tedaviden sonra 6. ayda yine tüm gruplarda klinik parametrelerde kötüleşme ve mikroorganizma sayılarında artış görüldü.

Bu çalışmanın sınırları içerisinde; cerrahi olmayan periodontal tedaviyi takiben ek olarak KJ uygulamasının, sigara kullananlar da dahil, kronik periodontitisli hastalarda periodontal iyileşme üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dental plak, kök yüzeyi düzleştirmesi, klorheksidin, polimeraz zincir reaksiyonu.

7. SUMMARY

Clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal treatment with adjunctive chlorhexidine gel in chronic periodontitis patients

Dt. Renan ENDOĞRU

Prof. Dr. Tamer ATAÖĞLU

The aim of this study was to investigate clinical and microbiological effects of non-surgical periodontal treatment with adjunctive chlorhexidine (Chx) gel in chronic periodontitis patients.

Study population consisted of smoker or non-smoker 44 volunteers (aged ≥ 35 ; 11 females, 33 males) who were diagnosed with chronic periodontitis. At baseline, probing depth (PD), clinical attachment level (CAL), plaque index (PI) and gingival index (GI) were recorded. Subgingival plaque samples were obtained from the deepest pocket ($PD \geq 6$ mm) of all patients. Following baseline measurements and subgingival plaque sampling, non-surgical periodontal treatment including scaling and root planning (SRP) was performed on all participants. Chx gel was adjunctively applied to one-half of the participants. Therefore, study participants were divided into four groups in respect to Chx gel application or smoking status: a) non-smokers treated with SRP+saline irrigation (Saline, n:11), b) smokers treated with SRP+saline irrigation (SalineS, n:11), c) non-smokers treated with SRP+Chx gel (Chx, n:11), and d) smokers treated with SRP+Chx gel (ChxS, n:11). Clinical measurements and subgingival plaque sampling were repeated at 1st, 3rd and 6th month following non-surgical periodontal treatment. The amount of *Aa*, *Pg* and *Pi* in subgingival plaque samples were determined by real-time PCR. Statistical analysis of data revealed that non-surgical periodontal treatment improved clinical parameters and reduced the number of periodontopathogens in all groups ($p < 0.05$). Application of adjunctive Chx gel did not provide any additional benefit both on the clinical and microbiological parameters ($p > 0.05$). At 6th month, aggravation of clinical parameters and increased numbers of periodontopathogens were detected in all groups.

Within the limitations of the present study, it can be concluded that adjunctive use of Chx gel following non-surgical periodontal treatment has no effect on periodontal healing in chronic periodontitis patients, even in smokers.

Key words: Dental plaque, root planning, chlorhexidine, polymerase chain reaction.

