

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KRONİK PERİODONTİTİSLİ HASTALARDA ANAEROB
BAKTERİYEL ETKENLERİN MOLEKÜLER YÖNTEMLER
KULLANILARAK BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Gül ARICA

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Yasemin BULUT

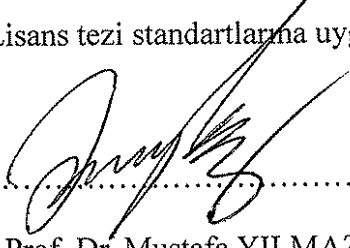
ELAZIĞ - 2014

ONAY SAYFASI

.....

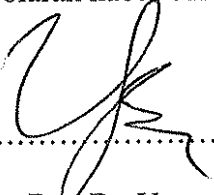
Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Doç. Dr. Yasemin BULUT

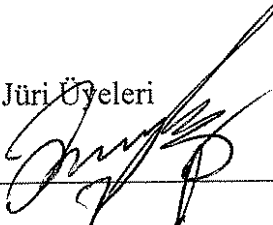
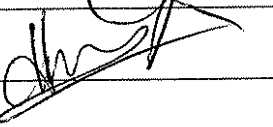
Danışman

Yüksek Lisans Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ

Doç. Dr. Yasemin BULUT

Prof. Dr. H. Handan AKBULUT

.....

.....


TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca, emeğini, bilgisini ve desteğini sonuna kadar benden esirgemeyen, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Yasemin BULUT'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, yüksek lisans eğitimim sırasında yetişmemde önemli katkıları olan bilgi ve deneyim kazanmama olanak sağlayan değerli hocalarım; Prof. Dr. Mustafa YILMAZ, Prof. Dr. Zülal AŞÇI TORAMAN, Prof. Dr. Adnan SEYREK'e çalışmada elde edilen sonuçların istatistiksel olarak yorumlanmasında yardım ve katkılarından dolayı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Selçuk İLHAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda değerli fikirlerinden yararlandığım ve yardımlarını gördüğüm Oğuzhan HANCI ve emeği geçen bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca örnek toplama aşamasındaki yardımlarından dolayı Elazığ Diş Hastanesi diş hekimlerinden Sebahat FINDIK AYDINER'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezimi hazırlarken faydalandığım Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı literatürünün oluşumunda geçmişten günümüze kadar katkıda bulunmuş tüm bilim insanlarına teşekkürlerimi borç bilirim.

TF.13.55 projemize finansman desteklerinden dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)'ne teşekkürlerimi bildiririm.

Hayatımın her döneminde desteklerini, sevgilerini, dualarını esirgemeyen, kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anne ve babam ile hayatıma renk katan kardeşlerime, en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Gül ARICA
Elazığ- 2014

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	I
TEŞEKKÜR	II
İÇİNDEKİLER	III
TABLOLAR LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
KISALTMALAR LİSTESİ	VII
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. Kronik Periodontitis	10
4.2. Kronik Periodontitisin Tipleri	11
4.3. Kronik Periodontitis Patogenezi	11
4.4. Hastalığın İlerlemesi	12
4.5. Kronik Periodontitisin Etyolojisi	13
4.5.1. Mikrobiyal Dental Plak	14
4.5.1.1. Plağın Oluşumu ve Mikrobiyolojisi	15
4.5.1.2. Mikrobiyal Dental Plağın Periodontal Hastalıkların Oluşumundaki Rolü:	18
4.5.1.3. Plağa Bağlı Dişeti Enflamasyonunun Klinik Görünümü ve Histolojik Değişiklikler	19
4.6. Periodontopatojenler	22
4.7. Anaerob Bakterilerin Tanısı	26
4.8. Tedavi	30
5. GEREÇ VE YÖNTEM	31
5.1. Hasta Seçimi	31
5.2. Subgingival Plak Örneklerinin Toplanması ve Analize Hazırlanması	31
5.3. Paper Pointlerden Periodontal Patojen Bakteri DNA Ekstraksiyonu	33
5.4. Amplifikasyon (Çoğaltma) İşlemi	34
5.5. Hibridizasyon İşlemine ön hazırlık:	35
5.6. Sonuç Değerlendirme	38

5.7. İstatistiksel Analizler	40
6. BULGULAR	41
6.1. Klinik Bulgular	41
6.2. Laboratuar Bulguları	42
7. TARTIŞMA	46
8. KAYNAKÇA	56
9. ÖZGEÇMİŞ	68
10. EKLER	69

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Klinik Parametreler	41
Tablo 2. Çalışma gruplarında mikroorganizmaların sayı ve yüzde olarak dağılımı	42
Tablo 3. Periodontitisle çok kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı	43
Tablo 4. Periodontitisle kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı	44
Tablo 5. Periodontitisle orta derecede ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı	44
Tablo 6. Hasta grubunda sondalama derinliğine göre bakteri dağılımı	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Sağlıklı diş, gingivit, periodontitis	9
Şekil 2. Kronik periodontitis	10
Şekil 3. Periodontal hastalığın patogenezi	12
Şekil 4. Supragingival plak	16
Şekil 5. Subgingival plak	17
Şekil 6. Sağlıklı dişetin görünümü	20
Şekil 7. Klinik olarak enflame dişetin görünümü.	20
Şekil 8. Sağlıklı dişeti, sağlıklı dişeti	21
Şekil 9. Paper pointler kullanılarak örnek alımı	33
Şekil 10. Twincubator ile hibridizasyon işlemi	38
Şekil 11. micro-IDent plus11 Kiti Değerlendirme Şablonu	39
Şekil 12. micro IDent plus11 Kiti Sonuç Değerlendirme	40

KISALTMALAR LİSTESİ

PI	: Plak İndeksi
GI	: Gingival İndeks
SD	: Sondalama Derinliği
PCR	: Polymerase Chain Reaction
Ag	: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
Pg	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>
Tf	: <i>Tannerella forsythia</i>
Td	: <i>Treponema denticola</i>
Pm	: <i>Parvimonas micra</i>
Fn	: <i>Fusobacterium nucleatum</i>
Cr	: <i>Campylobacter rectus</i>
En	: <i>Eubacterium nodatum</i>
Ec	: <i>Eikenella corrodens</i>
C sp	: <i>Capnosytophaga</i> türleri
MI	: mikrolitre

1. ÖZET

Periodontitis, periodontal liflerde ve sementte harabiyete, alveolar kemikte yıkıma neden olan klinik bir enflamasyondur. Kronik periodontitis ise plak birikimi sonucu ortaya çıkan, dişeti enflamasyonu ve cep oluşumu ile sonlanan, periodontal ataşman ve alveol kemiği kaybıdır. Bu tezde kronik periodontitisli hastalardan alınan subgingival plak örneklerinden, anaerob bakterilerin varlığının moleküler yöntemler ile araştırılması ve bu hastalardaki bakteri sıklığı ile, periodontitisin seyrini belirlemede önemli olan, plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ) ve sondalama derinliği (SD) gibi parametreler arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla, 2013 yılında Elazığ Diş Hastanesi' ne başvuran kronik periodontitisli 37 ve periodontitis yönünden sağlıklı 33 bireyden, periodontal ceplere paper pointler yerleştirilerek krevikular sıvı örnekleri alındı. Daha sonra, bu örneklerden DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lar Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)-Ters hibridizasyon yöntemiyle incelendi. PCR-Ters hibridizasyon sonuçlarına göre; kronik periodontitisli 37 hastada % 94 *Tannerella forsythia* (*T. forsythia-Tf*) ve *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum-Fn*), % 86 *Capnocytophaga* türleri (*C* sp), % 78 *Campylobacter rectus* (*C. rectus-Cr*), % 70 *Treponema denticola* (*T. denticola-Td*), % 56 *Parvimonas micra* (*P. micra-Pm*) ve *Eikenella corrodens* (*E.corrodens-Ec*), % 51 *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis-Pg*), % 21 *Eubacterium nodatum* (*E.nodatum-En*) ve % 16 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans-Aa*)' a rastlanmıştır. Kontrol grubunda ise, % 54 *Fn* , % 15 *C* sp, % 3 *Tf* ve *Ec*' ye rastlanmıştır. Kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerdeki mikroorganizmaların dağılımı

incelendiğinde, iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p < 0,01$, $p < 0,001$). Pİ, Gİ ve SD değerleri bakımından her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar tespit edildi ($p < 0,001$). Hastaların cep derinliği ile bakterilerin bulunma sıklıkları incelendiğinde ise, *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td*, *Pm*, *Cr*, *Ec* varlığı ile sondalama derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilirken ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$). *Pi*, *Fn*, *En*, *C sp* varlığı ile cep derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenemedi ($p > 0,05$).

Sonuç olarak, kronik periodontitisin seyrini belirlemede önemli olan klinik parametreler ile anaerob bakteri varlığı arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğu ve bu ilişkiyi belirlemede daha hızlı, spesifik, doğru sonuçlara kısa sürede ulaşılabilecek, PCR-Ters hibridizasyon yönteminin kullanılması uygun görülmektedir.

Anahtar kelimeler: periodontitis, kronik periodontitis, anaerob bakteri, plak indeksi

2. ABSTRACT

Identification of Anaerobe Bacteria from Patients with Chronic Periodontitis using Molecular Techniques

Periodontitis is an inflammatory disease damaging periodontal fibers and cement, and destructing alveolar bone. Chronic periodontitis on the other hand is the loss of periodontal attachment and alveolar bone resulting from the accumulation of plaque and resulting in the inflammation of gingiva and a pocket formation. The objectives of this thesis were molecular detection of anaerobic agents from the subgingival plaque samples and to determine whether there is any relationship between the frequency of these agents in the patients and some parameters such as plaque index (PI), gingival index (GI), and probing depth (SD) that are important in determining the course of the periodontitis. For this purpose, in 2013, crevicular fluid samples were taken from 37 periododntitis patients at the Elazığ Dental Hospital and 33 otherwise healthy people by placing paper points to the periodontal pockets. Next, DNA was isolated from these samples. The DNA samples were tested by Polymerase chain reaction (PCR)-Reverse hybridization method. According to the results of PCR-reverse hybridization , the agents detected from the 37 periodontitis patients were % 94 *Tannerella forsythia* (*T. forsythia-Tf*) and *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum-Fn*), % 86 *Capnocytophaga türleri* (*C sp*), % 78 *Campylobacter rectus* (*C. rectus-Cr*), % 70 *Treponema denticola* (*T. denticola-Td*), % 56 *Parvimonas micra* (*P. micra-Pm*) and *Eikenella corrodens* (*E.corrodens-Ec*), % 51 *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis-Pg*), % 21 *Eubacterium nodatum* (*E.nodatum-En*) and % 16 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans-Aa*). On the

other hand, % 54 *Fn* , % 15 *C sp*, % 3 *Tf* and *Ec* were found. within the control group. When distribution of the microorganisms were looked into, the difference between the two groups were found significant ($p < 0,01$, $p < 0,001$). Significant differences were detected in PI, GI, PD values between the groups. ($p < 0,001$). Analyzing the relation between PD and the frequency of the occurrence of bacteria, there were a significant relation between PD and the presence of *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td*, *Pm*, *Cr*, and *Ec* ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$) while no significant relation was found in *Pi*, *Fn*, *En*, and *C sp*. ($p > 0,05$).

As a result, there is a strong relationship between the clinical parameters of importance and the presence of anaerobic bacteria. PCR-reverse hybridization can be used to detect this relationship faster, and more specifically and accurately.

Key Words: periodontitis, chronic periodontitis, anaerobic bacteria, plaque index

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Dişetlerinde başlayan iltihabi değişikliklerin, derin periodontal dokulara yansıdığı bir hastalık olan periodontitiste, mikrobiyal plak ve periodontal cepteki mikroorganizmaların ve toksik ürünlerinin, periodontal hastalıktaki enflamasyonun en büyük etkeni olduğu, günümüzde kabul edilen bir gerçektir. Gingival sulcus bölgesindeki diş yüzeylerindeki bakteri sayısındaki artış ve apikale doğru ilerlemeleri, özellikle epitelyum ve bağ dokusu yapılarını etkilemekte ve diş yüzeylerinden ayrılmalarına neden olmaktadır. Bakteri ve ürünleri toksik etkilerinin yanı sıra, diğer iltihabi reaksiyonlarda başlatmakta ve destek doku kaybına yol açmaktadır (1, 2).

Kronik periodontitis, periodontal hastalıkların en sık rastlanılan tipi olup 35-40 yaşından sonra populasyonun büyük bir kısmını etkilemektedir. Primer etyolojik ajan olarak, mikrobiyal plağın ve plak birikimini kolaylaştırıcı lokal faktörlerin sorumlu tutulduğu iltihabi bir periodontitis formudur. Sinsi seyirli bir hastalık olup, ağrı hissi söz konusu değildir. Hastalık sadece 1. molarlar ve kesicilerle sınırlı değildir, fakat bu dişler kanin ve premolarlardan daha yaygın etkilenirler. Serum nötrofil veya monositlerde anomali görülmez. Kemik kaybı dağılımı önemlidir. Hem vertikal hem de horizontal kemik kaybı görülebilir.

Periodontal hastalığın mikrobiyolojisine yönelik çalışmalar incelendiğinde, mikroorganizmaların kronik periodontitiste etyolojik etken olarak kabul edildiği, antibakteriyel tedavi ile desteklenmesinin gerekli olduğunu göstermektedir. Kronik periodontitislerde yüksek oranda (% 90) anaerob ve gram negatif bakteriler izole edilmektedir. Bu bakteriler arasında *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* kronik

periodontitiste çok önemli patojenler olarak tespit edilmiştir. Porphyromonas gingivalis ilerlemiş kronik periodontitis ile yakın ilişki içindedir ve sayısal olarak hastalığıdaki en önemli mikroorganizmalardır (3). Bu patojen mikroorganizmalara ek olarak, *Tannerella forsythia*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium* türleri, *Fusobacterium nucleatum*, *B.forsythus*, *Streptococcus intermedius* da kronik periodontitisten sorumlu mikroorganizmalardır (1,4,5,6,7).

