

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN LOKAL SALINIMLI
ANTİBİYOTİK TAŞIYICISI OLARAK KULLANIMININ
MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİNİN İN-VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

AYBARS PİŞİREN
UZMANLIK TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ELİF ÖNCÜ

KONYA 2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN LOKAL SALINIMLI
ANTİBİYOTİK TAŞIYICISI OLARAK KULLANIMININ
MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİNİN İN-VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ**

AYBARS PİŞİREN
UZMANLIK TEZİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. ELİF ÖNCÜ

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından **201924008** proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA 2021

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Görevlisi **Aybars PİŞİREN**'in “**Trombositten Zengin Fibrinin Lokal Salınımlı Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanımının Mikrobiyolik Etkilerinin İn-Vitro Değerlendirilmesi**” başlıklı tezi tarafımdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Diş Hekimliğinde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA / 2021

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Elif ÖNCÜ

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. İsmail MARAKOĞLU

Selçuk Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Fatma UÇAN YARKAÇ

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dekanlığı tarafından 17.05.2021 tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Rıza TUNÇDEMİR

Necmettin Erbakan Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi Dekanı

BEYANAT

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih: 17.05.2021

Aybars PİŞİREN



TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde her konuda bilgi ve tecrubesini paylaŐan, mesleki nosyon ve etik değerleri ile her zaman yol gosterici olan değerli hocam, tez danıŐmanım Doç. Dr. Elif ÖNCÜ'ye;

Uzmanlık eğitimimde her konuda tecrübe ve fikirleri ile farklı bakıŐ ağıları sağlayan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Fatma UÇAN YARKAÇ'a;

Uzmanlık eğitimimin temellerini atmamda emekleri olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahmet AfŐin ERBEYOĞLU'na;

Değerli katkıları ile tez çalışmamızda emekleri olan Prof. Dr. Metin DOĞAN, Dr. Öğr. Üyesi İpek DUMAN ve Uzm. Dr. Selin YUMAKÇI'ya;

Periodontoloji ailesi içerisinde geçirdiğim süre boyunca desteklerini esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarım ve personelimize;

Bu zorlu sürecin her anında yer alan Dr. Dt. Onur AĞMAZ ve Ebru ERKUL AĞMAZ'a;

Doğduğum günden bugüne, her zaman yanımda olan, üzerimde sonsuz emeği olan, her türlü fedakârlığı gösteren sevgili ağabeyim Dr. Dt. Akın Buğra PİŞİREN ve sevgili annem Őeyda PİŞİREN'e;

Sonsuz teŐekkürler.

İÇİNDEKİLER

<i>İç Kapak</i>	<i>i</i>
<i>Tez Onay Sayfası</i>	<i>ii</i>
<i>Beyanat</i>	<i>iii</i>
<i>Benzerlik Raporu</i>	<i>iv</i>
<i>Teşekkür</i>	<i>v</i>
<i>İçindekiler</i>	<i>vi</i>
<i>Kısaltmalar ve Simgeler Listesi</i>	<i>viii</i>
<i>Şekiller Listesi</i>	<i>x</i>
<i>Tablolar Listesi</i>	<i>xi</i>
<i>Grafikler Listesi</i>	<i>xii</i>
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. <i>Periodontitis</i>	5
2.2. <i>Periimplantitis</i>	8
2.3. <i>Periodontal ve Periimplant Hastalıklarda Oral Mikrofloradan İzole Edilebilen Bakteriler</i>	11
2.3.1. <i>Gram-Pozitif Fakültatif Koklar</i>	12
2.3.2. <i>Gram-Pozitif Anaerobik Koklar</i>	13
2.3.3. <i>Gram-Pozitif Fakültatif ve Anaerobik Rodlar</i>	13
2.3.4. <i>Gram-Negatif Fakültatif Koklar</i>	13
2.3.5. <i>Gram-Negatif Anaerobik Koklar</i>	13
2.3.6. <i>Gram-Negatif Fakültatif Rodlar</i>	14
2.3.7. <i>Gram-Negatif Anaerobik Rodlar</i>	14
2.3.8. <i>Spiral Mikroorganizmalar</i>	14
2.4. <i>Biyofilm ve İçeriği</i>	14
2.5. <i>Periodontal ve Periimplant Hastalıkların Etiyolojisinde Mikrobiyal Faktörlerin Rolü</i>	18
2.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.5.2. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	23

2.6. <i>Periodontal ve Periimplant Hastalıkların Tedavisinde Antibiyotik Kullanımı</i> ...	25
2.6.1. <i>Azitromisin</i>	27
2.6.2. <i>Metronidazol</i>	29
2.7. <i>Lokal Salınımlı Antimikrobiyal Ajanlar ve Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanılan Materyaller</i>	30
2.8. <i>Trombositten Zengin Fibrin (TZF)</i>	34
2.8.1. <i>Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (L-TZF)</i>	37
2.8.2. <i>Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF)</i>	39
2.8.3. <i>Titanyum ile Hazırlanan Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF)</i>	39
2.8.4. <i>Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (I-TZF)</i>	40
2.8.5. <i>TZF'nin Lokal Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanımı</i>	41
2.9. <i>Hipotez ve Amaç</i>	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	43
3.1. <i>L-TZF Hazırlığı</i>	44
3.2. <i>L-TZF'ye Antibiyotik Katılması</i>	45
3.3. <i>L-TZF'nin Fiziksel Özellik Ölçümü</i>	48
3.4. <i>Antibiyoqram Deneyi</i>	49
3.5. <i>İstatistiksel Analiz</i>	54
4. BULGULAR	55
4.1. <i>Antibiyotik İlave Edilmiş ve Antibiyotik İlave Edilmemiş L-TZF'lerin Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması</i>	55
4.2. <i>Antibiyotik İlave Edilmiş ve Antibiyotik İlave Edilmemiş L-TZF'lerin Zamana Bağlı Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması</i>	57
4.3. <i>Bakteri İnhibisyonu Değerlerinin Zamana Bağlı Karşılaştırılması</i>	61
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	68
7. KAYNAKLAR	69
8. ÖZGEÇMİŞ	94
9. EKLER	95
<i>Ek-A: Etik Kurul Onayı</i>	95
<i>Ek-B: Bilgilendirilmiş Hasta Olur Formu</i>	96

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

%	: Yüzde işareti
<	: Küçüktür işareti
>	: Büyüktür işareti
A-TZF	: Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ANUG	: Akut nekrotizan ülseratif gingivitis
CAS	: Kimyasal Abstrakt Servisi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOS	: Diş eti oluşu sıvısı
EPS	: Ekstraselüler polimerize madde
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FN-A	: <i>Fusobacterium nucleatum</i> ile azitromisin ilave edilmiş L-TZF
FN-M	: <i>Fusobacterium nucleatum</i> ile metronidazol ilave edilmiş L-TZF
FN-K	: <i>Fusobacterium nucleatum</i> ile antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF
gr	: Gram
I-TZF	: Enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin
IFN	: İnterferon
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IL	: İnterlökin
L-PRF	: Leucocyte and platelet-rich fibrin
L-TZF	: Lökosit ve trombositten zengin fibrin
L-TZP	: Lökosit ve trombositten zengin plazma
L	: Litre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
MMP	: Matriks metalloproteinaz
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NPY	: Nöropeptit Y
p	: Anlamlılık değeri
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
pH	: Asitlik veya alkalilik derecesi

PMN	: Polimorfonükleer hücre
PRF	: Platelet-rich fibrin
RM ANOVA	: Tek yönlü tekrarlanan ölçüm analizi
RNA	: Ribonükleik asit
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
SA-A	: <i>Staphylococcus aureus</i> ile azitromisin ilave edilmiş L-TZF
SA-M	: <i>Staphylococcus aureus</i> ile metronidazol ilave edilmiş L-TZF
SA-K	: <i>Staphylococcus aureus</i> ile antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF
T-TZF	: Titanyum ile hazırlanan trombositin zengin fibrin
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
Th	: T yardımcı hücre
TLR	: Toll benzeri reseptör
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TZF	: Trombositin zengin fibrin
TZP	: Trombositin zengin plazma
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
®	: Kayıtlı tescilli marka simgesi
™	: Tescilli marka simgesi
°C	: Santigrat derece simgesi
\bar{x}	: Aritmetik ortalama sembolü
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
μm	: Mikrometre
μmg	: Mikromiligram

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Mikrobiyal bakteri kompleksleri ve türleri.....	20
Şekil 2.2. Santrifüjlenen kanın tabakaları.....	35
Şekil 2.3. Lökosit ve trombosit zengin fibrin.....	38
Şekil 2.4. Geliştirilmiş trombosit zengin fibrin.....	39
Şekil 2.5. Titanyum ile hazırlanan trombosit zengin fibrin.....	40
Şekil 3.1. TZF tüpleri.....	44
Şekil 3.2. Santrifüj cihazı.....	45
Şekil 3.3. Antibiyotik ilave edilerek veya ilave edilmeden santrifüjlenmiş L-TZF örnekleri.....	45
Şekil 3.4. Steril distile su.....	46
Şekil 3.5. Azitromisin.....	46
Şekil 3.6. Metronidazol.....	47
Şekil 3.7. Kompresyon ile membran oluşturulması için kullanılan set.....	47
Şekil 3.8. Williams periodontal sondu.....	48
Şekil 3.9. Schaedler agar.....	49
Şekil 3.10. Schaedler broth.....	50
Şekil 3.11. <i>F. nucleatum</i> için anaerobik ortam hazırlığı.....	51
Şekil 3.12. <i>İn-vitro</i> çalışma öncesinde, <i>S. aureus</i> için üreme denemesi.....	51
Şekil 3.13. <i>S. aureus</i> ekimi gerçekleştirilmiş koyun kanlı agar yüzeyine; SA-A, SA-M, SA-K çalışma gruplarının ve <i>F. nucleatum</i> ekimi gerçekleştirilmiş Schaedler agar yüzeyine; FN-A, FN-M, FN-K çalışma gruplarının yerleştirilmesi.....	52
Şekil 3.14. İnkübatör.....	53
Şekil 3.15. Williams periodontal sondu ile inhibisyon değeri ölçümü.....	54
Şekil 4.1. SA-A grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat; SA-M grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat; SA-K grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat sonundaki bakteriyel inhibisyon değişimleri.....	58
Şekil 4.2. FN-A grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat; FN-M grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat; FN-K grubunun 24. saat, 48. saat, 72. saat, 96. saat sonundaki bakteriyel inhibisyon değişimleri.....	60

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Elde edilen L-TZF'lerin boyut ölçümlerinin ortalaması..... 48

Tablo 4.1. Ölçümlerin karşılaştırılması..... 61



GRAFİKLER LİSTESİ

- Grafik 4.1.** SA-A, SA-M ve SA-K grupları için çalışma boyunca ölçülen maksimum bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 56
- Grafik 4.2.** FN-A, FN-M ve FN-K grupları için çalışma boyunca ölçülen maksimum bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 56
- Grafik 4.3.** SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki bakteri inhibisyonu değişimlerinin mm cinsinden ifade edilmesi..... 58
- Grafik 4.4.** FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki bakteri inhibisyonu değişimlerinin mm cinsinden ifade edilmesi..... 60
- Grafik 4.5.** Tüm çalışma grupları için 24. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 61
- Grafik 4.6.** Tüm çalışma grupları için 48. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 62
- Grafik 4.7.** Tüm çalışma grupları için 72. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 62
- Grafik 4.8.** Tüm çalışma grupları için 96. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi. 63

ÖZET

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN LOKAL SALINIMLI ANTİBİYOTİK TAŞIYICISI OLARAK KULLANIMININ MİKROBİYOLOJİK ETKİLERİNİN İN-VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Aybars PİŞİREN

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ / KONYA 2021

Amaç: Bu *in-vitro* çalışmanın amacı, antibiyotikler için lokal ve sürekli salınım sağlayan bir taşıyıcı olarak, lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-TZF) kullanıma olasılığını araştırmaktır.

Yöntem: L-TZF; venöz ponksiyon ile alınmış olan kana, santrifüj öncesinde antibiyotik ilave edilerek (azitromisin (dihidrat) 100 mg/ml, metronidazol 5 mg/ml) veya antibiyotik ilave edilmeden (kontrol grubu) hazırlanmıştır. L-TZF'lerin antibakteriyel özellikleri ve lokal salınım etkinlikleri, L-TZF hazırlık aşamasını takiben farklı zaman aralıklarında (0, 24, 48, 72, 96 saat) *Staphylococcus aureus* ve *Fusobacterium nucleatum* ile oluşturulmuş antibiyogram testlerinde incelenmiştir.

Bulgular: Antibiyotik ilave edilmeden hazırlanan L-TZF'ler (kontrol grubu), her iki bakteri türünün eliminasyonu için minör antibakteriyel aktivite gösterirken; antibiyotik ilave edilerek hazırlanan L-TZF'ler önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir ($p<0.05$) ve hazırlık aşamasından 96 saat sonrasına kadar antibakteriyel özellikleri korunmuştur. Azitromisin ilave edilen L-TZF hem *S. aureus*, hem de *F. nucleatum* eliminasyonunda etkili bulunurken, metronidazol ilave edilen L-TZF *F. nucleatum* eliminasyonunda etkili bulunmuştur.

Sonuçlar: Antibiyotiklerin ilave edilmesi ile elde edilen L-TZF, *S. aureus* ve *F. nucleatum*'a karşı uzun süreli antibakteriyel etki göstermiştir. Bu çalışmanın sonunda elde edilen modifiye L-TZF preparatlarının, L-TZF'nin yararlı iyileştirici özelliklerine ek olarak periodontal enfeksiyonların etkin tedavisi veya oral cerrahi prosedürler sonrası enfeksiyon riskini azaltmak için kullanılabilmesi ve lokal salınım amacı ile antibiyotikler için taşıyıcı materyal olabileceği gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Azitromisin, *Fusobacterium nucleatum*, Lokal Salımlı Antibiyotik, Metronidazol, *Staphylococcus aureus*, Trombositten Zengin Fibrin

ABSTRACT

IN-VITRO EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL EFFECTS OF THE USE OF PLATELET-RICH FIBRIN AS A LOCAL RELEASE ANTIBIOTIC CARRIER

Aybars PIŞİREN

PERIODONTOLOGY DEPARTMENT

SPECIALIZATION THESIS / KONYA 2021

Purpose: The purpose of this *in-vitro* study is to evaluate the possibility of using leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) as a local and sustained release agent for antibiotics.

Method: L-PRF was prepared by adding antibiotics (azithromycin (dihydrate) 100 mg/ml, metronidazole 5 mg/ml) into blood samples obtained by venepuncture prior to centrifuge or without adding any antibiotics (control group). Antibacterial properties and local release effects of L-PRFs were analyzed by antibiogram tests with *Staphylococcus aureus* and *Fusobacterium nucleatum* at different time intervals (0, 24, 48, 72, 96 hours) after the L-PRF preparation phase.

Results: While there was minor antibacterial activity in L-PRFs, prepared without adding antibiotics (the control group) for elimination of both types of bacteria; there was a significant antibacterial activity in L-PRFs, prepared by adding antibiotics ($p<0.05$), and the latter preserved its antibacterial properties as long as 96 hours after the preparation phase. It was found out that L-PRF with added azithromycin was active for the elimination of both *S. aureus* and *F. nucleatum* and L-PRF with added metronidazole was active only for the elimination of *F. nucleatum*.

Conclusion: L-PRF obtained by adding antibiotics had a long-term antibacterial effect against *S. aureus* and *F. nucleatum*. It was observed that modified L-PRF preparations obtained as a result of this study could be used for effective treatment of periodontal infections or reduction of the post oral surgery infection risk and be carriers for antibiotics for local release in addition to their useful curative effects.

Keywords: Azithromycin, *Fusobacterium nucleatum*, Local Release Antibiotic, Metronidazole, Platelet-Rich Fibrin, *Staphylococcus aureus*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Trombosit konsantreleri, tam kan işlendikten sonra santrifüj yoluyla elde edilmektedir. Bu konsantreler arasında lökosit ve trombositten zengin plazma (L-TZP), trombositten zengin plazma (TZP) veya büyüme faktörleri açısından zengin fibrin bulunmaktadır (Ehrenfest ve ark. 2014). Bununla birlikte, preparasyondaki zorluklar, tutarsız sonuçların varlığı ve plazma oluşturmak için sığır trombini eklenmesi gerekliliği; tamamen otojen olan, ikinci nesil lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-TZF) konsantrasyonlarının geliştirilmesine yol açmıştır. TZP ve L-TZP'den farklı olarak, trombositten zengin fibrinin (TZF) hazırlanması ve kullanımı basittir; antikoagülan ilavesi gerektirmemektedir ve tamamen otojendir (Castro ve ark. 2017).

TZF hazırlanırken, venöz kan alınması yoluyla elde edilen otojen kan, tüpler içerisinde santrifüj edildikten sonra, tüp içerisinde üç tabaka oluşmaktadır. Bunlar; kırmızı kan hücreleri, trombosit açısından zayıf plazma ve trombositler, sitokinler ve büyüme faktörlerinden zengin olan ara TZF tabakasıdır. TZF tabakası; fibrin, trombositler, lökositler, monositler ve büyüme faktörleri açısından zengin bir içeriğe sahiptir (Castro ve ark. 2017). TZF kullanımının; mikrovaskülerizasyonu, epitelyal hücre göçünü ve hızlandırılmış hücre sel iyileşmeyi desteklediği bulunmuştur (D. M. Dohan ve ark. 2006a). Diş hekimliği ve tıp alanında TZF konsantrasyonlarının birçok cerrahi yöntem ile beraber kullanımı rapor edilmiştir. Bunlar; kemik defektlerinin tedavisi, dental implant cerrahisi, diş çekim socketinin korunması, kemik ve yumuşak dokuların ogmentasyonu, iyileşmeyen yaraların tedavisi ve oral cerrahi sonrası komplikasyonların azaltılmasıdır (Ozgul ve ark. 2015; Öncü ve Alaaddinoglu 2015; Tunali ve ark. 2016; Canellas ve ark. 2017; Öncü ve Kaymaz 2017). TZF ham pıhtı formunda veya enjekte edilebilir formda kullanılabilceği gibi, sıklıkla ham pıhtının kompresyonu sonucu oluşan membran formunda uygulanmaktadır (Polak ve ark. 2019).

Oral cerrahi sonrası yara iyileşmesi her zaman enfeksiyon riski taşımaktadır. Antisepsi yeterli bir şekilde uygulandığında bile, mikroorganizmalar alt doku tabakalarına sızabilmekte ve kolonize olabilmektedir. Bu durum, cerrahi bölgede doku bütünlüğünün kaybına ve iyileşmenin bozulmasına neden olmaktadır. Bu

nedenle, başarılı bir cerrahi prosedür için enfeksiyon kontrolü bir ön koşul olarak tanımlanmıştır (L. C. Yang ve ark. 2015). Periodontal cerrahileri takiben operasyon öncesi ve operasyon sonrası kullanılan sistemik antibiyotiklerin yararlı kullanımı için zayıf kanıtlar mevcuttur (Kreutzer ve ark. 2014). Dirençli bakterilerin gelişme olasılığı ile ortaya çıkan olumsuz etkileri nedeniyle, sistemik antibiyotiklerin kullanımı tartışmalı hale gelmektedir (Lodi ve ark. 2012).

Lokalize periodontitis formlarında ve tedaviye yanıt vermeyen veya tekrarlayan periodontitis durumlarında, antimikrobiyallerin lokal olarak uygulanmasının faydaları birçok çalışmada gösterilmiştir (Walker ve ark. 1993; Killoo 2002; Bonito ve ark. 2005). Lokal antimikrobiyallerin kullanımı, bakteri miktarını azaltmasının yanı sıra, sistemik antimikrobiyallerin kullanımında görülen hastayla uyumun sağlanması mecburiyeti faktörünü de elimine ederek, lokalize bölgelerdeki mekanik tedaviyi desteklemektedir (Hanes ve Purvis 2003). Lokal antimikrobiyallerin destekleyici kullanımı, sadece diş taşı temizliği ve kök yüzeyi düzleştirilmesi ile karşılaştırıldığında önemli derecede faydalı etki göstermiştir (Hanes ve Purvis 2003; Bonito ve ark. 2005). Lokal periodontal olarak kullanılabilen antimikrobiyal ajanlar arasında tetrasiklin, minosiklin, metronidazol, ofloksasin, klindamisin, amoksisilin ve klavulanik asit, klorheksidin, metilen mavisi, setilpiridinyum klorür ve sanguinarin bulunmaktadır. Antimikrobiyal ajanların uygulanması için kullanılan araçlar arasında solüsyonlar, macunlar, akrilik şeritler, boşluklu fiberler, monolitik fiberler, biyolojik olarak çözünebilen jeller ve rezorbe olabilen selüloz ve kollajen bulunmaktadır (Jergen Slots ve Rams 1990; T. Rams ve Slots 1992; T. E. Rams ve Slots 1996). Periodontoloji literatüründeki çoğu lokal antimikrobiyal çalışma; tetrasiklin, metronidazol veya klorheksidin ile yapılmıştır (Kornman 1993). Klorheksidinin, irrigasyon sonrasında uzun bir süre ağız boşluğunda kaldığı, böylece yavaş salınım özelliğinde işlev görmesini sağlayan kimyasal bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Kök yüzeyine uygulanan tetrasiklinlerin de yavaş tutulum ve salınım özellikleri vardır (Baker ve ark. 1983).

Periodontal hastalıklı olgularda, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* ve *Tannerella forsythia* gibi anaerobik ve fakültatif anaerobik spesifik mikroorganizmalar sıklıkla gözlemlenmektedir. Periodontal ve periimplant enfeksiyonlarda floraya hakim olan periodontopatojenler turuncu ve

kırmızı kompleks bakterilerdir. Özellikle periodontal ataçman kaybının arttığı bölgelerde *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *T. forsythia*, *Treponema denticola* gibi periodontopatojen mikroorganizmalar baskın türlerdir (A. D. Haffajee 1994; A. Haffajee ve ark. 1998; Ximénez-Fyvie ve ark. 2000).

Staphylococcus aureus, hastane kaynaklı cerrahi yara enfeksiyonlarının nedeni olabilmektedir. Ayrıca periimplantitis enfeksiyonlarında da sıklıkla izole edilebilmektedir (Humphreys 2012). *S. aureus* ve *P. gingivalis* çevre hücrelerde veya dokularda canlı kalma yeteneğine sahiptir ve enfeksiyona neden olarak iyileşmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Bielecki ve ark. 2007). *F. nucleatum*, diş yüzeylerinde erken ve geç kolonizörler arasında köprü görevi görmektedir. Ayrıca, bu bakterilerin yumuşak dokuya güçlü invazyon özellikleri vardır ve çoğu zaman tek başına mekanik tedavi bu bakterilerin eliminasyonu için yeterli olmamaktadır (A. Haffajee ve ark. 1988; Claesson ve ark. 1990; Kolenbrander ve London 1993).

Trombosit açısından zengin ürünlerin antibakteriyel özelliklerden yoksun olduğu, ancak intravenöz amoksisilin ve klavulanik asit uygulamasından sonra, *Enterococcus faecalis* üzerinde antibakteriyel özellik gösterdikleri belirtilmiştir (Cieslik-Bielecka ve ark. 2007). Ayrıca, küçük ve büyük biyomoleküller için, gelişmiş bir lokal dağıtım sistemi üretmek amacı ile çeşitli biyoaktif maddelerin sıvı TZF ile birleştirilmesi olasılığı tartışılmıştır (R. J. Miron ve Zhang 2018). Bu bilgiler birlikte ele alındığında, TZF hazırlığı öncesinde hastalara sistemik antibiyotik uygulaması yerine, TZF içeriğine antibiyotiklerin eklenmesi ve lokal antibiyotik taşıyıcısı olarak kullanılmasının daha ideal bir yaklaşım olabileceği belirtilmiştir. Bugüne kadar hiçbir yöntem, antimikrobiyal ajanların TZF içerisine dahil edilebildiğine dair kesin kanıt sağlamamış olmasına rağmen; yakın zamanda TZF santrifüj işlemi sırasında içerisine antibiyotik ilave edilerek yapılan bir çalışmada, TZF'nin antibiyotik taşıyıcısı olabileceği gösterilmiştir (Polak ve ark. 2019).

Polak ve arkadaşları çalışmalarında; metronidazol, penisilin veya klindamisin'in TZF'ye ilave edilmesi ile 4 güne kadar uzun süreli salınım sağlayan antimikrobiyal preparat üretmişlerdir. Test edilen tüm antibiyotiklerin ayrı ayrı ilave edilmesiyle hazırlanan TZF, test edilen tüm zaman aralıklarında (hazırlık aşamasından itibaren 0 ile 96 saat arasında) *F. nucleatum* üremesini önemli ölçüde

inhibe ettiği bildirilmiştir. TZF'ye ilave edilen antibiyotiklerin aktivitelerini en az 4 gün koruduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, antibiyotik ilave edilmiş TZF'lerin oral cerrahi sonrası yavaş salınlı antibakteriyel ajan olarak kullanılabilirlerini göstermiştir. Bu alışma sonucunda, TZF'nin antibiyotiklerle kombine kullanılmasının, oral cerrahi sonrası enfeksiyon riskini azaltabileceği ve TZF'nin yararlı iyileşme özelliklerini arttırabilmesinin mümkün olabileceği çıkarımında bulunulmuştur (Polak ve ark. 2019).

Bu *in-vitro* alışmanın amacı, antibiyotikler için lokal salınlı bir taşıyıcı olarak, L-TZF kullanılması olasılığını araştırmaktır. Bu alışma sonucunda L-TZF'ye antimikrobiyal özellikler kazandıran basit ve pratik bir yöntem oluşturulması ve L-TZF'nin etkinliğinin *in-vitro* olarak kanıtlanması amaçlanmıştır. Bu durumun, L-TZF'nin bilinen yararlı iyileştirici özelliklerine ek avantaj sağlayacağı, iyileşmeyen inatçı periodontitis ve periimplantitis vakalarında ve çeşitli oral cerrahi prosedürlerde sistemik antibiyotik ihtiyacını azaltacağı düşünülmektedir. Bu alışma sonuçları ile birlikte; temini zor ve yüksek maliyet gerektiren lokal antimikrobiyal ajanlara karşı, daha kolay elde edilebilir, düşük maliyetli ve tamamen otojen olan bir lokal salınlı antimikrobiyal ajanın elde edilmesi hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Periodontitis

Gingivitis, en yaygın görülen periodontal hastalıktır. Bu hastalık, dental plak ve diş taşı ile ilgili mikroorganizmaların toksinleri gibi lokal irritan maddelerin varlığının bir sonucudur. Enflamasyon, diş eti dokularında ülseratif, nekrotik ve proliferatif değişikliklere neden olabilmektedir. Diş eti sulkusu derinleşebilir ve bu durum da destekleyici periodontal dokulara zarar verebilmektedir. Destekleyici dokuların zarar görmesi geri döndürülemez hale gelebilmektedir. Enflamasyonun devam etmesi, gingival dokuların hiperplastik değişikliklerine ve gingival marjin sınırının koronal yönde ilerlemesine neden olabilmektedir (Thakkar ve Misra 2017).