8. KAYNAKLAR

- Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL. The effects of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1994;21:91-97.
- Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy: I.Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1981;8:57-72.
- Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of nonsurgical periodontal therapy: II.Severely advanced periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1984; 11:63-67.
- Bascones A, Morante S, Mateos L, Mata M, Poblet J. Influence of additional active ingredients on the effectiveness of non-alcoholic chlorhexidine mouthwashes: A randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2005; 76:1469-1475.
- Bergström J. Tobacco smoking and subgingival dental calculus. *J Clin Periodontol.* 2005; 32:81-88.
- Binder TA, Goodson JM, Socransky SS. Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase. *J Periodontal Res.* 1987;22:14-19.
- Bonita AJ.,Lux L,Lohr KN. Impact of local adjuncts to scaling and root planing in periodontal disease therapy: A systematic review. *J Periodontol.* 2005; 76:1227-1236.
- Boutaga K., Savelkoul PH.M, Winkel E.G., van Winkelhoff J. Comparison of subgingival bacterial sampling with oral lavage for detection and quantification of periodontal pathogens by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol.* 2007;78:79-86.
- Bowen WH. Nature of plaque. *Oral Sci Rev.* 1976; 9:3. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology. Philadelphia: W.B. Saunder; 2002;Pg:97.
- Bozkurt FY, Öztürk M, Yetkin Z. The effects of three oral sprays on plaque and gingival inflammation. *J Periodontol.* 2005; 76:1654-1660.
- Carvalho J, Novak MJ, Mota LF. Evaluation of the effect of subgingival placement of chlorhexidine chips as an adjunct to scaling and root planing. *J Periodontol.* 2007; 78:997-1001.
- Casas A, Herrera D, Martin-Carnes J, Gonzalez I, O'Connor A, Sanz M. Influence of sampling strategy on microbiologic results before and after periodontal treatment. *J Periodontol.* 2007; 78:1103-1112.
- Caton JG, Greenwell H, Mahanonda R, Williams R, Zappa U, Claffey N, Mariotti A, Zackin J. Consensus report: Dental plaque-induced gingival disease. *Ann Periodontol.* 1999; 4:18-19.
- Ciancio S. Improving oral health: Current considerations. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(Suppl. 5):4-6.
- Contreras A, Umeda M. Relationship between Herpesviruses and adult periodontitis and periodontopathic bacteria. *J Periodontol.* 1999; 70:478-484.
- Cortelli JR, Querido SM, Aquino DR, Ricardo LH, Pallos D. Longitudinal clinical evaluation of adjunct minocycline in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006; 77:161-166.
- Cosyn J, Wyn I. A systematic review on the effects of the chlorhexidine chip when used as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2006; 77:257-264.
- Cosyn J, Wyn I, De Rouck T, Sabzevar MM. Subgingival chlorhexidine varnish administration as an adjunct to same-day full-mouth root planing: I.Clinical observations. *J Periodontol.* 2007a; 78:430-437.
- Cosyn J, Wyn I, De Rouck T, Sabzevar MM. Subgingival chlorhexidine varnish administration as an adjunct to same-day full-mouth root planing: II.Microbiological observations. *J Periodontol.* 2007b; 78:438-445.
- Cosyn J, Sabzevar MM. A systematic review on the effects of subgingival chlorhexidine gel administration in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2005; 76:1805-1813.
- Dawson DR, Wang C, Danaher RJ, Lin Y, Kryscio RJ, Jacob RJ, Miller CS. Real-time polymerase chain reaction to determine the prevalence and copy number of Epstein-Barr Virus and Cytomegalovirus DNA in subgingival plaque at individual healthy and periodontal disease sites. *J Periodontol.* 2009; 80:1133-1140.
- Dural EAÖ. Gargaralar, diş macunları ve antiplak ajanlar. *Farmakoloji. Nobel Tıp Kitapevleri;* 2002:691-703.

- Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, Cristina de Figueiredo L. Scaling and root planing and chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: A randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2006; 33:819-828
- Fives-Taylor PM, Thompson DW. Surface properties of *Streptococcus sanguis* FW213 mutants nonadherent to saliva-coated hydroxyapatite. *Infect Immun.* 1985; 47:752, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;98.
- Garrett S., Johnson L., Drisko C.H., Southard G.L. Two multi-center studies evaluating locally delivered doxycycline hyclate, placebo control, oral hygiene, and scaling and root planing in the treatment of periodontitis. *J Periodontol.* 1999; 70:490-503.
- Geisinger ML, Mealey BI, Schoolfield J, Mellonig JT. The effectiveness of subgingival scaling and root planing: An evaluation of therapy with and without the use of the periodontal endoscope. *J Periodontol.* 2007; 78:22-28.
- Genco RJ Host response in periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63:338-355.
- Gomes SC, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R, Marcantonio RAC. Periodontal status in smokers and never-smokers: Clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens. *J Periodontol.* 2006; 77:1483-1490.
- Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hogan P, Dunham S. Monolithic tetracycline containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. *J Periodontol.* 1983; 54:575-579.
- Goodson JM, Offenbacher S., Farr D.H., Hogan P.E. Periodontal disease treatment by local drug delivery. *J Clin Periodontol.* 1985; 12:265-272.
- Goodson JM. Pharmacokinetic principles controlling efficacy of oral therapy. *J Dent Res.* 1989; 68:1625-1632.
- Grenier D, Bertrand J, Mayrand D. Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles promote bacterial resistance to chlorhexidine. *Oral Microbiol Immunol.* 1995; 10:319-320.
- Haake SK, Nisengard RJ, Newman MG, Miyasaki KT. Microbial interactions with the host in periodontal disease. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002;132-152
- Hamada N, Watanabe K, Tahara T, Nakazawa K, Ishida I, Shibata Y, Kobayashi T, Yoshie H, Ağabeyko Y, Umemoto T. The r40-kda outer membrane protein human monoclonal antibody protects against Porphyromonas gingivalis-induced bone loss in rats. *J Periodontol.* 2007; 78:933-939.
- Holt SC & Ebersole JL. Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola and Tannerella forsythia: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *J Periodontol* 2000. 2005; 38:72-122.
- Imbroni AV, Okuda OS, Freitas NMD, Lotufo RFM, Nunes FD. Detection of Herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. *J Periodontol.* 2008; 79:2313-2321.
- Jervøe-Storm PM, AlAhdab H, Koltzsch M, Fimmers R, Jepsen S. Comparison of curet and paper point sampling of subgingival bacteria as analyzed by real-time polymerase chain reaction. *J Periodontol.* 2007; 78:909-917.
- Jolkovsky DL, Ciancio SG. Chemotherapeutic agents in the treatment of periodontal disease, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;677-687.
- Jolkovsky DL, Waki MY, Newman MG, Otomo-Congel J, Madison M, Flemming TF, Nachnani S, Nowzari H. Clinical and microbiological effects of subgingival and gingival marginal irrigation with chlorhexidine gluconate. *J Periodontol.* 1990; 61:663-669.
- Jorgensen MG, Safarian A, Daneshmand N, Keim RJ, Slots J. Initial antimicrobial effect of controlled-released doxycycline in subgingival sites. *J Periodontol Res.* 2004; 39:315-319.
- Kalaitzakis C, Tynelius-Bratthall G, Attström R. Clinical and microbiological effects of subgingival application of chlorhexidine gel in chronic periodontitis. *Swed Dent J.* 1993; 17:129-137.
- Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD, Kalkwalf KL. Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol.* 1996; 67:675-681.