Bu çalışmada; kronik periodontitisli bireylerde anaerob bakteriyel etkenlerin dağılımının, moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmesi ve bu gruptaki anaerob bakteri sıklığı ile, kronik periodontitisin seyrini belirlemede önemli olan, plak indeks'i (PI), gingival indeks (GI) ve sondalama derinliği (SD) gibi parametreler arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

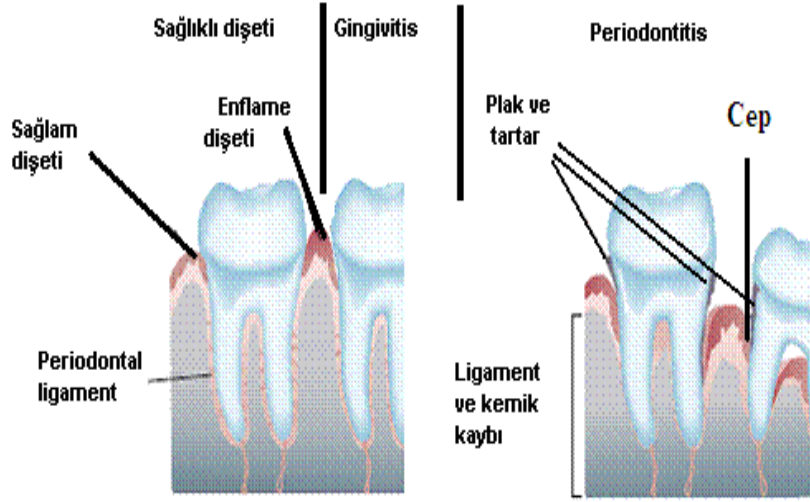
4. GENEL BİLGİLER

Periodontal hastalıklar, dişi destekleyen ve tutunmasını sağlayan dokunun etkilendiği bir grup hastalıktır. Tedavi edilmediği takdirde dişeti ve alveolar kemiğin hasarı ile sonuçlanmaktadır (8). Periodontal hastalıklar, genellikle kronik enflamatuvar hastalıklar şeklinde gürülür. Periodontal dokunun akut enfeksiyonları gürülse de diş hekimlerine bu konuda çok sık başvurulmaz. Periodontal hastalıklarda etkilenen dokular; gingiva, periodontal ligament, sementum ve alveolar kemiktir. Gingiva dişin ve alveolar kemiğin bir kısmını örten pembe renkli mukoz membrandır. Periodontal ligament ise dişetini oluşturan en önemli parçadır. Sementum dişlerin alt kısmını örten kalsifiye yapıdır. Alveolar kemik ise maksilla ve mandibulada dişlerin gümülü bulunduğu kısımdır (2,9).

Periodontal hastalıkların birkaç formu vardır. Bunlar; gingivit, akut nekrotizan ülseratif gingivit, yetişkin periodontitisi ve lokalize juvenil periodontitistir. Gingivit ve periodontitis, periodontal dokuyu etkileyen enflamatuvar hastalıkların iki majör formudur. Gingivit dişetin yumuşak dokusunun enflamasyonudur. Gingivitte gingiva kırmızı renkli ve inflamasyon vardır. Hastalıkta gingivanın normal kenarlarının kaybı, dokunmayla kolayca kanaması söz konusudur. Klinik olarak tutunma dokusu kaybına sebep olmayacak şekilde gingivanın enflamasyonu mevcuttur. Gingivit periodontal dokunun diğer kısımlarını etkilemeden yıllarca kronik bir şekilde seyredebilir. Kronik gingivit, gingival sulkusun derinleşmesine sebep olabilir (8,9). Gingivitin oluşumuna göre birçok farklı tipi tanımlanmıştır. En sık gürüleni plak tarafından indüklenen tipidir. Bu tip birçok kişinin ağzında mevcuttur. Klasik gürünümü kızarıklık, şişlik ve probla dokununca kanamadır. şoğu kez hasta diş firçalama esnasındaki

kanamadan şikâyetçidir. Bu tip gingivit dental plak varlığına bağlı olarak (bu plaklar floranın değişmesine sebep olur) gelişen düşük seviye enfeksiyondur. Diğer bir gingivit türü sistemik faktörler tarafından modifiye edilenlerdir. Bunlar; puberteye bağlı gingivit, menstrual sıklusa bağlı gingivit, gebeliğe bağlı gingivit, piyojenik granuloma, diyabetes mellitusa bağlı gingivit ve kan diskrazilerine bağlı gingivittir. Lösemiye bağlı gingivit, kan diskrazilerine bağlı gingivite örnek verilebilir. Medikasyona bağlı gingivitler ise ilaçların sebep olduğu türlerdir. Bu tür gingivitlere yol açan ilaçlara oral kontraseptifler, fenitoin, siklosporin gibi ilaçlar örnek verilebilir (10). Başka bir gingivit türü beslenme bozukluğu veya eksikliğine bağlı gelişen türlerdir. Askorbik asit ve protein eksikliği bu grupta yer alır (9,10). Kronik gingivit; gingival dokunun inflamasyonu olarak tanımlanır. Bu klinik durumda alveolar kemik rezorpsiyonu ve junctional epitelyumun apikal deviasyonu yoktur. Cep derinliği 2mm den fazla ise kronik gingivit denir ve hiperplazi veya ödemden kaynaklanır (10).

Periodontitis ise gingiva ve bitişiğindeki tutunma dokusunun enflamasyonudur. Alveolar kemik ile bağ doku kaybına sebep olmasıyla karakterizedir. Periodontitis, gingivitin dişlere, destek yapılara ve kemik yapıya ulaşmış formu olarak da tanımlanabilir. Plak ve tartar, diş eti ile diş arasında genişlemeye sebep olarak büyük cepler oluşturmakta ve anaerobik bakterilerin buralarda üremesine yardımcı olmaktadır. Bunlar da diş destekleyen kemik yapıların hasarına sebep olmaktadır. Sonuç olarak bu süreç dişin kaybına sebep olabilmektedir. Diyabet, Down sendromu, Crohn's hastalığı, AIDS ve diğer kan beyaz küre azalmasına sebep olan hallerde periodontitis gelişme sıklığı artmaktadır (2,8).



Şekil 1. Sağlıklı diş, gingivitis, periodontitis

Periodontitisin başlangıç semptomu yangısal değişiklik, kanamalı dişetleri ve kötü kokulu ağızdır. Periodontitisin karakteristik özelliklerinden biri de dişte geniş ceplerinin olmasıdır. Ağrı, hastalığın geç evrelerine kadar yoktur, ancak apse ya da dişin düşeceği zaman meydana gelir ve bu dönemin en önemli belirtisidir. Yetişkinlerde görülen periodontitis; periodontal hastalıkların en ciddi formudur. Bu hastalıkta gingiva, periodontal ligament ve alveolar kemik tutulumu olur. Derin bir periodontal cep oluşur. Eğer tedavi edilmezse bu cebin içinde plak, kalkulus ve debris oluşumu meydana gelir. Periodontal ligament hasarlanır ve alveolar kemiğin rezorpsiyonu meydana gelir. Bu da dişin kolayca hareket etmesini sağlar ve sonuçta diş kaybına sebep olur. Yetişkin periodontitisinin büyük bir kısmı kroniktir (10). Kronik periodontitis gingivadaki enflamasyon ve enfeksiyon kombinasyonunun ilerlemesi sonucu olayın periodontal membranın derin dokusuna invazyonu olarak kabul edilir. Bu form servikal sınırdaki fiber bağların hasarlaşması, alveolar kemiğin rezorpsiyonu, amelosemental kavşak epitelinin apikal proliferasyonu ile karakterizedir (9,10).

4.1. Kronik Periodontitis

Kronik periodontitis, dental biyofilm tarafından başlatılan enflamasyona bağılı olarak meydana gelen, bağ doku atışmanı ve alveol kemiği kaybı ile karakterize kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Periodontal dokulardaki enflamatuvar hücre birikimine makrofajlar ve plazma hücreleri hakimdir (11). Kronik periodontitis mikrobiyal plak tarafından başlatılıp devam ettirilse de, konağa ait faktörler hastalığın ilerlemesinde belirleyici rol oynar. Bir bireyde meydana gelen periodontal doku yıkımının miktarı; plak seviyeleri, yerel hazırlayıcı faktörler, sigara, stres ve sistemik risk faktörleri tarafından belirlenir (12).



Şekil 2. Kronik periodontitis

Kronik olarak, dişetinde renk, kıvam ve hacimsel değişiklikler, periodontal sond ile sondalama sırasında kanama, alveol kemiğinde geri dönüşümsüz yıkım, çok köklü dişlerde köklerin birleştiği furkasyon bölgesinin açığa çıkması, dişeti çekilmesi, artmış diş hareketliliği gibi belirtiler vermektedir. Kronik periodontitis; olguların çoğunda yavaş veya orta hızda ilerlemekle beraber, doku yıkımının hızlı olduğu dönemler de görülür. Hastalığın ilerleme hızı bireyden bireye farklılık

gösterdiği gibi, aynı bireye ait dişler arasında da farklı olabilmektedir (13). Kronik periodontitis daha çok erişkinlerde olmakla beraber gençlerde de görülebilen bir hastalıktır (14).

4.2. Kronik Periodontitisin Tipleri

Yaygınlık açısından lokalize ve generalize olarak ikiye ayrılır:

1. Lokalize Kronik Periodontitis: Mevcut bölgelerin %30 veya daha azı etkilenmiştir.

2. Generalize Kronik Periodontitis: Mevcut bölgelerin %30'dan fazlası etkilenmiştir.

Şiddet açısından ise üçe ayrılır:

1. Yüzeysel : Klinik ataşman kaybı 1- 2 mm' dir.

2. Orta : Klinik ataşman kaybı 3 - 4 mm' dir.

3. İleri : Klinik ataşman kaybı 4 mm' den fazladır (15).

4.3. Kronik Periodontitis Patogenezi

Kronik periodontitis, geleneksel anlamda bir bakteri enfeksiyonu olmayıp dental biyofilm içindeki mikroorganizmalara (polimikrobiyal enfeksiyon) karşı gelişen konak immün yanıtının tetiklediği enflamatuvar bir hastalıktır (16, 17). Kronik periodontitisin ortaya çıkışında bakterilerin varlığı gerekli olmakla birlikte tek başına yeterli değildir. Genetik, sigara ve sistemik hastalıklar gibi çeşitli risk faktörleri, hastalığın şiddet ve ilerleme hızının belirlenmesinde bakterilerden daha etkin olabilir. Mikrobiyal saldırıdan kaynaklı antijenler ve diğer virulans faktörleri konağın savunma mekanizmalarını harekete geçirir. Konak yanıtına bağlı olarak sitokinler, prostanoidler ile kompleman aktivasyon ürünleri ve matris metaloproteinazlar gibi enflamatuvar mediyatörler açığa çıkar. Bu mediyatörler

kemik ve bağ dokusunda yıkım meydana gelmesinin yanı sıra konak yanıtının devamlılığını da sağlar. Bütün bu olaylar, hastalığın seyrini etkileyen konağa bağlı çevresel, genetik ve kazanılmış risk faktörlerinden etkilenir. Hastalığı modifiye eden faktörler, konak yanıtı ve periodontopatojenler arasındaki karmaşık etkileşim mekanizmaları periodontitisin klinik görünümünde belirleyici rol oynar (18).



Şekil 3. Periodontal hastalığın patogenezi

4.4. Hastalığın İlerlemesi

Kronik periodontitis, periodontitisin genellikle yavaş ilerleyen bir formudur (19-21). Kronik periodontitisin ilerleme hızı ağzın farklı bölgelerinde farklı oranlarda görülebilir. Bazı bölgelerde uzun süre pasif kalırken bazı bölgelerde hızlı bir yıkım gösterebilir (20,21). Konakçı savunma faktörlerinin etkinliği de bölgedeki hastalığın şiddetinde önemli bir rol oynamaktadır (19,20,21). Konak savunma mekanizmasının zayıfladığı durumlarda hastalık şiddetlenerek daha fazla kemik yıkımına ve diş kaybına sebep olmaktadır (19,20,22,23,24).

4.5. Kronik Periodontitisin Etyolojisi

Periodontal hastalıkların ve tabii ki kronik periodontitisin başlaması ve ilerlemesinde çeşitli faktörlerin rolü vardır. Bu faktörler;

A. Mikrobiyal dental plak

B. Lokal faktörler

C. Sistemik faktörler

- Diabet
- Down sendromu
- Fagositik hücrelerde defekt
- Hamilelik ve puperta
- Yaşlanma
- Beslenme
- Hormonlar
- Konağı zayıf düşüren hastalıklar
- Psikosomatik bozukluklar
- Kalıtsal

D. Konak doku cevabı

E. Anatomik şartlar

- Diş anatomisi
- Diş pozisyonu
- Gıda sıkışması
- Ağız solunumu
- Yumuşak doku ilişkileri

F. Restoratif ve prostodontik etkiler

G. Okluzal travma

H. Diğer faktörler

- Diyet
- Kalsifiye eklentiler
- Mevcut patolojik durum
- Plak kontrolünde hastanın başarısızlığı
- Sigara kullanımı

Periodontitisin oluşumunda etkili olan bu faktörlerin etkilerinin kişiden kişiye ve kişinin hayatında etkilediği zamana göre, çeşitlilik gösterdiği de belirtilmiştir (25). Kesin olan ortak kanı tüm periodontal hastalıklarda olduğu gibi kronik periodontitisde de esas etkenin mikrobiyal dental plak olduğudur (19,20,21 26).

4.5.1. Mikrobiyal Dental Plak

Mikrobiyal dental plak, dişleri ve ağız içi apareyleri kaplayan organik filimlere sıkıca yapışık bakteri birikintilerinden oluşur. Ayrıca az miktarda da olsa, yangısal hücreler (Polimorf Nüveli Lökosit) ile epitel hücrelerini de içerir. Mikrobiyal dental plak, esas olarak dişeti kenarıyla olan ilişkisine göre supragingival plak ve subgingival plak olmak üzere iki bölümde incelenir. Supragingival plak, dişlerin klinik kronları üzerinde, subgingival plak ise dişeti oluşu ve periodontal cep içinde yerleşmiş olan plaktır. Supragingival plak, belirli bir kalınlığa ulaştığında klinik olarak dişeti kenarında beyazımsı, sarımsı bir tabaka şeklinde görünür. Subgingival plak, dişeti altında bulunduğu için klinikte gingival sulkustan periodontal alet yardımıyla çıkarılmazsa görülemez (27,28).

Işık mikroskopunun geliştirilmesinin yanı sıra, elektron mikroskopunun da araştırmalarda kullanılmasından sonra, mikrobiyal dental plağın yapısı bakımından daha fazla bilgi elde edilmiştir. Bu bilgilere göre mine ve sement gibi diş yüzeyleri normalde glikoproteinden oluşan, ince pelikül tabakası ile örtülüdür. Pelikül mekanik işlemlerle uzaklaştırılırsa, bir kaç dakika gibi kısa bir süre içinde yeniden oluşmakta ve diş yüzeyinde, bakterilerin tutunmasında aktif rol oynamaktadır. Diş yüzeyindeki peliküle ilk tutunan yapılar, kok formunda bakteriler, az sayıda epitel hücresi ile nötrofillerdir. İlk birkaç saatte pelikülden ayrılmayan mikroorganizmaların oluşturduğu koloniler ile plak giderek karmaşık bir yapıya dönüşür. Bakteriler arasında bulunan materyale intermikrobiyal matriks denir ve plak hacminin yaklaşık % 25'ini oluşturur (27-29).

4.5.1.1. Plağın Oluşumu ve Mikrobiyolojisi

Plak formasyonundaki birinci safha hücrelerin bağlanması, ikinci safha ise yapışan ya da bağlanan mikroorganizmaların çoğalmasıyla büyüme safhasıdır. Bu mikroorganizmalar plağın yerleşik elemanları olurlar. Daha sonra çoğalan mikroorganizmalar ve tükürük glikoproteinlerinin intermikrobiyal matrikse katılmaları ile plak miktarı artar. Bu arada tükürük, komşu diş ve dişeti bölgelerinde bulunan mikroorganizmalar da plağa eklenir (27,29,30).

a) Supragingival Plak:

Dişlerin en çok, yüzey çatlaklarında, defektlerinde, pürüzlü sahalarda, okluzal fissürlerde, ortodontik apareylerde ve protezler üzerinde birikir ve gelişir.