Periodontitis, periodontal dokular üzerinde farklı bakteri türlerinin koloni oluşturup çoğalması ile oluşan ve bakteri-konak etkileşimleri sonucu destekleyici periodontal dokuların yıkımı ile karakterize bakteriyel bir enfeksiyondur. Dental plakta bulunan periodontopatojen mikroorganizmalar, periodontal destekleyici dokuları tahrip eden bir enflamatuvar bağışıklık yanıtını başlatmaktadır. Periodontitis için, mikrobiyal disbiyozis gereklidir; ancak bu durum tek başına periodontal yıkım için yeterli değildir. Periodontopatojenlere karşı verilen konak yanıtı, genetik olarak değiştirilemez bir risk faktörüdür. Sistemik faktörlerin çoğu, bireylerin tedaviye yatkınlığını veya direncini değiştirmede rol oynayan modifikasyon veya eliminasyon adaylarıdır. Değiştirilebilir bazı sistemik faktörler; sigara içmek, yetersiz kalsiyum ve D vitamini alımı, kontrol altında olmayan diyabet, obezite, stres ve osteopenidir (Bosshardt 2018).

Periodontitis, disbiyotik plak biyofilmi ile ilişkili olan ve periodontal dokuların aşamalı yıkımı ile karakterize olan, kronik, çok faktörlü bir hastalıktır. Başlıca özellikleri arasında; klinik ataçman kaybı ile ortaya çıkan, periodontal destek doku kaybı, radyografik olarak değerlendirilebilen alveolar kemik kaybı, periodontal cep oluşumu ve diş eti kanaması sayılabilmektedir. Periodontitis, yüksek prevalansı nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. Bu durum, diş kaybına ve bunun sonucu olarak oral yaralanmalara, olumsuz bir çiğneme fonksiyonuna, bu duruma bağlı olarak sekonder oklüzal travmaya ve olumsuz dental estetiğe yol açabilmektedir; sosyal eşitsizlik sebebi olabilmektedir ve yaşam kalitesini bozabilmektedir.

Periodontitis; dental hastalıkların ve çiğneme bozukluklarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır, önemli dental tedavi maliyetleriyle sonuçlanmaktadır ve genel sağlık üzerinde olumsuz etkiye sahip olmaktadır (Papapanou ve ark. 2018).

Periodontal hastalıklar, konak yanıtı ile dental plak bakterileri tarafından başlatılmaktadır. Periodontitis, mikrobiyal atak ile konak savunması arasında bir dengesizlik meydana geldiğinde gelişmektedir. Periodontal tedavi esas olarak mikrobiyal atağı azaltarak dengeyi yeniden kurmayı amaçlamaktadır. Tedavi; oral hijyen motivasyonu, mekanik diş taşı temizliği, kök yüzey düzleştirilmesi gibi faz I periodontal tedavileri ve cep eliminasyonu amacı ile yapılan periodontal cerrahi tedaviler gibi faz II basamaklarından oluşmaktadır ve tedavi ile periodontal cebin eliminasyonu hedeflenmektedir. İdame fazı ile de bu sağlık durumunun korunması amaçlanmaktadır. Bazı durumlarda tedaviye ek olarak lokal veya sistemik antibiyotiklerden yararlanılabilmektedir. Günlük ve düzenli gerçekleştirilen kişisel oral hijyen ve düzenli profesyonel periodontal bakım ile mikrobiyal atak düşük bir seviyede tutulduğu takdirde, periodontal stabilite sağlanmakta ve çoğu durumda eski sağlık haline döndürülebilmektedir (Axelsson ve Lindhe 1981).

2018 yılında periodontal hastalık sınıflandırması yenilenmiştir. Bu sınıflamada; hastalıkların patofizyolojisi hakkındaki mevcut bilgilere dayanarak, üç farklı periodontitis formu belirlenerek, önceki sınıflandırmada (Armitage 1999) çözüme kavuşturulmamış periodontal hastalık alt başlıkları ele alınmıştır. Yeni eklenen hastalık grupları; nekrotizan periodontitis, sistemik hastalıklar ile ilişkili periodontitis ve daha önce bilinen isimleriyle “kronik periodontitis” ve “agresif periodontitis” alt tiplerini içeren periodontitis tablosudur (Caton ve ark. 2018; Papapanou ve ark. 2018). Yeni sınıflandırma ayrıca bir evrelendirme ve derecelendirme sistemi kullanarak, periodontal hastalığın hem şiddetini, hem de ilerlemesini yorumlama olanağı sağlamaktadır. Bu yaklaşım, hem geçmiş hastalık deneyimini, hem de gerekli tedavilerin karmaşıklığını göz önünde bulundurarak periodontitisi çok boyutlu olarak karakterize etmektedir. Hastalar, klinik ataçman seviyesi veya kemik kaybı göz önünde bulundurularak, ana kriter (şiddet evrelendirmesi) olarak dört aşamada (I, II, III, IV) sınıflandırılmıştır. Sondlama derinliği, kemik kaybı tipi (vertikal veya horizontal) ve furkasyon tutulumu gibi diğer faktörler, karmaşıklık evrelendirmesini çözümlmek için kullanılmıştır. Daha

sonra şiddet evrelemedeki bulgular, karmaşıklık evrelendirmesi bulguları ile tamamlanmış ve periodontitis nedeniyle kaybedilmiş diş sayısı, geçmiş hastalık kapsamının bir ölçüsü olarak da tedavi karmaşıklığının bir parçası olarak kabul edilmiştir. Hastalar, geçmiş hastalığın ilerleme hızına göre belirlenen üç dereceye (A, B, C) ayrılmıştır. Genel ağız hijyeninin, yıkım seviyesiyle veya sigara ve kontrolsüz diyabet gibi risk faktörlerinin varlığı ile orantılı olduğu belirtilmiştir. (Maurizio S Tonetti ve ark. 2018).

Diş eti oluşu bölgesinin karışık mikrobiyotasının veya diş eti oluşunda yer alan bakterilerin saf kültürlerinin, periodontal dokuları ve bileşenlerini yıkabilen çeşitli enzimler ürettiği gösterilmiştir. Bu mikroorganizmalar; kollajenaz, çeşitli proteazlar, hiyaluronidaz, kondroitin sülfataz, P-glukuronidaz, fibrinolizin, deoksiribonükleaz ve ribonükleaz üretmektedir (S. S. Socransky 1970).

Periodontal enflamasyon, birçok sistemik hastalık patogeneğinde önemli rol oynamaktadır ve düşük dereceli kronik sistemik enflamasyonun, olumsuz sistemik sonuçlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Libby ve ark. 2002). Periodontal dokuların kronik enfeksiyonu olan periodontitisin, yüksek seviyelerde C-reaktif protein ve diğer enflamatuar belirteçlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir. (Loos ve ark. 2000; G. Slade ve ark. 2000; Noack ve ark. 2001; G. D. Slade ve ark. 2003). Kohort ve vaka kontrol çalışmaları periodontitisin; endotel disfonksiyonu, ateroskleroz, miyokard enfarktüsü ve felç riskinde artış ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Deneysel modellerde periodontopatojenlerin; trombosit agregasyonunu, köpük hücre oluşumunu ve aterom plaklarının gelişimini arttırdığı gösterilmiştir (Herzberg ve Meyer 1998; Beck ve ark. 2001; L. Li ve ark. 2002; Amar ve ark. 2003; Lalla ve ark. 2003; Qi ve ark. 2003; F. A. Scannapieco ve ark. 2003).

Periodontal tedavinin başlıca amacı, enflamatuar hastalık sürecini durdurmaktır. Periodontitisin etiolojisi ve patogeneğine ilişkin mevcut anlayış, bu hastalığın, davranışsal ve sistemik risk faktörleri tarafından değiştirilebilen, bakteriyel agresyon ve konak yanıtının kompleks bir etkileşiminin sonucu olduğunu göstermektedir. Periodontopatojenler genellikle, hem doğal antibakteriyel savunma mekanizmalarına, hem de topikal antibakteriyel ilaçlara dirençli olan subgingival ortamdaki kök yüzeyine tutunmuş biyofilmler halinde bulunmaktadır (Stoodley ve

ark. 2002). Tedavi protokolü, subgingival biyofilmin mekanik olarak uzaklaştırılmasını ve periodontal sağlığa uygun bir lokal ortamın ve mikrofloranın oluşturulmasını içermektedir. Sondlama derinliği ölçümlerini, klinik ataçman seviyesini ve sondlamada kanama varlığını içeren parametreler, periodontal durumu değerlendirmek ve izlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Periodontal sağlığı iyileştirmek için uygulanacak tedaviler; sondlama derinliklerini azaltmayı, klinik ataçman seviyelerini korumayı veya iyileştirmeyi ve sondlamada kanama insidansını azaltmayı amaçlamaktadır (Heitz-Mayfield ve ark. 2002). Yalnızca subgingival biyofilmlerin mekanik olarak uzaklaştırılması ile yapılan tedavilerin başarılı olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle, periodontal sağlık, hasta tarafından yeterli plak kontrolü ve periyodik profesyonel tedavi koşulları ile korunabilmektedir (Sanz ve ark. 2008). Mekanik tedavi; periodontal tedavinin temelidir ve ağız hijyeni uygulamaları ile birlikte bakteriyel kolonizasyonun, subgingival biyofilmin ve diş taşının uzaklaştırılmasını amaçlamaktadır (Cobb 1996; Van der Weijden ve Timmerman 2002; Hallmon ve Rees 2003; Adriaens ve Adriaens 2004; Suvan 2005; Lea ve Walmsley 2009). Kronik periodontitis, tedavinin destekleyici aşamasında yeterli plak kontrolünün sağlanması koşulu ile cerrahi olmayan tedaviye ek olarak, cerrahi mekanik tedavi ile de başarılı bir şekilde tedavi edilebilmektedir (Jan Lindhe ve Nyman 1975; Nyman ve ark. 1977; Axelsson ve Lindhe 1981).

2.2. Periimplantitis

Dental implant çevresindeki dokularda gelişen lezyonlar, genel olarak periimplant hastalıkları olarak isimlendirilmektedir. Periodontal hastalıkların sınıflandırılmasına uygun olarak, periimplant hastalıkları da iki alt başlık içermektedir. Bu alt başlıklar, gingivitise karşılık gelen periimplant mukozitis ve periodontitise karşılık gelen periimplantitistir. Bu iki periimplant hastalığı, ilk kez I. Avrupa Periodontoloji Çalıştay'ında, bir konsensüs raporunda tanımlanmıştır. Periimplant mukozitis, fonksiyonda olan bir dental implantı çevreleyen yumuşak dokularda geri dönüşümlü bir enflamatuar reaksiyon olarak tanımlanırken; periimplantitis, fonksiyonda olan bir dental implantın etrafındaki destekleyici kemik kaybıyla ilişkili doku yıkımı görülen enflamatuar reaksiyonlar olarak tanımlanmıştır (Albrektsson ve Isidor 1994). Mevcut kanıtlar, periimplant mukozitisin geri dönüşümlü olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, periimplant mukozitis tedavi

edilmediği takdirde periimplantitis gelişebileceği için, periimplant mukozitisin erken teşhisi ve tedavisi büyük önem taşımaktadır (Salvi ve ark. 2012). Periimplant mukozitisin başarılı tedavisinin, hastalık tablosunun periimplantitise ilerlemesini önleyebileceği bildirilmiştir (Jepsen ve ark. 2015).

Periodontal ve periimplant hastalıkların sınıflandırılması ile ilgili 2017 Dünya Periodontoloji alıştayı'nda; periimplantitis tanısı için, sondlamada kanama ve/veya süpürasyon varlığının, önceki muayenelere kıyasla artan sondlama derinliğinin ve krestal kemik seviyesi değişikliklerinin ötesinde kemik kaybının varlığının esas alınmasına karar verilmiştir. nceki muayene verilerinin mevcut olmadığı klinik durumlarda periimplantitis tanısı; kanama ve/veya sprasyonun varlığına ek olarak, dental implantın intraosseöz koronal kısmının sondlamada en az 6 mm apikal derinlikte olmasını ve en fazla 3 mm apikal kemik seviyesine sahip olmasını gerektirmektedir (Berglundh ve ark. 2018).

Periimplant hastalıklar, ağırlıklı olarak gram-negatif anaerobik mikroflora ile ilişkilendirilmiştir (Pontoriero ve ark. 1994; Augthun ve Conrads 1997; Salcetti ve ark. 1997; Mombelli ve Lang 1998; Leonhardt ve ark. 1999; Quirynen ve ark. 2002; Quirynen ve ark. 2006). Periimplantitis lezyonlarında *S. aureus* varlığı gösterilmiştir (Leonhardt ve ark. 1999; Renvert ve ark. 2007). Bu durum, *S. aureus*'un yabancı cisimler üzerinde sıklıkla kolonileşebilmesi hakkında bilgi vermektedir ve titanyum üzerinde kolonileşmesini de desteklemektedir (L. Harris ve Richards 2004).

Periimplant mukozitis ve periimplantitis lezyonlarının histolojik özelliklerinin biyopsiler ile analiz edildiği bir çalışmada, periimplant mukozitisi olan bölgelerdeki hasarlı hücre lezyonlarının, T hücreleri tarafından domine edildiği bildirilmiştir (N. Zitzmann ve ark. 2001). Periimplantitiste lezyon, periimplant cep epiteline apikal yönde genişlemektedir ve sadece plazma hücreleri ve lenfositler değil, aynı zamanda yüksek sayıda polimorfonükleer hücreler (PMN) ve makrofajlar içermektedir (Gualini ve Berglundh 2003; Berglundh ve ark. 2004).

Periimplantitis enfeksiyonları erken ve geç evre olarak ikiye ayrılabilir. Erken evre enfeksiyonlar, dental implantların yerleştirilmesinden sonra ilk birkaç hafta içerisinde veya osseointegrasyon sürecinde ortaya çıkmaktadır. Bu durum esas olarak, cerrahi sırasındaki kontaminasyondan veya iyileşme

aşamasında dental implantların ağız ortamına açılmasından kaynaklanmaktadır. Geç evre enfeksiyonlar, osseointegrasyon süreci ve dental implantların protez üst yapılarının tamamlanmasından sonra ortaya çıkmaktadır. Periimplantitis gelişimi için risk göstergesi olan bazı lokal, sistemik ve hasta ile ilişkili faktörler vardır (Renvert ve Polyzois 2015). Lokal risk faktörleri; abutment yüzey özellikleri, abutment dizaynı, periimplant bölgede bulunan keratinize doku miktarı ve artık siman varlığıdır (Abrahamsson ve ark. 1998; N. U. Zitzmann ve ark. 2002; Roos-Jansåker ve ark. 2006; Pongnarisorn ve ark. 2007; Zigdon ve Machtei 2008; Linkevicius ve ark. 2013; Schwarz ve ark. 2013; Schwarz ve ark. 2014; John ve ark. 2015). Sistemik risk faktörleri; sigara kullanımı, radyoterapi tedavileri ve diyabet varlığıdır (Ferreira ve ark. 2006; Roos-Jansåker ve ark. 2006; Karbach ve ark. 2009; Rinke ve ark. 2011). Hasta ile ilişkili faktörler ise; dental implantın fonksiyon süresi, interlökin-6 (IL-6) G174C polimorfizmi gibi genetik özellikler, cinsiyet ve dental muayene sıklığıdır (Ferreira ve ark. 2006; Roos-Jansåker ve ark. 2006; Máximo ve ark. 2008; Ladeira Casado ve ark. 2013).

Muayene sonrası alınacak karar dental implantın ağız içerisinde kalması ise, tedavi protokolü öncelikle enfeksiyonu kontrol altına almaya odaklanmalıdır. Cerrahi olmayan tedavi her zaman ilk tercih olmalıdır. Bu durum, klinisyene dokuların iyileşme yanıtını ve hastanın etkili ağız hijyeni prosedürlerini yerine getirme yeteneğini değerlendirmek için zaman tanımaktadır. Periimplant kemik rezorpsiyonu arttıkça ve periimplant cep derinleştikçe, cerrahi olmayan tedavinin etkinliği azalmaktadır. Bununla birlikte, yeterli bir ağız hijyeni sağlanamazsa, cerrahi tedavi endikasyonu sorgulanmalıdır. Cerrahi prosedürlerin endike olmadığı hastalarda veya dental implant yüzeyini dekontamine etmek için erişilmesi zor olan bölgelerde alternatif cerrahi olmayan tedaviler düşünülmelidir. Bazı çalışmalarda mekanik tedaviler topikal antimikrobiallarla desteklenmiştir. Bu tür kombine tedavilerden sonra, sondlama derinliklerinde ve sondlamada kanama kriterlerinde daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Renvert ve ark. 2006; Salvi ve ark. 2007; Renvert, Lessem ve ark. 2008). Periimplantitis tedavisinde bakterisit etkilerinden dolayı lazer uygulamalarının faydalı bir alternatif olabileceği gösterilmiştir (Renvert, Roos-Jansåker ve ark. 2008). Ancak, Er:YAG lazerlerinin kullanımının geleneksel

mekanik tedaviye göre avantaj sağladığına dair sınırlı kanıt bulunmaktadır (Renvert ve ark. 2011).

Ayrıca mekanik tedavilere yardımcı olarak antimikrobiyal ağız gargaralarının kullanımı, periimplant mukozitis lezyonlarında mekanik tedavinin sonucunu iyileştirmiştir. Yardımcı klorheksidin uygulamasının klinik ve mikrobiyolojik parametreler üzerinde sınırlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, yardımcı lokal veya sistemik antibiyotiklerin sondlamada kanama ve cep derinliklerini azalttığı gösterilmiştir (Renvert, Roos-Jansåker ve ark. 2008).

2.3. Periodontal ve Periimplant Hastalıklarda Oral Mikrofloradan İzole Edilebilen Bakteriler

Mikroorganizmaların buldukları konaklarda hayatta kalabilmek için, çevrelerindeki tüm değişiklikleri algılamaları ve bu koşullara göre uyum sağlamaları gerekmektedir. Mikroorganizmalar genellikle virülans genlerinin ekspresyonunu kullanarak çevresel faktörlere adapte olmaktadır ve bu durum farklı çevresel koşullar altında optimal büyüme ve hayatta kalma durumuna izin vermektedir. Bu adaptasyon stratejisi; besinler, asitlik veya alkalilik derecesi (pH), sıcaklık, oksijen varlığı, redoks potansiyeli, mikrobiyal flora ve osmolaritedeki değişikliklerin algılanması ve bunlara tepki verilmesi gibi faktörlerden oluşmaktadır (Mekalanos 1992; Finlay ve Falkow 1997).

Diş eti sulkusu ve periodontal cep bölgeleri, oral mikrobiyal floranın tüm elemanlarının çoğalması ve kolonileşmesi için elverişli ortamı oluşturmamaktadır ve bu bölgelerde sadece sınırlı sayıda yüksek derecede evrimleşmiş türler kolonize olabilmektedir (S. S. Socransky ve Haffajee 1992). Bu durumun bazı bakteri türlerinin üremesini sınırlayan pH, sıcaklık ve oksijen varlığından kaynaklandığı varsayılmaktadır. Diş eti sulkusunda ölçülen sıcaklığın, 30°C ile 38°C arasında ve ortalamasının 35°C olduğu gösterilmiştir (S. Socransky ve Haffajee 1991). Ortalama sıcaklık, enflame periodontal ceplerde daha yüksek olup, 36.8°C ölçülmüştür (Kung ve ark. 1990; Fedi Jr ve Killoy 1992). Periodontal ceplerdeki pH değerlerinin, 7.0 ile 8.5 arasında olduğu bildirilmiştir (Forscher ve ark. 1954; Kleinberg ve Hall 1969; Cimasoni 1983).

Konak tarafından verilen enflamatuar yanıt esnasında, hastalığın ilerlemesine paralel olarak, periodontal dokularda pH'nin yükseldiği ve bakteri florasında ağırlıklı olarak gram-pozitif aerobik floradan, gram-negatif anaerobik floraya geçiş olduğu gösterilmiştir (Marsh ve ark. 1994; Cutler ve ark. 1995). Periodontal cepler derinleştikçe ve enflamatuar konak yanıtı indüklendikçe pH artmaktadır (Bickel ve Cimasoni 1985). *F. nucleatum*'un, diğer periodontopatojenlerle agregasyon oluşturma yeteneği nedeniyle, diş yüzeylerinde erken ve geç kolonizörler arasında bir köprü görevi gördüğü bildirilmiştir (Singer ve Buckner 1981; Van Dyke ve ark. 1982; Dzink ve ark. 1985; Moore ve ark. 1985; Brook ve Walker 1986; Pianotti ve ark. 1986; Dzink ve ark. 1988; A. Haffajee ve ark. 1988; Ohmori ve ark. 1988; Claesson ve ark. 1990; Persson ve ark. 1990; Bartold ve ark. 1991; Sorsa ve ark. 1992; Kolenbrander ve London 1993; Moore ve Moore 1994). *S. aureus*'un periodontal hastalık etkeni patojenler ile birlikte biyofilm oluşturarak, hastalığı şiddetlendirmede rol oynadığı gösterilmiştir (A. Smith ve ark. 2001; Cuesta ve ark. 2010; Lam ve ark. 2012; Passariello ve ark. 2012).

2.3.1. Gram-Pozitif Fakültatif Koklar

İnsan oral dokularının gram-pozitif fakültatif kokları genellikle biyokimyasal özelliklere göre sınıflandırılmaktadır. Gram-pozitif, fakültatif, katalaz-pozitif koklar genellikle, *Staphylococcus* cinsinin üyeleri olarak kabul edilmektedir. Katalaz-negatif mikroorganizmalar ise genellikle, *Streptococcus* cinsinin üyeleri olarak kabul edilmektedir. *Enterococcus* cinsi mikroorganizmalar, yüksek sıcaklıklar (45°C), düşük sıcaklıklar (10°C), yüksek tuz konsantrasyonları (%6.5 sodyum klorür), alkali koşullar (pH 9.6) veya %1'lik metilen mavisi gibi elverişsiz ortamlarda yaşayabilmektedir. Bu grup, oral mikrobiyotanın yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır. Diğer mikroorganizmalar; *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* ve *Streptococcus mitis* türleridir. Levan adı verilen bir fruktan oluşturabilen *Streptococcus salivarius* bu bölgede bulunabilmektedir, ancak dil veya tükürükte bulunmasının kantitatif olarak daha önemli olduğu bildirilmiştir (Krasse 1954; Gibbons ve ark. 1964; J Carlsson 1967; S. S. Socransky 1970). *S. mutans*'ın, genel olarak mannitol ve sorbitolu fermente edebilen, düz yüzey çürüklerini ve periodontal hastalığı indükleyebilen ve dekstran oluşturabilen bir mikroorganizma olduğu gösterilmiştir (Guggenheim ve ark. 1965; Gibbons ve ark. 1966; J Carlsson 1967;

Sharawy ve Socransky 1967; Jan Carlsson 1968; Edwardsson 1968; Guggenheim 1968). *S. sanguis* de ayrıca dekstran oluşturmaktadır; ancak sorbitol veya manitolu fermente edememektedir (J Carlsson 1967; Jan Carlsson 1968; Edwardsson 1968; Guggenheim 1968).

2.3.2. Gram-Pozitif Anaerobik Koklar

Bu grup, diş eti oluğu mikrobiyotasının yaklaşık %7'sini oluşturmaktadır (Gibbons ve ark. 1963). İzolatların çoğu *Peptostreptococcus* cinsi içerisinde incelenmektedir (S. S. Socransky 1970).

2.3.3. Gram-Pozitif Fakültatif ve Anaerobik Rodlar

İzolatların yaklaşık %35'ini oluşturan gram-pozitif rodların, diş eti oluğu bölgesinde bulunan en büyük mikroorganizma grubu olduğu bildirilmiştir (Gibbons ve ark. 1963). Bu grupta, her bir izolatın morfolojik ve biyokimyasal özelliklerinin, diğer izolatlardan farklı olduğu ve cins veya türleri ayırmanın zor olduğu gösterilmiştir (Rasmussen ve ark. 1966). Gram-pozitif fakültatif mikroorganizmalar genellikle *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Odontomyces*, *Bacterionema* ve *Lactobacillus* cinsleri içerisinde incelenmektedir. Anaerobik mikroorganizmalar genellikle *Actinomyces*, *Leptotrichia* ve *Propionibacterium* cinslerinin üyeleri olarak kabul edilmektedir (Rosebury 1962). *Actinomyces naeslundii* gibi gram-pozitif rodların suşlarının periodontal hastalığı başlatabildiği gösterilmiştir (Jordan ve Keyes 1964; S. Socransky ve ark. 1970).

2.3.4. Gram-Negatif Fakültatif Koklar

Bu mikroorganizmalar, oral mikrobiyotanın küçük bir yüzdesini oluşturmaktadırlar ve genellikle *Neisseria* cinsinin bir üyesi olarak kabul edilmektedir (Ritz 1967).

2.3.5. Gram-Negatif Anaerobik Koklar

Gram-negatif anaerobik koklar, *Veillonella alkalescens* ve *Veillonella parvula* olarak izole edilebilmektedir (Rogosa 1964). *Veillonella* türlerinin, ağız

boşluğunda sayısal olarak anlamlı olduğu ve toplanan dış eti debrisı izolatlarının yaklaşık %11'ini oluşturdukları bildirilmiştir (Gibbons ve ark. 1963).

2.3.6. Gram-Negatif Fakültatif Rodlar

Bu tip mikroorganizmaların, dış eti oluşunda az sayıda buldukları gösterilmiştir. Gram-negatif fakültatif mikroorganizmalar, herhangi bir cinse tutarlı bir şekilde uyumlu olmamakla birlikte, geçiş grubu olarak kabul edilmektedir (S. S. Socransky 1970).

2.3.7. Gram-Negatif Anaerobik Rodlar

Bu mikroorganizmalar dış eti debrisı içeriğinin ortalama %16'sını oluşturmaktadır (Gibbons ve ark. 1963). Çoğu izolatın; *Vibrio*, *Bacteroides*, *Fusobacterium* ve *Selenomonas* cinslerinden birisi ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (W. Loesche ve Gibbons 1965). *Bacteroides melaninogenicus*, kanlı agarda siyah pigment oluşturması ile kolay şekilde ayırt edilebilmektedir. *Bacteroides oralis*, *Veillonella sputorum*, *F. nucleatum* ve *Selenomonas sputigena* gibi diğer mikroorganizmalar; karbonhidrat fermantasyonu, motilite ve morfoloji farklılıkları ile ayırt edilebilmektedir (S. S. Socransky 1970).

2.3.8. Spiral Mikroorganizmalar

Spiral mikroorganizmalar veya spiroketler, dış eti oluşu mikrobiyotasının yaklaşık %1 ile %5'ini oluşturmaktadır. *T. denticola*, *Treponema macrodentium*, *Treponema oralis* ve *Borrelia vincentii* kültür ortamında yetiştirilebilmekte ve morfolojik veya biyokimyasal olarak ayırt edilebilmektedir (Hampp 1945; Hampp ve ark. 1948; Bladen ve Hampp 1964; Listgarten ve Socransky 1965; S. Socransky ve ark. 1969).

2.4. Biyofilm ve İçeriği

Biyofilmler, birbirlerine veya bir yüzeye tutunmuş ve kendileri tarafından üretilen ekstraselüler polimerize madde (EPS) içerisinde bulunan mikroorganizmaların agregasyonları olarak tanımlanmaktadır (Marsh 2005; Kolenbrander ve ark. 2006; Madigan ve Martinko 2006; Hojo ve ark. 2009). Olgun

biyofilmin bileşenlerinin, yaklaşık %5-25 oranında bakteriyel hücreler ve %75-95 oranında glikokaliks matriks olduğu gösterilmiştir (Geesey 1994). Doğal dişler etrafında bakteriyel biyofilmlerin varlığı; periodontal sağlık, gingivitis veya periodontitisin klinik tanısı ile ilişkilendirilmiştir (S. S. Socransky ve Haffajee 2005). Benzer şekilde, dental implantlarda mikrobiyota varlığının periimplant sağlığı, periimplant mukozitisi veya periimplantitisin klinik tanısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Mombelli ve ark. 1987; Pontoriero ve ark. 1994; Augthun ve Conrads 1997; Salcetti ve ark. 1997; Lee ve ark. 1999; Leonhardt ve ark. 2003).