- Keyes PH, Wright WE, Howard SA. The use of phase-contrast microscopy and chemotherapy in diagnosis and treatment of periodontal lesions-an initial report. *Quintessence Int.* 1978; 9:51-56.
- Kim YJ, Rossa Jr C, Kirkwood KL. Prostaglandin production by human gingival fibroblasts inhibited by triclosan in the presence of cetylpyridinium chloride. *J Periodontol.* 2005; 76:1735-1742.
- Knöfler GU, Purschwitz RE, Jentsch HFR. Clinical evaluation of partial- and full-mouth scaling in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78:2135-2142.
- Kolenbrander PE, Andersen RN. Inhibition of coaggregation between *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis* by lactose and related sugars. *Infect Immun.* 1989; 57:3204. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002;Pg:100.
- Kolenbrander PE, Parrish KP, Andersen RN. Intergeneric coaggregation of oral *Treponema* spp. with *Fusobacterium* spp. and intrageneric coaggregation among *Fusobacterium* spp. *Infect Immun.* 1995; 63:4584. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002;Pg:100.
- Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: Oral bacterial adherence. *J Bacteriol.* 1993;175:3247. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002;Pg:97.
- Kornman KS. Reaction: Sampling of micro-organisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 1986;1:15-20.
- Lander PE, Newcomb GM, Seymour GJ, Powell RN. The antimicrobial and clinical effects of a single subgingival irrigation of chlorhexidine in advanced periodontal lesions. *J Clin Periodontol.* 1986; 13:74-80.
- Lang NP, Mombelli A, Tonetti MS, Brägger U, Hämmerle CHF. Clinical trials on therapies for peri-implant infections. *Ann Periodontol.* 1997; 2:343-356.
- Leiknes T, Leknes KN, Bøe OE, Skavland RJ, Lie T. Topical use of a metronidazole gel in the treatment of sites with symptoms of recurring chronic inflammation. *J Periodontol.* 2007; 78:1538-1544.
- Lindhe J, Ericsson I. Effect of ligature placement and dental plaque on periodontal tissue breakdown in the dog. *J Periodontol.* 1978; 49:343-350.
- Lindhe J. & Nyman S. Scaling and granulation tissue removal in periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1985; 12:374-388.
- Ling LJ, Ho CC, Wu CY, Chen YT. Association between human Herpesviruses and the severity of periodontitis. *J Periodontol.* 2004; 75:1479-1485.
- Loesche WJ, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol.* 1985; 56:447-456.
- Loomer PM. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2004; 34:49-65.
- Lowenguth RA, Chin I, Caton JG. Evaluation of periodontal treatments using controlled-release tetracycline fibers: Microbiological response. *J Periodontol.* 1995; 66:700-707.
- Machion L, Andia DC, Sallum FA. Microbiological changes with the use of locally delivered doxycycline in the periodontal treatment of smokers. *J Periodontol.* 2004; 75:1600-1604.
- Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Hill R, Wang H. Clinical response of azithromycin as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in smokers. *J Periodontol.* 2005; 76:426-436.
- Meghji S, Wilson M, Henderson B. Anti-proliferative and cytotoxic activity of surface-associated material from periodontopathic bacteria. *Arch Oral Biol.* 1992; 37:637-644.
- Mızrak T, Güncü GN, Çağlayan F, Balcı TA, Samancı Aktar G, İpek F. Effect of a controlled-release chlorhexidine chip on clinical and microbiological parameters and prostaglandin E2 levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontol.* 2006; 77:437-443.
- Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, Takehara T. Site-specific development of periodontal disease of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol.* 2008; 79:670-676.