Plak oluşumunun başlangıcında sağlıklı dişetin servikal yüzeyinde çok az bakteri bulunur. Kaldırılabilir depozit olarak başlıca dökülmekte olan epitel

hücreleri ve bunların üzerinde az sayıda bakteri gözlenebilir. Bunların yaklaşık % 50'si Gram (+) kok ve basillerdir. Geri kalanı ise Gram (-) bakteriler oluşturur. Ağız bakımı ihmal edildiğinde basit bakteri plak yapısı değişmeye başlar.

Plaktaki mikroorganizmaların patojenite oluşturması 48 saat sürer. Supragingival plağın erken dönemdeki bakteri içeriği, yapılan kültür çalışmalarında ayrıntılı olarak araştırılmıştır. En erken flora, diş fırçalamadan 3-8 saat sonra Streptokokların oluşturduğu floradır. 24 saatte Streptokoklar % 45 azalırken Gram (-) anaerobik koklar (*Veilonella*) % 20 çoğalır. Üç gün sonra Actinomyces' in fakültatif ve zorunlu anaerob formları % 25' e yükselir, Gram (-) basillerin oranı ise % 5' dir (30-33).



Şekil 4. Supragingival plak

Plak gelişiminin 3 haftalık süresince çeşitli tipteki bakterilerin oranları göreceli olarak değişmeye devam eder. Örneğin, Gram (+) koklar azalırken bunlara oranla Gram (-) basiller artar. Gram (-) bakteriler arasında da Veilonella sayıca artmış görülürken *Bacteroides* ve *Fusobacterium* gibi Gram (-) basiller daha küçük bir orandadır (30-33).

b. Subgingival Plak:

Dişeti oluğu ve periodontal cep morfolojik yapıları nedeniyle ağzın temizlenme aktivitesi daha az olan bölgelerini oluşturmaktadır. Bundan dolayı da bu alanlar nispeten durgun bir ortam oluştururlar. Dişeti oluğu ve periodontal cepteki oksidasyon- redüksiyon potansiyelinin çok düşük olduğu gösterilmiştir. Böylelikle yalnızca düşük oksijen konsantrasyonlu sahalarda yaşayabilen mikroorganizmalar bu bölgelerde yaşamlarını daha uzun süre sürdürebilmektedirler. Subgingival plak, diş yüzeyine yapışık olan ve yapışık olmayan (gevşek) olmak üzere iki bölümde incelenmektedir. Diş yüzeyine yapışık plaktaki mikroorganizmalar bazı Gram (+) koklar, filamentler ve *Actinomyces* türleridir. Ayrıca bazı Gram (-) kok ve basiller de bulunur. Yapışık subgingival plak, mineral tuzlarının depolanması ile diştaşı oluşumunda rol oynar, bununla beraber yapışık subgingival plak, kök çürüğü ve kök rezorbsiyonuna da neden olur. Yapışık olmayan subgingival plakta Gram (-) anaeroblar hakimdir, hareketli hareketsiz spiroketler ve basiller de bulunur (4-7).



Şekil 5. Subgingival plak

Periodontal hastalıklar sonucu cep derinliği arttıkça subgingival plağın mikrobiyolojisinde de değişiklikler olur. Sığ ceplerdeki plak birikimi, diş yüzeyindekinden farklı değildir. Filamentöz bakteriler baskındır, fakat kok ve çomaklar da bulunur. Cebin derinliklerine doğru ise filamentöz bakteriler azalır, apikal kısımda ise yoktur (4-7).

4.5.1.2. Mikrobiyal Dental Plağın Periodontal Hastalıkların Oluşumundaki Rolü:

Mikrobiyal dental plaktan kaynaklanan maddelerin, enflamasyonlu periodontal dokular içine girdiğine, bu dokuları yıkan enflamatuar ve immünopatolojik reaksiyonlar başlattığına dair oldukça önemli bulgular vardır. Periodontal doku yıkımında enzimler önemli bir yer tutar. Enzimler hem mikroorganizmalar hem de konak hücrelerinden salınarak periodontal doku yıkımını meydana getirirler. Mikroorganizmalar tarafından salınan enzimler, sulkus epitelinin intersellüler matriksine, kollagen liflere ve bağ dokusu ana maddesine etkili olurlar. Plakta mukopolisakkaritler, hyaluronidaz ve proteaz gibi enzimlerin varlığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Bu enzimler bağlantı epitelinin intersellüler alanlarındaki protein ve mukopolisakkaritlerde yıkıma neden olabilirler. Bu da birçok mikrobiyal ürünün bağ dokusuna penetrasyonunu kolaylaştırır. Mikrobiyal mukopolisakkaritler, proteaz ve kollagenaz bağ dokusuna girince dokuyu ya doğrudan ya da enflamasyonu başlatarak dolaylı olarak yıkıma uğratırlar (31-34).

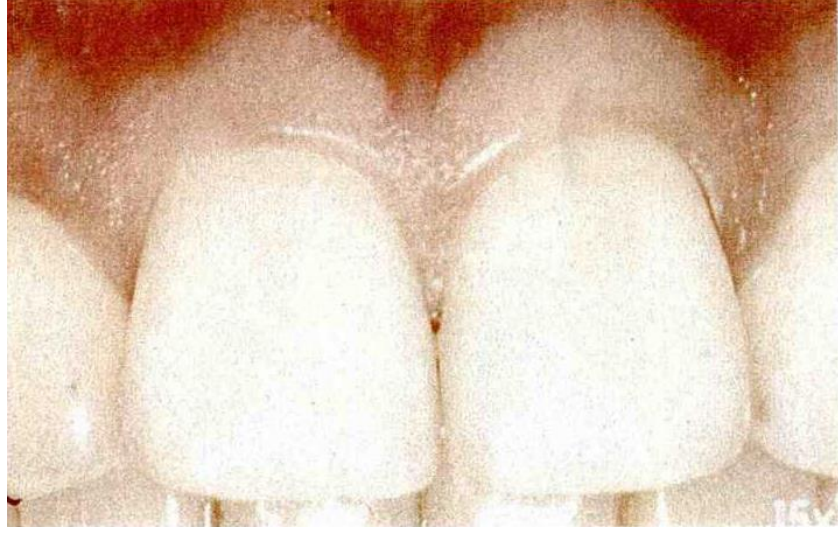
Plak mikroorganizmaları karbonhidratları, aminoasitleri ve proteinleri metabolize eder ve birçok metabolit plakta birikir. Karbonhidratların fermantasyonu sonucu oluşan organik asitler çürük oluşumunda rol oynarlar. Bu

asitlerin dişeti üzerinde herhangi bir etkisi olup olmadığı bilinmemektedir. Hidrojen sülfür, plak mikroorganizmaları tarafından üretilir, plak ve gingival eksuda da görülür. Hidrojen sülfürün havadaki küçük konsantrasyonunun bile müköz membran ve deride irritasyon yaptığı bilinmektedir (30, 35).

Periodontal hastalıklarda gözlenen ve dokular için toksik olan iki mikrobiyal hücre duvarı komponenti vardır. Bunlardan birincisi Gram (-) mikroorganizmaların lipopolisakkarit içeriği olan endotoksin, İkincisi ise Gram (+) mikroorganizmaların mukopeptid kompleksidir (30,35).

4.5.1.3. Plağa Bağlı Dişeti Enflamasyonunun Klinik Görünümü ve Histolojik Değişiklikler

Plak birikimi sonrası gelişen dişeti enflamasyonuna gingivitis adı verilir. Dişetinde damarlarındaki vazodilatasyon, proliferasyon ve keratinizasyona bağlı olarak renk değişikliği gelişir. Dişeti soluk pembe rengini kaybeder ve kırmızı bir renk alır. Kırmızılık kenar dişetinde daha belirgindir. Enflamasyon sonucu gelişen ödeme bağlı olarak dişetin formu da değişir. Dişeti kenarı bıçak sırtı formunu kaybeder. Eksudasyon nedeniyle kenar dişeti yuvarlak bir hal alır. Sağlıklı dişeti serttir, ancak keratinizasyonun azalması ve bağ dokusunda kollagen fibril kaybına bağlı olarak dişeti kıvamı değişir, yumuşama gözlenir. Ayrıca dişetinde yüzey yapısındaki mat ve pürüklü hal yerini, ödem ve keratinizasyonun azalması sonucu, parlak ve düzgün bir yüzey yapısına bırakır. (27, 36, 37, 38).

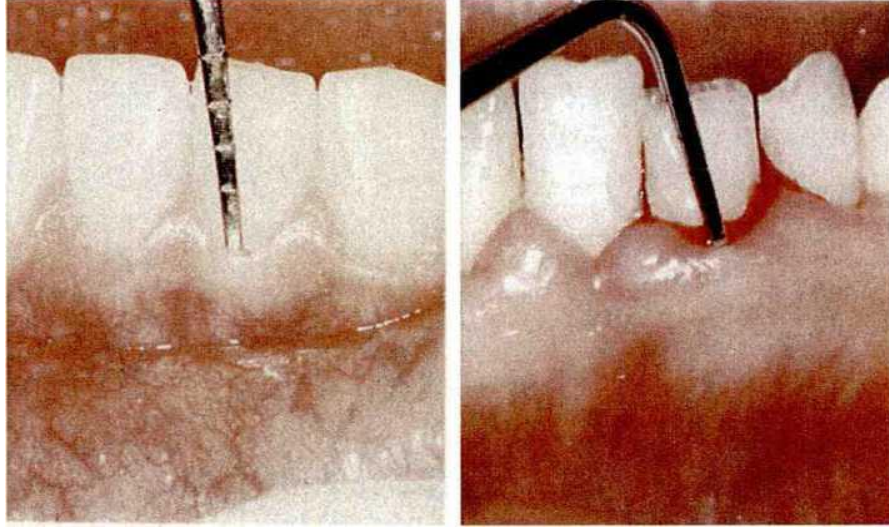


Şekil 6. Sağlıklı dişetin görünümü



Şekil 7. Klinik olarak enflame dişetin görünümü.

Sağlıklı dişetinde sondalama sonucu kanama meydana gelmezken, sağlıksız dişetinde sondalama sonucu kanama gözlenir.



Şekil 8. Sağlıklı dişeti, sağlıklı dişeti

Şiddetli vakalarda spontan kanamalar bile olabilir. Perivasküler kollagen fibriller eridiğinde damar yapısı zayıflar. Keratinizasyonun azalması, cep epitelinde bütünlüğün bozulması (ülserasyon), damar sayısında artış kanamanın sebepleri arasında sayılabilir (27, 36, 37, 38).

Dişetin ağz boşluğuna bakan yüzeyi keratinize ağız epiteli ile kaplıdır. Dişeti oluşunun yumuşak doku duvarı ise oral-sulkuler epitel ile kaplıdır. Hemidesmosomlar aracılığı ile dişeti sıkıca dişe tutunur ve bu bağlantıyı sağlayan epitele de bağlantı epiteli ismi verilir. Bağlantı epitelinin ve cebin tabanının enflamasyon sonucu apikale göçü sonucu gerçek cep oluşur. Cep tabanı apikale göç etmeden, dişeti büyümesi sonucu cep derinleşmişse bu cebe de pseudo cep adı verilir (27, 36, 37, 38).

Sağlıklı dişetinde histolojik olarak çok az sayıda PNL, birkaç makrofaj, epitel ve bağ dokusunda lenfoblastik hücreler vardır. Damarların çevresinde kollagen sağlıklıdır veya çok az miktarda yıkım vardır. Bu bölgede serum

proteinleri ve enflamatuar hücreler bulunur. İmmünoglobulinler (özellikle Ig G) ve kompleman, ekstravasküler dokuda mevcuttur (32).

4.6. Periodontopatojenler

Aggregatibacter actinomycetemcomitans

A. actinomycetemcomitans küçük, hareketsiz, Gram (-), fakültatif anaerob, sakkarolitik, kapnofilik, yuvarlak sonlanmış bir basildir. *A. actinomycetemcomitans* taze izolatlarında fimbrialara sahip ve R tipi koloni oluştururken, laboratuvar subkültürlerinde fimbrialarını kaybederek S tipi koloni oluştururlar (22,39,40). Endotoksin, lökotoxin, fimbria, kollejenaz, fibroblast inhibe eden faktör ve proteolitik enzimler *A. actinomycetemcomitans*'ın virülans faktörleridir (39).

A. actinomycetemcomitans'ın LJP lezyonları, periodontitis ve gingivitis durumunda plak örneklerindeki sayılarının sağlıklı bireylerdeki sayılarına kıyasla artmış olmalarından dolayı bu bakteri olası periodontal patojen olarak tanımlanmıştır. *A. actinomycetemcomitans* juvenil periodontitis, Papillon Lefevre sendromu, hızlı ilerleyen yıkımla karakterize yetişkin periodontitisin temel patojenlerinden biridir (22,39,40,41).

Porphyromonas gingivalis

Prevotella gibi *Flavobacter-Bacteroides* grubu içerisinde yer alan *Porphyromonas* cinsi Gram (-), anaerobik, hareketsiz, sakkarolitik basillerdir. Kapsül, endotoksin, fimbria ve kollejenaz gibi çeşitli virülans faktörleri bulunmaktadır. Primer olarak insan subgingival bölgesinde bulunan *P. gingivalis*, periodontal enfeksiyonlarla ilişkili siyah pigmentli anaerobik basil türlerinin en bilinenidir. İnsanlarda ve deney hayvanlarında periodontal yıkım ile karakterize

agresif bir periodontal patojendir (22,39,40). *P. gingivalis* ile ilgili çalışmalarda, sağlıklı durumda veya gingivite sıklıkla rastlanmayan ve sayıca az olan bu tür, yıkımla karakterize periodontal hastalıkta oldukça yüksek sayıda belirlenmiştir (22,39,40,42).

Tannerella forsythia

İlk kez fuziform *Bacteroides* olarak 1979 yılında tanımlanan *T. forsythia* dental implant çevresinden, endodontik lezyonlardan ve periodontal ceplerden izole edilmektedir. Gram (-), anaerob, fuziform şekilli bir mikroorganizmadır (40). Virülans faktörleri kapsül, endotoksin, tripsin benzeri proteinaz, apoptozisi indükleyen faktör ve betalaktam enzimidir (39,40). Zorunlu anaerob olan *T. forsythia*, yavaş ürer ve primer izolasyondan sonra az sayıda koloni geliştirmek için 7-14 gün gerekir (22,39,40).

Treponema denticola

Treponema'lar sıkı, regüler veya irregüler spiralleri olan, Gram (-), hareketli helikal basillerdir. *Treponema* türleri zorunlu anaerobiktir ve primer izolasyonda üremeleri birkaç haftayı bulur. Flagellum, endotoksin, proteinaz enzimleri, major kılıf proteinleri *T. denticola*'nın virülans faktörleridir

T. denticola'nın insan oral kavitesinde lokalize olduğu ve ilerlemiş periodontal lezyonlarla ilişkisinin bulunduğu bildirilmiştir. *T. denticola*, periodontal hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelere, subgingival plakta supragingival plağa oranla daha fazla bulunmuştur (39).