Oral mikroflorada 700'den fazla farklı bakteri türü olduğu bildirilmiştir (Marsh 2005; Kolenbrander ve ark. 2006; Madigan ve Martinko 2006; Hojo ve ark. 2009). Bu bakteriler dişlerde, dilde, ağız mukozasında, sert damakta, çürük lezyonlarında ve periodontal ceplerde kolonize olmaktadır. Ağız boşluğundaki mikrofloranın dağılımı bazı faktörlerle şekillenmiştir. Çoğu tür, periodontal cep tarafından sağlanan anaerobik ortam gibi değişkenlik gösteren lokal ortam koşulları ve içerikleri nedeniyle, belirli alanları tercih etmektedir (Paster ve ark. 2006). Mikroflora; hem dental ve periodontal olarak sağlıklı, hem de dental ve periodontal hastalığı olan bireylerde bulunmaktadır. *S. mutans* ve benzeri bakterilerin çürük dişlere sahip hastalarda, *P. gingivalis* ve benzeri bakterilerin periodontitisli hastalarda arttığı gösterilmiştir (Huang ve ark. 2011).

Dental implantların yerleştirilmesini takiben ilk birkaç haftalık dönem içerisinde, periimplant sulkustan elde edilen örneklerde mikroorganizmaların bulunabileceği gösterilmiştir (Quirynen ve ark. 2005; De Boever ve De Boever 2006; Quirynen ve ark. 2006). Buna ek olarak, dental implant uygulamasının cerrahi prosedürünün tamamlanmasından yaklaşık 30 dakika sonra, dental implant bölgelerinden elde edilen örneklerde bakteri varlığı doğrulanmıştır (Fürst ve ark. 2007). Ayrıca, dental implantlarda cerrahi prosedürler sonrasında hızla oluşan kompleks mikrobiyotanın, komşu dişlerde var olan mikrobiyotadan farklı olmadığı sonucuna varılmıştır (De Boever ve De Boever 2006). Bununla birlikte, dental implantların yerleştirilmesinden kısa bir süre sonra, *Peptostreptococcus micros*, *F. nucleatum* ve *Prevotella intermedia*'nin egemen olduğu bir alt mukozal mikrobiyotanın kurulabildiği gösterilmiştir (Van Winkelhoff ve ark. 2000).

Dental implantların serbest yüzey enerjisinin, bakteriyel biyofilmlerin oluşumunu kolaylaştırdığı bulunmuştur (Teughels ve ark. 2006). Ayrıca oral bakteri suşlarının fizikokimyasal yüzey özellikleri, dental implant materyallerine tutunabilmelerini sağlamaktadır (Mabboux ve ark. 2004). Erken kolonizasyon modelleri; adsorbe edilmiş tükürük proteinlerinin yapısı ve dental implantların yüzey özellikleri ile açıklanabilmektedir (Nakou ve ark. 1987; Mombelli ve ark. 1988; Van Winkelhoff ve ark. 2000). Periodontal olarak enfekte olmuş bölgelerden, yeni yerleştirilmiş dental implant bölgelerine bakteri transferi riski olduğu gösterilmiştir. Bu durum, periodontitise yatkın olan hastalarda önem arz etmektedir (Mombelli ve ark. 1995).

Periodontal enfeksiyonların ve oral bakterilerin bir takım sistemik hastalıklar için potansiyel risk faktörleri oldukları bildirilmiştir (F. Scannapieco ve ark. 1998; F. A. Scannapieco 1998; X. Li ve ark. 2000; Ramseier ve ark. 2009). Periodontitis varlığında bakteri seviyelerinin, subgingival biyofilmin miligramı başına sayıca 10^8 'den fazla mikroorganizmaya ulaşabildiği ve bu biyofilmin kan dolaşımına anatomik yakınlığı sebebi ile bakteri ve ürünlerinin yanı sıra, enflamatuvar araçların ve immünokomplekslerin sistemik yayılımının kolaylaştığı gösterilmiştir (F. A. Scannapieco 1998). Benzer şekilde, ağız boşluğunun ve subgingival biyofilmin, bazı patojenlerin vücudun uzak bölgelerine, özellikle immün sistemi baskılanmış konak dokulara yayılmasını sağlayan bir rezervuar görevi görmesinin mümkün olduğu gösterilmiştir (Souto ve ark. 2006; Botero ve ark. 2007; Gonçalves ve ark. 2007; de Souza Gonçalves ve ark. 2009). Hastane enfeksiyonları ve antimikrobiyallere karşı direnç ile ilişkili olan bu patojenler, periodontal hastalığı olan bireylerin subgingival biyofilminde yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (Colombo ve ark. 2002; Souto ve ark. 2006; Gonçalves ve ark. 2007; Fritschi ve ark. 2008; Souto ve Colombo 2008).

Oral biyofilm, yüzeylere adezyon için konak tükürük glikoproteinlerine ihtiyaç duymaktadır. Oral biyofilm oluşumunun ilk adımı, tükürük glikoproteinlerinden oluşan pelikülün temiz bir diş yüzeyine adezyonudur. Adezyon mekanizmasında; çeşitli glikoproteinler, tükürük bileşenleri ve diş yüzeyinin özellikleri gibi birçok faktör söz konusudur. Adezyon; Coulomb kuvvetleri, van der Waals kuvvetleri, dipol-dipol etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler, kovalent bağlar, elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, iyonik bağlar ve Lewis asit-baz

reaksiyonları ile gerçekleşmektedir (Hannig ve Hannig 2009). Bu etkileşimler sonucunda, yeni pelikül formları öncü bakterilerin adezyonuna hazır hale gelmektedir (Gray 2004).

Pelikül tabakasına bakteri adezyonu, biyofilm oluşumunun ikinci aşaması olarak tanımlanmıştır. Bazı bakteriler, pelikül üzerindeki adezyon proteinlerini, yani α -amilaz ve prolin açısından zengin glikoproteinleri veya proteinleri tanıyabilmekte ve pelikula bağlanabilmektedir. Bu aşamada, bakteriyel adezyon tersine çevrilebilmekte ve başlangıçta adezyonu tamamlayan bakteriler, pelikülden kolayca ayrılabilir. İlk bakteriyel adezyon şekillerinin elektrostatik veya fiziksel kuvvetlerle gerçekleştiği, ancak daha sonra kimyasal kuvvetlerin baskın hale geldiği gösterilmiştir (Characklis ve Marshall 1990). Primer kolonize olan bakteriler, pelikula adezyonlarını takiben, bakterilerin birbirine bağlı kalmasına ve pelikula adezyonuna yardımcı olan EPS salınımına başlamaktadır. Bakterilerin adezyon yapılarının fimbria ve fibriller olduğu gösterilmiştir (Handley 1990). Tükürük kaynaklı pelikula primer bakteriyel adezyon; hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, kalsiyum köprüleri, van der Waals kuvvetleri, asit-baz reaksiyonları ve elektrostatik etkileşimler ile gerçekleşmektedir (Hannig ve Hannig 2009). *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Capnocytophaga*, *Veillonella* ve *Neisseria* türlerinin, diş yüzeyine bağlanan başlıca öncü bakteri cinsleri olduğu gösterilmiştir (Ritz 1967; Foster ve Kolenbrander 2004; Dige ve ark. 2009). Bu primer kolonizasyonların, ilgili türlerin kolonize olmasına ve diğer türlerle ileri dönemlerde gerçekleşecek rekabetlerde avantaj elde etmelerine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Kreth ve ark. 2005).

Primer kolonize olan bakterilerin, tükürük glikoproteinleri yoluyla spesifik adezyon yerleri sağladıkları ve biyofilm gelişimini teşvik ettikleri gösterilmiştir. Sekonder kolonize olan bakteriler, primer kolonize olan bakterilerin hücre yüzeyleri üzerindeki polisakkarit veya protein reseptörlerini tanımaktadırlar ve bu sayede adezyonlarını gerçekleştirmektedirler. Bakteri koagregasyonu, tipik mısır koçanı formlarını ve olgun oral biyofilmdeki diğer formları oluşturmaktadır. Sekonder kolonizasyon ile atake olan bakteriyel türler arasında; *F. nucleatum*, *Treponema* türleri, *T. forsythia*, *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi mikroorganizmaların bulunduğu gösterilmiştir (Kolenbrander ve ark. 2002; Foster ve

Kolenbrander 2004; Kreth ve ark. 2005; Dige ve ark. 2009). Olgun biyofilmin mikrobiyal bileşenlerinin, ilk biyofilmden oldukça farklı olduğu ve biyofilm gelişimi sırasında oransal bir değişim meydana geldiği bildirilmiştir. Sekonder kolonizasyon ile beraber; *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium* ve *Veillonella* miktarları artmakta, *Streptococcus* ve *Neisseria* miktarları göreceli olarak azalmaktadır (Ritz 1967). Olgun biyofilmler, kolonize olan bakterilere gerekli besinleri sağlamaktadırlar (Huang ve ark. 2011).

2.5. Periodontal ve Periimplant Hastalıkların Etiyolojisinde Mikrobiyal Faktörlerin Rolü

Periodonsiyumu etkileyen hastalıklarda, dentogingival marjinde bakteri varlığı mevcuttur. Konak, oluşan bu mikrobiyal duruma, periodontal dokularda enflamatuar hücre infiltrasyonu oluşturarak yanıt vermektedir (Page ve Schroeder 1976; Flemmig 1999; T. Newman 2006).

Deneysel gingivitis çalışmaları, sağlıklı periodonsiyum üzerinde plak birikiminin gingivitise neden olduğunu ve 7 gün boyunca ağız hijyeni önlemlerinin yeniden başlamasının ardından periodonsiyumun normale döndüğünü göstermiştir (Löe ve ark. 1965). Mine yüzeyinde ve marjinal diş etinde kolonileşen gram-pozitif kokların tek bir tabakasından; gram-negatif anaerobik kokların, filamentlerin ve spiroketlerin baskın olduğu kompleks bir mikrobiyal flora doğru ardışık gingival plak gelişimi gösterilmiştir (Theilade ve ark. 1966). Periodontal enfeksiyonlarda konak ve mikroorganizmalar arasındaki dengenin mikroorganizmaların lehine bozulması sonucunda; artan bağışıklık yanıtının şiddeti ile oluşan enflamasyon, direkt mikroorganizmalar ile veya indirekt olarak konağın verdiği aşırı yanıt ile periodontal destek doku yıkımına neden olmaktadır (M. G. Newman ve ark. 2011).

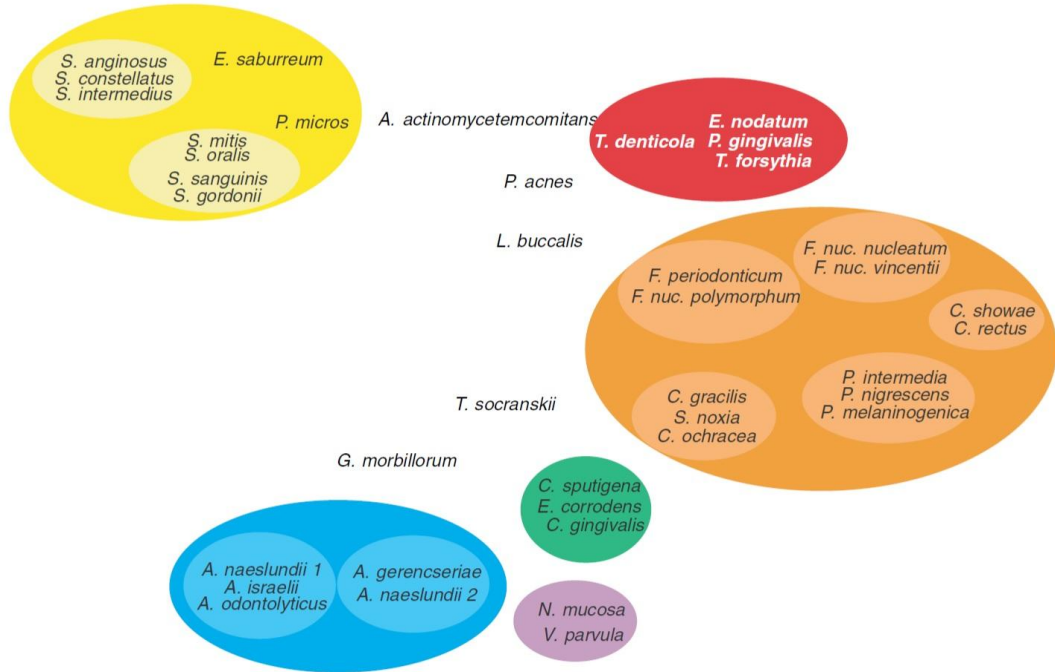
Diş eti oluğu sıvısı (DOS), artan enflamasyonla ilişkili çeşitli enflamatuar ve bağışıklık hücreleri içermektedir. DOS'ta; nötrofiller, lökositler, T hücreleri, B hücreleri, monositler, makrofajlar ve mononükleer beyaz kan hücreleri tespit edilmiştir. Bu hücrelerin seviyesinin, enflamasyon ile beraber arttığı bildirilmiştir. Genel olarak DOS, yaklaşık %95 oranında polimorfonükleer lökosit, %2-3 oranında monosit ve %1-2 oranında lenfosit içermektedir. Buna ek olarak, hem konak yanıtını değiştirebilen bakteri ürünleri, hem de DOS ve çevre dokulardaki hücresel dağılımı

değiştirebilen konak düzenleyici moleküller tespit edilmiştir (Ebersole 2003). DOS'un, glandüler tükürüğe göre çok daha kompleks bir bağışıklık bileşenine sahip olduğu ve ağız boşluğunda birçok antibakteriyel mekanizmaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Cimasoni 1983).

DOS içeriğindeki nöropeptitlerin tanımlanmasıyla, periodontitis ve diğer orofasiyal enflamatuvar hastalıkların, bazı nöropeptitler tarafından modüle edilebildiği daha anlaşılır hale gelmektedir (Linden ve ark. 1997; Lundy ve ark. 1999; Hanioka ve ark. 2000; Lundy ve ark. 2000; Linden ve ark. 2002). Zarar görmüş periodontal dokuların; P maddesi, kalsitonin geni ile ilgili peptit, vazoaaktif intestinal peptit ve nöropeptit Y (NPY) dahil olmak üzere bir dizi nöropeptide karşı immünoreaktif olduğu gösterilmiştir (Luthman ve ark. 1988). Enflamasyonda nöropeptitlerin ana işlevlerinin; vazodilatasyon, vazokonstriksiyon, bağışıklık hücrelerinin toplanması ve düzenlenmesi olduğu bildirilmiştir (Kvinnsländ ve Heyeraas 1992; Byers ve Taylor 1993; Awawdeh ve ark. 2002). Üç ana nöropeptitin periodontal enflamasyonda düzenleyici etkiye sahip olduğu ve bunların; P maddesi, kalsitonin geni ile ilgili peptit ve vazoaaktif intestinal peptit olduğu gösterilmiştir (Cekici ve ark. 2014). Nöropeptitler, mikrobiyal duruma verilecek ilk yanıtta katkıda bulunmaktadır (Tracey 2002). Başlangıç yanıtı olan akut enflamasyon; sitokinlerin ve kemokinlerin üretilmesiyle, enfeksiyon bölgelerine hücre infiltrasyonu için mikrobiyal duruma karşı verilen fizyolojik yanıtıdır. Makrofajlar ve nötrofiller gibi fagositler, bakterilerin yüzey moleküllerini tanıyan ve bağlanan yüzey reseptörlerine sahiptir (Zadeh ve ark. 1999). Toll benzeri reseptörler (TLR) dahil olmak üzere bu tanıma reseptörleri, konak ve bakteri hücreleri arasında ayırım yapmaktadır (Rietschel ve Brade 1992). Mikroorganizmalar ve yabancı maddelerin tanınmasından sonra, fagositleri ilgili bölgeye çekmek için kemokinler salgılanmaktadır. Kompleman sistemi; farklı konak immün hücrelerini, monositleri, lenfositleri ve nötrofilleri ilgili bölgeye çeken anafilatoksin C3a, C4a ve C5a dahil olmak üzere, biyolojik aktif proteinleri üretmektedir. Kompleman proteinleri, doğrudan bazı bakterileri öldürebilmektedir. Mast hücreleri tarafından gerçekleştirilen histamin kaynaklı vazodilatasyon, kan akışını ve fagositlerin alımını arttırmaktadır (Cekici ve ark. 2014). İnsan T hücresi fonksiyonları, sitokin profilleri incelenerek tahmin edilebilir. Temel olarak, CD4⁺ yüzey reseptörüne sahip T yardımcı hücrelerin (Th) üç alt kümesi, sitokin profilleri

ile karakterize edilmiştir (MacDonald 1999; Romagnani 2000). Th-1 hücrelerinin, IL-2, IL-12, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ); Th-2 hücrelerinin, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 ve Th-3 hücrelerinin transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α) salgıladığı bildirilmiştir.

Periodontal hastalıklar, biyofilmin kompleks bir mikrobiyota ile ilişkili olduğu ve periodontal doku tahribatına yol açan, lokal ve sistemik enflamatuvar yanıtı indükleyecek anaerobik gram-negatif türlerden oluşan bakteriyel enfeksiyonlar olarak tanımlanmıştır (Page ve Kornman 1997; S. Socransky ve ark. 1998; Paster ve ark. 2006). Bununla birlikte, *A. actinomycetemcomitans* ve *P. gingivalis* gibi birkaç tür, klasik varsayılan periodontopatojenler olarak kabul edilmiştir (Moore ve ark. 1985; Jørgen Slots ve Ting 1999). Periodontal hastalıkların, tek tür periodontopatojenler yerine, bir mikroorganizmalar birlikteliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Subgingival biyofilmlerde birlikte bulunan beş mikrobiyal kompleks tanımlanmıştır (S. Socransky ve ark. 1998) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Mikrobiyal bakteri kompleksleri ve türleri (A. Haffajee, Socransky ve ark. 2008).

Biyofilm gelişiminde ortaya çıkan ve üç türün birleşiminden oluşan kırmızı kompleks bakteriler grubunu *T. forsythia*, *P. gingivalis* ve *T. denticola* oluşturmaktadır ve en patojenik mikrobik kompleksler olarak kabul edilmiştir (S. Socransky ve ark. 1998; Holt ve Ebersole 2005). *F. nucleatum*'un periodontitis

vakalarında, hem adezyon, hem de koagregasyon reaksiyonları gösterdiği bildirilmiştir (Kolenbrander ve London 1993). Bazı klinik çalışmalarda, periodontal hastalıklarda yaygın olarak yer alan periodontopatojenlere ek olarak, süpüratif olan ve sondlamada kanama gösteren derin periimplant ceplerde yüksek seviyelerde *S. aureus* tespit edilmiştir (T. E. Rams ve ark. 1990; Renvert, Lindahl ve ark. 2008). Ayrıca, *S. aureus*'un dental implantlar gibi titanyum yüzeylere özel bir afinite sergilediği bilinmektedir (L. G. Harris ve Richards 2006).

2.5.1. *Staphylococcus aureus*

S. aureus, üzüm benzeri olarak tanımlanan kümeler halinde bulunan gram-pozitif bir bakteridir. Bu mikroorganizmalar aerobik veya anaerobik olarak (fakültatif) ve 18°C ile 40°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilmektedir. Tipik biyokimyasal tanımlama testleri arasında katalaz-pozitif (tüm patojenik *Staphylococcus* türleri için), koagülaz-pozitif (*S. aureus*'u diğer *Staphylococcus* türlerinden ayırmak için), novobiyosin duyarlı ve mannitol fermentasyonu pozitif gibi gruplar oluşturulmuştur (Lowy 1998; Rasigade ve Vandenesch 2014; Taylor ve Unakal 2017). *S. aureus*, hastane gibi bazı ortamlarda, sağlıklı cilt veya yumuşak dokulardaki hafif semptomlarla ilişkili olmasına rağmen, piyojenik hastalıkların %80'inden fazlasını oluşturan enfeksiyonların ana kaynağı olarak tanımlanmıştır. *S. aureus* dentoalveolar enfeksiyonlar ve oral mukozal lezyonlarla ilişkilendirilmiştir. Dil, tükürük, oral mukoza, supragingival diş yüzeyleri ve periodontal cepte *Staphylococcal* kolonizasyon varlığı gösterilmiştir (T. E. Rams ve ark. 1990; Francis 1995). *S. aureus*'un enfeksiyon ve hastalıklarla ilişkili çeşitli virülans faktörleri; yüzeyle ilişkili faktörler, yıkıcı enzimler ve süperantijenik toksinler olarak sınıflandırılabilir. Bu genlerdeki çeşitlilik ve değişkenlik enfeksiyonun seyrini etkileyebilmektedir (Dinges ve ark. 2000). *S. aureus*'un enterotoksinlerinin, insanlarda diyare ve kusmaya neden olan ısıya dayanıklı toksinler olduğu bildirilmiştir. Antijenitelerine göre beş farklı türü tanımlanmıştır (Easmon ve Adlam 1983). *S. aureus*'a ait sitotoksinlerden *hla*, hücre ölümü ve hemolitik nekroza neden olmaktadır. *hly*, akciğer ve korneayı etkilemektedir. *S. aureus* örneklerinin %97'sinde varlığı bildirilen *hld*, kırmızı kan hücrelerinin ve çeşitli memeli hücrelerinin, hücre içi yapılarını yok etmektedir (Wiseman 1975). Penisilin gibi

antimikrobiyallerin hatalı kullanılması, bakterilerin antimikrobiyallere karşı direnç oluşturmaya sebep olmaktadır (Alanis 2005).

Periodontitis, diş yüzeylerinde mikroorganizmaların kolonize olmasının yanı sıra, bu mikroorganizmalara karşı verilen agresif bir bağışıklık yanıtından kaynaklanmaktadır. Periodontal hastalıklara neden olan patojenleri araştırmak üzerine yapılan çalışmalarda, *S. aureus*'un periodontal hastalık etkeni patojenler ile birlikte biyofilm oluşturarak, hastalığı şiddetlendirmede rol oynadığı gösterilmiştir (A. Smith ve ark. 2001; Cuesta ve ark. 2010; Lam ve ark. 2012; Passariello ve ark. 2012).

Bakteriyel biyo-filmlerin oluşumu, tıbbi cihazlar etrafında enfektif bir sürecin başlamasında önemli rol oynamaktadır (Costerton ve ark. 2005). Dental implantlar ile ilişkili enfeksiyonlarda bakteriyel adezyon ve biyofilm oluşumu, mikroorganizma türlerine ve dental implantın yüzey özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Biyofilm oluşturan suşların, biyofilm oluşturmeyen suşlardan daha adeziv oldukları gösterilmiştir (Ha ve ark. 2005). Farklı *S. aureus* suşları, biyofilm veya adeziv tabaka oluşturmalarına bağlı olarak dental implantlara farklı şekillerde bağlanmakta ve kolonize olmaktadır (Verheyen ve ark. 1993; Gracia ve ark. 1997). Dental implantlarda kullanılan çeşitli malzemelerle ilgili olarak, *S. aureus* titanyum yüzeylere spesifik bir afinite göstermektedir (L. G. Harris ve Richards 2006). *S. aureus*'un biyomateryallerin yüzeylerinde biriken hücre dışı matris bileşenleri ve plazma proteinleri ile adezyon potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. *S. aureus* ayrıca, biyofilm oluşumuna da sebep olmaktadır. Bu durumun, dental implantlarla ilişkili enfeksiyonların patogenezinde önemli olduğu bildirilmiştir (Cramton ve ark. 1999). Titanyum dental implant uygulamalarında erken dönem başarısızlığı olan hastaların, *S. aureus* için serum antikor titreleri istatistiksel olarak önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Bu durum, *S. aureus*'a karşı bozulmuş bir konak yanıtı varlığını göstermektedir (Kronström ve ark. 2000; Kronström ve ark. 2001).

Oral cerrahi sonrası yara iyileşmesi her zaman enfeksiyon riski taşımaktadır. Antisepsi yeterli bir şekilde uygulandığında bile, mikroorganizmalar alt doku tabakalarına sızabilmekte ve kolonize olabilmektedir. Bu durum, cerrahi bölgede

doku bütünlüğünün kaybına ve iyileşmenin bozulmasına neden olmaktadır (L. C. Yang ve ark. 2015).

2.5.2. *Fusobacterium nucleatum*

Gram-negatif anaerobik bir bakteri olan *F. nucleatum*, ağız boşluğundaki en yaygın türlerden birisidir. *F. nucleatum*'un periodontitis ve gingivitis gibi oral enflamatuvar hastalıklar ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir (Fujii ve ark. 2009; Kistler ve ark. 2013; N. Y. Yang ve ark. 2014). *F. nucleatum*, gingivitis vakalarında subgingival plakta ve periodontitis vakalarında periodontal ceplerde bulunmaktadır. Ayrıca, *P. gingivalis* gibi diğer periodontopatojenlerle hem adezyon, hem de koagregasyon reaksiyonlarına katılmaktadır (A. D. Haffajee 1994; Bradshaw ve ark. 1998; Weiss ve ark. 2000).

Periodontal hastalıklarda *F. nucleatum* ve *A. naeslundii*, diş eti oluşunda en yaygın görülen türler olarak bildirilmiştir (Moore ve Moore 1994). Plak oluşumunun erken aşamalarından geç aşamalarına doğru, gram-pozitif mikrofloradan, gram-negatif mikrofloraya bir geçişin var olduğu ve *F. nucleatum*'un plak oluşumu ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (Ritz 1967). Çocuklarda ve genç yetişkinlerde deneysel gingivitis bakteriyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda, *F. nucleatum*'un gingivitis ile yakından ilişkili olan mikroorganizmalardan biri olduğu ve genç erişkinlerde daha yaygın olduğu görülmüştür (Moore ve ark. 1982; Moore ve ark. 1984). *F. nucleatum*, hem adezyon, hem de koagregasyon reaksiyonlarına katılmaktadır ve periodontal cepte bulunan multijenerik koagregasyon ağında anahtar bir rol oynadığı görülmektedir (Kolenbrander ve London 1993).

F. nucleatum'un patojenik potansiyeli, periodontal hastalıkların gelişimindeki önemi ve diğer organlardaki enfeksiyonlarla ilişkisi gösterilmiştir (Bolstad ve ark. 1996). *F. nucleatum*'un periodontal lezyonlardaki sayısı ve sıklığı, doku iritanları üretmesi, kompleks enfeksiyonlarda diğer bakterilerle sinerjisi ve periodontal hastalıklarda diğer periodontopatojenlerle agregasyon oluşturma yeteneği nedeniyle, patojenik olma potansiyeline sahip olduğu ve bu nedenle diş yüzeylerinde erken ve geç kolonizörler arasında bir köprü görevi gördüğü bildirilmiştir (Singer ve Buckner 1981; Van Dyke ve ark. 1982; Dzink ve ark. 1985; Moore ve ark. 1985; Brook ve Walker 1986; Pianotti ve ark. 1986; Dzink ve ark. 1988; A. Haffajee ve ark. 1988;

Ohmori ve ark. 1988; Claesson ve ark. 1990; Persson ve ark. 1990; Bartold ve ark. 1991; Sorsa ve ark. 1992; Kolenbrander ve London 1993; Moore ve Moore 1994). *F. nucleatum*'un periodontal hastalıklarla istatistiksel olarak ilişkili olduğu bilinmektedir (Moore ve Moore 1994). *F. nucleatum* ayrıca, periimplantitis ile en sık ilişkilendirilen türler arasında gösterilmiştir (Papapanou ve ark. 1997; Tanner ve ark. 1997). Dental implantların yerleştirilmesinden sonra; *P. micros*, *F. nucleatum* ve *P. intermedia*'nın baskın olduğu bir mukozal mikrobiyotanın kurulabildiği bildirilmiştir (Van Winkelhoff ve ark. 2000). Bakteri dış membran proteinlerinin, gram-negatif bakterilerin patojenitesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Buchanan 1979; Blake ve Gotschlich 1986; Holt ve Bramanti 1991). Dış membran proteinleri; koagregasyon, hücre beslenmesi ve antibiyotik duyarlılığı ile ilişkilendirilmiştir (Sawai ve ark. 1982; Cohen ve ark. 1988; Takada ve ark. 1988; Kinder ve Holt 1989; Speer ve ark. 1992; Kinder ve Holt 1993).