- Miyasaki KT, Nisengard RJ, Haake SK. Immunity and inflammation: Basic Concepts. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*. Philadelphia: W.B. Saunders; 2002;Pg:113-131.
- Nares S. The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2003; 32:36-49.
- Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2004; 36:14-26.
- Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol*. 2005; 76:1542-1549.
- Nozaki T, Kusumoto Y, Kitamura M, Hirano H, Okada H. A sensitive method for detecting *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction and its possible clinical application. *J Periodontol*. 2001; 72:1228-1235.
- Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: An overview of periodontal risk factors. *Periodontol 2000*. 2003; 32:11-23.
- Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. *Ann Periodontol*. 1996; 1:821-878.
- Oosterwaal PJM, Mikx FHM, van den Brink ME, Renggli HH. Bactericidal concentrations of chlorhexidine-digluconate, amine fluoride gel and stannous fluoride gel for subgingival bacteria tested in serum at short contact times. *J Periodontol Res*. 1989; 24:155-160.
- Oosterwaal PJM, Mikx FHM, Renggli HH. Clearance of topically applied fluorescein gel from periodontal pockets. *J Clin Periodontol*. 1990; 17:613-615.
- Oosterwaal PJM, Mikx FHM, Hof MA, Renggli HH. Short-term bactericidal activity of chlorhexidine gel, stannous fluoride gel and amine fluoride gel tested in periodontal pockets. *J Clin Periodontol*. 1991a; 18:97-100.
- Oosterwaal PJM, Mikx FHM, Hof MA, Renggli HH. Comparison of the antimicrobial effect of the application of chlorhexidine gel, amine fluoride gel and stannous fluoride gel in debrided periodontal pockets. *J Clin Periodontol*. 1991b; 18:245-251.
- Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease, *J Periodontol Res*. 1991; 26:230-242.
- Pattison GL, Pattison AM. Scaling and root planing, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;631-645.
- Pawlowski AP, Chen A, Hacker BM, Mancl LA, Page RC, Roberts FA. Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. *J Clin Periodontol*. 2005; 32:21-28.
- Perinetti G, Paolantonio M, Cordella C, D'Ercole S, Serra E, Piccolomini R. Clinical and microbiological effects of subgingival administration of two active gels on persistent pockets of chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2004;31:273-281.
- Perry DA. Plaque Control for the Periodontal Patient, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;651-676.
- Perry DA, Schmid MO. Phase I periodontal therapy, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. *Clinical Periodontology*, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;646-650.
- Rabe LK, Hillier SL. Effect of chlorhexidine on genital microflora, *Neisseria gonorrhoeae* and *Trichomonas vaginalis* in vitro. *Sex Transm Dis*. 2000; 27:74-78.
- Reddy MS, Jeffcoat MK, Geurs NC, Palcanis KG, Weatherford TW, Traxler BM, Finkelman RD. Efficacy of controlled-release subgingival chlorhexidine to enhance periodontal regeneration. *J Periodontol*. 2003; 74:411-419.
- Riberio EDP, Bittencourt S, Ambrosano GMB, Nojiti Jr FH, Sallum EA, Sallum AW, Casati MZ. Povidone-iodine used as an adjunct to non-surgical treatment of furcation involvements. *J Periodontol*. 2006; 77:211-217.
- Rodrigues IFG, Machion L, Casati MZ, Nociti Sergio de Toledo FH, Sallum AW, Sallum EA. Clinical evaluation of the use of locally delivered chlorhexidine in periodontal maintenance therapy. *J Periodontol*. 2007; 78:624-628.