Prevotella intermedia

Flavobacter-Bacteroides grubunda yer alan *Prevotella* cinsi, bazı siyah pigmentli ve pigmentless türleri kapsar. Hareketsiz, Gram (-), sakkarolitik, değişik

uzunluklarda, ince, kokoid basil morfolojisinde, fermentatif anaerob bakterilerdir. Kapsüllü yapıları, kompleman ve immünoglobülinleri parçalayıcı ve diğer doku hasarı ile ilişkili enzimlere sahip olmaları bu bakterinin virülansını arttıran faktörlerdir (39,40).

Campylobacter rectus

C. rectus Gram (-), fakültatif anaerobik, kısa, hareketli bir mikroorganizmadır. Hücreleri düz, vibrio benzeri veya sarmal olabilir. Birçok tür, polar tek bir flagellumu ile hareketlidir fakat flagellaları olmayan bazı türleri sadece seğirme hareketi yaparlar. Mikroaerofiliktirler (39).

İnsan oral *Campylobacter* türleri H₂S üretirler, asakkarolitiklerdir. Birçok rutin biyokimyasal testleri negatiftir (40). Endotoksin ve lökotoxin üretirler (39). *C. rectus* için primer ekolojik uygun yer periodontal ceplerdir. Sayılarının hastalıklı bölgelerde sağlıklı bölgelerden fazla olduğu bulunmuştur. Aktif periodontal yıkımın olduğu bölgelerde yüksek miktarda ve daha sık olarak bulunmuştur (40).

Eubacterium nodatum

Bu mikroorganizma son zamanlarda orta şiddetli ve şiddetli adult periodontitis vakalarının subgingival bölgelerinden izole edilen yeni bir tür olarak açıklanmıştır. Anaerobik, asakkarolitik, hareketsiz, Gram (+) mikroorganizmalardır (43,44).

***Parvimonas micra* (*Peptostreptococcus micros*)**

Peptostreptococcus türleri, Gram (+), anaerobik, küçük, asakkarolitik koklardır ve ikişerli zincir şeklinde, tetratlar ve düzensiz kümeler halinde küresel hücre morfolojisi gösterirler. Katalaz üretmezler ve başlıca metabolik ürünleri

laktik asitlerdir. Kapsül yapısı ve hyaluronidaz enzimi virülans faktörlerini oluşturmaktadır. İnsan ve hayvanların normal kommensal florasının elemanları olan bu türün bazıları, periodontitis de dahil, oral kavite ve vücudun diğer bölgelerindeki karışık enfeksiyonlarla ilişkilidir. *P. micra*, sıklıkla insan subgingival plağından izole edilmiş ve buranın majör yerleşim yeri olduğu ileri sürülmüştür. *P. micra*'nın uzun süreli çalışmalarda periodontal hastalıklarla ilişkisi ortaya çıkmış, gingivitisli veya sağlıklı durumlara kıyasla periodontal yıkımlı alanlarda daha sıkça ve yüksek sayılarda belirlenmiş ve özellikle aktif alanlarda sayıları artmıştır. Bu türün izlenmesiyle, başarılı olarak tedavi edilmiş periodontal alanlarda miktarının ve sıklığının azalmış olduğu görülmüştür (40).

Fusobacterium nucleatum

Fusobacterium türleri hareketsiz, hücreleri genellikle sivri sonlanmış çubuk şeklinde fuziform morfoloji gösteren, Gram (-), anaerobik, nonfermentatif ve zayıf olarak fermentatif mikroorganizmalardır. *Fusobacterium nucleatum*'un virülans faktörleri fimbria, endotoksin, proteinaz ve fosfolipaz C enzimidir. *F. nucleatum*'un subgingival mikrobiyotanın bir parçası olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. *Fusobacterium* türleri oral kavitede kolonize olurlar ve ekstraoral enfeksiyonlarda da rol oynarlar (39,40)

Eikenella corrodens

Gram (-), kapnofilik, asakkarolitik, düzgün künt sonlu küçük basil morfolojisinde, fakültatif anaerob, bazı suşları ise aerob olan bir bakteridir. Enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanır ve oksidaz, lizin ve ornitindekarboksilaz pozitifdir. Klindamisin, tetrasiklin ve metronidazole dirençlidir. *E. corrodens*, insan oral kavitesinde ve barsaklarında kolonize olur. Sağlıklı bölgelerden çok

periodontal yıkımın olduğu alanlarda, aktif bölgelerde ve periodontal tedaviye zayıf cevap veren hastalarda daha sık ve yüksek sayıdadır (39,40).

Capnocytophaga Türleri

Sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerob, hareketli, Gram (-) kokobasillerdir. Üremeleri için CO₂' e ihtiyaç duyarlar. Kayma hareketi yaparlar. Oral florada bulunmaktadırlar (45,46). *Capnocytophaga* türleri kollajenaz, komplemanı aktivite eden ve Ig' leri yıkan enzimler üretmektedirler. Bağışıklık sistemi yetersiz hastalarda, özellikle ağız lezyonları olan granülositopenik hastalarda bakteriyemi ve şiddetli hastalıklara sebep olmaktadır (47).

4.7. Anaerob Bakterilerin Tanısı

Geleneksel Yöntemler

Anaerob bakteriler insan vücut florasının en önemli bakterilerinden olup, laboratuvarında klasik yöntemlerle tanılarının yapılmasında günümüzde hala sorunlar yaşanmaktadır. Anaerob bakterilerin bir çoğunun diğer bakterilere oranla daha geç ve güç üremeleri, laboratuvarında anaerob bakterilerle uğraşacak deneyimli bir elemana ve bazı ekipmanlara ihtiyaç duyulması en önemli sorunlardır. Anaerob bakterilerin laboratuvar tanısında kullanılan yöntemler makroskopik ve mikroskopik inceleme ve kültürdür. Anaerob bakterilerin izolasyon ve tanımlanmaları için, kullanılacak besiyerlerinin taze hazırlanmış olmasıdır gerekmektedir. Buzdolabında bekletilen besiyerlerinde anaerob bakterilerin izole edilmesi mümkün değildir. Bazı laboratuvarlarda ise önceden redükte edilmiş, anaerob koşulların sağlandığı besiyerleri kullanılmaktadır. Anaerob bakterilerin izolasyonunda; Schaedler agar ve buyyon, Brucella agar ve buyyon, triptik soy agar ve buyyon, Colombia agar, beyin-kalp infüzyon agar ve

buyyon, tiyoglikolatlı buyyon, karbonhidratlı veya karbonhidratsız kıymalı buyyon gibi selektif olmayan besiyerleri kullanılır. Schaedler besiyerleri dışındaki besiyerlerine hemin, vitamin K, maya özütü ve sistein monohidroklorür ilave edilmesi gereklidir. Laboratuvarda ticari olarak alınmış besiyeri bulunmadığında kanlı agar besiyerine bu maddelerin ilavesi ile de uygun anaerob besiyeri elde edilir. Eubacterium ve Actinomyces cinsleri kalp infüzyon agarda, triptik soy agara oranla daha iyi üremektedir. Buna karşılık triptik soy agar besiyeri, subgingival bölgeden alınan örneklerden siyah pigmentli anaerob bakterilerin izolasyonu için çok fazla tercih edilmemektedir. Selektif olmayan besiyerlerinin yanı sıra, anaerob bakterilerin izolasyonunda selektif besiyerlerinin kullanılması bakterilerin izolasyonunu kolaylaştırır. Diğer bakterilerin bulunabileceği örnekler veya flora içeren örneklerden anaerob bakterilerin izolasyonu için selektif besiyerleri özellikle kullanılmalıdır. *Bacteroides* ve *Prevotella* cinsi bakterilerin izolasyonunda kanamisin-vankomisinli kanlı agar (özellikle kanın dondurulup çözülmüş olması tercih edilir) kullanılır. Ancak 7.5 µg/ml vankomisin içeren besiyerlerinde *Porphyromonas* cinsi bakteriler üremez. *Porphyromonas* türlerinin izolasyonu için 2 µg/ml vankomisin içeren kanamisinli kanlı besiyeri tercih edilir (48).

Moleküler Tanı

Anaerob bakterilerin tanımlanması için kullanılan moleküler biyolojik yöntemler genomik ya da oligonükleotid DNA propların kullanıldığı hibridizasyon ve oligonükleotid primerlerle PCR, gen çipleri (mikroarray)ve pirosekanslamadır. Periodontal patojenleri tesbit etmek için ELISA, enzim testleri, anaerobik kültür ve PCR gibi birçok teknik kullanılmaktadır (17).

Standard/Klasik PCR:

Anaerob bakterilerin, klinik örneklerden ya da koloniden 16S rRNA geninden türe özel ya da türe özgü virülans genlerini hedefleyen primerlerle aranarak türün örnekte var olup olmadığını saptamak ya da tür tanısı amacıyla kullanılır. Elde edilen PCR ürününden dizi analizi yapılabilir. Basit ve duyarlı bir yöntem olarak anaeroblar için yaygın olarak kullanılmaktadır (49).

DNA Mikroçip (mikroarray) Analizi:

PCR ile elde edilen floresan işaretli ampikonların çok fazla sayıda farklı oligonükleotid prob içeren katı yüzeylerde kendisine uyan proba hibridizasyonun aynı anda tek bir deneyle gerçekleştirildiği ve değerlendirilmesinin ileri bilgisayar donanımına dayalı olduğu bir testtir. Problar farklı özellikler olarak sentezlenen ve immobilize edilen noktalardır; her bir nokta milyonlarca eş prob içerir. Klinik olarak önemli 28 anaerob bakteri türü ve *Veillonella* suşlarını tanımlamak için ITS sekanslarına dayalı bir oligonükleotid array geliştirilmiştir. Bu array hibridizasyonun, saf kültürlerin tanısı için yaklaşık sekiz saatte yüksek duyarlılık ve özgüllükle sonuçlandığı, ayrıca klinik örneklerde anaerob bakteri saptama potansiyeli olduğu bildirilmiştir (50). Mikroarray platformu, üç boyutlu çipler ya da süspansiyon boncuk çiplere genişlemiştir. Son yıllarda sayısı çok artan mikroarray çalışmaları ile klinik mikrobiyolojide mikroarray teknolojisine dayanan yeni bir moleküler tanımlama çağına girilmiştir (51).

Hibridizasyon Teknikleri

Genomik ya da sentetik olarak yapılabilen ve otomatik sisteme sokulabilen oligonükleotid problemler hedef sekansın tamamlayıcısı olan genellikle 15-30 baz gibi kısa tek iplikli DNA sekanslarıdır. Doğrudan prob yöntemleri, örnekte hedef

bakteri az miktarda bulunduğundan DNA amplifikasyonu yapılmadan kullanıldığında duyarlılığı 10^2 - 10^3 bakteridir (52,53).

Fluoresan in-situ hibridizasyon (FISH), bakterilerin filogenetik gruplarına özel sekanslarını hedef alarak dizayn edilmiş ve her bir proba farklı floresan boya eklenmiş oligonükleotid problarla klinik örneklerde ya da doğal yaşam yerlerinde görülmesi, tanımlanması ve sayılması yöntemidir. Son yıllarda diş plak biyofilmlerinin konfokal lazer tarama mikroskop incelemesinde kullanılmaktadır (54).

Hain Diagnostika Ltd. (Nehren, Almanya) micro IDent plus11 kiti geliştirerek mikrobiyoloji laboratuvarlarında periodontopatojenik türleri, tanı imkanı sunmuştur. Bu test *A.actinomycescomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. micra*, *F. nucleatum*, *E.corrodens*, *E.nodatum*, *C. rectus* ve *Capnocytophaga* türlerinin 16s rDNA'larının PCR'ını takiben reverse hibridizasyonları esasına dayanmaktadır.

Bu çalışmada literatürlerde periodontal patojen olarak tanımlanmış olan 11 mikroorganizma (*Aggregatibacter actinomycescomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga* türleri) PCR-Ters hibridizasyon tekniği ile incelendi. PCR-Ters hibridizasyon yöntemiyle, 11 periodontopatojen mikroorganizmanın belirlenmesi, aynı gün içerisinde başarılı bir şekilde gerçekleştirildi.

4.8. Tedavi

Gingivitisli hastalarda cerrahisiz periodontal tedavi başarılı sonuçlar vermektedir. Kronik periodontitisli hastaların çoğunda da cerrahisiz periodontal tedavi başarılıdır. Bu nedenle çoğu kronik periodontitisli olgularda periodontal tedavi amaçlı antibiyotik kullanımı gerekmemektedir (55).

Ağız bakım eğitimi, diş yüzeyi temizliği, kök yüzeyi düzleştirilmesi doğru ve yeterli düzeyde yapılmış olmasına rağmen devam eden hastalık; ataşman kaybı, pürülan eksuda, sondalamada kanama, sondalama derinliği 5' mm den fazla olan ceplerin varlığı gibi bulgular, mikrobiyolojik analiz ve antimikrobiyal ajanlarında içine girdiği daha ileri periodontal tedavi seçeneklerinin uygulanmasını gerektirir (56).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Hasta Seçimi

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile Elazığ Diş Hastanesi'nin ortak katkıları ile gerçekleştirildi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nca onaylanan çalışmada, Elazığ Diş Hastanesi'ne başvuran kronik periodontitisli 37 (17 bayan, 20 erkek, yaş ortalamaları 46,78) hastadan alınan krevikular sıvı örnekleri hasta grubunu oluştururken, kontrol grubunu 33 (27 bayan, 6 erkek yaş ortalamaları 32,18) sağlıklı bireyden alınan krevikular sıvı örnekleri oluşturdu.

Araştırmamıza dahil edilen tüm bireylere çalışmanın amacı ve yöntemi hakkında bilgi verilerek onayları alındı (Ek 1, onay formu).

Çalışmamıza dahil edilen bireylerin seçiminde, son altı ay içinde periodontal tedavi görmemiş olması, immün sistemi veya iltihabi yanıtı etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanmamış olması, oral mikroflorayı etkileyecek herhangi bir gargara (CHx % 0.2'lik gibi) kullanmamış olması gibi kriterlere dikkat edildi.

5.2. Subgingival Plak Örneklerinin Toplanması ve Analize Hazırlanması

Çalışmada kullanılan örnekler hasta başında alındı. Örnekler son altı ay içinde antibiyotik almamış hastalardan temin edildi. Genellikle bu tip çalışmalarda sıkça kullanıldığı ve bu sayede çalışmalar arasında mukayese imkânı sağladığı için, örnek alınan hastaların Silness- Loe'un plak indeksi ve gingival indeksi skorlandı. Ayrıca hastaların diş cep derinliği belirlendi.

Plak İndeksi Skorları: (Silness ve L e 1964)

0: Dişeti bölgesinde bakteri plağı yok.

1: Çıplak gözle fark edilemeyen, ancak sond ucunun gingival sulkusta gezdirilmesiyle açığa çıkarılan plak varlığı.