Gingivitis hastalarına veya sağlıklı bireylere göre periodontitisli hastalarda, *F. nucleatum*'a karşı daha yüksek serum antikor seviyeleri bildirilmiştir (Naito ve ark. 1984; Tew ve ark. 1985; Tolo ve Schenck 1985; Vincent ve ark. 1985; Vincent ve ark. 1987; Gunsolley ve ark. 1990; Lamster ve ark. 1990; Danielsen ve ark. 1993). *F. nucleatum*'a karşı serum immünoglobulin G antikor seviyesi, deneysel gingivitisin ilk 3 haftasındaki enflamasyon artışı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Danielsen ve ark. 1993). *F. nucleatum*, *in-vitro* olarak lenfosit yanıtını baskılayabilen faktörler üretmektedir (Shenker ve DiRienzo 1984). Periodontal lezyonlar dahil olmak üzere, kronik enflamasyon olan bölgelerde plazma hücrelerinin birikmesi yaygın olarak görülmektedir ve *F. nucleatum* antijenleri bu etkiye katkıda bulunabilmektedir (Mallison ve ark. 1991). *F. nucleatum*'un immünoglobulin A, G, M ile T hücresi yanıtlarını uyardığı ve kompleman sistemini aktive ettiği gösterilmiştir (Falkler Jr ve ark. 1982; Mangan ve ark. 1983; Naito ve ark. 1984; Gunsolley ve ark. 1990; Gemmell ve Seymour 1992; Horiba ve ark. 1992; Ishii ve ark. 1992). Sitokinlerin, periodontitisin ilerlemesine yol açtığı bildirilmiştir (H Birkedal-Hansen 1993; Gemmell ve Seymour 1993; Kjeldsen ve ark. 1993; Wahl ve ark. 1993; Gemmell ve Seymour 1994). Matriks metalloproteinazlar (MMP), mineralize olmayan bağ dokusunun ve kemiğin rezorpsiyonunda rol oynamaktadır (Kinane 1992; Birkedal-Hansen ve ark. 1993; Henning Birkedal-Hansen 1993).

Periodontal dokularda; IL-1, TNF- α ve TGF- α dahil olmak üzere sitokinlerin, MMP genlerinin ekspresyonunu düzenleyebildiği gösterilmiştir (Henning Birkedal-Hansen 1993).

Farklı periodontopatojen bakteriler, sinerjistik veya antagonistik etkilere sahip olabilen sitokinler üretmek için farklı hücre tiplerini uyarabilmektedir (Bolstad ve ark. 1996). *F. nucleatum*; IL-1, IL-6, TNF- α ve TGF- β üretmek için farklı hücre tiplerini uyarmakla beraber IL-1 inhibitörü üretmek için PMN'leri uyarmaktadır (Walsh ve ark. 1989; Gemmell ve Seymour 1993; Rossano ve ark. 1993; Seymour ve ark. 1993; Wahl ve ark. 1993; Gemmell ve Seymour 1994). *F. nucleatum*'un hücre duvarı ürünleri, TGF- β mRNA üretimini ve periferik monositler tarafından TGF- β salgılanmasını tetiklemektedir. Anti-TGF- β 'nin kronik enflamasyon bölgelerine uygulanması, lökosit üretimini ve aktivasyonunu bloke etmektedir ve bu tür lezyonlarda kemik yıkımının önüne geçmektedir (Wahl ve ark. 1993). Lokal olarak üretilen sitokinlerin periodontitiste meydana gelen kemik ve bağ dokusu kaybına yol açtığı düşünülmektedir (Seymour 1987; Taubman ve ark. 1988; Seymour ve ark. 1993). TGF- β 'nin önemli bir antiinflamatuvar ajan ve IL-1 inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Pfeilschifter ve ark. 1990). Ayrıca, *F. nucleatum* mitojenik aktiviteyi indüklemektedir (Donaldson ve ark. 1983; Lopatin ve ark. 1985; Takada ve ark. 1988).

2.6. Periodontal ve Periimplant Hastalıkların Tedavisinde Antibiyotik Kullanımı

Geleneksel periodontal tedavide, diş yüzeylerine antimikrobiyal amaçla mekanik debridman uygulanmaktadır. Periodontal hastalıklarda görülen özellikle doku invazyonu kapasitesi yüksek olan spesifik bakterilerin eliminasyonu amacı ile, sistemik ve/veya lokal antimikrobiyal ajanların kısa süreli kullanımını içeren bir tedavi protokolünün uygulanabileceği bildirilmiştir (W. Loesche ve ark. 1984; Goodson ve ark. 1985). *A. actinomycetemcomitans*'ın periodontitiste anahtar bir patojen olduğu ve inatçı periodontitis, tekrarlayan periodontitis ve diğer periodontal hastalık biçimleriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (J Slots 1984). *P. gingivalis*, periodontitisin şiddetli formlarında ve erken başlangıçlı periodontitiste önemli bir mikroorganizma olarak tanımlanmıştır. *P. intermedia* türlerinin en az iki genotip

içerdiği; bir genotipin gingivitis ile ilişkili olduğu, diğer genotipin periodontitis ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Nakazawa ve ark. 1988). *T. forsythia*, *Eikenella corrodens*, *Wolinella recta*, *P. micros*, *Fusobacterium* ve *Treponema* türleri periodontopatojen olarak tanımlanmıştır. Özellikle hem mekanik, hem de antibiyotik tedaviye yanıt vermeyen hastaların periodontal ceplerinde *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Candida* türleri tespit edilmiştir (Jørgen Slots ve ark. 1988). Bu mikroorganizmalar genellikle önceki antibiyotik kullanımından kaynaklanan süper enfeksiyonları temsil etmektedir. Periodontal olarak sağlıklı veya minimal periodontal hastalıklı kişilerde gözlemlenen mikroorganizmalar arasında *S. sanguis*, *S. mitis*, *Actinomyces* türleri, *Veillonella parvula* ve diğer yaygın oral bakteriler bulunmaktadır. Periodontal sağlık ve hastalık arasındaki bakteri profillerindeki bu farklılıklar, spesifik plak hipotezine dayanmaktadır (W Ji Loesche 1976).

Farklı antibiyotikler, bakteri hücresiyle ilişkili çeşitli yapılar veya makromoleküller üzerindeki bakterisidal veya bakteriyostatik etkilerine göre kategorilere ayrılmıştır. Bunlar arasında; hücre duvarı sentezinin engellenmesi (penisilinler ve sefalosporinler), hücre membranı ile etkileşim, protein sentezinin inhibisyonu (tetrasiklinler, makrolidler ve klindamisin) ve nükleik asit sentezinin inhibisyonu (metronidazol ve kinolonlar) bulunmaktadır (Walker 1996).

Azitromisin, gram-negatif patojenlere karşı eritromisin gibi öncüllerine kıyasla arttırılmış aktiviteye sahip olduğu ve bu nedenle çok çeşitli enfeksiyonları tedavi etmek için kullanıldığı bildirilmiştir (Hoepelman ve Schneider 1995). Azitromisin ayrıca önemli immünomodülatör özelliklere sahip olduğu ve bu nedenle enfeksiyonlar dışında farklı hastalıkları tedavi etmek için de kullanılabilirdiği ve kronik periodontitis veya ilaca bağlı aşırı diş eti büyümesi gibi çeşitli periodontal hastalıkların tedavisinde yardımcı bir ajan olabileceği gösterilmiştir (Hirsch ve ark. 2012).

Metronidazol grubu antibiyotikler, anaerobik bakterileri elimine edebilme yeteneklerinden dolayı, periodontal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Metronidazol bazı *P. micros* suşlarına karşı etkisiz bulunmuştur (Chow ve ark. 1977). *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens* ve *Capnocytophaga* türleri, metronidazole *in-vitro* olarak düşük duyarlılık gösteren fakültatif anaerobik

bakteriler olarak bildirilmiştir. Metronidazolün hidroksi metabolitlerinin, *in-vivo* olarak ilacın fakültatif mikroorganizmalara karşı klinik etkinliğini arttırabildiği gösterilmiştir (Jousimies-Somer ve ark. 1988).

2.6.1. Azitromisin

Azitromisin, ilk olarak 1980'de sentezlenmiş, makrolid alt sınıfı olan bir azalid olarak tanımlanmıştır (Hoepelman ve Schneider 1995; Greenwood 2008). Azitromisin, makrosiklik lakton halkasına ilave bir nitrojen atomunun yerleştirildiği yarı sentetik bir eritromisin analogudur. Bu 15 üyeli makrolid, azalid olarak da bilinmektedir (Greenwood 2008). Ekstra nitrojen atomu, eritromisine kıyasla azitromisin için daha yüksek bir yapısal stabilite sağlamaktadır. Bu durum, yüksek doku penetrasyonu, düşük toksisite ve yaklaşık 68 saatlik uzun yarı ömür ile sonuçlanmaktadır (Miller ve ark. 2006; Noedl ve ark. 2006; Gomi, Yashima, Iino ve ark. 2007).

Tüm makrolid grubu antibiyotikler gibi, azitromisin de duyarlı mikroorganizmalardaki 50S ribozomal alt biriminin 23S ribozomal RNA'sını hedefleyerek, uzun bir yarı ömre ve yüksek periodontal doku penetrasyonuna sahip olması ile, bakteriyel protein sentezini geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir (Gomi, Yashima, Nagano ve ark. 2007; López-Boado ve Rubin 2008; Shinkai ve ark. 2008). Azitromisinin uzun yarı ömrü, bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede, diğer antibiyotiklere göre daha düşük doz ve daha kısa tedavi rejimlerine ihtiyaç duyulmasını sağlamaktadır (Corey ve ark. 2007). Üst solunum yolu enfeksiyonları, orta kulak enfeksiyonları, sıtma, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar ve trahom gibi çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Foulds ve ark. 1990; Wolter ve ark. 2002; Solomon ve ark. 2004; Arguedas ve ark. 2005; Miller ve ark. 2006; Corey ve ark. 2007; Haggerty ve Ness 2007; Chico ve ark. 2008; Bosnar ve ark. 2009).

Azitromisin, *S. aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi gram-pozitif bakteriler dahil olmak üzere çeşitli bakterilere karşı *in-vitro* bakteriyostatik etkilere sahiptir. Eritromisin ve klaritromisin gibi daha önceki makrolidlere kıyasla, özellikle gram-negatif anaerobik bakterilere karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermektedir (Hardy ve ark. 1988; Hoepelman ve Schneider 1995; Gomi, Yashima, Iino ve ark.

2007; Tamura ve ark. 2008). *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Bordetella pertussis* gibi yaygın solunum yolu patojenlerinin tümünün düşük dozlarda azitromisine duyarlı olduğu gösterilmiştir. Azitromisin, *H. influenzae*'ya karşı eritromisine göre 8 kat daha etkili bulunmuştur (Hardy ve ark. 1988). Yüksek doz eritromisin, klaritromisin ve roksitromisine dirençli olan *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi endokardit ile ilişkili enterik patojenler ve gram-negatif basillerin tümü, azitromisine düşük dozda duyarlılık göstermiştir (Kitzis ve ark. 1990). Azitromisin, *P. gingivalis*'e karşı oldukça etkilidir (Pajukanta 1993). *In-vivo* olarak, biyofilm içerisindeki bakterilerin antibiyotiklerden korunduğu düşünülmektedir (A. Haffajee, Patel ve ark. 2008). Bununla birlikte, diğer makrolidler ve tetrasiklinlerden farklı olarak, azitromisin bu bariyeri etkili bir şekilde infiltre edebilmektedir; böylece biyofilm içindeki mikroorganizmalara karşı daha etkili antimikrobiyal aktiviteye olanak sağlamaktadır. (Tamura ve ark. 2008; Wang 2010).

Azitromisin üç tabletlik tek bir kürden sonra bile periodontal hastalıkların tedavisinde önemli üç role sahip olabilmektedir. Bunlar; periodontopatojenlerin baskılanması, antienflamatuar aktivite ve periodontal dokulardaki makrofajlarda ve fibroblastlarda düşük seviyelerde kalıcılık yoluyla iyileşmedir (Hirsch ve ark. 2012). Azitromisinin uzun vadeli periodontal immünomodülatör özelliklerine ilişkin bilgiler, siklosporin A'nın neden olduğu gingival aşırı büyüme azaltmadaki etkisine ilişkin raporlardan elde edilmiştir (Wahlstrom ve ark. 1995).

Azitromisin, 3 adet 500 mg'lık tabletlerden oluşan tek bir kür olarak uygulandığında, orta ve ileri periodontitis tedavisinde güçlü bir rol oynayabilmektedir. Azitromisinin gram-negatif bakterilere karşı etkinliği, biyofilm içerisine nüfuz edebilme yeteneği ve uzun antibakteriyel yarı ömrü; bu ilacı ileri enflamatuar periodontitisin tedavisinde önemli bir antibiyotik seçeneği haline getirmektedir. Azitromisinin nötrofiller ve makrofajlar tarafından bağlanması; periodontal enflamasyon bölgelerinin hedeflenmesine, bu bölgelerde konsantre olmasına ve antienflamatuar özelliklerini göstermesine olanak sağlamaktadır. Azitromisinin olası bir yararlı rolü proenflamatuar sitokin üretimini azaltarak hastalığı düzenlemektir (Murphy ve ark. 2008). Azitromisinin periodontal dokular üzerinde uzun vadeli iyileştirici etkiye sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.

Bu özellik, azitromisin'in makrofaj fenotipini değiştirmesi, böylece antiinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırması ve iyileşmeyi kolaylaştırması ile ilişkilidir (Murphy ve ark. 2008). Azitromisin'in stratejik kullanımının, hem antibakteriyel, hem de immünomodülatör etkisi açısından, zayıf tedavi yanıtı olan hastaların faz I periodontal tedavisinde faydalı olabileceği gösterilmiştir (Matsumura ve ark. 2011).

2.6.2. Metronidazol

Metronidazol, tinidazol ve ornidazol ile aynı kimyasal sınıfa ait, nitroimidazol türevi olan antibakteriyel ajandır (Cosar ve Julou 1959). Metronidazolün etki mekanizması dört fazdan oluşmaktadır. Bunlar; bakteri hücre sine giriş, nitro grubunun indirgenmesi, indirgenmiş ürünün sitotoksik etki oluşturması ve aktif olmayan son ürünlerin serbest bırakılmasıdır (Müller 1983). Metronidazol için mikroorganizma eliminasyonu yöntemi olan redoks, hücre içi metabolitlerin oluşumu ile gerçekleşmektedir. Bu metabolitlerin hücre içi hedefleri, mikroorganizmaların RNA, DNA veya hücre sel proteinleridir (Freeman ve ark. 1997). Metronidazolün metabolize olmasından önce dokulara, beyin omurilik sıvısına ve tükürüğe girebildiği ve DOS'ta tespit edilebildiği gösterilmiştir (Notten ve ark. 1982; Giedrys-Leeper ve ark. 1985; Britt ve Pohlod 1986; Van Oosten ve ark. 1986).

1959'da *Trichomonas vaginalis* enfeksiyonlarının tedavisi için piyasaya sürülen metronidazol, günümüzde *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* ve çoğu zorunlu anaerobik bakterilere karşı aktif olarak kullanılmaktadır. Gram-pozitif, sporlanmayan anaerobik basiller, özellikle *Propionibacterium*, *Actinomyces* ve *Arachnia* nadiren dirençli değildir (Sutter ve Finegold 1977). Mikroaerofilik streptokoklar da dahil olmak üzere *Streptococcus* grubu mikroorganizmalar genellikle dirençlidir. Anaerobik koklar, neredeyse tüm gram-negatif anaerobik basiller ve *Clostridium* metronidazole karşı hassastır. *Bacteroides fragilis*'te metronidazol direnci nadirdir; bu durum, zayıf hücre penetrasyonu ve azalmış nitroredüktaz aktivitesi ile ilişkilidir (F. Tally ve ark. 1979). *T. vaginalis*'te direnç nadiren ortaya çıkar (Turner ve Meingassner 1978). Metronidazol yüksek mikrobisidal aktiviteye sahiptir; *B. fragilis*'e karşı tutarlı bakterisidal aktiviteye sahip (minimum veya minimuma yakın inhibitör konsantrasyonda) tek ilaçtır (Nastro ve

Finegold 1972). Anaerobik olmayan mikroorganizmalar, tipik olarak metronidazole dirençlidir; *Campylobacter fetus* ve *Haemophilus vaginalis* istisnalarıdır (Onderdonk ve ark. 1979).

Sistemik olarak kullanılan metronidazolün, akut nekrotizan ülseratif gingivitis (ANUG) hızlı ve efektif bir şekilde tedavi ettiği bildirilmiştir (Shinn 1962). ANUG, anaerobik bir *Fusospirochetal* enfeksiyondur. Bu yüzden, metronidazolün anaerobik bakterilerin spesifik bir inhibitörü olduğu kabul edilmiştir (Rosebury 1962; Davies ve Stirland 1970; F. P. Tally ve ark. 1978). ANUG üzerinde gerçekleşen metronidazol etkinliğinin, spiroket türlerinde ve siyah pigmentli anaerobik bir tür olan *P. intermedia*'da önemli bir azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Walter J Loesche ve ark. 1982).

ANUG'da bulunan anaerobik floranın, periodontitiste bulunan anaerobik floraya olan benzerliği, metronidazolün periodontitis tedavisinde de etkili olabileceğini göstermiştir (W. Loesche ve ark. 1985; Moore 1987). Metronidazolün, *P. gingivalis*'e karşı oldukça etkili olduğu ve periodontitisten etkilenen dişlerde sondlama derinliklerinin azaltılmasında ve klinik ataçman seviyesinin artırılmasındaki etkinliği kanıtlanmıştır (Davies ve Stirland 1970; W. Loesche ve ark. 1984). Metronidazol kullanımı ile birlikte uygulanan mekanik tedavinin, tek başına metronidazol kullanımına veya tek başına uygulanan mekanik tedaviye göre periodontal sağlığı iyileştirmede daha üstün olduğu bildirilmiştir (J Lindhe ve ark. 1983). *F. nucleatum*'un, metronidazolü metabolik olarak yıkabildiği veya inaktif hale getirebildiği ve böylece diğer subgingival mikroorganizmaları koruyabildiği gösterilmiştir (Lacroix ve Mayrand 1989).

2.7. Lokal Salınımlı Antimikrobiyal Ajanlar ve Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanılan Materyaller

Periodontal hastalığın önlenmesi, subgingival mikrobiyal plak miktarının azaltılmasını veya periodontopatojen bakterilerin baskılanmasını gerektirmektedir. Tedavide başarı, etiyolojik ajanların ortadan kaldırılması veya kontrol edilmesiyle doku tahribatının durdurulmasına ve periodontal sağlıkta mevcut olan doğru mikrobiyal floranın oluşturulmasına bağlıdır (Jhinger ve ark. 2015).

Sondlama derinliği 5 mm ve daha az olan erken periodontitiste kök yüzey düzleştirmesi; diş taşı ve plağın uzaklaştırılmasında etkilidir ve bu nedenle bakteri miktarını ve sondlama derinliğini azaltmada yeterlidir. Bununla birlikte, derin periodontal ceplerin var olduğu durumlarda; periodontal cep tabanına yetersiz erişim, dişlerin morfolojileri ve furkasyon tutulumu olan bölgelere ulaşımın zor olması nedeni ile kök yüzey düzleştirmesi, tek başına periodontal hastalığı ortadan kaldıramamaktadır. Kök yüzey düzleştirmesinin yetersiz olduğu durumlarda, kök yüzeylerinde ve periodontal ceplerle ilişkili dişlerin dentin tübüllerinde önemli miktarda periodontopatojen varlığını sürdürmeye devam etmektedir. Bu durum, mekanik tedaviye ek olarak antibiyotiklerin sistemik kullanımını gerektirmektedir (Jhinger ve ark. 2015). Periodontopatojen bakteriler, periodontal dokulara invaze olarak mekanik tedaviyi etkisiz hale getirebilmektedir. Bu koşulda, sistemik antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonu kontrol edebilmektedir. Sistemik antibiyotik tedavisinin, periodontopatojenleri baskılamak ve dolayısıyla periodontopatojenlerin subgingival bölgede yeniden kolonizasyonunu geciktirmek gibi etkilerinin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Moreno Villagrana ve Gómez Clavel 2012). Fakat, sistemik antibiyotik uygulaması ile periodontal cepte etkili bir antimikrobiyal ilaç konsantrasyonu elde etmek için, uzun bir süre boyunca tekrarlanan doz alımları gerekmektedir. Ayrıca, sistemik olarak uygulanan antibiyotikler yüksek doz alımlarında bile, periodontal cep içerisinde düşük konsantrasyonlarda bulunabilmektedir. Dirençli suşların gelişimi ve tekrarlayan enfeksiyonlar gibi istenmeyen etkiler, sistemik antibiyotik kullanımının tek tedavi yöntemi olarak kullanılmasını engellemektedir. Ek olarak, sistemik antibiyotik tedavisinin kesilmesi, invaze olmuş periodontopatojenlerin periodontal cep bölgesinde tekrar kolonize olmalarına neden olmaktadır (Jhinger ve ark. 2015).

Sistemik antibiyotik tedavisinin dezavantajlarının üstesinden gelmek için antibakteriyel ajanların periodontal ceplere lokal olarak uygulanması kavramı geliştirilmiştir (Nair ve Anoop 2012). Modern taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi, uygulanan antibiyotiğin farmakokinetiğinde önemli bir gelişme sağlamıştır (Tiwari ve ark. 2012). Günümüzde en sık kullanılan lokal taşıyıcı sistemler; PerioChip[®] (Perio Products Ltd., Jerusalem, İsrail), Actisite[®] (Schiff and Company, Caldwell, New Jersey, ABD), Arestin[®] (OraPharma Inc., Warminster, Pennsylvania, ABD),

Atridox[®] (CollaGenex Pharmaceuticals, Newtown, Pennsylvania, ABD), Dentomycin[®] (Wyeth, Birleşik Krallık) ve Elyzol[®] (Dumex-Alpha, Jakarta, Endonezya) gibi ürünlerdir (K Yadav ve ark. 2015).

PerioChip[®] (Perio Products Ltd., Jerusalem, İsrail), kontrollü subgingival klorheksidin salınımı ürünüdür. Glutaraldehit ile çapraz bağlanmış hidrolize jelatinin, biyolojik olarak parçalanabilir matrisine 2.5 mg klorheksidin glukonat dahil edilmiştir. Boyut olarak 5x4x0.3 mm'lik bir filminden oluşmaktadır. Matris ayrıca gliserin ve distile su içermektedir. İlacın bakterisit etkisi; katyonik molekülün, ekstramikrobiyal komplekse ve negatif yüklü mikrobiyal hücre duvarlarına bağlanması ve böylece hücrelerin ozmotik dengesini değiştirmesinden kaynaklanmaktadır. Tükürük glikoproteinleri üzerindeki anyonik asit gruplarına bağlanması ile plak oluşumunu inhibe ederek, pelikül oluşumunu ve plak kolonizasyonunu azaltmaktadır. Aynı zamanda tükürük bakterilerine de bağlanarak onların dişlere tutunmasını engellemektedir (Mandlik ve Jha 2007). PerioChip[®], yan etkileri açısından güvenli olarak bildirilmiştir ve periodontal cebe kolayca yerleştirilebilmektedir (Bader 2010). Periodontal cep derinliği 5 mm veya daha fazla olan lezyonlarda kullanılması tavsiye edilmektedir. Yetişkin periodontitis hastalarında, periodontal cep derinliğini azaltmak için faz I periodontal tedavi prosedürlerine ek olarak kullanılabilen, FDA onaylı antiseptik bir tedavi yöntemidir. Klinik çalışmalarda, PerioChip[®] ile uygulanan periodontal tedavinin, tek başına uygulanan faz I periodontal tedaviye kıyasla daha fazla periodontal cep eliminasyonu sağladığı gösterilmiştir (K Yadav ve ark. 2015).

Actisite[®] (Schiff and Company, Caldwell, New Jersey, ABD), uzun lokal ilaç salınımlı bir fiber sistemdir. Fiber lif, 0.5 mm çapında ve 23 cm uzunluğunda bir iplik olarak paketlenmiş, %25 tetrasiklin hidroklorür içeren etilen-vinil-asetat matrisinden oluşmaktadır (Mauizio S Tonetti 1998; Chhina ve Bhatnagar 2012). Actisite[®], hem Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), hem de Avrupa Birliği'nin düzenleyici kurumları tarafından yetişkin periodontitis tedavileri için onaylanmıştır (Chhina ve Bhatnagar 2012). Fiber lif, 14 gün boyunca sabit bir hızda tetrasiklin salınımı yapmaktadır. Actisite[®] kullanımı için en uygun bölgeler; sondlamada kanamanın bulunduğu, faz I periodontal tedaviye yanıt vermeyen ve derinliği 5 mm veya daha fazla olan periodontal cepler olduğu bildirilmiştir. Tedavi sürecinde fiber

lifin yerinden çıkmasını önlemek için hastaya, tedavi edilen alanı fırçalamaması veya diş ipi kullanmaması talimatı verilmektedir. Bu sistemin dezavantajı, biyolojik olarak parçalanamayan etilen-vinil-asetat matris içermesidir. Bu nedenle, fiberin çıkarılması için diş hekimi ziyareti gerekmektedir ve hasta konforunu azaltmaktadır (K Yadav ve ark. 2015).

Arestin® (OraPharma Inc., Warminster, Pennsylvania, ABD), periodontitis tedavisinde periodontal ceplere uygulanabilen minosiklin mikrosferlerinden oluşmaktadır (Williams ve ark. 2001). Rezorbe olabilen, biyoadeziv taşıyıcı jel içerisine kapsüllenmiş minosiklin (1 mg) mikrosferleri (20-60 µm çapında) içermektedir ve 14 gün boyunca sürekli ilaç salınımı sağlamaktadır (Ryan 2005; Hellström ve ark. 2008; Bader 2010). Tek kullanımlık uçları olan, sterilize edilebilir bir şırınga içerisinde bulunmaktadır. Subgingival uygulama için lokal sürekli salınım formu FDA tarafından onaylanmıştır (Hellström ve ark. 2008; Bader 2010). Bu tedavi türü sigara içen hastalarda da etkilidir (Paquette ve ark. 2003). Periimplantitisin tedavisinde de minosiklin mikrosferlerin kullanıldığı vakaların kısa vadeli sonuçları olumlu bulunmuştur (Renvert ve ark. 2004).

Periimplantitis bölgelerinin tetrasiklin şeritleri ile uygulanan lokal tedavisi sonucunda; *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi periodontopatojenlerin baskılanmasının, tedaviden sonra 12 ay boyunca devam edebileceği gösterilmiştir (Mombelli ve ark. 2001). Periimplantitis lezyonlarının tedavisinden sonra Atridox® (%10 doksisisiklin hiklat) (CollaGenex Pharmaceuticals, Newtown, Pennsylvania, ABD) gibi biyolojik olarak parçalanabilen bir sürekli salınım ürününün lokal uygulamasının, periodontal ataçman seviyelerinde önemli bir kazanç ve sondlama derinliklerinde azalma ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Büchter ve ark. 2004). Doksisisiklin hiklat salınımının 7 ile 21 gün süre ile devam edebildiği gösterilmiştir. Klinik olarak Atridox® uygulaması, en az 6 mm'lik rezidüel periodontal ceplerde, faz I periodontal tedaviye ek olarak önerilmektedir (Salvi ve ark. 2002).