- Rölla G, Kjaerheim V, Waaler SM. The role of antiseptics in primary prevention, In: Lang N, Karring T, Lindhe J, Eds. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology. Berlin: Quintessenz Verlag, 1997;120-130.
- Rölla G, Løe H, Rindom Schiott C. The affinity of chlorhexidine for hydroxyapatite and salivary mucins. *J Periodontol Res.* 1970;5:90-95.
- Rölla G, Ogaard B, Cruz RA. Topical application of flourides on teeth: New concepts of mechanisms of interaction. *J Clin Periodontol.* 1993; 20:105, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;98.
- Russel AL. Epidemiology of periodontal disease. *Int Dent J.* 1967; 17:282, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;104.
- Santos A. Evidence-based control of plaque and gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(suppl. 5):13-16.
- Sanz M, Newman MG. Advanced diagnostic techniques, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;487-502.
- Saygun I, Şahin S, Özdemir A, Kurtiş B, Yapar M, Kubar A, Özcan G. Detection of human viruses in patients with chronic periodontitis and the relationship between viruses and clinical parameters. *J Periodontol.* 2002; 73:1437-1443.
- Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol.* 1991; 18:421-426.
- Shaddox LM, Andia DC, Casati MZ, NocitiEnilson FH, Sallum A, Gollwitzer J, Walker CB. Microbiologic changes following administration of locally delivered doxycycline in smokers: A 15-month follow-up. *J Periodontol.* 2007; 78:2143-2149.
- Silver LL, Bostian KA. Discovery and development of new antibiotics, the problem of antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37:377-383.
- Sindet-Pedersen S. The prophylactic use of antibiotics in periodontics. In: Lang N, Karring T, Lindhe J eds. Proceedings of the 2nd European Workshop on Periodontology, Berlin: Quintessenz Verlag, 1997;120-130.
- Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1979; 6:351-382.
- Slots J, Rams TE. Microbiology of periodontal disease, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;105-108.
- Slots J, Ting M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2002; 28:106-112.
- Slot J. Position Paper Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol.* 2004; 75:1553-1565.
- Socransky SS, Haffeejee AD. Microbiol mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal disease: A critical assessment. *J Periodontol Res* 1991;26:195, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;133.
- Socransky SS, Haffeejee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63:322, In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, eds. Clinical Periodontology, ninth edition. Philadelphia: W.B.Saunders, 2002;105-108.
- Stabholz A, Kettering J, Aprecio R, Zimmerman G, Baker PJ, Wikesjö UME. Retention of antimicrobial activity by human root surfaces after in situ subgingival irrigation with tetracycline HCl or chlorhexidine. *J Periodontol.* 1993; 64:137-141.
- Stoeken JE, Versteeg PA, Rosema NAM, Timmerman MF, Van der Velden U, Van der Weijden GA. Inhibition of “de novo” plaque formation with 0.12% chlorhexidine spray compared to 0.2% spray and 0.2% chlorhexidine mouthwash. *J Periodontol.* 2007; 78:899-904.
- Tabanella G, Nowzari H. Cytomegalovirus-associated periodontitis and Guillain-Barré syndrome. *J Periodontol.* 2005; 76:2306-2311.
- Takamatsu N, Yano K, He T, Umeda M, Ishikawa I. Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteriodes forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol.* 1999; 70:574-580.

- Tanaka S, Murakami Y, Ogiwara T, Fujisawa S. Frequency of reactivity for Porphyromonas gingivalis and Prevotella spp. in supra and subgingival plaques, and periodontal clinical parameters according to subject age. *J Periodontol.* 2002; 73:877-885.
- Tezal M, Scannapieco FA, Wactawski-Wende J, Grossi SG, Genco RJ. Supragingival plaque may modify the effects of subgingival bacteria on attachment loss. *J Periodontol.* 2006; 77:808-813.
- Umeda M, Takeuchi Y, Noguchi K, Yi Huang, Koshy G, Ishikawa I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. *Periodontol 2000.* 2004; 36:98-120.
- Ünsal E, Akkaya M, Walsh TF. Influence of a single application of subgingival chlorhexidine gel or tetracycline paste on the clinical parameters of adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1994; 21:351-355.
- Vinholis A, Figueiredo L, Junior E, Marcantonio R, Salvador S, Goissis G. Subgingival utilization of a 1% chlorhexidine collagen gel for the treatment of periodontal pockets: A clinical and microbiological study. *Braz Dent J.* 2001; 12(3):209-213.
- Walter C, Weiger R. Antibiotics as the only therapy of untreated chronic periodontitis: A critical commentary. *J Clin Periodontol.* 2006; 33:938-939
- Wennström JL, Dahlen G, Gröndahl K, Heijl L. Periodic gingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets II. *J Clin Periodontol.* 1987; 14:573-580.
- Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2000; 27:722-732.
- Xu Yi, Höfling K, Fimmers R, Frentzen M, JervØe-Storm PM. Clinical and microbiological effects of topical subgingival application of hyaluronic acid gel adjunctive to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2004; 75:1114-1118.

9.ÖZGEÇMİŞ

28.05.1980'de Diyarbakır'da doğdu. İlk öğrenimini Özel Gündoğdu İlkokulu, orta ve lise öğrenimini Meram Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 1998 yılında girdiği Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden 2003 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Halen aynı Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi ve araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.