2: Gözle görülür tarzda dişeti kenarında ve diş yüzeyinde orta dereceli plak varlığı.

3: Dişetinde ve diş yüzeyinde yoğun yumuşak birikintilerin mevcudiyeti (57).

Gingival İndeks Skorları: (L e ve Silness 1963)

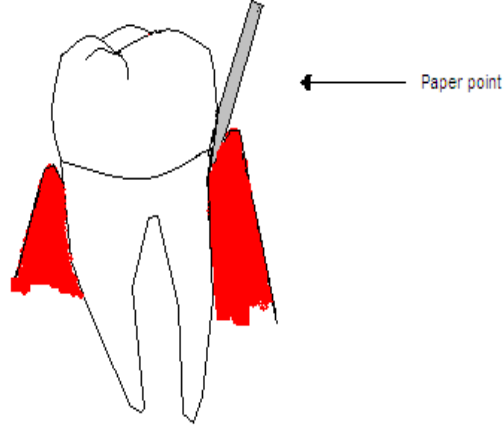
0: Sağlıklı dişeti

1: Hafif iltihap, hafif renk değişikliği, hafif ödemle karakterize dişeti, sondalamada kanama yok.

2: Orta dereceli iltihap, dişeti parlak, kırmızı ve ödemlidir. Sondalamada kanama vardır.

3: Şiddetli iltihap, belirgin kırmızılık ve ödem vardır. Ülserasyonlar ve spontan kanamaya meyil mevcuttur (58).

Hastalardan örnekler alınmadan önce hastaların ağızlarını 30 sn kadar klorhexidine ile yıkamaları istendi. Paper pointler (micro-IDent-plus/Hain-Lifescience) diş hekimi tarafından periodontal ceplere yerleştirildi. Krevikular sıvıyı emmesi için 30 sn bekletildikten sonra, paper pointler steril kapaklı ependorflara alındı. Örnekler buz aküleri ile birlikte hızlı bir şekilde laboratuvara ulaştırıldı. DNA izolasyonu yapıłana kadar -20  C' de saklandı.



Şekil 9. Paper pointler kullanılarak örnek alımı

5.3. Paper Pointlerden Periodontal Patojen Bakteri DNA Ekstraksiyonu

Paper pointlerden periodontal patojen bakteri DNA ekstraksiyonu için üretici firma tarafından gönderilen QIAamp® DNA izolasyon kiti kullanıldı.

1. 70 °C ve 95 °C ısı blokları hazırlandı.
2. Temiz bir tüpte 180 µl Buffer ATL ve 20 µl Proteinaz K karıştırılarak 15 sn vortekslendi.
3. Hazırlanan bu 200 µl karışım, daha önce örnek alınan ve paper pointlerin olduğu tüplere pipetlendi ve tüpler 30 sn vortekslendi.
4. Vortekslenen tüpler 70 °C 'de 10 dakika inkübe edildi.
5. Tüplere 200 µl Buffer AL eklenip 15 sn vortekslendi ve kısa bir santrifüj yapıldı.
6. Daha sonra tüpler 95 °C ısı bloğuna aktarıldı ve 5 dakika inkübe edildi.
7. 200 µl ethanol (96–100%) eklendi 15 sn vortekslendi ve kısa bir santrifüj yapıldı.

8. Hazırlanan karışım spin filtrelere aktarıldı ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevirildi.
9. Spin filtreleri çıkarıp süzülen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı. 2 yıkama sürecine tabi tutuldu.
10. **1. yıkama** : Tüplere 500 µl of Buffer AW1 eklendi ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevrildi. Filtre edilen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı.
11. **2. yıkama:** Tüplere 500 µl Buffer AW2 eklendi ve 6000 g'de (8000 rpm) 1 dakika çevrildi. Filtre edilen sıvı atıldı ve spin filtreleri receiver tüplerine aktarıldı. Son olarak 3 dakika tüm etanolü atmak için maksimum hızda santrifüj edildi.
12. Spin filtreleri 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve 200 µl Buffer AE ilave edildi. 1 dakika 6000 g'de (8000 rpm) santrifüj edildi. Elde edilen DNA'lar bir sonraki işleme kadar -20 °C'de saklandı.

5.4. Amplifikasyon (Çoğaltma) İşlemi

Amplifikasyon 1: Amplifikasyon 2:

5 µl AM - A1 5 µl AM – A2

17,5 µl AM – B 17,5 µl AM – B

2.5 µl DNA solüsyonu 2.5 µl DNA solüsyonu

Toplam 25 µl Toplam 25 µl

Her örnek için AM B den 17,5 µl iki tüpe de pipetlendi. Daha sonra ilk tüpe örnek başına 5 µl Am-A1 , ikinci tüpede AM-A2 den 5 µl eklendi. Hazırlanan mix den 22,5 ml PCR tüplerine bırakıldı ve üzerlerine 2,5 µl DNA

eklendi. PCR aşamasının güvenilirliğini test etmek için DNA yerine aynı oranda distile su eklenerek negatif kontrol yapıldı. Termocycler cihazına konularak PCR işlemi gerçekleştirildi.

PCR Protokolü:

95 °C ----- 05:00 dakika **1 döngü**

95 °C ----- 00:30 saniye **10 döngü**

58 °C ----- 02:00 dakika **10 döngü**

95 °C ----- 00:25 saniye

53 °C ----- 00:40 saniye **20 döngü**

70 °C ----- 00:40 saniye

70 °C ----- 08:00 dakika **1 döngü**

5.5. Hibridizasyon İşlemine ön hazırlık:

HYB (hibridizasyon) ve STR (Stringent Wash Solution) solüsyonları 37-45 °C'ye kadar ısıtıldı. Diğer yandan CON-C (conjugate) ve SUB-C (substrate) (+4 °C'de korunur) dışında ki diğer tüm solüsyonlar oda sıcaklığında bekletilerek ısıtıldı.

Uygun tüpler kullanılarak CON-C ve SUB-C konsantreleri kendi sulandırma solüsyonları ile, yani CON-C, CON-D ile SUB-C, SUB-D ile 1:100 oranında sulandırıldı. Her bir strip için; 10 µl konsantre + 1 ml (1000 µl) sulandırma solüsyonu kullanıldı.

Hibridizasyon İşlemi

1. 20 µl DEN (denatürasyon) solüsyonu her tray'in (striplerin yerleştirildiği plate) örneklerin çalışılacağı kuyucuklarının köşelerine pipetlendi.

2. 20 µl amplikon 1'den, 20 µl amplikon 2'den, DEN solüsyonuna pipetlenerek karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.

Bu sırada pens ile her bir örnek için bir strip alındı ve bu stripin işaretli ucu numaralandırıldı. Bu işlemler sırasında striplere çıplak el ile temas edilmemesine dikkat edildi.

3. Tray'in örneklerin konulduğu kuyucuklarına dikkatlice önceden ısıtılmış 1 ml HYB (yeşil renkli solüsyon) solüsyonu konulup homojen renk elde edilene kadar yavaşça çalkalandı.

4. Stripler dikkatlice trayin kuyularına yerleştirildi.

5. Tray Twincubator'da 45 ± 1 °C'de 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

6. Hibridizasyon solüsyonu pasteur pipet kullanılarak tamamen kuyucuklardan boşaltıldı.

7. Her bir kuyucuğa 1 ml STR (kırmızı renkli solüsyon) solüsyonu eklendi ve 15 dakika 45 ± 1 °C'de çalkalanarak inkübe edildi.

8. STR solüsyonu kuyucuklardan tray atık kabına komple şekilde dökülerek boşaltıldı ve kuyucuklar içerisinde kalan bir miktar sıvıda yine tray ters çevrilerek üst ucu kurutma kağıdına emdirilerek uzaklaştırıldı.

9. Her bir kuyucuktaki strip üzerine bir kez 1ml RIN (Rinse Solution) solüsyonu eklenerek 1 dakika çalkalanarak yıkandı. Daha sonra bu sıvı bir önceki maddede anlatıldığı gibi dökülerek boşaltıldı.

10. Kuyucuklardaki striplerin üzerine 1 ml daha önceden sulandırılmış Conjugate eklendi ve 30 dakika çalkalanarak inkübe edildi.

11. İnkübasyon sonrası Conjugate dökülerek boşaltıldı. Ve her bir strip 1 kez 1 ml RIN (Rinse Solution) 1 kez de 1 ml distile su ile 1'er dakika çalkalanarak yıkandı.

Son yıkamadan sonra tray döküldükten sonra kuyucuklarda sıvı kalmamış olmasına dikkat edildi.

12. Her bir strip üzerine 1 ml daha önceden sulandırılmış Substrate solüsyonu eklendi ve karanlıkta test koşullarına bağlı olarak (oda sıcaklığı gibi) bantların oluşmasına göre 3 ile 20 dakika arasında çalkalamadan inkübe edildi.

Çok uzun süreli inkübasyonlar stribin kararmasına sebep olabileceği ve de yanlış değerlendirmelere yol açabileceği için bu basamak, inkübasyon süresi kontrollü bir şekilde takip edilerek sonlandırıldı .

13. Bant oluşma işlemi striplerin distile su ile yıkanmasıyla sonlandırıldı.

14. Son olarak, stripler kuyucuklardan alınarak kurutma kağıdının arasına konularak kurutuldu ve değerlendirme aşamasına geçildi.



Şekil 10. Twincubator ile hibridizasyon işlemi

5.6. Sonuç Değerlendirme

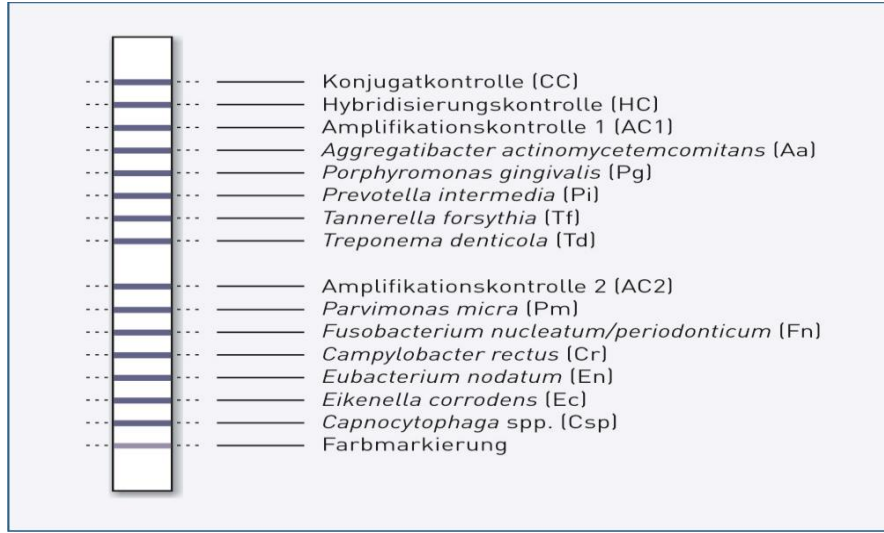
Çalışmanın kabul edilebilir olması için konjugat kontrol bölgesinin ve universal kontrol bölgesinin oluşup oluşmadığına bakıldı.

1) Konjugat Kontrol Bölgesi:

Konjugat kontrolü strip üzerinde konjugat bağlanma ve substrat reaksiyonunun verimliliğini göstermektedir. Konjugat kontrol bandının oluşması gerekmektedir.

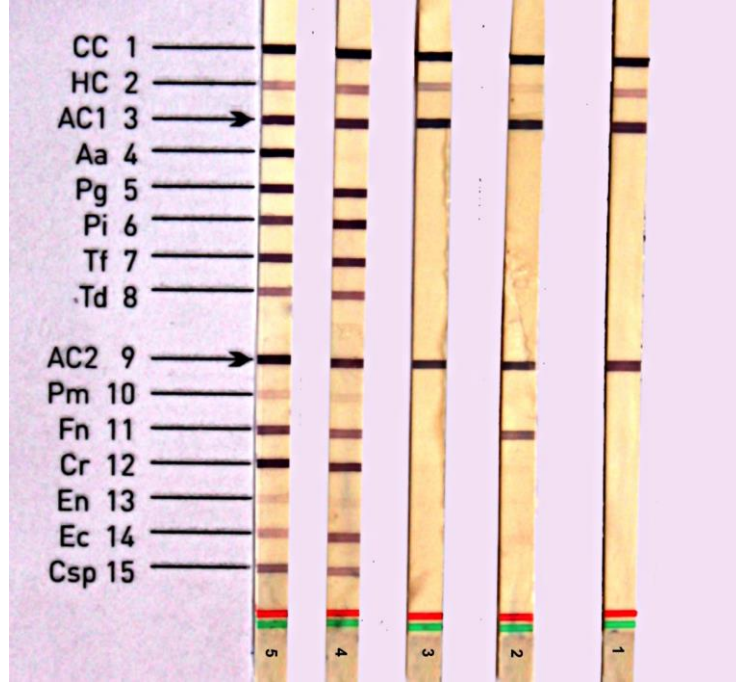
2) Üiversal Kontrol Bölgesi:

Amplifikasyon işleminin verimliliğini gösterir. Her zaman oluşmalıdır. Eğer diğer band paternleri çıkmamışsa Üiversal kontrol mutlaka çıkmalıdır. Ancak diğer band paternleri çıkmışsa üiversal kontrolde çıkan band daha zayıf olabilir. Bu durumda testi tekrar etmeye gerek yoktur.



Şekil 11. micro-IDent plus11 Kiti Değerlendirme Şablonu

Kağıt havlu ile kurutulan stripler, üretici firma tarafından gönderilen şablon üzerine konularak değerlendirme işlemi yapıldı.



Şekil 12. micro IDent plus11 Kiti Sonuç Değerlendirme

1 nolu örnek negatif kontroldür. 2 ve 3 kontrol grubudur. 2 nolu örnekte yalnızca *F. nucleatum*'a, 3 nolu örnekte ise hiçbir bakteri türüne rastlanılmamıştır. 4 nolu örnekte, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. mica*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens* ve *C sp*' ye, 5 nolu örnekte ise, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. mica*, *F.nucleatum*, *C. rectus*, *E. nodatum*, *E. corrodens* ve *C sp*' ye rastlanılmıştır.

5.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler bilgisayar ortamında paket programlar kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama \pm standart deviasyon olarak ifade edildi. Ortalamalar arasındaki farkın karşılaştırılmasında "bağımsız T testi" , ikili gruplarda "Mann Whitney U testi" ve grupların karşılaştırılmasında Ki-Kare testi kullanıldı. $p < 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

6. BULGULAR

Çalışmamıza dahil edilen 37 kronik periodontitisli (17 bayan, 20 erkek, yaş ortalamaları 46,78) ve 33 sağlıklı bireyden (27 bayan, 6 erkek yaş ortalamaları 32,18) elde edilen bulgular, klinik ve laboratuvar bulguları olmak üzere sınıflandırıldı ve değerlendirildi.

6.1. Klinik Bulgular

Çalışmamıza dahil edilen 2 gruba ait bireylerden elde edilen plak indeksi (Pİ), gingival indeks (Gİ), ve sondalama derinliği (SD) ölçümleri Tablo 1’de gösterildi.