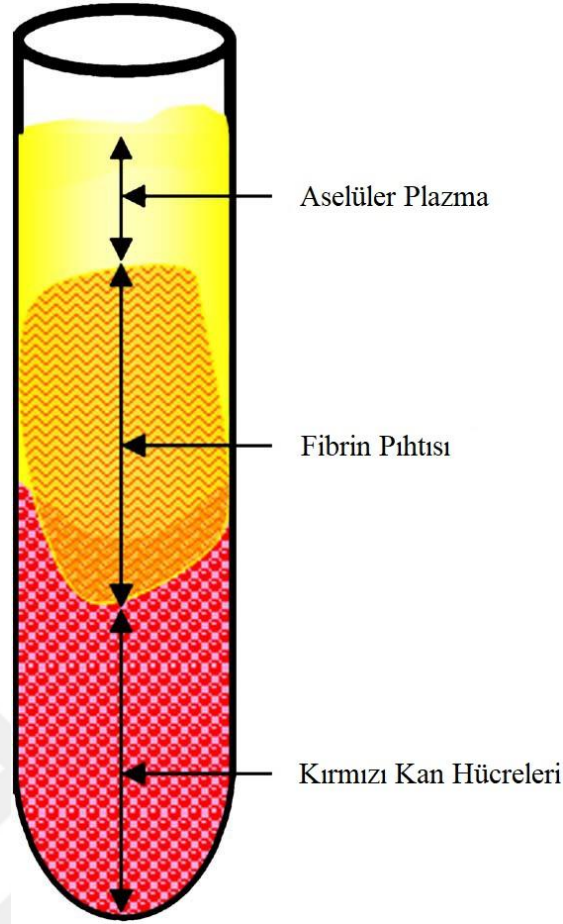
Dentomycin® (Wyeth, Birleşik Krallık), periodontitis tedavisi için Avrupa Birliği tarafından onaylanmış, ancak FDA tarafından onaylanmamış, %2 minosiklin içeren bir merhemdir (Ryan 2005). Periodontal hastalık bölgesine uygulanan 1 mg

minosikline eşdeğer 0.05 ml merhem, topikal uygulamadan 1 saat sonra yaklaşık 1300 µmg/ml, 7 saat sonra yaklaşık 90 µmg/ml konsantrasyonlarda bulunduğu bildirilmiştir (Nakagawa ve ark. 1991; Chhina ve Bhatnagar 2012).

Elyzol® (Dumex-Alpha, Jakarta, Endonezya), yağ bazı içerisinde, 1 gr metronidazol benzoata eşdeğer %25 metronidazol içeren yarı katı formda, beyaz renkli bir jeldir (Salvi ve ark. 2002). Elyzol® süspanse edici ajan olarak gliseril mono-oleat ve susam yağı karışımından oluşmaktadır. Bu sayede, uygulamayı takiben 24-36 saate kadar periodontal ceplerde istenen ilaç konsantrasyonu sağlanmaktadır (Stoltze 1995). Bununla birlikte, Elyzol® biyolojik olarak parçalanamayan ve FDA onayı olmayan bir üründür (K Yadav ve ark. 2015).

2.8. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

TZF, ilk olarak Fransa'da Choukroun ve arkadaşları tarafından oral ve maksillofasiyal cerrahide özel kullanım için geliştirilmiştir (J Choukroun ve ark. 2000). Bu teknik, sadece santrifüjlenmiş kandan oluşmaktadır; antikoagülan, sığır trombini ya da başka bir jelleştirici ajan ilavesi gerektirmemektedir. Antikoagülan eklenmemesi, tüp duvarları ile temas halindeki kan örneğine ait çoğu trombositin birkaç dakika içinde aktivasyonu ve pıhtılaşma faktörlerinin salınması anlamına gelmektedir. Fibrinojen, trombin tarafından fibrine dönüştürülmeden önce, tüpün üst tabakalarında yoğunlaşmaktadır. Daha sonra tüpün orta tabakasında, alt tabakadaki kırmızı kan hücreleri ile üst tabakadaki aselüler plazma arasında bir fibrin pıhtısı elde edilmektedir (D. M. Dohan ve ark. 2006a) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Santrifüjlenen kanın tabakaları (D. M. Dohan ve ark. 2006a).

Bu tekniğin başarısı tamamen kan alma ve santrifüje transfer hızına bağlıdır. Kan örnekleri, antikoagülan olmadan tüp yüzeyi ile temas eder etmez hemen pıhtılaşmaya başlamaktadır ve fibrinojeni tüpün orta ve üst tabakasında yoğunlaştırmak için kısa bir süre santrifüjleme gerekmektedir. TZF oluşturma aşamaları esnasında alınan kanı hızlı bir şekilde transfer etmek, klinik olarak kullanılabilir bir TZF pıhtısı elde etmenin önemli bir basamağıdır. Kan almak ve santrifüjü başlatmak için gereken süre uzun olursa kan numunesi pıhtılaşacağından dolayı, TZF oluşturma süreci başarısız sonuçlanabilmektedir. Fibrin, tüp içinde dağınık bir şekilde polimerize olmaktadır ve küçük bir kan pıhtısı elde edilmektedir. Sonuç olarak, TZF protokolü ile serum ve trombositlerle yüklü bir fibrin pıhtısının oluşturulması mümkün olmaktadır (D. M. Dohan ve ark. 2006a). TZF sikatriyel özelliklere sahip otolog bir fibrin jel gibi görünmesine rağmen, aslında yeni bir trombosit konsantrasi konseptidir. Üretim protokolü, trombositleri ve salınan sitokinleri bir fibrin pıhtısı içerisinde biriktirmeye çalışmak üzerine kuruludur (Marx ve ark. 1998; D. Dohan ve ark. 2003a, 2003b; Soffer ve ark. 2003). Bu çözünür

moleküller; temel enflamasyonda rol alan immün savunma hücreleri, proteinler ve iyileşmede yer alan büyüme faktörleri gibi mediyatörlerdir (W. Giannobile 1996).

Kemik iliğinde megakaryositlerden oluşan trombositler, diskoidal ve anükleer yapılardır. Trombositlerin yaşam süreleri 8 ile 10 gündür ve sitoplazma içerikleri aktivasyon sırasında salgılanan birçok granül içermektedir. Bunlar; α -granüller, platelete özgü (β -tromboglobulin gibi) veya platelete özgü olmayan (fibronektin, trombospondin, fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, büyüme faktörleri, fibrinoliz inhibitörleri, immünoglobulinler gibi) birçok proteinden oluşmaktadır. Yoğun granüller kalsiyum, serotonin gibi maddeler içermektedir. Ayrıca trombosit membranı; içinde kollajen, trombin gibi birçok molekül için reseptörlerin bulunduğu bir çift tabakalı fosfolipid yapısıdır. Trombosit aktivasyonu ile yara bölgesinde gerçekleşen agregasyon ve pıhtılaşma mekanizmalarının sayesinde hemostaz başlatılmaktadır. Degranülasyon, iyileşmenin ilk aşamalarını başlatan, fibrin matrisi içinde hücre göçünü ve çoğalmasını uyarabilen sitokinlerin salınmasını tanımlamaktadır. TZF içeriğinde birçok konsantre büyüme faktörü bulunmaktadır. Çalışmalarda TZF'nin 7 günden fazla sürede ve büyük miktarda; pıhtılaşma, iyileşme molekülleri (trombospondin-1, fibronektin, vitronektin) ve büyüme faktörleri, özellikle trombosit büyüme faktörleri TGF- β 1, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) salınımı yaptığı belirtilmiştir. Bu büyüme faktörlerinin yara iyileşmesinden, dokularından tamir ve rejenerasyonuna kadar birçok katkısı bulunmaktadır (D. M. Dohan ve ark. 2006b).

TGF- β 1'in *in-vitro* etkilerinin; uygulanan miktara, matris ortamına ve hücre tipine göre son derece çeşitli olduğu gösterilmiştir (W. V. Giannobile ve ark. 1996). Proliferasyon açısından etkileri oldukça değişken olmakla birlikte, hücre tiplerinin büyük çoğunluğu için tüm sitokinler arasında en güçlü fibrozis ajanı olduğu bildirilmiştir (Border ve Noble 1994). TGF- β 1, hem osteoblastların, hem de fibroblastların tip I kollajen ve fibronektin gibi matris moleküllerini sentezlemelerini indüklemektedirler. Bu nedenle TGF- β 1, fibröz sikatrizasyonu indükleme kapasitesi ile, bir enflamasyon regülatörü olarak gösterilmiştir (D. M. Dohan ve ark. 2006b).

PDGF, mezenkimal kök hücrelerin göçü, proliferasyonu ve hayatta kalması için temel düzenleyicilerdir (Rosenkranz ve Kazlauskas 1999; Lucarelli ve ark. 2003). PDGF'ler, fizyolojik sikatrizasyon mekanizmalarında, aterosklerozun ve diğer birçok fibroproliferatif hastalığın patogenezinde kritik bir rol oynamaktadır (Yu ve ark. 2003).

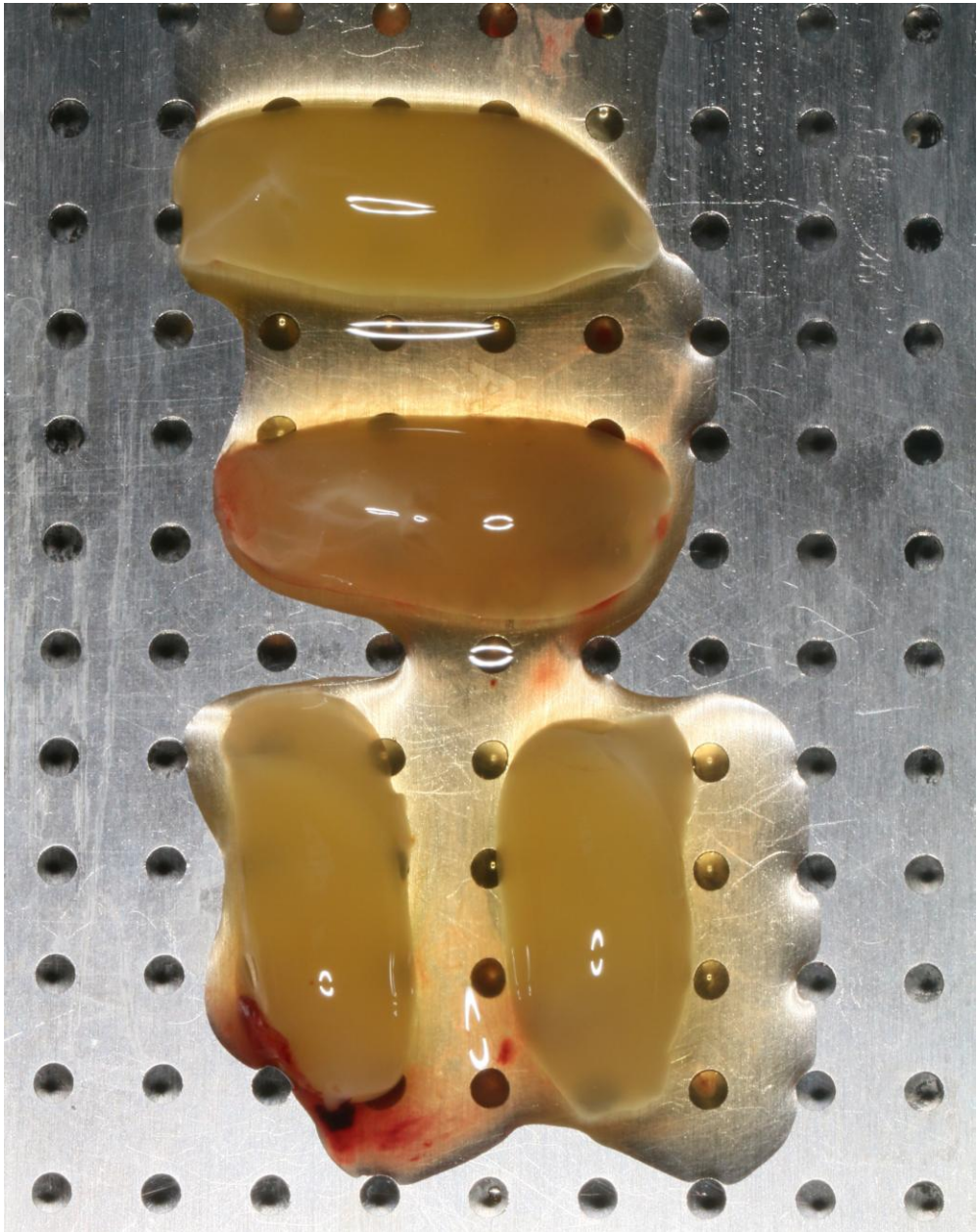
IGF-I ve IGF-II, hayatta kalmak için IGF sistemini kullanan hücre tiplerinin proliferasyonunun ve farklılaşmasının pozitif düzenleyicileridir (Winkler ve ark. 2000). Bu sitokinler, hücre proliferasyonu araçları olmalarına rağmen, hücreleri birçok apoptotik uyarandan koruyan, hayatta kalma sinyallerini indükleyerek, programlanmış hücre ölümü regülasyonunun ana eksenini oluşturmaktadır (Butt ve ark. 1999). IGF'ler trombosit degranülasyonu sırasında serbest bırakılmalarına rağmen, başlangıçta büyük ölçüde kan dolaşımında bulunmaktadır (D. M. Dohan ve ark. 2006b).

TZF'nin açık yara yüzeylerini koruyarak ve iyileşmeyi hızlandırarak, iyileşme mekanizmasını desteklediği; anjiyogenez, immün regülasyon ve epitel dokunun kapanması gibi etkilerle, iyileşme ve doku maturasyonunun önemli basamaklarında rol oynadığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Joseph Choukroun ve ark. 2006). TZF'nin diş hekimliğinde kullandığı alanlar; çoklu diş eti çekilmelerinin koronale pozisyone flep ile kapatılması, dental implant cerrahisinde kemik iyileşmesinin hızlandırılması, sinüs lift operasyonları, greft donör sahalarda yara iyileşmesinin desteklenmesi, diş çekim socketinin korunması, hızlandırılmış ortodontik tedaviler, periimplantitis tedavileri ve kemik ogmentasyonlarıdır (Aroca ve ark. 2009; Mazor ve ark. 2009; Jain ve ark. 2012). Günümüzdeki mevcut yöntemler ile farklı santrifüj ayarları kullanılarak elde edilen ürünler, farmakolojik ve materyal özelliklerine bağlı olarak dört ana kategoride sınıflandırılabilir (Ehrenfest ve ark. 2009).

2.8.1. Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (L-TZF)

Choukroun'un TZF protokolü, Fransa'da Choukroun ve arkadaşları tarafından geliştirilen basit bir tekniktir (Joseph Choukroun ve ark. 2001). Herhangi bir antikoagulan veya jelleştirici ajan olmadan üretildiği için, ikinci nesil bir trombosit konsantresi olarak tanımlanmaktadır (D. M. Dohan ve ark. 2006a). Venöz kan, kuru

cam tüplerde toplanmaktadır ve düşük hızda santrifüjlenmektedir (PRF Process, Nice, Fransa) (D. M. Dohan ve ark. 2007). Santrifüj işlemi, 12 dakika süre ile, 2.700 RPM’de gerçekleştirilmektedir (Joseph Choukroun ve ark. 2001; Ehrenfest ve ark. 2009). Antikoagülanların yokluğunda, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu derhal tetiklenmektedir. Santrifüj aşamasından sonra üç tabaka oluşmaktadır. Bunlar; alt tabakada kırmızı kan hücreleri temel tabakası, üst tabakada aselüler plazma tabakası ve orta tabakada bir L-TZF pıhtısıdır (Şekil 2.3). L-TZF pıhtısı, toplanan kandaki trombositlerin ve lökositlerin konsantre olduğu güçlü bir fibrin matrisi oluşturmaktadır (D. M. Dohan ve ark. 2006b, 2006c).



Şekil 2.3. Lökosit ve trombositten zengin fibrin (Pişiren A., Öncü E.).

2.8.2. Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF)

A-TZF, 14 dakika süre ve 1.500 RPM santrifüj hızı ile, cam tüpler kullanılarak elde edilmektedir (Şekil 2.4). A-TZF, trombositler de dahil olmak üzere, sayıca yüksek miktarda canlı hücre içermektedir. Bu durum, büyüme faktörleri ve sitokin salınım miktarlarını da arttırmaktadır. Aynı zamanda, B ve T lenfositlerin yakalanması ve trombosit dağılımının düzenli olması gibi avantajları vardır (Dohan Ehrenfest ve ark. 2018). Erken dönemde yapılan ölçümlerde, TZP'nin büyüme faktörleri salınım oranı diğerlerinden daha fazla iken; 10 günlük ölçümlerde A-TZF'nin büyüme faktörleri salınım oranı daha yüksek bulunmuştur (Kobayashi ve ark. 2016).



Şekil 2.4. Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (Pişiren A., Öncü E.).

2.8.3. Titanyum ile Hazırlanan Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF)

T-TZF; TZF'den sonra geliştirilen, trombosit aktivasyonu aşamasında silika yerine titanyum kullanılarak daha sıkı bir fibrin ağının oluşturulduğu bir yöntemdir (Tunalı ve ark. 2014). Alınan kanın cam tüpler kullanılarak santrifüj edilmesi esnasında, silika ile aktive olmasının sağlığa zararlı olabileceği bildirilmiştir (O'Connell 2007). Silika içerikli cam veya cam kaplı plastik tüp kullanımının yan etkilerinin eliminasyonu amacıyla T-TZF geliştirilmiştir. T-TZF; antikoagülan içermeyen 10 ml Grade 4 titanyum tüplere venöz kan ilavesi ile 12 dakika süre ve

2.800 RPM santrifüj hızı ile oluşturulmaktadır (Tunalı ve ark. 2013) (Şekil 2.5). T-TZF'nin, TZF'ye göre daha kalın bir yapıda olduğu, daha iyi organize olmuş bir fibrin ağa ve hücreyel yapıya sahip olduğu gösterilmiştir. T-TZF'nin birim alana düşen fibrin miktarının, TZF'ye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. T-TZF'nin doku içine yerleştirildikten sonraki süreçte, 30 günden daha uzun süre rezorbe olmadan kalabildiği gösterilmiştir (Tunalı ve ark. 2014).



Şekil 2.5. Titanyum ile hazırlanan trombosit zengin fibrin (Pişiren A., Öncü E.).

2.8.4. Enjekte Edilebilir Trombosit Zengin Fibrin (I-TZF)

TZF'nin enjekte edilebilir sıvı formu olan I-TZF, hasarlı dokuların rejenerasyonuna katkıda bulunan bir trombosit konsantresidir. I-TZF'nin içeriğindeki zenginleştirilmiş biyoaktif maddeler, yara iyileşme sürecini hızlandırmaktan sorumludur (İzol ve Üner 2019; Jasmine ve ark. 2020). I-TZF yönteminde, plastik tüp kullanımı ile, membran oluşturmadan sıvı haldeki I-TZF'nin vücuda enjeksiyonu

amaçlanmaktadır. I-TZF, 3-4 dakika süre ve 700-800 RPM santrifüj hızında elde edilen biyoaktif bir maddedir ve doku rejenerasyonunu uyarma kapasitesine sahiptir (Tunalı ve ark. 2014; İzol ve Üner 2019). Fibronektin, I-TZF'nin yüksek molekül ağırlıklı bir hücre dışı bileşenidir (Cartwright 1995; Grzesik ve Narayanan 2002). Kök yüzeylerine uygulanan fibronektinin, periodontal ligamentten suprakrestal bölgelere doğru hücresel proliferasyonu geliştirdiği gösterilmiştir (B. Smith ve ark. 1987).

2.8.5. TZF'nin Lokal Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanımı

Lokalize periodontitis formlarında ve tedaviye yanıt vermeyen veya tekrarlayan periodontitis durumlarında, antimikrobiyallerin lokal olarak uygulanmasının faydaları birçok çalışmada gösterilmiştir (Walker ve ark. 1993; Killoy 2002; Bonito ve ark. 2005). Küçük ve büyük biyomoleküller için, gelişmiş bir lokal dağıtım sistemi üretmek amacı ile çeşitli biyoaktif maddelerin sıvı TZF ile birleştirilmesi olasılığı tartışılmıştır (R. J. Miron ve Zhang 2018). Bu bilgiler birlikte ele alındığında, TZF hazırlığı öncesinde hastalara sistemik antibiyotik uygulaması yerine, TZF'ye antibiyotiklerin ilave edilmesi ve lokal antibiyotik taşıyıcısı olarak kullanılmasının daha ideal bir yaklaşım olabileceği belirtilmiştir (Polak ve ark. 2019).

Yakın zamanda yapılan bir çalışma, TZF'yi antibakteriyel aktivite sağlaması için geliştirmeyi amaçlamıştır (Polak ve ark. 2019). Metronidazol, penisilin veya klindamisin TZF'ye ilave edilmesi ile 4 güne kadar uzun süreli salınım sağlayan antimikrobiyal preparat üretilmiştir. Test edilen tüm antibiyotiklerin ayrı ayrı ilave edilmesiyle hazırlanan TZF, test edilen tüm zaman aralıklarında (hazırlık aşamasından itibaren 0 ile 96 saat arasında) *F. nucleatum* üremesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. TZF'ye ilave edilen antibiyotiklerin aktivitelerini en az 4 gün koruduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, antibiyotik ilave edilmiş TZF'lerin oral cerrahi sonrası yavaş salınımlı antibakteriyel ajan olarak kullanılabilirliklerini göstermiştir. Bu çalışma sonucunda, TZF'nin antibiyotiklerle kombine kullanılmasının, oral cerrahi sonrası enfeksiyon riskini azaltabileceği ve TZF'nin yararlı iyileşme özelliklerini arttırabilmesinin mümkün olabileceği çıkarımında bulunulmuştur (Polak ve ark. 2019).

2.9. Hipotez ve Amaç

Bu *in-vitro* çalışmanın amacı, antibiyotikler için lokal salınımlı bir taşıyıcı olarak, L-TZF kullanılması olasılığını araştırmaktır. Bu çalışma sonucunda L-TZF'ye antimikrobiyal özellikler kazandıran basit ve pratik bir yöntem oluşturulması ve L-TZF'nin lokal antibiyotik taşınmasında çözünebilir bir aracı biyomateryal olarak bakteri eliminasyonu etkinliğinin *in-vitro* olarak kanıtlanması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, L-TZF'nin bilinen yararlı iyileştirici özelliklerine ek avantaj sağlaması, iyileşmeyen inatçı periodontitis ve periimplantitis vakalarında ve çeşitli oral cerrahi prosedürlerde sistemik antibiyotik ihtiyacını azaltması hedeflenmektedir. Bu çalışma sonuçları ile birlikte; temini zor ve yüksek maliyet gerektiren lokal antimikrobiyal ajanlara karşı, daha kolay elde edilebilir, düşük maliyetli ve tamamen otojen olan bir lokal salınımlı antimikrobiyal ajanın elde edilmesi beklenmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve 2020/04 sayılı, 10.05.2020 tarihli yazı ile onaylanmıştır (Ek-A). Çalışmaya gönüllü katılımcılara; Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'nun talebine uygun olacak şekilde hazırlanan, çalışmanın amacı, içeriği, yöntem ve sorumluluklarını belirten, "Bilgilendirilmiş Hasta Olur Formu" okutularak imzalı onayları alınmış (Ek-B) ve hastalar çalışma hakkında yazılı ve sözlü olarak yalın bir dil ile bilgilendirilmiştir.

Çalışmanın tüm basamaklarında Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ile multidisipliner çalışılmıştır. Çalışmada kullanılacak kan örnekleri; yaşları 18-65 arasında değişen, sistemik hastalığı olmayan, son 6 aydır antibiyotik kullanmamış, sigara kullanmayan, 12 gönüllü bireyden elde edilmiştir.

Bu çalışmada üç farklı antibiyotik grubu oluşturulmuştur:

1. Azitromisin (dihidrat) ilave edilmiş L-TZF
2. Metronidazol ilave edilmiş L-TZF
3. Antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF (kontrol grubu)

İki farklı bakteri grubu seçilmiştir:

1. *Staphylococcus aureus*
2. *Fusobacterium nucleatum*

Altı çalışma grubu, ikişer numune ile oluşturulmuştur:

1. *Staphylococcus aureus* ile azitromisin ilave edilmiş L-TZF (SA-A)
2. *Staphylococcus aureus* ile metronidazol ilave edilmiş L-TZF (SA-M)
3. *Staphylococcus aureus* ile antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF (kontrol grubu) (SA-K)
4. *Fusobacterium nucleatum* ile azitromisin ilave edilmiş L-TZF (FN-A)
5. *Fusobacterium nucleatum* ile metronidazol ilave edilmiş L-TZF (FN-M)

6. *Fusobacterium nucleatum* ile antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF (kontrol grubu) (FN-K)

3.1. L-TZF Hazırlığı

L-TZF elde etmek için, bireylerden venöz ponksiyon ile kan alınıp, bu kan örnekleri 10 ml cam tüpler içerisinde toplanmıştır (Process for PRF™, Nice, Fransa) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. TZF tüpleri (Process for PRF™, Nice, Fransa).

Tüpler, sabit açılı bir santrifüj cihazı (Process for PRF™, Nice, Fransa) (Şekil 3.2) kullanılarak, oda sıcaklığında, 12 dakika süre ile, 2.700 RPM'de santrifüjlenmiştir (R. Miron ve ark. 2018) (Şekil 3.3). Santrifüjlenmiş kanın orta fraksiyonunda yer alan L-TZF pıhtı tabakası, steril presel kullanılarak toplanmıştır ve steril makas (Kohler®, Kohdent Roland Kohler Medizintechnik GmbH & Co. KG, Stockach, Almanya) kullanılarak, kırmızı kan hücreleri ve aselüler plazma tabakalarından ayrılmıştır.



Şekil 3.2. Santrifüj cihazı (Process for PRF™, Nice, Fransa).



Şekil 3.3. Antibiyotik ilave edilerek veya ilave edilmeden santrifüjlenmiş L-TZF örnekleri (Process for PRF™, Nice, Fransa).

3.2. L-TZF'ye Antibiyotik Katılması

Tüplerin santrifüj edilmesinden önce belirlenen konsantrasyonlardaki antibiyotikler, steril distile su (Polifarma® İlaç San. ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye)

(Şekil 3.4) ile hazırlanmış 0.5 ml hacminde çözeltiler halinde, şırınga kullanılarak, yeni alınmış taze kana ilave edilmiştir (Polak ve ark. 2019). Aşağıdaki antibiyotiklerin, hastane ve kliniklerde intravenöz uygulamalarda yaygın olarak kullanılan konsantrasyonları test edilmiştir:

1. Azitromisin (dihidrat) 100 mg/ml (CAS: 117772-70-0) (Şekil 3.5)
2. Metronidazol 5 mg/ml (CAS: 443-48-1) (Şekil 3.6)



Şekil 3.4. Steril distile su (Polifarma® İlaç San. ve Tic. A.Ş., Tekirdağ, Türkiye).



Şekil 3.5. Azitromisin (dihidrat) (Alfa Aesar, ThermoFisher (Kandel) GmbH, Kandel, Almanya).