Tablo 1. Klinik Parametreler

Gruplar	Pi		Gi		SD	
	X±sd	P	X±sd	P	X±sd	P
Kontrol (n=33)	0,21±0,18	0,000	0,07±0,97	0,000	1,00±0,00	0,000
Hasta (n=37)	2,12±0,58*	0,000	2,52±0,47*	0,000	4,77±0,95 *	0,000

Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir. *, Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermektedir.

Plak indeksi değerleri açısından, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir (P < 0,001).

Benzer değerlendirme gingival indeks için de yapıldı ve plak indeksinin bulgularına paralel bulgular gingival indeks için de elde edildi (P < 0,001).

Sondalama derinliği değerleri açısından iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde farklılıklar tespit edilmiştir ($P < 0,001$).

6.2. Laboratuvar Bulguları

Laboratuvar çalışmalarımızda incelediğimiz mikroorganizmaların gruplar içinde sayı ve yüzde olarak dağılımları Tablo 2’de gösterildi.

Tablo 2. Çalışma gruplarında mikroorganizmaların sayı ve yüzde olarak dağılımı

	Kontrol n= 33 %	Hasta n= 37 %
Aa	0 -	6 16
Pg	0 -	19 51
Pi	0 -	16 43
Tf	1 3	35 94
Td	0 -	26 70
Pm	0 -	21 56
Fn	18 54	35 94
Cr	0 -	29 78
En	0 -	8 21
Ec	1 3	21 56
Csp	5 15	32 86

Kronik periodontitisli 37 bireyin oluşturduğu gruba baktığımızda, *A.actinomycetemcomitans* 6, *P.intermedia* 16, *T.forsythia* 35, *T.denticola* 26, *P. micra* 21, *P.gingivalis* 19, *Capnocytophaga* türleri 32, *F.nucleatum* 35, *C.rectus* 29, *E.nodatum* 8 ve *E.corrodens* 21 bireyde bulundu. Kontrol grubunda ise; *A.actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *C. rectus*, *T. denticola*, *P.*

micra, *E. nodatum*, hiçbir bireyde bulunmadı. *F. nucleatum* 18, *T. forsythia* 1, *E. corrodens* 1, ve *Capnocytophaga* türleri 5 bireyde tespit edildi.

Socransky'nin patojen mikroorganizmaların etkilerini esas alarak yaptığı sınıflandırmaya dayanarak ele aldığımız patojenlerden, periodontitisle çok kuvvetli ilişkisi bulunan mikroorganizmaların, gruplar arası karşılaştırması Tablo 3 'te yansıtıldı.

Tablo 3. Periodontitisle çok kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı

	Aa		Pg		Tf		Td	
Gruplar	n	% p	n	% p	n	% p	n	% p
Kontrol n=33	0	-	0	-	1	-	0	-
		0,01		0,000		0,000		0,000
Hasta n=37	6	16	19	51	35	94	26	70

A. actinomycetemcomitans'ın her iki grup arasında anlamlı dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. (P<0,01).

P. gingivalis'in gruplar arası dağılımına baktığımızda her iki grup arasında anlamlı dağılım gösterdiği tespit edilmiştir (p < 0,001).

T. forsythia ve *T. denticola* içinde yapılan gruplar arası değerlendirmede *P. gingivalis*'in bulgularına paralel bulgular elde edilmiştir (p < 0,001).

Tablo 4. Periodontitisle kuvvetli ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı

	Pi		Cr		En	
Gruplar	n	% p	n	% p	n	% p
Kontrol n =33	0	-	0	-	0	-
		0,000		0,000		0,005
Hasta n=37	16	43	29	78	8	21

P. intermedia, *C.rectus* ve *E.nodatum* için yaptığımız değerlendirmede her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (P< 0,001).

Tablo 5. Periodontitisle orta derecede ilişkili olan patojenlerin gruplar arası dağılımı

	Pm		Fn		Ec		C sp	
Gruplar	n	% p	n	% p	n	% p	n	% p
Kontrol n =33	0	-	18	54	1	3	5	15
		0,000		0,000		0,000		0,000
Hasta n=37	21	56	35	94	21	56	32	86

P. micra, *F. nucleatum*, *E. corrodens* ve *C sp*'nin her iki grupta istatistiksel olarak anlamlı dağılım gösterdiği tesbit edilmiştir (p< 0,001).

Tablo 6. Hasta grubunda sondalama derinliğine göre bakteri dağılımı

	Sondalama Derinliği (Hasta Grubu)		
	Var (X ±sd)	Yok (X ±sd)	P değeri
<i>Aa</i>	5,50± 0,45	4,62±0,96	0,047*
<i>Pg</i>	5,19±0,81	4,32±0,89	0,006**
<i>Pi</i>	4,80±0,99	4,74±0,93	0,854ns
<i>Tf</i>	4,84±0,91	3,4±0,00	0,036*
<i>Td</i>	5,13±0,80	3,90±0,67	0,000***
<i>Pm</i>	5,17±0,80	4,24±0,88	0,003**
<i>Fn</i>	4,78±0,96	4,45±0,91	0,685ns
<i>Cr</i>	4,97±0,86	4,03±0,93	0,018*
<i>En</i>	5,30±0,87	4,62±0,93	0,058ns
<i>Ec</i>	5,23±0,81	4,15±0,75	0,001**
<i>C sp</i>	4,80±0,98	4,45±0,54	0,460ns

ns $p>0,05$ istatistiksel olarak anlamlı değil

* $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı

** $p<0,01$ istatistiksel olarak çok anlamlı

*** $p<0,001$ istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı

Hastaların sondalama derinliği ile bakterilerin bulunma sıklıkları incelendiğinde, *Aa*, *Pg*, *Tf*, *Td*, *Pm*, *Cr*, *Ec* varlığı ile sondalama derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). *Pi*, *Fn*, *En*, *C sp* varlığı ile sondalama derinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

7. TARTIŞMA

Kronik periodontitis, periodontal patojenler ve konak immün sisteminin karşılıklı etkileşimi sonucunda periodontal ataşman kaybı, bağ dokusu ve alveol kemiği yıkımına sebep olabilen diş destek dokularının enflamatuvar bir hastalığıdır (61). Kronik periodontitis'te dişetinde enflamasyon, cep formasyonu, periodontal ataşman ve kemik kaybı, dişetinde ödem ve renk değişikliği, dişeti kanaması klinik bulgular arasında gösterilmiştir (59,60).

Günümüzde periodontal hastalık ve mikrobiyal plak arasında önemli ilişki olduğu ve etyolojik ajanların bakteriyel orijinli olduğu bilinmektedir. Bulgular her bir periodontal hastalığın spesifik tip bakterilerce oluştuğunu ve her birindeki mikrobiyal bakteri florasının farklı olduğunu göstermiştir. Periodontal hastalığın etyolojisinde rol oynayan bu mikroorganizmaların eliminasyonu, enflamasyonunun çözülmesiyle sonuçlanmakta ve periodontal hastalık iyileşmektedir (1, 2,6, 61).

Kronik periodontitisli bireylerde, 11 periodontal patojen mikroorganizmanın PCR-Ters hibridizasyon yöntemiyle kısa sürede incelenmesinin esas alındığı çalışmamızda, periodontal patojen mikroorganizmaların dağılımı klinik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak değerlendirildi.

Bu çalışmada klinik veriler, Silness-Löe'nin plak indeksi ve Löe-Silness'in kanama indeksleri ışığında değerlendirildi (57, 58). Bu indeksler periodontal sağlık durumu hakkında en güvenilir sonuçları verdiklerinden dolayı daha önceleri de pek çok çalışmada tercih edilmiştir (62,63).

Subgingival plak örneği almak için genellikle 2 yöntem kullanılmaktadır. Birincisi steril küretlerin kullanıldığı tekniktir. Diğeri ise paper pointlerin kullanıldığı tekniktir. Steril küretlerle örnek alma işleminde cebin en derin noktasına ulaşmanın zor olduğu bildirilmiştir (64-67). Paper pointler kullanılarak subgingival örnek alma işleminin dezavantajı ise dokulara sıkı tutunan plağın mikroorganizmalarının, paper point üzerine tam olarak tutunamamasıdır. Dikkatli kurulama, supragingival plağın kaldırılması ve diş yüzeyinin temizlenmesi tam olarak örnek toplanması için steril bir ortam sağlamamaktadır. Bundan dolayı; cebe girişinden çıkışına kadar paper pointin subgingival biyolojik materyal ile kontamine olma olasılığını hariç tutmak imkansızdır (66).

Anaerobik türler için periodontal ceplerin apikal bölgeleri uygun yerlerdir. Bu nedenle mikrobiyolojik teşhis için subgingival plak örneklemede paper pointler daha sık kullanılmaya başlanmıştır (64,66). Paper pointin ISO boyutu, hammaddesi, sulkusta kalış süresi önemlidir. Hartroth ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada subgingival örnekleme için optimum paper point kalınlığının ISO 45 olduğunu belirtmişlerdir (66). Ayrıca paper pointler ile aynı araştırmada subgingival örnek almak için daha önceden belirtilen optimum zamanın 60sn olduğunu ancak 5-30 sn arasındaki zamanın da örnek kalitesini etkilemediğini bulmuşlar ve kendileri de çalışmalarında paper pointleri periodontal cep içerisinde 20 sn bekletmişlerdir (66). Yine Nonnenmacher ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışmada paper pointleri periodontal cep içerisinde 20 sn bekletmişlerdir (68).

Bu çalışmaya dahil olan bireylerin subgingival plak örnekleri, literatürlerle uyumlu olarak, ISO 45 kalınlığındaki standart steril paper pointler, periodontal cep içerisinde 30 sn bekletilerek alındı.

Çalışmada mikroorganizma analizleri, daha hızlı spesifik ve duyarlılığı yüksek olan PCR-Ters hibridizasyon yöntemiyle değerlendirildi. Bilindiği gibi periodontal patojenleri tesbit etmek için ELISA, enzim testleri, anaerobik kültür ve PCR gibi birçok teknik kullanılmaktadır (69). Ancak son yıllarda subgingival plakta bulunan seçilmiş özel bakteri türlerinin varlığını ortaya çıkarmada, en fazla PCR tabanlı teknikler kullanılmaktadır. Konu ile ilgili literatürler incelendiğinde, pahalı olması, kantitatif sonuç vermemesi sadece varlık ve yokluk belirtmesi gibi dezavantajlarına rağmen hızlı ve basit olması ayrıca çok az sayıdaki hücrelerden analiz yapılabilmesi PCR tekniğini diğer tekniklerden avantajlı kılmaktadır. Aynı zamanda çok hassas ve spesifik olması diğer bir üstün özelliği olarak tanımlanmıştır (68-71).

Birçok araştırmacı *A. actinomycetemcomitans*'ın agresif periodontitis ile ilişkili olmasına rağmen bazı kronik periodontitisli bireylerde de bulunabildiğini belirtmişlerdir (70,73,74). Kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde Cortelli ve arkadaşları % 41.6, Boutaga ve arkadaşları %27.4, Zambon ve arkadaşları %11 oranında *A. actinomycetemcomitans* tespit etmişlerdir (75-77). Haffajee ve arkadaşları *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerde hastalıklı bireylerden anlamlı olarak fazla bulunduğunu, Ximenez-Fyvie ve arkadaşları da *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerde daha fazla bulunduğunu tespit etmişlerdir. (78, 79). Yapılan benzer çalışmalarda Winkelhoff (69) kronik periodontitisli bireylerde *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontal olarak sağlıklı bireylerden fazla olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerde, literatürlerle uyumlu olarak *A. actinomycetemcomitans*'ın % 16 oranında mevcut olduğu tespit

edilmiştir. Sağlıklı bireylerde *A.actinomycetemcomitans* ' a rastlanılmamıştır. *A. actinomycetemcomitans* ' in cep derinliğinin fazla olduğu bireylerde yüksek oranda olabileceğini düşünmekteyiz.

Holt ve arkadaşları, Slots ve Ting, Socransky ve arkadaşları 1999 yılında ayrı ayrı *P. gingivalis*'in periodontal patojen olarak etiyolojik rolü olduğunu ve kronik periodontitis ile ilişkili olduğunu desteklemiştir (80-82). Lau ve arkadaşları 2004 yılında subgingival plak örneklerinde *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* ve *T. forsythia*'nın varlığını PCR ve kültür teknikleri ile araştırmış ve periodontitisli bireylerin % 81.3'ünde *P. gingivalis* bulunduğunu bildirmişlerdir (67). Ezzo ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmalarında *P.gingivalis*'in kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan mikroorganizmalardan biri olduğunu belirtmişlerdir (74). Zambon ve arkadaşları da bir çalışmalarında kronik periodontitisli bireylerde *P. gingivalis* prevalansını % 100 olarak bulmuşlardır. Slots ve Ting periodontal yıkım olmayan bireylerde de *P. gingivalis* bulunduğunu bildirmişlerdir (81). Griffen ve arkadaşları 1998'de PCR tekniğini kullanarak yaptıkları bir çalışmada periodontal sağlıklı ve periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde *P. gingivalis* varlığını araştırmışlardır. Sağlıklı bireylerle periodontitisli bireyler arasında *P. gingivalis* varlığı açısından çok anlamlı bir fark olduğunu ($p<0.001$) ve bu nedenle *P. gingivalis*'in sağlıklı dentisyonun bir elemanı olamayacağını belirtmişlerdir (94). Winkelhoff ve arkadaşları da 2002 yılında yaptıkları bir araştırmada sağlıklı bireylerin % 10'unda *P. gingivalis* tespit etmişlerdir (69). Bu oran Boutaga ve arkadaşlarının çalışmasında % 9.9, Lau ve arkadaşlarının çalışmasında ise % 13.3 olarak bildirilmiştir (95-69). Bu çalışmada da kronik periodontitisli grubun %51' inde *P.*

gingivalis'e rastlanmıştır. Sağlıklı bireylerde rastlanmamıştır. *P. gingivalis*'in kronik periodontitisle çok kuvvetli ilişkisi olmasından dolayı sağlıklı bireylerde bulunma oranının çok düşük olacağını düşünmekteyiz.

Zambon ve arkadaşları kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde *P. intermedia* prevalansını % 100 oranında bulmuşlardır (77). Boutaga ve arkadaşları, 259 kronik periodontitisli birey ile yaptıkları çalışmada subgingival plak örneklerinin % 83'ünde *P. intermedia* varlığı tespit etmişlerdir (76). Winkelhoff ve arkadaşları da kronik periodontitisli ve sağlıklı bireylerin subgingival plak örneklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında kronik periodontitisli bireylerin % 88'inde, periodontal olarak sağlıklı bireylerin ise % 69'unda *P. intermedia* bulunduğunu belirtmişlerdir (69). Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerin % 43'ünde *P. intermedia* varlığı tespit edilmiştir. Ancak sağlıklı bireylerin hiç birinde *P. intermedia* bulunamamıştır.