Şekil 3.6. Metronidazol (Acros Organics™, Janssen Pharmaceuticaaan 3a, Geel, Belçika).

Deneyley, antibiyotik ilave edilmiş (test grupları; SA-A, SA-M, FN-A, FN-M) ve antibiyotik ilave edilmemiş (kontrol grupları, SA-K, FN-K) L-TZF'lerin, her seferinde farklı bir A-PRF™ Box (Process for PRF™, Nice, Fransa) kullanılarak kompresyonu ile membran oluşturulmasını takiben gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Kompresyon ile membran oluşturulması için kullanılan set (A-PRF™ Box, Process for PRF™, Nice, Fransa).

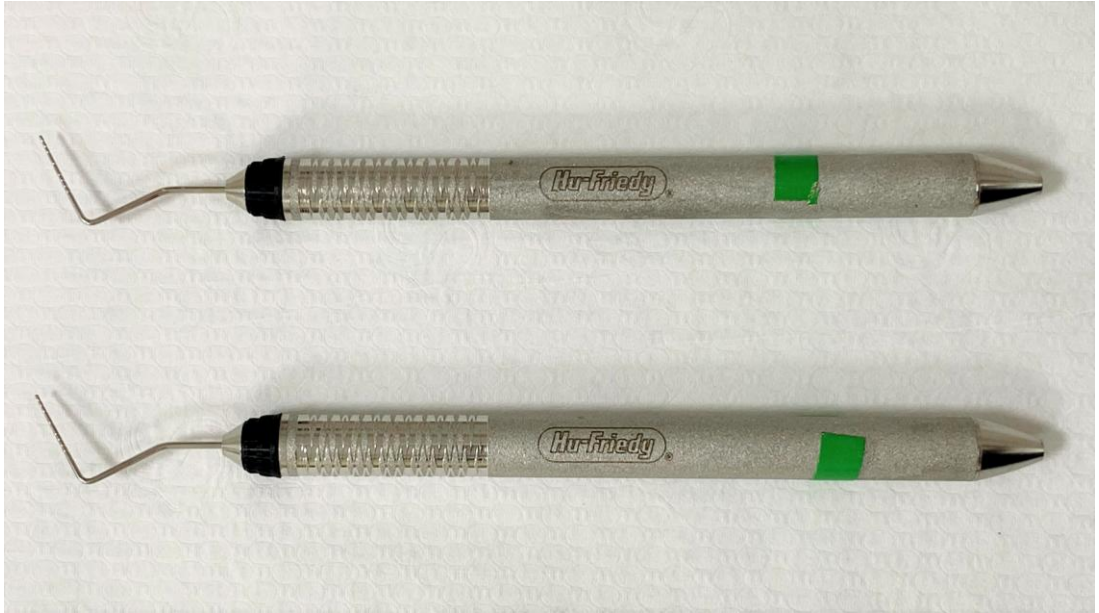
3.3. L-TZF'nin Fiziksel Özellik Ölçümü

Antibiyoqram deneyi öncesinde, elde edilen L-TZF'lerin fiziksel olarak, en ve boy uzunluk ölçümleri yapılmıştır. Membran haline getirilen L-TZF'lerin en ve boy uzunlukları, L-TZF başına iki kez (bir ölçüm diğerine dik olacak şekilde) ölçülmüştür ve her iki ölçümün ortalaması, L-TZF'nin boyut değeri olarak kullanılmıştır. Sonuçlar, L-TZF'lerin boyut ölçümlerinin ortalaması olarak ifade edilmiştir ve elde edilen değerler benzer bulunmuştur (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Elde edilen L-TZF'lerin boyut ölçümlerinin ortalaması.

	Azitromisin	Metronidazol	Kontrol Grubu
<i>S. aureus</i>	11 mm	10 mm	11 mm
<i>F. nucleatum</i>	10 mm	11 mm	13 mm

L-TZF'lerin boyut ölçümleri için Williams periodontal sondu (Hu-Friedy® , Chicago, Illinois, ABD) kullanılmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Williams periodontal sondu (Hu-Friedy® , Chicago, Illinois, ABD).

3.4. Antibiyogram Deneyi

Liyofilize halde ticari olarak temin edilen *F. nucleatum* ATCC® 25586™ (Microbiologics®, Saint Cloud, Minnesota, ABD) suşu, Schaedler broth (Liofilchem®, Teramo, Abruzzo, İtalya) (25.4 gr/L steril distile su oranı ile) (Şekil 3.10) sıvı besiyerinde çözülmüştür. Sonrasında; %5 koyun kanı ve vitamin K₁ (Konakion® MM, Cheplapharm Arzneimittel GmbH, Greifswald, Almanya) ilavesi ile zenginleştirilen Schaedler agara (Liofilchem®, Teramo, Abruzzo, İtalya) (38.9 gr/L steril distile su oranı ile) (Şekil 3.9) ekim yapılarak, anaerobik ortamda, 48 saat boyunca, 37°C'de kültüre edilmiştir. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda *S. aureus* ATCC® 29213™ (Microbiologics®, Saint Cloud, Minnesota, ABD) suşu, koyun kanlı agara ekim yapılarak 37°C'de, aerobik ortamda 24 saat kültüre edilmiştir.



Şekil 3.9. Schaedler agar (Liofilchem®, Teramo, Abruzzo, İtalya).



Şekil 3.10. Schaedler broth (Liofilchem[®], Teramo, Abruzzo, İtalya).

Üreyen mikroorganizma kolonilerinin, serum fizyolojik içerisinde süspansiyonları hazırlanmıştır. *F. nucleatum* için Schaedler agara (Liofilchem[®], Teramo, Abruzzo, İtalya) (Şekil 3.11), *S. aureus* için koyun kanlı agara tüm yüzeyi kaplayacak şekilde steril eküvyon yardımı ile bakteri süspansiyonları yayılmıştır (Şekil 3.12). *F. nucleatum* için ortam koşullarının stabilizasyonu amacı ile anaerobik poşetler (bag) (Genbag, BioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) ve anaerobik ortam oluşturucular (Genbag Anaer, BioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) kullanılmıştır. Uygun indikatörle anaerobik ortam kontrolü sağlanmıştır (Anaer Indicator, BioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa) (Şekil 3.11).

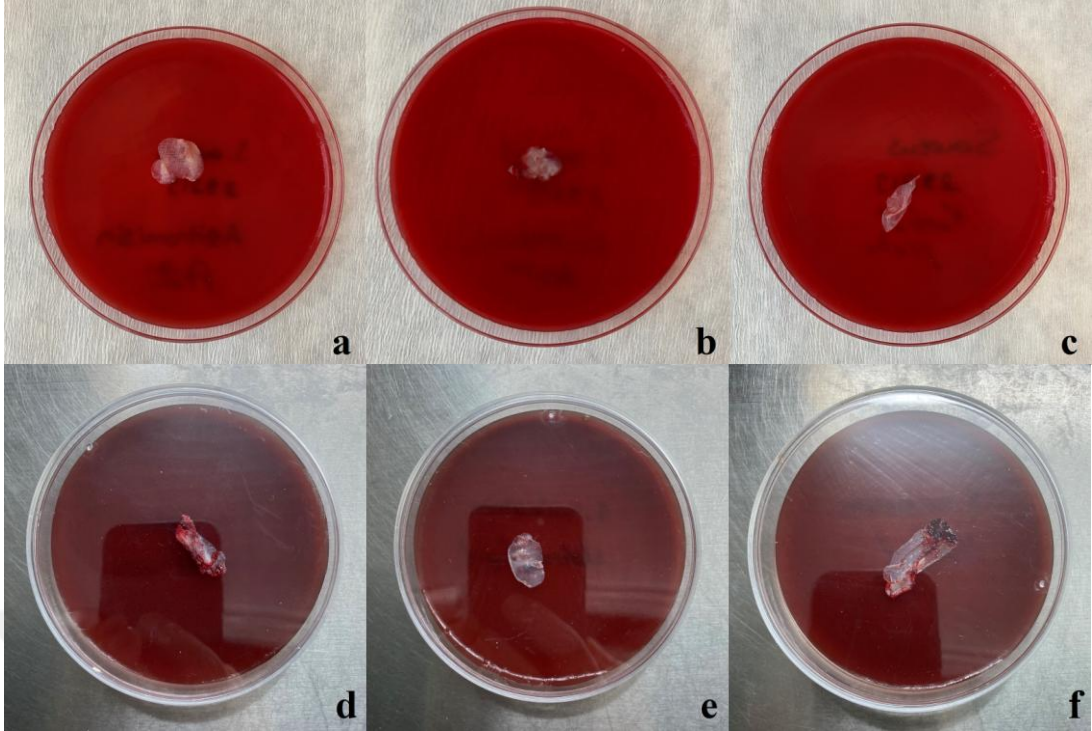


Şekil 3.11. *F. nucleatum* için anaerobik ortam hazırlığı (Genbag, BioMérieux SA, Marcy-l'Étoile, Fransa).



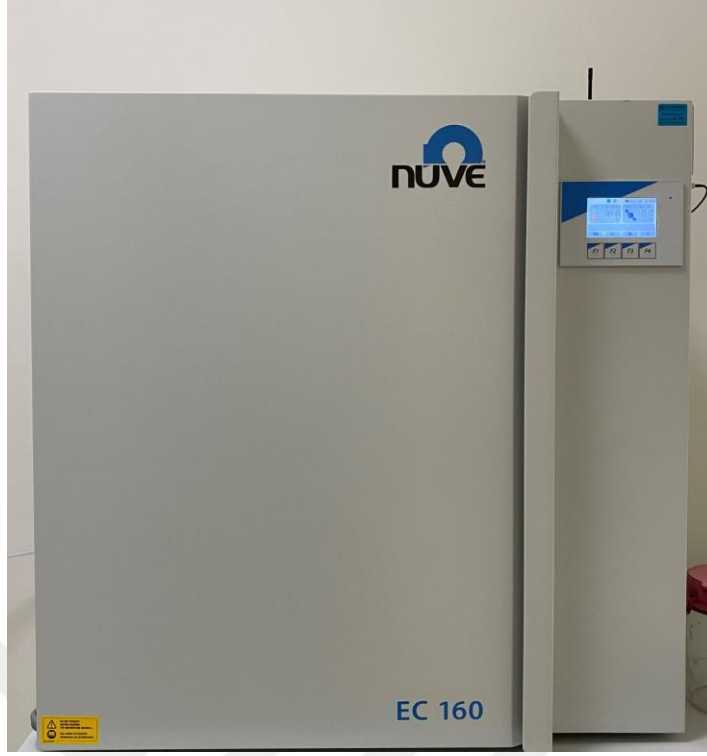
Şekil 3.12. *In-vitro* çalışma öncesinde, *S. aureus* için üreme denemesi.

Hazırlanan antibiyotik karışımı L-TZF'ler agar yüzeyine yerleştirilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. *S. aureus* ekimi gerçekleştirilmiş koyun kanlı agar yüzeyine; SA-A (a), SA-M (b), SA-K (c) çalışma gruplarının ve *F. nucleatum* ekimi gerçekleştirilmiş Schaedler agar (Liofilchem®, Teramo, Abruzzo, İtalya) yüzeyine; FN-A (d), FN-M (e), FN-K (f) çalışma gruplarının yerleştirilmesi.

Plaklara, 96 saat boyunca, 37°C'de, *F. nucleatum* için anaerobik koşullarda, *S. aureus* için ise aerobik koşullarda inkübasyon (Nüve EC 160, Nüve, Ankara, Türkiye) uygulanmıştır (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. İnkübatör (Nüve EC 160, Nüve, Ankara, Türkiye).

Test edilen malzemelerin antibakteriyel etkinliği (duyarlılık), inhibisyon alanlarının çapları ölçülerek belirlenmiştir. Çap, Williams periodontal sondu (Hu-Friedy[®], Chicago, Illionis, ABD) kullanılarak, numune başına iki kez (bir ölçüm diğerine dik olacak şekilde) ölçülmüş ve her iki ölçümün ortalaması, numunenin inhibisyon değeri olarak kullanılmıştır (Şekil 3.15). Sonuçlar, tüm numunelerin çap ölçümlerinin ortalaması olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.15. Williams periodontal sondu (Hu-Friedy[®], Chicago, Illionis, ABD) ile inhibisyon değeri ölçümü.

Çalışmamızda kullanılan L-TZF'lerin zamana bağlı antibakteriyel aktivitesi, 0-96 saat boyunca gözlemlenmiş, her 24 saatte bir bakteri ölçümü (bir ölçüm diğerine dik olacak şekilde, iki kez çap ölçümü ile, her iki ölçümün ortalaması alınarak) yapılmış ve daha sonra antibiyogram duyarlılık durumları değerlendirilmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler iki kopya halinde yapılmış ve en az üç kez tekrarlanmıştır. Veriler istatistiksel bir yazılım paketi (IBM[®] SPSS[®] Statistics 21, IBM, Armonk, New York, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki farkların önemini test etmek için, tek yönlü tekrarlanan ölçüm analizi (RM ANOVA) uygulanmıştır. Farklılıklar anlamlı bulundukça, çoklu testler için Bonferroni düzeltmeli Student's t testi kullanılarak gruplar arası farklılıklar önem açısından test edilmiştir. Çalışma kapsamında antibiyotik ilave edilmiş gruplar arasındaki farklılığı tespit etmek üzere Kruskal-Wallis analizi, bakteriler üzerindeki etki karşılaştırmasını tespit etmek üzere Mann-Whitney U testi ve saatler arasındaki etki farklılığını kıyaslamak için ise Wilcoxon işaretli sıra testi uygulanmıştır. Veriler $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Antibiyotik İlave Edilmiş ve Antibiyotik İlave Edilmemiş L-TZF'lerin Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması

L-TZF'ye antibiyotiklerin ilave edilmesi, antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF gruplarına (SA-K ve FN-K) kıyasla hem aerobik bir mikroorganizma olan *S. aureus* için, hem de anaerobik bir mikroorganizma olan *F. nucleatum* için üremenin önemli ölçüde inhibe edildiğini göstermiştir. Antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF gruplarının (FN-K), *F. nucleatum* üremesine karşı düşük inhibitör aktivite taşıdığı ve *F. nucleatum* karşısındaki bu doğal antibakteriyel etkinin, antibiyotik eklenmiş L-TZF gruplarına (FN-A ve FN-M) göre düşük olduğu bulunmuştur. Antibiyotik ilave edilmiş L-TZF grupları (FN-A ve FN-M), test edilen tüm zaman aralıklarında (0-96 saat) *F. nucleatum* üremesinde yeterli inhibisyon sergilemiştir. Azitromisin içeren L-TZF grupları (SA-A) ise, *S. aureus*'un üremesini önemli ölçüde inhibe etmiştir (Grafik 4.1 ve Grafik 4.2).

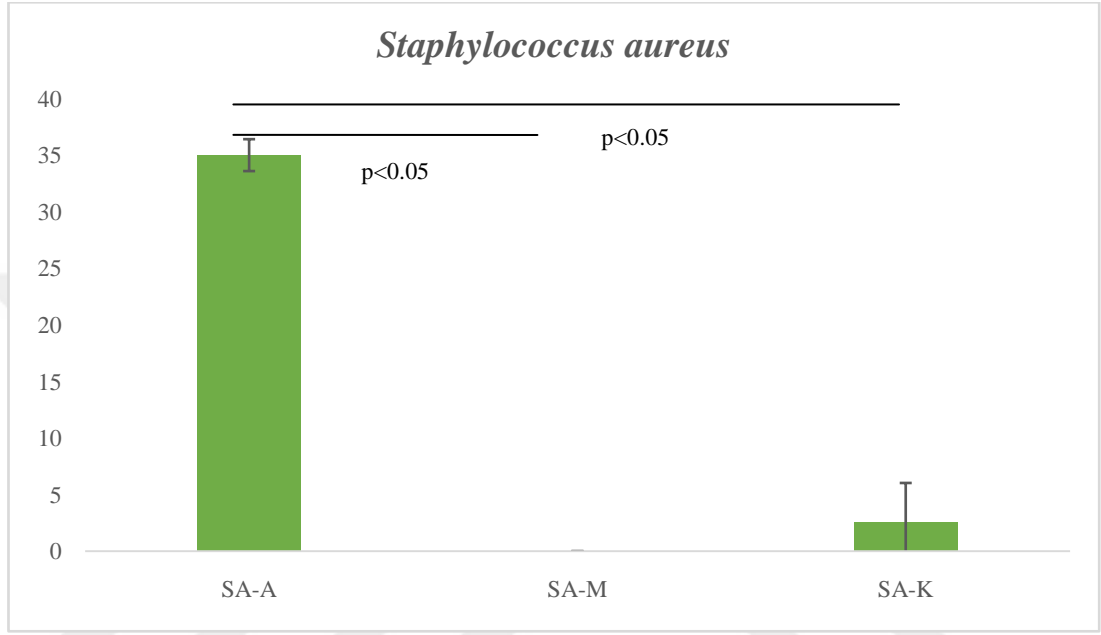
SA-A ve FN-A grupları bakteri inhibisyonu yönünden başarılı bulunmuştur ve bu grupların etkilerinin ölçümleri arasında, aynı zaman dilimlerinde istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

FN-M grubu bakteri inhibisyonu yönünden başarılı bulunmuştur. Fakat, SA-M grubunda bakteri inhibisyonu görülmemiştir. Bu bilgilerle, SA-M ve FN-M gruplarının etkilerinin ölçümleri arasında, aynı zaman dilimlerinde istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). SA-M grubunda etki gözlemlenmezken, FN-M grubunda ise ortalama değerde zamana bağlı olarak bakteri eliminasyonu etkisi gözlemlenmiştir.

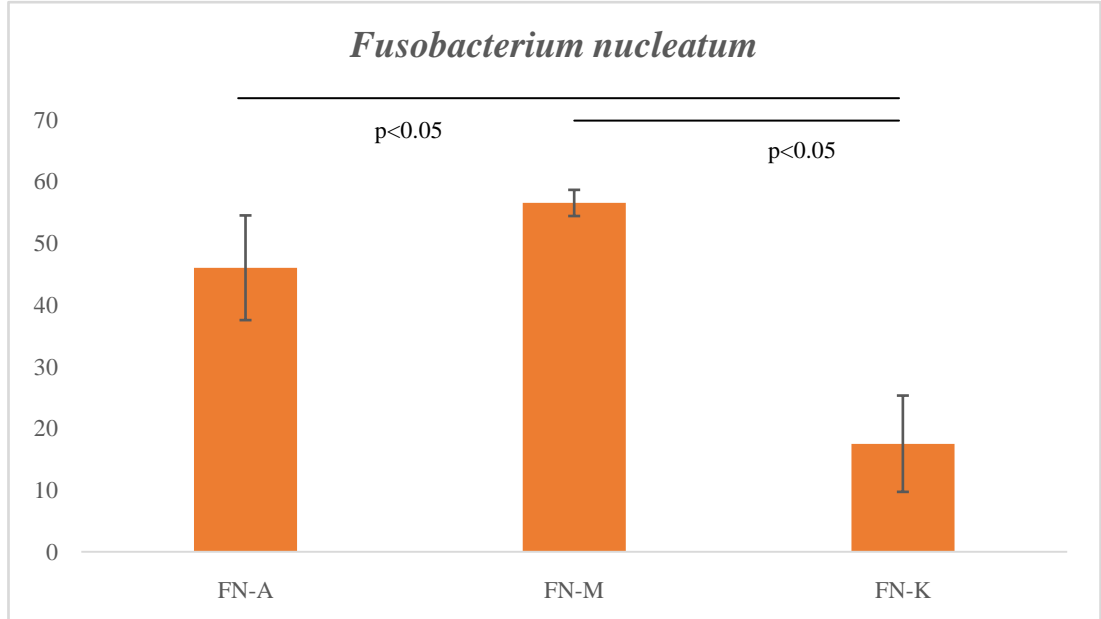
FN-K grubunda ilk 48 saatteki ölçümlerde bakteri inhibisyonu gözlemlenirken, sonraki ölçümlerde bu grubun bakteri inhibisyonu etkisi sıfırlanmıştır. SA-K grubunda ise ilk 24 saatte minimal bakteri inhibisyonunu takiben, geriye kalan tüm zaman dilimlerinde bakteri inhibisyonu gözlemlenmemiştir. Bu bilgilerle, SA-K ve FN-K gruplarının etkilerinin ölçümleri arasında, 24. saat ve 48. saatteki ölçümlerde, aynı zaman dilimlerinde istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$). Buna karşılık SA-K ve FN-K gruplarının

ölçümleri arasında 72. ve 96. saatlerde aynı zaman dilimlerinde istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

SA-A, SA-M, SA-K (Grafik 4.1) ve FN-A, FN-M, FN-K (Grafik 4.2) grupları için, çalışma boyunca ölçülen maksimum bakteri inhibisyonu değerleri aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.



Grafik 4.1. SA-A, SA-M ve SA-K grupları için çalışma boyunca ölçülen maksimum bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi ($p<0.05$).



Grafik 4.2. FN-A, FN-M ve FN-K grupları için çalışma boyunca ölçülen maksimum bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi ($p<0.05$).

4.2. Antibiyotik İlave Edilmiş ve Antibiyotik İlave Edilmemiş L-TZF'lerin Zamana Bağlı Antimikrobiyal Etkilerinin Karşılaştırılması

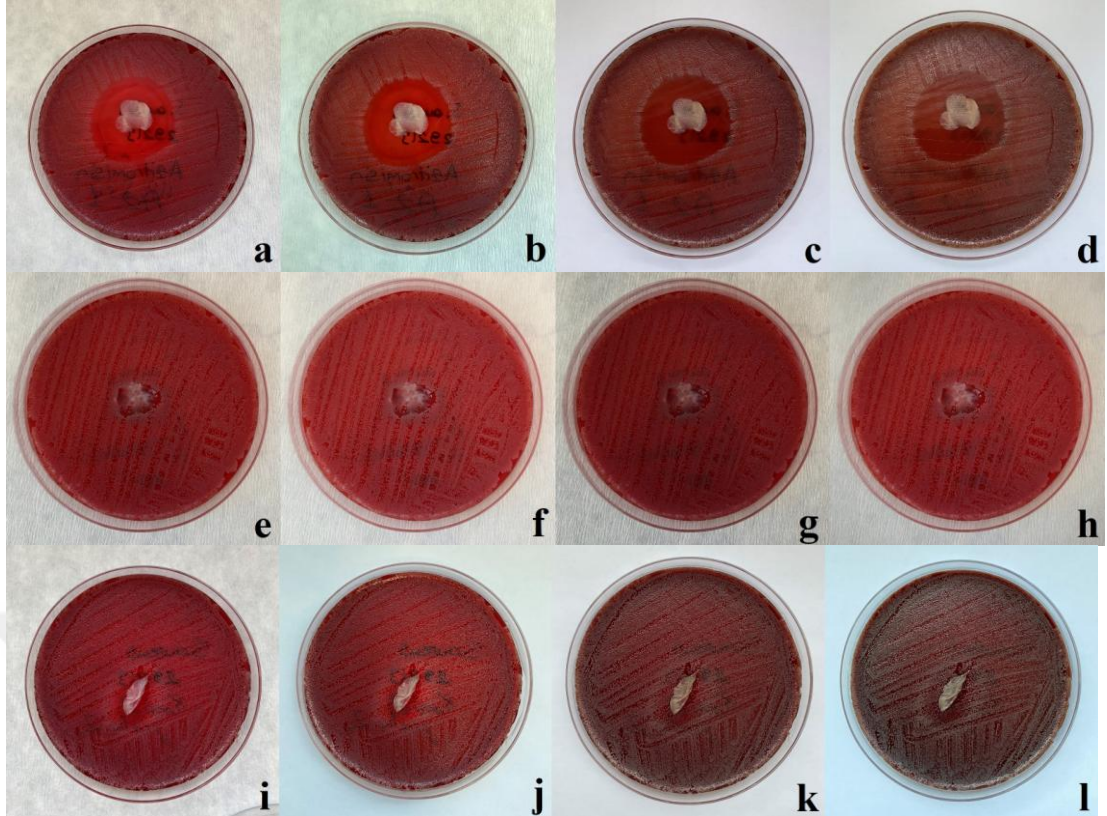
Çalışma kapsamında değerlendirilen SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 24 saat sonrasındaki zamana bağlı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). En yüksek değişim SA-A grubunda ($\bar{x}=33$ mm) gerçekleşmiştir. SA-M grubunda bir değişim olmamıştır. Buna karşılık SA-K grubunda ise ortalama 2.5 mm değişim gerçekleşmiştir.

SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 48 saat sonrasındaki zamana bağlı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). SA-A grubunda 48 saat sonunda ulaşılan ortalama değer 34.5 mm olmuştur. SA-M grubunda bir değişim olmamıştır. Buna karşılık SA-K grubu ise sıfırlanmıştır.

SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 72 saat sonrasındaki zamana bağlı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Değişim yalnızca SA-A grubunda gerçekleşmiş olup, ulaşılan değer ortalaması 33.5 mm olmuştur. SA-M ve SA-K gruplarında bir değişim olmamıştır.

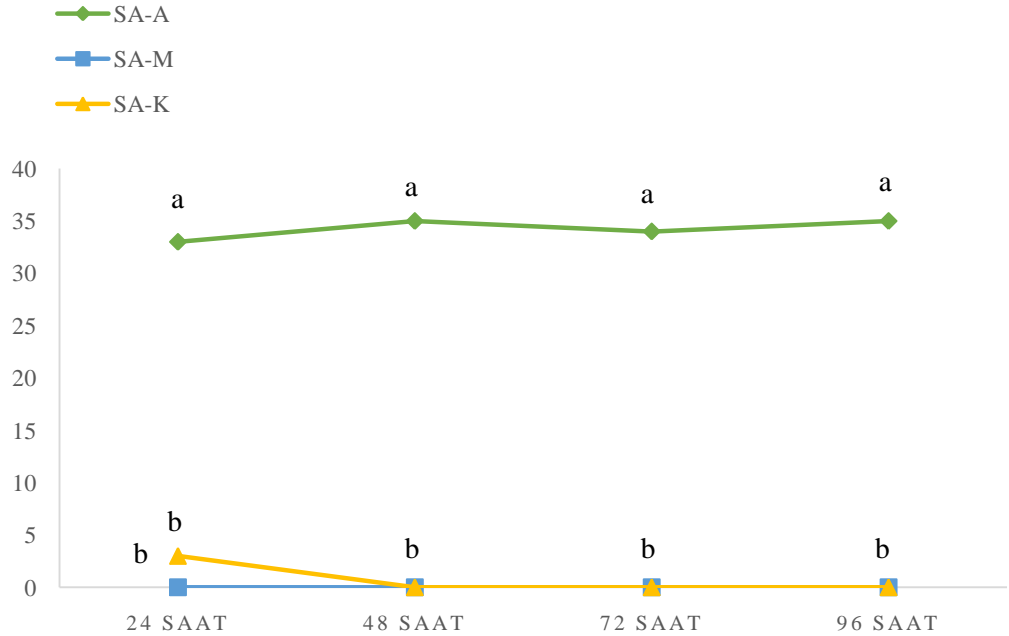
SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 96 saat sonrasındaki zamana bağlı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). Değişim yalnızca SA-A grubunda gerçekleşmiş olup, ulaşılan değer ortalaması 33.5 mm olmuştur. SA-M ve SA-K gruplarında bir değişim olmamıştır.

SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki bakteri inhibisyonu değişimleri Şekil 4.1 ve Grafik 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. SA-A grubunun 24. saat (a), 48. saat (b), 72. saat (c), 96. saat (d); SA-M grubunun 24. saat (e), 48. saat (f), 72. saat (g), 96. saat (h); SA-K grubunun 24. saat (i), 48. saat (j), 72. saat (k), 96. saat (l) sonundaki bakteriyel inhibisyon değişimleri.