Birçok çalışmada *T. forsythia*'nın kronik periodontitisli bireylerde, periodontal olarak sağlıklı bireylerden çok daha fazla miktarda bulunduğu bildirilmiştir (64,67,69,70,75,86). Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda *T. forsythia*'nın kronik periodontitisli bireylerde bulunma oranı % 46-100 arasında, periodontal olarak sağlıklı bireylerde bulunma oranı ise % 5-73 arasında olarak tespit edilmiştir (67,73,78,79,84,85,86). Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerin % 94'ünde *T. forsythia* varlığı tespit edilmiştir. Sağlıklı bireylerin ise % 3'ünde *T. forsythia*'ya rastlanmıştır. Bulgularımız literatürlerle uyumludur.

Kronik periodontitisin en kuvvetli patojenlerinden birisi olan *T. denticola*'nın hastalıklı bireylerde sağlıklı bireylerden anlamlı derecede fazla bulunduğu çalışmalarda belirtilmiştir (74,78,80). Bu çalışmada *T. denticola*'nın

kronik periodontitisli bireylerde periodontal olarak sağlıklı bireylerden fazla bulunduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada moleküler teknikler kullanılmış ve *E. nodatum*'un periodontitis ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Moore ve Moore, *E. nodatum*'un sağlıklı ve gingivitisli bireylerde hiç bulunmadığını veya düşük miktarda bulunduğunu ancak periodontitisli bireylerde ise fazlaca bulunduğunu bildirmişlerdir (87). Booth ve arkadaşları da *E. nodatum*'un hastalıklı bireylerde kontrol bireylerinden anlamlı oranda fazla bulunduğunu bildirmiştir (88). Bu çalışmada da literatürleri destekleyici olarak periodontal olarak sağlıklı bireylerde *E. nodatum* hiç bulunmazken, kronik periodontitisli bireylerde *E. nodatum* varlığı gözlenmiştir.

Haffajee ve arkadaşları, *P. micra*'nın kronik periodontitisli bireylerde, sağlıklı bireylere göre fazla bulunduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirtmişlerdir (78), Winkelhoff da periodontal olarak sağlıklı ve kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerini karşılaştırmış ve sağlıklılarda % 67, hastalıklılarda da % 94 oranında *P. micra* varlığını tespit etmişlerdir (69). Boutaga ve arkadaşları da 2005 yılında kronik periodontitisli bireylerden aldıkları 259 subgingival plak örneğinde *P. micra* varlığının % 97 oranında olduğunu bulmuşlardır (84). *P. micra* kronik periodontitisle orta derecede ilişkilidir. Bu çalışmada kronik periodontitisli bireylerde *P. micra* % 56 oranında tespit edilmiştir. Sağlıklı bireylerde ise *P. micra*'ya rastlanmamıştır.

Bir diğer patojen olan *C. rectus* birçok araştırmacı tarafından kronik periodontitisli bireylerde çalışılmış olup kronik periodontitisli bireylerin subgingival plak örneklerinde % 17-30 arasında dağılım gösterdiği belirtilmiştir

(69,75,85). Winkelhoff ve Haffajee, periodontal olarak sağlıklı bireylerde de bu mikroorganizmanın olduğunu ancak kronik periodontitisli bireylerle arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir (69,78). Bu çalışmada % 78 oranında *C. rectus* varlığı tespit edilmiştir. Farklı popülasyonlarla yapılan çalışmalarda mikroorganizma dağılımının popülasyonlar arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (75,84,89). Sonuçların literatürlerden farklı çıkmasının bununla ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Bu çalışmada incelediğimiz mikroorganizmalardan biri olan *F. nucleatum*' un, diğer araştırmacılar tarafından incelendiği çalışmalarda, kronik periodontitisli bireylerde % 79-98 arasında dağılım gösterdiği bulunmuştur (69,84,87,91). Winkelhoff ve arkadaşları *F. nucleatum*' un kronik periodontitislilerde sağlıklı bireylerden fazla bulunduğunu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (69). Bu çalışmada ise *F. nucleatum*' a kronik periodontitisli bireylerin % 94'ünde, sağlıklı bireylerin ise % 54' ünde rastlanmıştır. *F. nucleatum* subgingival mikrobiyatanın bir elamanı olduğu için sağlıklı bireylerde de görülebileceği düşüncesindeyiz.

Haffajee ve arkadaşları, *E. corrodens*' in kronik periodontitisli bireylerde sağlıklılarından fazla bulunduğunu ancak farkın anlamlı olmadığını belirtmişlerdir (78). Bu çalışmada *E. corrodens*' e, kronik periodontitisli bireylerin % 56' sında sağlıklı bireylerin ise % 3' ünde rastlanmıştır. Sağlıklı bireyler ile kronik periodontitisli bireyler arasında istatistiksel farkın anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Capnocytophaga türlerinin periodontal patojen olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (82,87,92). 2008 yılında Atatürk Üniversitesi' nde yapılan bir çalışmada kronik periodontitisli bireylerin % 60 'ında *Capnocytophaga* türlerine

rastlanmıştır (93). Bu çalışmada *Capnocytophaga* türleri, kronik periodontitisli bireylerde % 86, sağlıklı bireylerde ise % 15 oranında tespit edilmiştir.

Bir bakteri türünün periodontal patojen olarak tanımlanabilmesi için periodontitisli bireylerin çoğunda ve periodontal yıkım olmayan bireylerde de nadir de olsa bulunması gerekmektedir (69). Periodontal patojenlerin periodontal sağlıklı bireylerde de bulunduğu bildirilmiştir. 2009 yılında Ereş ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, PCR yöntemiyle 7 periodontopatojen mikroorganizma araştırılmıştır. Gingivitisli hamile kadınların lezyonlarında *C. rectus*, *T. forsythia*, *T. denticola* sağlıklı bölgelere göre daha yüksek oranda bulunmuştur. Hamile kadınlarda kontrol grubuna göre gingivitisli bölgelerde *P. intermedia* ve *P. gingivalis* görülme sıklığı yüksek bulunurken, *A. actinomycetemcomitans* düşük bulunmuştur. Sağlıklı bölgelerde *P. intermedia* ve *P. gingivalis* görülme sıklığı kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur. *A. actinomycetemcomitans* test grubunda kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunmuştur (97). Winkelhoff periodontal patojenler olan, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *F. nucleatum* ve *P. micra*'nın kontrol grubundaki bireylerde de bulunduğunu bildirmiştir (69). Jervoe-Storm ve arkadaşları subgingival plak örneklerinde *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *T. forsythia* bakterilerinin saptanmasında gerçek zamanlı PZR analizi ile kültür yöntemini karşılaştırmıştır. Kültür yönteminin anaerobik bakterilerin saptanması, örnek alımı sırasında bakterilerin canlılığının korunması ve bakteri sayılarının belirlenmesi gibi bazı sınırları ve zorlukları olduğu, buna karşın PCR analizinin bu durumlarda daha başarılı bulunduğunu belirtmişlerdir (98). Tomazinho ve arkadaşları ise kronik endodontik lezyonu olan

dişlerde kök kanalından elde ettikleri örneklerde *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, ve *P. nigrescens* bakterilerinin varlığını saptamada PCR ile kültür yöntemini karşılaştırmışlar ve kültür yönteminin canlı olmayan ya da sayıca az olan bakterileri saptamada yeterli olmadığını göstermişlerdir (99). Imbronito ve arkadaşları kronik periodontitis, generalize agresif periodontitis ve gingivitisli hastalarda subgingival plakta çeşitli bakteri ve virüs türleri arasındaki farklılıkları araştırmışlar, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*'nın her iki periodontitis grubunda da gingivitis grubuna göre daha fazla olduğunu, ayrıca *A. actinomycetemcomitans*'ın generalize agresif periodontitis grubunda kronik periodontitis grubuna göre daha fazla bulunduğunu göstermişlerdir (100).

Sonuç olarak bu çalışmada; PCR-Ters hibridizasyon yöntemi ile incelemeye aldığımız bakteri türleri periodontitisli bireylerin çoğunda ve periodontal yıkım olmayan bireylerde de belli oranlarda gözlemlendi. Bu özellikleriyle değerlendirmeye alınan tüm mikroorganizmalar periodontal patojen mikroorganizmalardır. Gİ, Pİ ve SD değerleri, hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir. Kronik periodontitisli bireylerde en fazla bulunan bakteriler % 94 *T. forsythia*, % 94 *F. nucleatum*, % 86 *Capnocytophaga* ve % 78 *C. rectus* olarak belirlenmiştir. 11 periodontal patojen mikroorganizmadan 4'üne (*P. micra*, *F. nucleatum*, *E. nodatum* ve *C sp*) kontrol grubunda da rastlanmıştır. Fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. PCR-Ters hibridizasyon yöntemiyle, 11 periodontopatojen mikroorganizmanın belirlenmesi, aynı gün içerisinde başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda, ağız içi anaerob bakterilerin belirlenmesinde zaman alıcı ve kesin sonuç vermeyen yöntemlerin kullanılması yerine, doğru sonuçlara çok kısa sürede ulaşılabilecek PCR-Ters hibridizasyon yönteminin kullanılması uygun görölmektedir.

8. KAYNAKÇA

1. Eisenberg, L, Suchow, R. Coles RS., Deasy MJ. The effects of metronidazole administration on clinical and microbiologic parameters of periodontal disease. *Clin-Prev- Dent.*; 1991, 13:28-34.
2. Harvey R.F. Clinical impressions of a new antibiotic in periodontics: Spiramycine. *J. Can.Dent Assoc.*; 1961, 27: 576-85.
3. Klinge B, Attström R, Karring T, Kisch J, Lewin B, Stolze K. 3 regimens of topical metronidazole compared with subgingival scaling on periodontal pathology in adults.*J.Clin.Periodontol.*; 1992, 708-714.
4. Klinge, B, Kuvatarasuhati, J, Attström, R, Kalfas, S, Edwardsson, S, et al. The effect of topical metronidazole therapy on experimentally induced-periodontitis in the beagle doz .*J.Clin.Periodontol.* ; 1992, 19: 702- 707.
5. Gale K.M, Powell R.N, Seymour GJ, et al. The polymorphonuclear leukocyte chemotactic response to bacterioides melaninogenicus. *J.Periodont.Res.*; 1983, 10: 126-131
6. Joyston-Bechal S, Smales FC, Duckworth R, et al. A follow-up study 3 years after metronidazole therapy for chronic periodontal disease. *J. Clin.Periodontol.*, 1986; 13: 944- 949
7. Jansson H. Studies on periodontitis and analyses of individuals at risk for periodontal diseases. *Swed Dent J Suppl.* 2006; 5-49.
8. Longe JL, Phelps S, Fundukian L, Lehman J, Narins B. Periodontal disease. *The Gale Encyclopedia of Medicine*, 3th Thomson Gale Corporation. 2006: 2844-8.

9. American Academy of Periodontology-Research, Science, and Therapy Committee Treatment of Plaque-induced Gingivitis, Chronic Periodontitis, and Other Clinical Conditions. 2004.
10. Mitchell DA, Mitchell L Periodontology . Oxford Handbook of Clinical Dentistry, 4th Copyright Oxford University Press. 2005: 200-53.
11. Kinane DF, Berglundh T, Lindhe J. Host parasite interactions in periodontal disease, Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Editorler: Lindhe J, Lang N. Munksgaard Pub. Third edition, 2003: 150-178.
12. Kinane DF, Lindhe J, Trombelli L. Chronic periodontitis. Clinical Periodontology and Implant Dentistry, Munksgaard Pub. Fifth edition, 2008: 420.
13. Krall EA. Osteoporosis and the risk of tooth loss. Clin Calcium 2006; 16: 287-290.
14. Flemmig TF. Periodontitis. Ann Periodontol 1999; 4:32-38.
15. American Academy of Periodontology. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. Annals of Periodontology, 1999.
16. Michalek SM, Katz J, Childers NK, Martin M, Balkovetz DF,et al. Microbial/host interactions: mechanisms involved in host responses to microbial antigens. Immunol Res 2002; 26: 223-234.
17. Taubman MA, Kawai T. Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. Crit Rev Oral Biol Med 2001; 12: 125-135.

18. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000* 1997; 14: 9-11.
19. Flemming TF. Periodontitis. *Ann Periodontol* 1994; 4: 32-37.
20. In Newman, Takei, Carranza. *Carranza's Clinical Periodontology*. Philadelphia: Saunders WB, 2002: 398-402.
21. In Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Clinical periodontology and implant dentistry*. Oxford. 2003: 209-214.
22. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A, et al. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 1034-1047.
23. Southerland JH, Taylor GW, Moss K, Beck JD, Offenbacher S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes and coronary artery diseases. *Periodontology 2000* 2006; 40: 130-143.
24. Bascones-Martinez A, Figuero-Ruiz E. Periodontal diseases as bacterial infection. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004; 9: 101-107.
25. Bjelland S, Bray P, Gupta N, Hirsch R, et al. Dentists diabetes and periodontitis. *Australian Dental Journal* 2002; 47(3): 202-207.
26. Nassar H, Kantarcı A, Duke TE. Diabetic periodontitis: a model for activated innate immunity and impaired resolution of inflammation. *Periodontology 2000*, 2007;43: 233-244

27. Kinoshita S, Ishikavva I, Noguchi T: A Color Atlas of Periodontics. Ishiyaku Euro America Inc.. St. Louis, Tokyo, 1985; S: 9, 10, 28, 51, 52, 59.
28. Ataoğlu T, Gürsel M; Periodontoloji. 2. Baskı. 1997; S: 57-58.
29. Bernimoulin J.P; Recent concepts in plaque formation. J. Clin Periodontol 2003; 5: 7-9.
30. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky S.S, et al. Comparison of microbiata of supra and subgingival plaque in health and periodontitis. J. Clin Periodontol 2000, 27: 648-657.
31. Kinane D.F; Causation and pathogenezis of periodontal disease. Periodontology 2000, 2001:25:8-20.
32. Atilla Gül; Periodontoloji ders notları (3. sınıf). E.Ü. Diş Hek. Fak., 1998. S: 29- 31,76-80.
33. Lindhe J; Textbook of Clinical Periodontology. 2nd edition. W.B Saunders, Munksgaard. Copenhagen, 1985; S: 87-103.
34. Armitage G.C; Periodontal diagnoses and calssification of periodontal diseases. Periodontolgy 2000, 2004; 34: 9-21.
35. Westfelt E, Rylander H, Dahlen G, Lindhe J, et al. The effect of supragingival plaque control on the progression of advanced of periodontal disease. J.Clin Periodontol 1998, 25: 536-541.
36. Mariotti A; Dental plaque-Induced gingival diseases. Annals of Periodontology 1999; 4: 7-17.
37. American Academy of Periodontolgy; Parameter on Plaque-Induced gingivitis. Journal of Periodontology 2000; (Supplement), 71: 851-852.