Staphylococcus aureus



Grafik 4.3. SA-A, SA-M ve SA-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki bakteri inhibisyonu değişimlerinin mm cinsinden ifade edilmesi (Grafikteki farklı harfler (a, b) her bir bakteri grubunda kullanılan antibiyotikler arasındaki aynı saat içerisindeki farklılığı ifade etmektedir.).

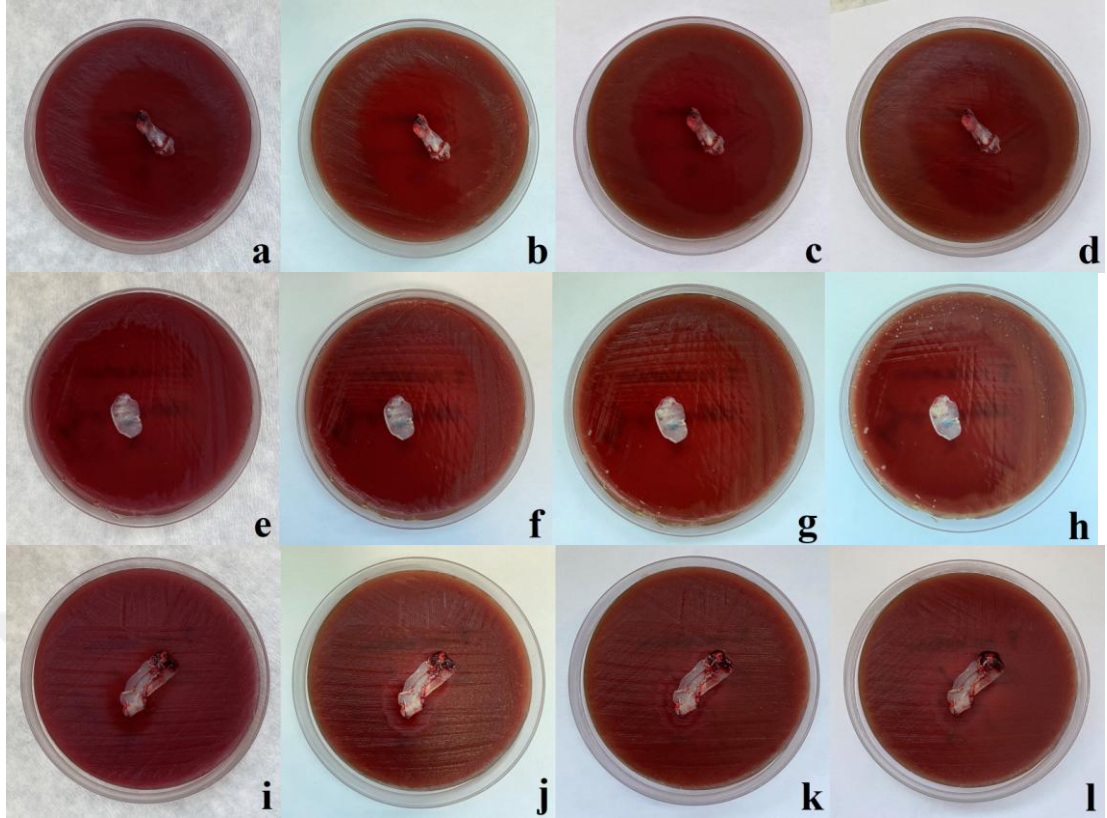
FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 24 saat sonrasındaki zamana bağılı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). En yüksek değişim FN-M grubunda ($\bar{x}=54.5$ mm) gerçekleşmiştir. FN-A grubunda gerçekleşen değişim ($\bar{x}=36.5$ mm) ikinci sıradadır. Buna karşılık FN-K grubunda ise ortalama 17 mm değişim gerçekleşmiştir.

FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 48 saat sonrasındaki zamana bağılı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). FN-M grubunda gerçekleşen değişim sonucunda 56.5 mm, FN-A grubunda gerçekleşen değişim sonucunda 42 mm olmuştur. FN-K grubunda ise değişim sonucunda ulaşılan değer 17.5 mm olmuştur.

FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 72 saat sonrasındaki zamana bağılı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). FN-M grubunda gerçekleşen değişim sonucunda ulaşılan değer 53 mm olmuştur. FN-A grubunda gerçekleşen değişim sonucunda ulaşılan değer ise 45.5 mm olmuştur. FN-K grubunda ise değişim sonucunda değer sıfırlanmıştır.

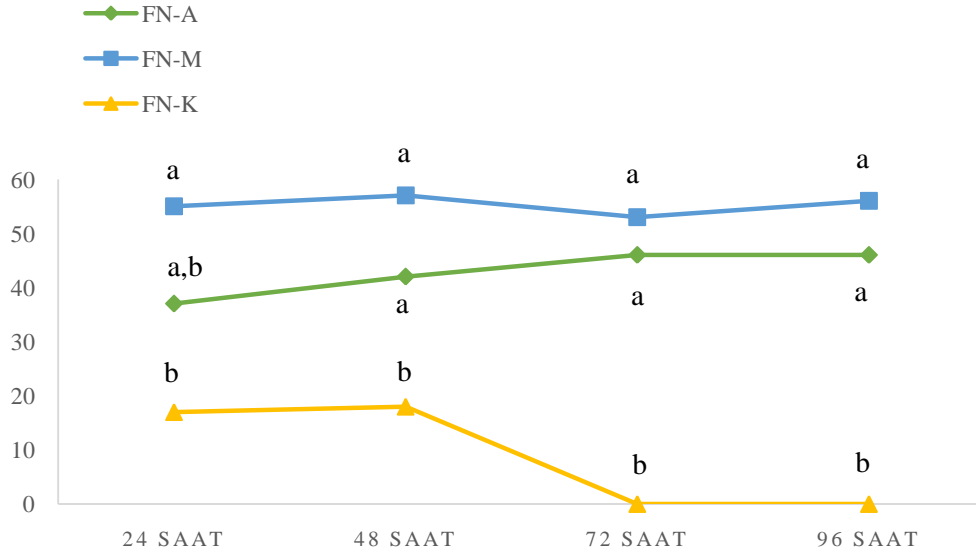
FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 96 saat sonrasındaki zamana bağılı değişimlerinde, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0.05$). FN-M grubunda gerçekleşen değişim sonucunda ulaşılan değer 55.5 mm olmuştur. FN-A grubunda gerçekleşen değişim sonucunda ulaşılan değer ise 46 mm olmuştur. FN-K grubunda ise değişim yaşanmamıştır.

FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki değişimleri Şekil 4.2 ve Grafik 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. FN-A grubunun 24. saat (a), 48. saat (b), 72. saat (c), 96. saat (d); FN-M grubunun 24. saat (e), 48. saat (f), 72. saat (g), 96. saat (h); FN-K grubunun 24. saat (i), 48. saat (j), 72. saat (k), 96. saat (l) sonundaki bakteriyel inhibisyon değişimleri.

Fusobacterium nucleatum



Grafik 4.4. FN-A, FN-M ve FN-K gruplarının 24-96 saat içerisindeki bakteri inhibisyonu değişimlerinin mm cinsinden ifade edilmesi (Grafikteki farklı harfler (a, b) her bir bakteri grubunda kullanılan antibiyotikler arasındaki aynı saat içerisindeki farklılığı ifade etmektedir.).

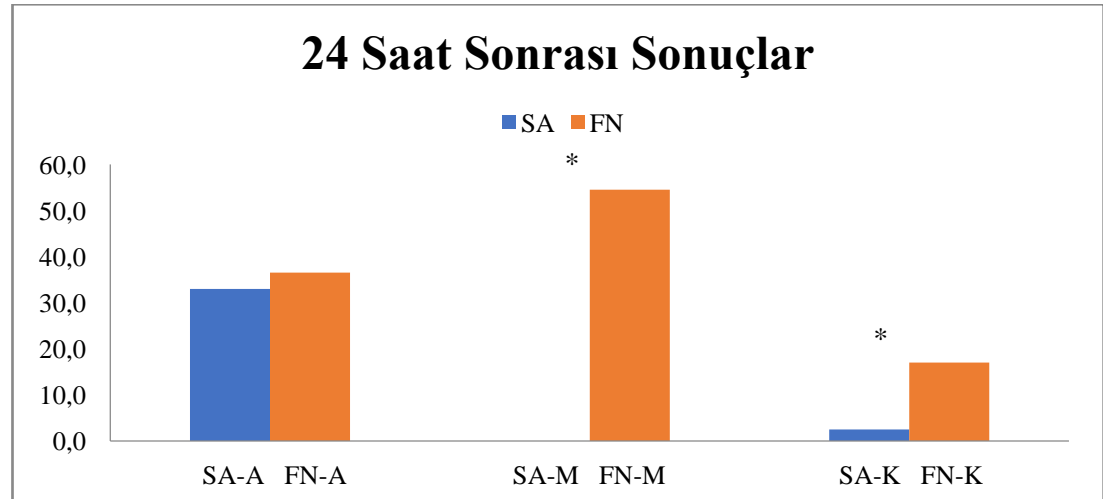
4.3. Bakteri İnhibisyonu Değerlerinin Zamana Bağlı Karşılaştırılması

Ölçümlerin zamana bağlı değişiminde farklılaşmayı tespit etmek üzere yapılan analiz sonucunda yalnızca kontrol gruplarında (SA-K, FN-K) saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Tablo 4.1).

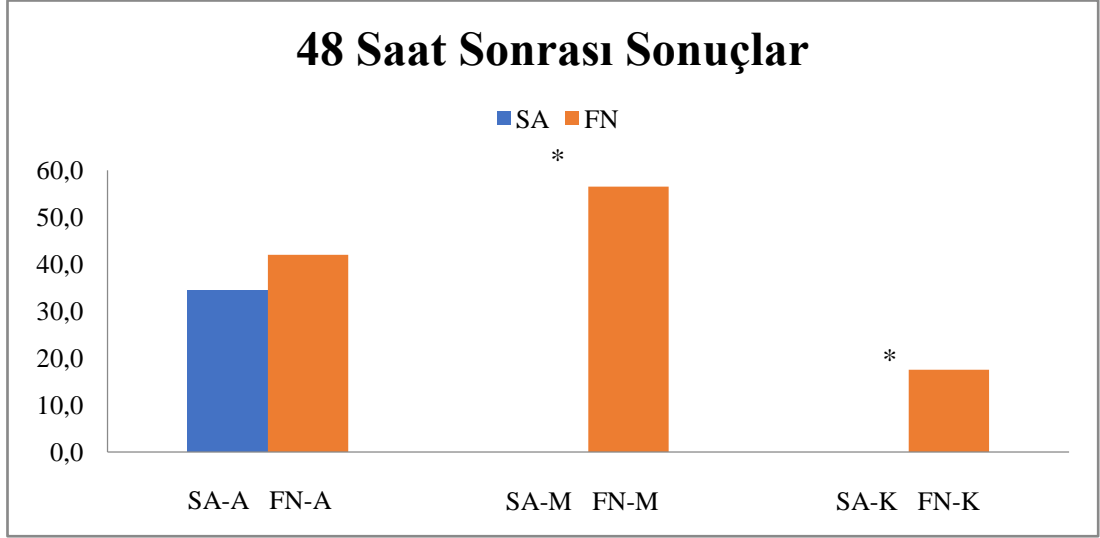
Tablo 4.1. Ölçümlerin karşılaştırılması (Satırlardaki farklı harfler (a, b) her bir bakteri grubunda kullanılan antibiyotikler arasındaki aynı saat içerisindeki farklılığı; “*” karakteri aynı antibiyotik grubunda, aynı saat içerisindeki bakteri türleri arasındaki farklılığı; “#” karakteri aynı bakteri grubundaki saatlere bağlı farklılığı ifade etmektedir. Değerler mm cinsinden ifade edilmiştir.).

	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Fusobacterium nucleatum</i>			
	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat	24 Saat	48 Saat	72 Saat	96 Saat
Azitromisin	33±1.41 ^a	34.5±0.71 ^a	33.5±0.71 ^a	35±1.41 ^a	36.5±4.95 ^a	42±7.07 ^a	45.5±10.61 ^a	46±8.48 ^a
Metronidazol	0 ^{b*}	0 ^{b*}	0 ^{b*}	0 ^{b*}	54.5±0.71 ^{a,b*}	56.5±2.12 ^{a*}	53±0 ^{a*}	55.5±0.71 ^{a*}
Kontrol Grubu	2.5±3.53 ^{b*}	0 ^{b*}	0 ^b	0 ^b	17±7.07 ^{b*}	17.5±7.78 ^{b*#}	0 ^{b#}	0 ^b

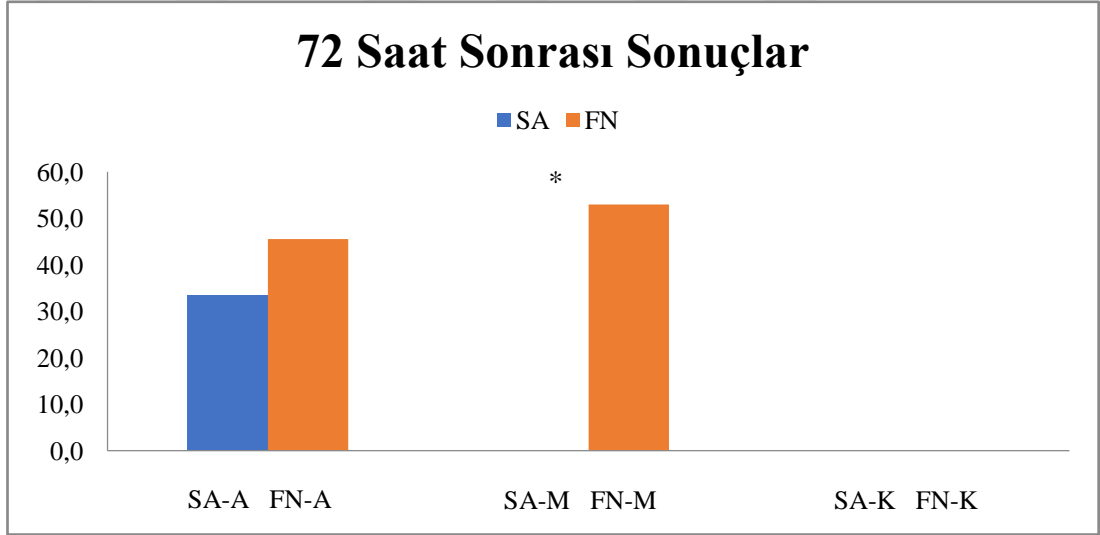
Tüm çalışma grupları için 24. saat (Grafik 4.5), 48. saat (Grafik 4.6), 72. saat (Grafik 4.7) ve 96. saat (Grafik 4.8) sonundaki bakteri inhibisyonu değerleri aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir.



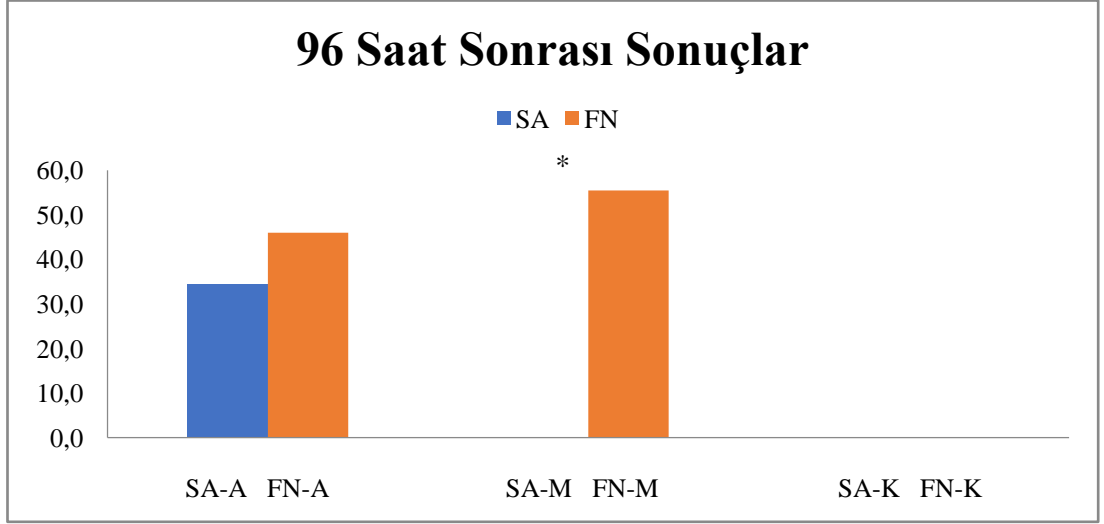
Grafik 4.5. Tüm çalışma grupları için 24. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi (“*” karakteri aynı antibiyotik grubunda, aynı saat içerisinde bakteri türleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir.) (SA: *S. aureus*, FN: *F. nucleatum*).



Grafik 4.6. Tüm çalışma grupları için 48. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi (“*” karakteri aynı antibiyotik grubunda, aynı saat içerisinde bakteri türleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir.) (SA: *S. aureus*, FN: *F. nucleatum*).



Grafik 4.7. Tüm çalışma grupları için 72. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi (“*” karakteri aynı antibiyotik grubunda, aynı saat içerisinde bakteri türleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir.) (SA: *S. aureus*, FN: *F. nucleatum*).



Grafik 4.8. Tüm alışma grupları için 96. saat sonundaki bakteri inhibisyonu değerlerinin, grafik üzerinde mm cinsinden ifade edilmesi (“*” karakteri aynı antibiyotik grubunda, aynı saat içerisinde bakteri türleri arasındaki farklılığı ifade etmektedir.) (SA: *S. aureus*, FN: *F. nucleatum*).

5. TARTIŞMA

Bu *in-vitro* çalışmanın amacı, antibiyotikler için lokal salınımlı bir taşıyıcı olarak, L-TZF kullanılması olasılığını, antibakteriyel ajan olarak kullanılıp, kullanılmayacağını ve L-TZF yerleştirildikten sonra ne kadar süre ile etkili olabileceğini değerlendirmektir. L-TZF'ye antibiyotiklerin ilave edilmesi, antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF gruplarına (SA-K ve FN-K) kıyasla hem aerobik bir mikroorganizma olan *S. aureus* için, hem de anaerobik bir mikroorganizma olan *F. nucleatum* için üremenin önemli ölçüde inhibe edildiğini göstermiştir. Zamana bağlı gözlem süresince, antibiyotik ilave edildiğinde 96 saat boyunca antimikrobiyal etkinlik gösterebildiği, ancak antibiyotik ilave edilmediğinde 48 saatten daha kısa süreli etkin olabildiği gözlemlenmiştir.

Özellikle lokal uygulama sistemlerinde antibiyotik kullanımı, etkilenen dokulara yüksek dozda antibiyotik sağlayabilmektedir ve minimum inhibitör konsantrasyonunu 1.000 kattan fazla aşabilmektedir (McLaren 2004; Stevens ve ark. 2005). Bu tür konsantrasyonlar, yara iyileşmesinin bozulmasına ve çeşitli hücreler üzerinde sitotoksik etkiye yol açabilmektedir (Antoci Jr ve ark. 2007). Ayrıca, aminoglikozid grubu bazı antibiyotikler; kulaklar ve böbrekler gibi bazı hücreler üzerinde toksik etki yaratabilmektedir (Verdel ve ark. 2008). Bu nedenlerden dolayı, çalışmamızda hastane ve kliniklerde intravenöz uygulamalarda yaygın olarak kullanılan antibiyotik konsantrasyonları tercih edilmiştir. Polak ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yapılan *in-vitro* deneylerde, test edilen tüm antibiyotik çözeltilerinin 0.5 ml'sinin santrifüj edilecek kana eklenmesinin, TZF fibrin yapısının oluşumunu engellemediği ve bu kombinasyonun *in-vitro* antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Kana daha büyük antibiyotik çözeltisi hacimlerinin eklenmesinin, TZF bütünlüğüne zarar verdiği bildirilmiştir (Polak ve ark. 2019). Bu sebeple çalışmamızda, L-TZF elde etmek için santrifüj edilecek kana eklenecek antibiyotik çözeltisi hacimleri 0.5 ml olarak tercih edilmiştir.

F. nucleatum, insan gingival epitel hücrelerine invaze olma ve konak hücrelerinin içerisinde canlı kalma kabiliyetine sahip olduğu bilinen bir periodontopatojen olup, sekonder kolonizasyonda yer almaktadır ve iyileşmeyen periodontitis ve periimplantitis olgularında izole edilmektedir (L. C. Yang ve ark.

2015). *S. aureus*, hastane kaynaklı cerrahi yara enfeksiyonlarının başlıca nedenidir ve ayrıca periimplantitis enfeksiyonlarında da sıklıkla izole edilebilmektedir (Humphreys 2012). *S. aureus*, hastane gibi bazı ortamlarda, sağlıklı cilt veya yumuşak dokudaki hafif semptomlarla ilişkili olmasına rağmen, piyojenik hastalıkların %80'inden fazlasını oluşturan enfeksiyonların ana kaynağı olarak tanımlanmıştır. *S. aureus* dentoalveolar enfeksiyonlar ve oral mukozal lezyonlarla ilişkilendirilmiştir. Dil, tükürük, oral mukoza, supragingival diş yüzeyleri ve periodontal cepte *Staphylococcal* kolonizasyon varlığı birçok çalışmada gösterilmiştir (T. E. Rams ve ark. 1990; Francis 1995). *S. aureus* çevre hücrelerde veya dokularda canlı kalma yeteneğine sahiptir ve enfeksiyona neden olarak iyileşmeyi kötü yönde etkilemektedir (Bielecki ve ark. 2007). Ayrıca; *S. aureus* ve *F. nucleatum*, periimplant lezyonlarda da sıklıkla gözlemlenmektedir (Papapanou ve ark. 1997; Tanner ve ark. 1997; Van Winkelhoff ve ark. 2000). Bu nedenlerden dolayı, bu periodontopatojenler çalışmamız için hedef mikroorganizmalar olarak seçilmiştir.

Çalışmamızda; antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF gruplarının (FN-K), *F. nucleatum* üremesine karşı düşük inhibitör aktivite taşıdığı ve *F. nucleatum* karşısındaki bu doğal antibakteriyel etkinin, antibiyotik eklenmiş L-TZF gruplarına (FN-A ve FN-M) göre düşük olduğu bulunmuştur. Antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF gruplarının (SA-K), *S. aureus* üremesine karşı etkili olmadığı ve bu çıkarımın Burnouf ve arkadaşlarının 2013 yılında ve Kour ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptıkları çalışmalar ile çeliştiği görülmüştür (Burnouf ve ark. 2013; Kour ve ark. 2018). Antibiyotik ilave edilmiş L-TZF grupları (FN-A ve FN-M), test edilen tüm zaman aralıklarında (0-96 saat) *F. nucleatum* üremesinde yeterli inhibisyon sergilemiştir. Ayrıca Roche ve Yoshimori'nin 1997'de yaptıkları çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde, bizim çalışmamızda da metronidazol içeren L-TZF grupları (SA-M), *S. aureus* üremesine karşı etkili olmamıştır (Roche ve Yoshimori 1997). Azitromisin ilave edilen L-TZF grupları (SA-A) ise, *S. aureus*'un üremesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Polak ve arkadaşlarının 2019 yılında, TZF santrifüjü sırasında antibiyotik ilave ederek antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirdikleri *in-vitro* çalışmalarında, antibiyotik ilave edilen TZF'nin 96 saate kadar lokal salınım yapabildiğini bildirmişlerdir (Polak ve ark. 2019). Bizim çalışmamızın sonuçları da

Polak ve arkadaşlarının çalışması ile benzer bulunmuştur; L-TZF'ye ilave edilen antibiyotiklerin aktivitelerini 96 saat koruduğu gözlemlenmiştir (Polak ve ark. 2019).

Günümüzde en sık kullanılan uzun süreli salınım gösteren, lokal taşıyıcı sistemler arasında, Actisite® (Schiff and Company, Caldwell, New Jersey, ABD), Arestin® (OraPharma Inc., Warminster, Pennsylvania, ABD), Atridox® (CollaGenex Pharmaceuticals, Newtown, Pennsylvania, ABD) ve Elyzol® (Dumex-Alpha, Jakarta, Endonezya) gibi ürünler bulunmaktadır (K Yadav ve ark. 2015). Bizim çalışmamızda da, bu ürünlerin uzun süreli lokal salınım özelliklerine (Actisite® için 14 gün, Arestin® için 14 gün, Atridox® için 7-21 gün, Elyzol® için 24-36 saat) benzer olarak, çalışmamızda kullandığımız modifiye L-TZF preparatları 96 saate kadar lokal salınım etkinliği göstermiştir (Stoltze 1995; Salvi ve ark. 2002; Ryan 2005; Hellström ve ark. 2008; Bader 2010; K Yadav ve ark. 2015).

Sonuçlarımıza göre L-TZF'nin, yara iyileşmesi, epitelizasyon ve büyüme faktörlerinin salınımında gösterdiği ek faydaları ile birlikte; antibiyotik ilave edilmiş L-TZF'nin oral cerrahi uygulamalar sonrasında yara bölgeleri için uygun bir tedavi seçeneği olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, A-TZF ve L-TZF gibi yeni modifikasyonların standart TZF'ye göre; proteinlerin ve büyüme faktörlerinin uzun süreli salınımı, fibroblast migrasyonunun indüksiyonu, proliferasyon ve fibroblastlar tarafından büyüme faktörlerinin ekspresyonu gibi üstün özellikler gösterdiği bildirilmiştir (Kobayashi ve ark. 2016; Fujioka-Kobayashi ve ark. 2017). Antibiyotiklerin A-TZF ile kombinasyonu, yara iyileştirici yararlı özelliklerini daha ileri seviyeye taşıyabilmektedir (Polak ve ark. 2019). Bu tür bir konsept, 2018 yılında Miron ve Zhang tarafından; gelişmiş bir lokal salınım ajanı elde etmek için, sıvı TZF ile biyoaktif materyallerin kombinasyonu olarak tanıtılmıştır (R. J. Miron ve Zhang 2018).

Bu çıkarımlara ek olarak, Aanaes ve arkadaşları tarafından 2020 yılında, kistik fibrozis ve bakteriyel sinüzit rahatsızlığı olan 10 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; TZF, bir antibiyotik solüsyonu ile karıştırılmıştır ve bu preparat endoskopik sinüs cerrahisi sonrasında mukoza üzerine püskürtülmüştür. Bu çalışmada antibiyotik grupları olarak; kolistin, tobramisin ve siprofloksasin-kolistin kombinasyonu kullanılmıştır. Antibiyotik konsantrasyonları, cerrahi uygulamadan 4,

7 ve 13 gün sonra sinonazal mukoza bölgesinde ölçülmüştür. Sonuç olarak, antibiyotiklerle birlikte uygulanan TZF'nin, sinüs cerrahisi ile birlikte topikal antibiyotik tedavisi için umut verici ve uygulanabilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Bu yöntemin, özellikle kistik fibrozis riski taşıyan bakteriyel sinüzit rahatsızlığı olan hastalarda ek bir tedavi yöntemi olarak düşünülebileceği bildirilmiştir (Aanaes ve ark. 2020).