38. Zhang J, Kashket S, Lingström P; Evidence for the early onset of gingival inflammation following short-term plaque accumulation. *J. Clin Periodontol* 2002, 29: 1082-1085.
39. Marakoğlu D, Özdemir H. Periodontopatojenler. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi dergisi 2004; 7(2).
40. Torun ÖY. Yetişkin periodontitisli hastalarda etken bakterilerin PCR ile tanısı. KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı. Yüksek lisans tezi. Trabzon. 1999.
41. Sakamoto M, Umeda M, Benno Y. Molecular analysis of human oral microbiota. *J Periodont Res* 2005; 40: 277-285.
42. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000 2004; 36: 14-26.
43. Hill GB, Ayers OM, Kohan AP, et al. Characteristics and sites of infection of *E. Nodatum*, *E. Timidum*, *E. Brachy* and other asaccharolytic eubacteria. *J Clin Microbiol* 1987; 25(8): 1540-45.
44. Lalla E. (2007). Periodontal infections and DM: when will the puzzle be complete? *J Clin Periodontol*; 34: 913-916.
45. Ohishi K, Yamamoto M, Tomofuji T. (2005) Isolation and characterization of aminopeptidase from *Campylobacter granulosus* ATCC 51502; 20: 67-72.
46. Bayındır Y. Dental infeksiyonlarda doğru antibiyotik kullanımı. İnönü Üniv. Tıp Fak. Dergisi 2003; 10: 213-216.

47. Cianter M, Sprutt DA, Newman MN, Wilson M. (2001). *Capnocytophaga granulosa* and *Capnocytophaga haemolytica*: novel species in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*; 28: 701-705.
48. Gürler N, (2012). Anaerob Bakterilerin Geleneksel yöntemler İle Tanısı. 7. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Ankara, Turkey, 5-8 Haziran.
49. Song Y. PCR-based diagnostics for anaerobic infections. *Anaerobe* 2005; 11: 79-91.
50. Lin YT, Vaneechoutte M, Huang AH, et al. Identification of clinically important anaerobic bacteria by an oligonucleotide array. *J Clin Microbiol* 2010; 48(4): 1283-90.
51. Miller MB, Tang Y-W. Basic concepts of microarrays and potential applications in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22(4): 611-33.
52. Conrads, G. DNA probes and primers in dental practice. *Clin Infect Dis* 2002; 35: S72-7.
53. Nagy E, Urbán E, Sóki J, Terhes G, Nagy K. The place of molecular genetic methods in the diagnostic of human pathogenic anaerobic bacteria. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2006; 53(2): 183-94.
54. Külekçi G. Periodontal mikrobiyoloji, s: 41-82. Çağlayan G (ed), *Periodontoloji*. 2010. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
55. Lundstrom A, Johansson LA, Hamp SE, et al. Effect of combined systemic antimicrobial therapy and mechanical plaque control in patients with recurrent periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984 May;11(5):321-30.

56. Takamatsu N, Yano K, He T, Umeda N, Ishikawa T, et al. Effect of Initial Periodontal Therapy on the Frequency of Detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 1999; 70: 574-580.
57. Silness J, L e H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-134.
58. L e H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-551.
59. Page C, Kornman S. The pathogenesis of human periodontitis: An introduction. *Periodontol* 2000 1997; 14: 9–11.
60. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol*. 2008; 35: 346–61.
61. Gusberti F.A, Syed S.A, Lang N.P, et al. Combined antibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects on the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, 1988; 15: 353-359.
62. Doğru AG, Saribas EE, Doğru M. Tip I ve tip II diabetes mellitus hastalarında diseticep sıvısı beta-glukuronidaz enzim seviyesinin incelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi* 2003; 30:54-60.
63. Roscher T, R sing CK, Gjermo P, Aas AM. Effects of instruction and motivation in the use of electric and manual toothbrushes in periodontal patients. *Braz Oral Res* 2004; 18: 296-300.

64. Eick S, Pfister W. Comparison of microbial cultivation and a commercial PCR based method for detection of periodontopathogenic species in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 638-644.
65. Smola SF, Rettenberger G, Simmet Th, Burysek L. Comparison of sample collection methods for the PCR detection of oral anaerobic pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 2003; 36: 101-105.
66. Harthroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 326-330.
67. Lau L, Sons M, Herrera D, et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: A comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2004, 31: 1061-1069.
68. Nonnenmacher C, Mutters R, Flores de Jacoby L. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localised juvenile periodontitis, rapidly progressive periodontitis. *Clin Microbiol Infect* ; 2001, 7: 213-217.
69. Van Winkelhoff AJ. Microbiology in diagnosis and treatment planning in periodontitis. *Int J Dent Hygiene* 1, 2003; 131-137.
70. Riggio MP, Lennon A, Roy KM. Detection of *Prevotella intermedia* in subgingival plaque of adult periodontitis patients by PCR. *J Periodontol Res* 1998; 33: 369- 376 .

71. Socransky S.S, Haffajee A.D. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000 2005,38,135-187.
72. Conrads G. DNA probes and primers in dental practice. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 35(1): 72-77.
73. Jasim M. Albandar. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology* 2000, Vol. 29, 2002, 177–206.
74. Ezzo P.J, Cutler C:W. Microorganism as risk indicators fr periodontal disease. *Periodontology* 2000 2003,32, 24-35.
75. Cartelli JR., Cartelli SC, Jordan S, Zambon. Prevalance of periodontal pathogens in Brazilians with agressive or chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 2005; 32: 860-866.
76. Boutaga K, Winkelhoff J. Periodontal pathogens: A qantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. *FEMSv immunology and Medical Microbiology* 2005; 45:191-199.
77. Zambon JJ, Reynolds H, Fisher JG, Shlossman M, Dunford R, Genco R, et al. Microbiological and immunological studies of adult periodontitis in patients withnon insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1988; 59: 23-31.
78. Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. Association of Eubacterium nodatum and Treponema denticola with human periodontitis lesions. *Oral Micrbiology Immunology* 2006; 21: 269-282.
79. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS, et al. Comparison of the microbiota of supra ad subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 648-657.

80. Holt SC, Kesavelu L, Walker S, genco CA. Virulence factors of Porphyromonas gingivalis. Periodontology 2000 1999; 20: 168-238.
81. Slots J, Ting M. Actinobacillus actinomycetemcomitans and porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: occurrence and treatment. Periodontology 2000 20:82-121
82. Socransky SS, Haffajee AD, Ximenez-Fyvie LA, Fenes M, Mager D. Ecological considerations in the treatment of periodontal infections. Periodontology 2000 1999; 20: 341-362.
83. Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ, et al. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. J Periodontol 1992; 63: 418-425.
84. Boutaga K, Winkelhoff J. Periodontal pathogens: A quantitative comparison of anaerobic culture and real-time PCR. FEMSv immunology and Medical Microbiology 2005; 45:191-199.
85. Boutaga K, von Winkelhoff AJ, Vanderbroucke G, Savelkoul PHM. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. J Clin Periodontol 2006; 33: 427-433.
86. Jervoe-Storm P-M, Koltzsch m, falk w, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of 5 putative periodontopathogenic bacteria. J Clin Periodontol 2005; 32: 778-783.
87. Moore W.E.C, Moore L.W.H. The bacteria of periodontal diseases. Periodontology 2000,vol5, 1994,66-77.
88. Booth V, Downes J, Van den Ber J, Wade WG. Gram-positive anaerobic bacili in human periodontal disease. J Periodontol Res 2004; 39: 213-220.

89. Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS. Subgingival microbiata of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 996-1002.
90. Jansson H, Lindholm E, Lindh C, Groop L, Bratthall G, et al. Type 2 diabetes and risk for periodontal disease: a role for dental health awareness. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 408-414.
91. Harthroth B, Seyfahrt I, Conrads G. Sampling of periodontal pathogens by paper points: evaluation of basic parameters. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 14: 326-330.
92. Oliver RC, Brown LJ, L e H. Periodontal disease in the US population. *J Periodontal disease* 1998; 69(2):269-278.
93. Orbak R , Diabetli ve Diabetli Olmayan Kronik Periodontitisli Hastalarda Periodontal Patojen Mikroorganizmaların PCR Yöntemi ile Karşılaştırılması. Doktora Tezi, Erzurum; Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
94. Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschenberger ML, Leys E. Prevalance of Porphyromonas gingivalis and periodontal health status. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3239-3242.
95. Boutaga K, von Winkelhoff AJ, Vanderbroucke G, Savelkoul PHM. The additional value of real-time PCR in the quantitative detection of periodontal pathogens. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 427-433.
96. Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol* 1992;63: 418-425.

97. Ereş G. Hamilelik Gingivitisinde Subgingival Plakta Periodontopatojen Olan ve Olmayan Türlerin Varlığının Klinik ve Hormonal Parametrelerle İlişkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2009.
98. Jervøe-Storm P-M, Koltzsch M, Falk W, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodonto pathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 778–783.
99. Tomazinho LF, Avila-Campos MJ. Detection of Porphyromon asgingivalis, Porphyromona sendodontalis, Prevotella intermedia, and Prevotella nigrescens in chronic endodontic infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 285-8.
100. Imbronito AV, Okuda OS, Maria de Freitas N, et al. Detection of herpes viruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, orgingivitis. *J Periodontol* 2008; 79: 2313-21.

9. ÖZGEÇMİŞ

7 Şubat 1987 tarihinde, Malatya iline bağlı Akçadağ ilçesinde dünyaya geldim. 2004 Org. Eşref Bitlis Lisesi mezunuyum. 2011 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldum. 2012 yılında Pedagojik Formasyon Eğitimimi tamamladım. 2012 yılı Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım.

10. EKLER

Ek-1

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu:

Hasta/Gönüllünün Protokol Numarası:

1. Araştırmayla İlgili Bilgiler:

a) Araştırmanın Adı:

Kronik Periodontitisli Hastalarda Anaerob Bakteriyel Etkenlerin Moleküler Yöntemler Kullanılarak Belirlenmesi

b) Araştırmanın İçeriği:

Elazığ Diş Hastanesine başvuran kronik periodontitisli hastalardan toplanacak örneklerden, kültür ve moleküler yöntemler kullanılarak anaerob bakteriyel etkenlerin varlığı araştırılacaktır.

c) Araştırmanın Amacı:

Bu çalışmada; kronik periodontitisli bireylerde anaerob bakteriyel etkenlerin dağılımını, moleküler yöntemler kullanılarak tespit edilmesi ve bu gruptaki anaerob bakteri sıklığı ile, kronik periodontitisin seyrini belirlemede önemli olan, plak indeks'i (Pİ), gingival indeks (Gİ) ve sondalama derinliği (SD) gibi parametreler arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

d) Araştırmanın Niteliği: Tez çalışması, Laboratuvar.

e) Araştırmanın Öngörülen Süresi: Bir yıl.

f) Araştırmaya Katılması Beklenen Gönüllü Sayısı: 70 (yetmiş) gönüllü kişi.

2. Gönüllünün Uygulama Sırasında Karşılaşabileceği Riskler ve Rahatsızlıklar:

Hastalardan örnekler alınmadan önce, hastaların ağızlarını 30 sn kadar klorhexidine ile yıkamaları istenecektir. Örnek almada kullanılan paper pointler diş hekimleri tarafından periodontal ceplere yerleştirilecek, krevikular sıvıyı emmesi için 30 sn bekletilecektir. Yapacağımız işlem hastalara hiçbir rahatsızlık ve ağrı vermeyecektir.

3. Gönüllüler İçin Araştırmadan Beklenen Tıbbi Yarar:

Dişeti hastalıkları, toplumumuzda ve diğer gelişmekte olan ülkelerde oldukça yaygın görülen genel bir sorundur. Bu hastalıklara neden olan bakteriler araştırılarak, çürüklerin engellenmesi ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi bu sorunu çözebilir. Tedavi stratejilerini geliştirebilmek, riskleri ortadan kaldırmak için mikrobiyolojik incelemeler yapılmalıdır.

4. Araştırmaya Seçenek Olan Girişimler ya da Tedaviler Konusunda Bilgilendirilme:

Yukarıdaki araştırmada uygulanacak tetkik ve tedaviye yönelik girişimler dışında hastalığımla ilgili başka uygun yöntemlerin var olduğunu, ancak bu araştırmada uygulanmayacağını öğrendim. Eğer yukarıdaki çalışmaya katılmayı kabul etmezsem sözü edilen öteki tedavileri alma hakkına sahip olduğumun bilincindeyim.

5. Araştırma Konusundaki Soruların Cevaplandırılması:

Araştırmanın yürütülmesi sırasında olası yan etkiler, riskler ve zararlar ile bir hasta olarak haklarım konusunda bilgi almak için aşağıda belirtilen kişilerle bağlantı kurmam yeterli olacaktır:

Adı- Soyadı

Telefon

6.Araştırma Giderleri:

Araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve testler ile tıbbi bakım hizmetleri için benden ya da bağlı bulunduğum sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

7. Gönüllülük, Çalışmayı Reddetme ve Çalışmadan Çekilme Hakkı, Çalışmadan Çıkarılma:

- a) Araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama altında olmaksızın gönüllü olarak katılıyorum.
- b) Araştırmaya katılmayı reddetme hakkına sahip olduğum bana bildirildi.
- c) Sorumlu araştırmacı/hekime haber vermek kaydıyla, hiçbir gerekçe göstermeksizin istediğim anda bu çalışmadan çekilebileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya katılmayı reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimi ve bu durumun şimdi ya da gelecekte gereksinim duyduğum tıbbi bakımı hiçbir biçimde etkilemeyeceğini biliyorum.
- d) Çalışmanın yürütücüsü olan araştırmacı/hekim ya da destekleyen kuruluş, çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle ya da almakta olduğum tıbbi bakımın kalitesini yükseltmek amacıyla, benim onayımı almadan beni çalışma kapsamından çıkarabilir.

8. Gizlilik:

Çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılar ya da yayınlarda sunulabilir. Ancak, butür durumlarda kimliğim kesin olarak gizli tutulacaktır.

9.Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu” adlı metni kendi anadilimde okudum ya da bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve

anlamı, yazılı ve sözlü olarak açıklandı. Aklıma gelen bütün soruları sorma olanağı tanındı ve sorularıma doyurucu cevaplar aldım. Çalışmaya katılmadığım ya da katıldıktan sonra çekildiğim durumda, hiçbir yasal hakkımdan vazgeçmiş olmayacağım. Bu koşullarla, söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın gönüllü olarak katılmayı kabul ediyorum.

Bu metnin imzalı bir kopyasını aldım.

Gönüllünün: Görüşme Tanığının: Açıklamaları Yapan Araştırmacının:

Adı Soyadı: Adı Soyadı: Adı Soyadı:

Adres: Adres: Adres:

Telefon: Telefon: Telefon:

İmza: İmza: İmza:

Tarih: Tarih: Tarih:

Ek-2

**DIŞ PLAKLARININ MİKROBİYAL ANALİZİ YAPILAN HASTALARA
AİT BİLGİ FORMU**

Tarih :

Hasta Adı-Soyadı:

Cinsiyet ve Yaş:

Sosyoekonomik durumu:

Beslenme eğilimi:

Sigara kullanıyor mu:

Alkol kullanıyor mu:

Herhangi bir sistemik rahatsızlığı (kalp, diabet vs.) var mı:

Ağız bakım alışkanlığı:

Yapılan operasyon:

Diş kaybı var mı (neden):

Çürük nedeniyle restore edilmiş diş var mı:

Çürük diş sayısı :

Diş eti kanaması var mı :