Bu çalışmanın sonuçları, daha fazla periodontopatojen üzerinde ve daha fazla antibiyotik grubu kullanılarak geliştirilmelidir. Bakteri ve antibiyotik çeşitliliğinin sınırlı olması, bu çalışmanın limitasyonudur. Ayrıca, etkinliğin değerlendirilebilmesi için deneysel hayvan çalışmalarına ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Antibiyotiklerin ilave edilmesi ile elde edilen L-TZF, *S. aureus* ve *F. nucleatum*'a karşı uzun süreli antibakteriyel etki göstermiştir. Bu çalışmanın sonunda elde edilen modifiye L-TZF preparatlarının, L-TZF'nin yararlı iyileştirici özelliklerine ek olarak periodontal enfeksiyonların etkin tedavisi veya oral cerrahi prosedürler sonrası enfeksiyon riskini azaltmak için kullanılabilmesi ve lokal salınım amacı ile antibiyotikler için taşıyıcı biyolojik materyal olabileceği gözlemlenmiştir.

Antibiyotik ilave edilerek oluşturulan, antimikrobiyal özelliklere sahip modifiye L-TZF kullanımı; periodontal cerrahiler ve dental implant cerrahileri sonrasında ve iyileşmeyen inatçı periodontal cep bölgelerinin tedavisini desteklemek için veya cerrahi operasyonlar sonrası olası enfeksiyon tablosunu kontrol altında tutabilmek için yeni bir taşıyıcı yöntem olarak etkin olabilir.

Bu tür bir ajanın kullanımı, mekanik periodontal tedavilere destekleyici bir yöntem olabilir ve sistemik antibiyotik rejimlerine olan ihtiyacı azaltabilir. Yine de, mevcut *in-vitro* sonuçların klinik uygulaması dikkatle yapılmalıdır.

Elde edilen ajanın antibakteriyel aktivitesinin ve antibiyotik ilavesi ile elde edilen modifiye L-TZF'nin; antibiyotik ilave edilmemiş L-TZF'nin oral cerrahi uygulama sonrası iyileştirme özelliklerini değiştirebilme olasılığı, hayvan çalışmaları ve klinik çalışmalar ile desteklenmelidir.

7. KAYNAKLAR

- Aanaes, K., Nielsen, K. G., Arndal, E., von Buchwald, C., Pressler, T., & Høiby, N. (2020). Autologous fibrin sealant co-delivered with antibiotics is a robust method for topical antibiotic treatment after sinus surgery. *Acta Oto-Laryngologica*, 1-6.
- Abrahamsson, L., Berglundh, T., & Lindhe, J. (1998). Soft tissue response to plaque formation at different implant systems. A comparative study in the dog. *Clinical oral implants research*, 9(2), 73-9.
- Adriaens, P. A., & Adriaens, L. M. (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontology 2000*, 36(1), 121-45.
- Alanis, A. J. (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of medical research*, 36(6), 697-705.
- Albrektsson, T., & Isidor, F. (1994). *Consensus report: implant therapy*. Paper presented at the Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology.
- Amar, S., Gokce, N., Morgan, S., Loukideli, M., Van Dyke, T. E., & Vita, J. A. (2003). Periodontal disease is associated with brachial artery endothelial dysfunction and systemic inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(7), 1245-9.
- Antoci Jr, V., Adams, C. S., Hickok, N. J., Shapiro, I. M., & Parvizi, J. (2007). Antibiotics for local delivery systems cause skeletal cell toxicity in vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 462, 200-6.
- Arguedas, A., Empananza, P., Schwartz, R. H., Soley, C., Guevara, S., de Caprariis, P. J., & Espinoza, G. (2005). A randomized, multicenter, double blind, double dummy trial of single dose azithromycin versus high dose amoxicillin for treatment of uncomplicated acute otitis media. *The Pediatric infectious disease journal*, 24(2), 153-61.
- Armitage, G. C. (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Annals of Periodontology*, 4(1), 1-6.
- Aroca, S., Keglevich, T., Barbieri, B., Gera, I., & Etienne, D. (2009). Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: A 6-month study. *Journal of periodontology*, 80(2), 244-52.
- Augthun, M., & Conrads, G. (1997). Microbial findings of deep peri-implant bone defects. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 12(1).
- Awawdeh, L., Lundy, F., Shaw, C., Lamey, P. J., Linden, G., & Kennedy, J. (2002). Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *International endodontic journal*, 35(1), 30-6.
- Axelsson, P., & Lindhe, J. (1981). The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 8(4), 281-94.
- Bader, H. I. (2010). Adjunctive periodontal therapy: a review of current techniques. *Dentistry today*, 29(7), 94-6, 8; quiz 8, 103.
- Baker, P., Evans, R., Coburn, R., & Genco, R. (1983). Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *Journal of periodontology*, 54(10), 580-5.

- Bartold, P., Gully, N., Zilm, P., & Rogers, A. (1991). Identification of components in *Fusobacterium nucleatum* chemostat-culture supernatants that are potent inhibitors of human gingival fibroblast proliferation. *Journal of Periodontal Research*, 26(4), 314-22.
- Beck, J. D., Elter, J. R., Heiss, G., Couper, D., Mauriello, S. M., & Offenbacher, S. (2001). Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thickness: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 21(11), 1816-22.
- Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M. G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P. M., . . . Figuero, E. (2018). Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S313-S8.
- Berglundh, T., Gislason, Ö., Lekholm, U., Sennerby, L., & Lindhe, J. (2004). Histopathological observations of human periimplantitis lesions. *Journal of clinical periodontology*, 31(5), 341-7.
- Bickel, M., & Cimasoni, G. (1985). The pH of human crevicular fluid measured by a new microanalytical technique. *Journal of Periodontal Research*, 20(1), 35-40.
- Bielecki, T., Gazdzik, T., Arendt, J., Szczepanski, T., Krol, W., & Wielkoszynski, T. (2007). Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 89(3), 417-20.
- Birkedal-Hansen, H., Moore, W., Bodden, M., Windsor, L., Birkedal-Hansen, B., DeCarlo, A., & Engler, J. (1993). Matrix metalloproteinases: a review. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 4(2), 197-250.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *Journal of Periodontal Research*, 28(7), 500-10.
- Birkedal-Hansen, H. (1993). Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *Journal of periodontology*, 64, 474-84.
- Bladen, H. A., & Hampp, E. G. (1964). Ultrastructure of *Treponema microdentium* and *Borrelia vincentii*. *Journal of bacteriology*, 87(5), 1180-91.
- Blake, M., & Gotschlich, E. (1986). Functional and immunological properties of pathogenic neisserial surface proteins. *Bacterial outer membranes as model systems*, 377-400.
- Bolstad, A., Jensen, H. B., & Bakken, V. (1996). Taxonomy, biology, and periodontal aspects of *Fusobacterium nucleatum*. *Clinical microbiology reviews*, 9(1), 55-71.
- Bonito, A. J., Lux, L., & Lohr, K. N. (2005). Impact of local adjuncts to scaling and root planing in periodontal disease therapy: a systematic review. *Journal of periodontology*, 76(8), 1227-36.
- Border, W. A., & Noble, N. A. (1994). Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *New England Journal of Medicine*, 331(19), 1286-92.
- Bosnar, M., Bošnjak, B., Čužić, S., Hrvačić, B., Marjanović, N., Glojnarčić, I., . . . Haber, V. E. (2009). Azithromycin and clarithromycin inhibit lipopolysaccharide-induced murine pulmonary neutrophilia mainly through effects on macrophage-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-1 β . *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 331(1), 104-13.
- Bosshardt, D. D. (2018). The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontology 2000*, 76(1), 43-50.

- Botero, J. E., Escudero, M., Arce, R. M., Betancourth, M., Jaramillo, A., & Contreras, A. (2007). Frequency of detection of periodontopathic and superinfecting bacteria in HIV-positive patients with periodontitis. *JOURNAL-INTERNATIONAL ACADEMY OF PERIODONTOLOGY*, 9(1), 13.
- Bradshaw, D. J., Marsh, P. D., Watson, G. K., & Allison, C. (1998). Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infection and Immunity*, 66(10), 4729-32.
- Britt, M. R., & Pohlod, D. J. (1986). Serum and crevicular fluid concentrations after a single oral dose of metronidazole. *Journal of periodontology*, 57(2), 104-7.
- Brook, I., & Walker, R. (1986). The relationship between *Fusobacterium* species and other flora in mixed infection. *Journal of medical microbiology*, 21(2), 93-100.
- Buchanan, T. (1979). Pathogenic aspects of outer membrane components of Gram negative bacteria. *Bacterial outer membrane*.
- Burnouf, T., Chou, M. L., Wu, Y. W., Su, C. Y., & Lee, L. W. (2013). Antimicrobial activity of platelet (PLT)-poor plasma, PLT-rich plasma, PLT gel, and solvent/detergent-treated PLT lysate biomaterials against wound bacteria. *Transfusion*, 53(1), 138-46.
- Butt, A. J., Firth, S. M., & Baxter, R. C. (1999). The IGF axis and programmed cell death. *Immunology and cell biology*, 77(3), 256-62.
- Büchter, A., Meyer, U., Kruse-Lösler, B., Joos, U., & Kleinheinz, J. (2004). Sustained release of doxycycline for the treatment of peri-implantitis: randomised controlled trial. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 42(5), 439-44.
- Byers, M., & Taylor, P. (1993). Effect of sensory denervation on the response of rat molar pulp to exposure injury. *Journal of dental research*, 72(3), 613-8.
- Canellas, J. d. S., Ritto, F., & Medeiros, P. (2017). Evaluation of postoperative complications after mandibular third molar surgery with the use of platelet-rich fibrin: a systematic review and meta-analysis. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 46(9), 1138-46.
- Carlsson, J. (1967). Presence of various types of non-haemolytic streptococci in dental plaque and in other sites of the oral cavity in man. *Odont Revy*, 18, 55-74.
- Carlsson, J. (1968). A numerical taxonomic study of human oral streptococci. *Odontologisk revy*, 19(2), 137.
- Cartwright, L. (1995). *Screening the body: Tracing medicine's visual culture*: U of Minnesota Press.
- Castro, A. B., Meschi, N., Temmerman, A., Pinto, N., Lambrechts, P., Teughels, W., & Quirynen, M. (2017). Regenerative potential of leucocyte-and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical periodontology*, 44(1), 67-82.
- Caton, J. G., Armitage, G., Berglundh, T., Chapple, I. L., Jepsen, S., Kornman, K. S., . . . Tonetti, M. S. (2018). A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Journal of periodontology*, 89, S1-S8.
- Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 64(1), 57-80.
- Characklis, W. G., & Marshall, K. (1990). *Biofilms* (Vol. 5): Wiley-Interscience.
- Chhina, K., & Bhatnagar, R. (2012). Local Drug Delivery. *Indian Journal of Dental Sciences*, 4(1).

- Chico, R. M., Pittrof, R., Greenwood, B., & Chandramohan, D. (2008). Azithromycin-chloroquine and the intermittent preventive treatment of malaria in pregnancy. *Malaria journal*, 7(1), 1-14.
- Choukroun, J., Adda, F., Schoefer, C., & Vervelle, A. (2000). Une opportunité en parodontologie: Le PRF. *Implantodontie*, 42, 55-62.
- Choukroun, J., Adda, F., Schoeffler, C., & Vervelle, A. (2001). Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie*, 42(55), e62.
- Choukroun, J., Diss, A., Simonpieri, A., Girard, M.-O., Schoeffler, C., Dohan, S. L., . . . Dohan, D. M. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e56-e60.
- Chow, A., Bednorz, D., & Guze, L. (1977). Susceptibility of obligate anaerobes to metronidazole: an extended study of 1054 clinical isolates. In (SM Finegold ed.), *Metronidazole. Excerpta Medica-Princeton, Lawrenceville, New Jersey*.
- Cieslik-Bielecka, A., Gazdzik, T. S., Bielecki, T. M., & Cieslik, T. (2007). Why the platelet-rich gel has antimicrobial activity? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 3(103), 303-5.
- Cimasoni, G. (1983). Crevicular fluid updated. *Monograph in oral sciences*, 12, 24-8,104-23.
- Claesson, R., Edlund, M. B., Persson, S., & Carlsson, J. (1990). Production of volatile sulfur compounds by various Fusobacterium species. *Oral microbiology and immunology*, 5(3), 137-42.
- Cobb, C. M. (1996). Non-surgical pocket therapy: Mechanical. *Annals of Periodontology*, 1(1), 443-90.
- Cohen, S., McMurry, L., & Levy, S. (1988). marA locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of Escherichia coli. *Journal of bacteriology*, 170(12), 5416-22.
- Colombo, A. P. V., Teles, R. P., Torres, M. C., Souto, R., Rosalém Jr, W., Mendes, M. C. S., & Uzeda, M. (2002). Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, 73(4), 360-9.
- Corey, E. J., Czakó, B., & Kürti, L. (2007). *Molecules and medicine*: John Wiley & Sons.
- Cosar, C., & Julou, L. (1959). Activity of (Hydroxy-2'Ethyl)-1 Methyl-2 Nitro-5 Imidazole (8823, RP) in Experimental Trichomonas vaginalis Infections. *Ann. Inst. Pasteur*, 96(2), 238-41.
- Costerton, J., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2005). Biofilm in implant infections: its production and regulation. *The International journal of artificial organs*, 28(11), 1062-8.
- Cramton, S. E., Gerke, C., Schnell, N. F., Nichols, W. W., & Götz, F. (1999). The intercellular adhesion (ica) locus is present in Staphylococcus aureus and is required for biofilm formation. *Infection and Immunity*, 67(10), 5427-33.
- Cuesta, A. I., Jewtuchowicz, V., Brusca, M. I., Nastri, M. L., & Rosa, A. C. (2010). Prevalence of Staphylococcus spp and Candida spp in the oral cavity and periodontal pockets of periodontal disease patients. *Acta Odontológica Latinoamericana*, 23(1), 20-6.
- Cutler, C. W., Kalmar, J. R., & Genco, C. A. (1995). Pathogenic strategies of the oral anaerobe, Porphyromonas gingivalis. *Trends in microbiology*, 3(2), 45-51.

- Danielsen, B., Wilton, J., Baelum, V., Johnson, N., & Fejerskov, O. (1993). Serum immunoglobulin G antibodies to *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* and *Streptococcus sanguis* during experimental gingivitis in young adults. *Oral microbiology and immunology*, 8(3), 154-60.
- Davies, R., & Stirland, R. (1970). The in-vitro sensitivity of oral spirochaetes to metronidazole. *Journal of Periodontal Research*, 5(3), 183-6.
- De Boever, A. L., & De Boever, J. A. (2006). Early colonization of non-submerged dental implants in patients with a history of advanced aggressive periodontitis. *Clinical oral implants research*, 17(1), 8-17.
- de Souza Gonçalves, L., Souto, R., & Colombo, A. (2009). Detection of *Helicobacter pylori*, *Enterococcus faecalis*, and *Pseudomonas aeruginosa* in the subgingival biofilm of HIV-infected subjects undergoing HAART with chronic periodontitis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 28(11), 1335.
- Dige, I., Nyengaard, J. R., Kilian, M., & Nyvad, B. (2009). Application of stereological principles for quantification of bacteria in intact dental biofilms. *Oral microbiology and immunology*, 24(1), 69-75.
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 16-34.
- Dohan, D., Donsimoni, J., Navarro, G., & Gaultier, F. (2003a). Platelet concentrates. Part 1: Technologies. *Implantodontie*, 12, 5-16.
- Dohan, D., Donsimoni, J., Navarro, G., & Gaultier, F. (2003b). Platelet concentrates. Part 2: Associated biology. *Implantodontie*, 12, 17-25.
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006a). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e37-e44.
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006b). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e45-e50.
- Dohan, D. M., Choukroun, J., Diss, A., Dohan, S. L., Dohan, A. J., Mouhyi, J., & Gogly, B. (2006c). Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 101(3), e51-e5.
- Dohan, D. M., Del Corso, M., & Charrier, J.-B. (2007). Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 5(103), 587-93.
- Dohan Ehrenfest, D. M., Pinto, N. R., Pereda, A., Jiménez, P., Corso, M. D., Kang, B.-S., . . . Quirynen, M. (2018). The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets*, 29(2), 171-84.
- Donaldson, S. L., Ranney, R. R., & Tew, J. G. (1983). Evidence of mitogenic activity in periodontitis-associated bacteria. *Infection and Immunity*, 42(2), 487-95.

- Dzink, J., Socransky, S., & Haffajee, A. (1988). The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *Journal of clinical periodontology*, 15(5), 316-23.
- Dzink, J., Tanner, A., Haffajee, A., & Socransky, S. (1985). Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. *Journal of clinical periodontology*, 12(8), 648-59.
- Easmon, C. S., & Adlam, C. (1983). Staphylococci and staphylococcal infections.
- Ebersole, J. L. (2003). Humoral immune responses in gingival crevice fluid: local and systemic implications. *Periodontology 2000*, 31(1), 135-66.
- Edwardsson, S. (1968). Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *Streptococcus mutans*. *Archives of oral biology*, 13(6), 637-46.
- Ehrenfest, D. M. D., Andia, I., Zumstein, M. A., Zhang, C.-Q., Pinto, N. R., & Bielecki, T. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal*, 4(1), 3.
- Ehrenfest, D. M. D., Rasmusson, L., & Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology*, 27(3), 158-67.
- Falkler Jr, W. A., Lai, R., Vincent, J. W., Dober, L., Spiegel, C., & Hayduk, S. (1982). The ELISA system for measuring antibody reactive to *Fusobacterium nucleatum* in the sera of patients with chronic periodontitis. *Journal of periodontology*, 53(12), 762-6.
- Fedi Jr, P. F., & Killoy, W. J. (1992). Temperature differences at periodontal sites in health and disease. *Journal of periodontology*, 63(1), 24-7.
- Ferreira, S., Silva, G. M., Cortelli, J. R., Costa, J., & Costa, F. O. (2006). Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *Journal of clinical periodontology*, 33(12), 929-35.
- Finlay, B. B., & Falkow, S. (1997). Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(2), 136-69.
- Flemmig, T. F. (1999). Periodontitis. *Annals of Periodontology*, 4(1), 32-7.
- Forscher, B., Paulsen, A., & Hess, W. (1954). The pH of the periodontal pocket and the glycogen content of the adjacent tissue. *Journal of dental research*, 33(4), 444-53.
- Foster, J. S., & Kolenbrander, P. E. (2004). Development of a multispecies oral bacterial community in a saliva-conditioned flow cell. *Applied and environmental microbiology*, 70(7), 4340-8.
- Foulds, G., Shepard, R., & Johnson, R. (1990). The pharmacokinetics of azithromycin in human serum and tissues. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25(suppl_A), 73-82.
- Francis, A. (1995). *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). *Principles and practices of infectious diseases*. 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 1754-5.
- Freeman, C. D., Klutman, N. E., & Lamp, K. C. (1997). Metronidazole. *Drugs*, 54(5), 679-708.
- Fritschi, B. Z., Albert-Kiszely, A., & Persson, G. R. (2008). *Staphylococcus aureus* and other bacteria in untreated periodontitis. *Journal of dental research*, 87(6), 589-93.

- Fujii, R., Saito, Y., Tokura, Y., Nakagawa, K. I., Okuda, K., & Ishihara, K. (2009). Characterization of bacterial flora in persistent apical periodontitis lesions. *Oral microbiology and immunology*, 24(6), 502-5.
- Fujioka-Kobayashi, M., Miron, R. J., Hernandez, M., Kandalam, U., Zhang, Y., & Choukroun, J. (2017). Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *Journal of periodontology*, 88(1), 112-21.
- Fürst, M. M., Salvi, G. E., Lang, N. P., & Persson, G. R. (2007). Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clinical oral implants research*, 18(4), 501-8.
- Geesey, G. G. (1994). *Biofouling and biocorrosion in industrial water systems*: CRC Press.
- Gemmell, E., & Seymour, G. (1992). Different responses in B cells induced by *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *Archives of oral biology*, 37(7), 565-73.
- Gemmell, E., & Seymour, G. (1993). Interleukin 1, interleukin 6 and transforming growth factor- β production by human gingival mononuclear cells following stimulation with *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Periodontal Research*, 28(2), 122-9.
- Gemmell, E., & Seymour, G. (1994). Modulation of immune responses to periodontal bacteria. *Current Opinion in Periodontology*, 28-38.
- Giannobile, W. (1996). Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone*, 19(1), S23-S37.
- Giannobile, W. V., Hernandez, R. A., Finkelman, R. D., Ryarr, S., Kiritsy, C. P., D'Andrea, M., & Lynch, S. E. (1996). Comparative effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *Journal of Periodontal Research*, 31(5), 301-12.
- Gibbons, R., Berman, K., Knoettner, P., & Kapsimalis, B. (1966). Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with capsule forming streptococci of human origin. *Archives of oral biology*, 11(6), 549-IN4.
- Gibbons, R., Kapsimalis, B., & Socransky, S. (1964). The source of salivary bacteria. *Archives of oral biology*, 9(1), 101-3.
- Gibbons, R., Socransky, S., Sawyer, S., Kapsimalis, B., & Macdonald, J. (1963). The microbiota of the gingival crevice area of man—II: the predominant cultivable organisms. *Archives of oral biology*, 8(3), 281-9.
- Giedrys-Leeper, E., Selipsy, H., & Williams, B. (1985). Effects of short-term administration of metronidazole on the subgingival microflora. *Journal of clinical periodontology*, 12(10), 797-814.
- Gomi, K., Yashima, A., Iino, F., Kanazashi, M., Nagano, T., Shibukawa, N., . . . Arai, T. (2007). Drug concentration in inflamed periodontal tissues after systemically administered azithromycin. *Journal of periodontology*, 78(5), 918-23.
- Gomi, K., Yashima, A., Nagano, T., Kanazashi, M., Maeda, N., & Arai, T. (2007). Effects of full-mouth scaling and root planing in conjunction with systemically administered azithromycin. *Journal of periodontology*, 78(3), 422-9.
- Gonçalves, L., Ferreira, S. S., Souza, C., Souto, R., & Colombo, A. (2007). Clinical and microbiological profiles of HIV-seropositive undergoing HAART, and HIV-seronegative Brazilians with chronic periodontitis. *J Periodontol*, 78(1), 87-96.
- Goodson, J., Hogan, P., & Dunham, S. (1985). Clinical responses following periodontal treatment by local drug delivery. *Journal of periodontology*, 56, 81-7.

- Gracia, E., Fernandez, A., Conchello, P., Lacleriga, A., Paniagua, L., Seral, F., & Amorena, B. (1997). Adherence of *Staphylococcus aureus* slime-producing strain variants to biomaterials used in orthopaedic surgery. *International orthopaedics*, 21(1), 46-51.
- Gray, J. J. (2004). The interaction of proteins with solid surfaces. *Current opinion in structural biology*, 14(1), 110-5.
- Greenwood, D. (2008). *Antimicrobial drugs: chronicle of a twentieth century medical triumph*: Oxford University Press.
- Grzesik, W. J., & Narayanan, A. (2002). Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(6), 474-84.
- Gualini, F., & Berglundh, T. (2003). Immunohistochemical characteristics of inflammatory lesions at implants. *Journal of clinical periodontology*, 30(1), 14-8.
- Guggenheim, B. (1968). Streptococci of dental plaques. *Caries research*, 2(2), 147-63.
- Guggenheim, B., König, K., & Mühlemann, H. (1965). Modifications of the oral bacterial flora and their influence on dental caries in the rat. I. The effects of inoculating 4 labelled strains of streptococci. *Helvetica odontologica acta*, 9(2), 121.
- Gunsolley, J., Tew, J., Gooss, C., Marshall, D., Burmeister, J., & Schenkein, H. (1990). Serum antibodies to periodontal bacteria. *Journal of periodontology*, 61(7), 412-9.
- Ha, K.-Y., Chung, Y.-G., & Ryoo, S.-J. (2005). Adherence and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* and *Mycobacterium tuberculosis* on various spinal implants. *Spine*, 30(1), 38-43.
- Haffajee, A., Cugini, M., Tanner, A., Pollack, R., Smith, C., Kent Jr, R., & Socransky, S. (1998). Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *Journal of clinical periodontology*, 25(5), 346-53.
- Haffajee, A., Patel, M., & Socransky, S. (2008). Microbiological changes associated with four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis. *Oral microbiology and immunology*, 23(2), 148-57.
- Haffajee, A., Socransky, S., Dzink, J., Taubman, M., Ebersole, J., & Smith, D. (1988). Clinical, microbiological and immunological features of subjects with destructive periodontal diseases. *Journal of clinical periodontology*, 15(4), 240-6.
- Haffajee, A., Socransky, S., Patel, M., & Song, X. (2008). Microbial complexes in supragingival plaque. *Oral microbiology and immunology*, 23(3), 196-205.
- Haffajee, A. D. (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 5, 78-111.
- Haggerty, C. L., & Ness, R. B. (2007). Newest approaches to treatment of pelvic inflammatory disease: a review of recent randomized clinical trials. *Clinical infectious diseases*, 44(7), 953-60.
- Hallmon, W. W., & Rees, T. D. (2003). Local anti-infective therapy: mechanical and physical approaches. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), 99-114.
- Hampp, E. G. (1945). Comparative Study of Dark-Field and Stained Smear Technics for Identification of Oral Spirochetes on the Basis of Morphologic Characteristics. *The Journal of the American Dental Association*, 32(5), 318-24.

- Hampp, E. G., Scott, D. B., & Wyckoff, R. W. (1948). Morphologic characteristics of certain cultured strains of oral spirochetes and *Treponema pallidum* as revealed by the electron microscope. *Journal of bacteriology*, 56(6), 755.
- Handley, P. S. (1990). Structure, composition and functions of surface structures on oral bacteria. *Biofouling*, 2(3), 239-64.
- Hanes, P. J., & Purvis, J. P. (2003). Local anti-infective therapy: Pharmacological agents. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), 79-98.
- Hanioka, T., Takaya, K., Matsumori, Y., Matsuse, R., & Shizukuishi, S. (2000). Relationship of the substance P to indicators of host response in human gingival crevicular fluid. *Journal of clinical periodontology*, 27(4), 262-6.
- Hannig, C., & Hannig, M. (2009). The oral cavity—a key system to understand substratum-dependent bioadhesion on solid surfaces in man. *Clinical oral investigations*, 13(2), 123-39.
- Hardy, D., Hensey, D., Beyer, J., Vojtko, C., McDonald, E., & Fernandes, P. (1988). Comparative in vitro activities of new 14-, 15-, and 16-membered macrolides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(11), 1710-9.
- Harris, L., & Richards, R. (2004). Staphylococcus aureus adhesion to different treated titanium surfaces. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 15(4), 311-4.
- Harris, L. G., & Richards, R. G. (2006). Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury*, 37(2), S3-S14.
- Heitz-Mayfield, L., Trombelli, L., Heitz, F., Needleman, I., & Moles, D. (2002). A systematic review of the effect of surgical debridement vs. non-surgical debridement for the treatment of chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 29, 92-102.
- Hellström, M. K., McClain, P. K., Schallhorn, R. G., Bellis, L., Hanlon, A. L., & Ramberg, P. (2008). Local minocycline as an adjunct to surgical therapy in moderate to severe, chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 35(6), 525-31.
- Herzberg, M. C., & Meyer, M. W. (1998). Dental plaque, platelets, and cardiovascular diseases. *Annals of Periodontology*, 3(1), 151-60.
- Hirsch, R., Deng, H., & Laohachai, M. (2012). Azithromycin in periodontal treatment: more than an antibiotic. *Journal of Periodontal Research*, 47(2), 137-48.
- Hoepelman, I., & Schneider, M. (1995). Azithromycin: the first of the tissue-selective azalides. *International journal of antimicrobial agents*, 5(3), 145-67.
- Hojo, K., Nagaoka, S., Ohshima, T., & Maeda, N. (2009). Bacterial interactions in dental biofilm development. *Journal of dental research*, 88(11), 982-90.
- Holt, S. C., & Bramanti, T. E. (1991). Factors in virulence expression and their role in periodontal disease pathogenesis. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 2(2), 177-281.
- Holt, S. C., & Ebersole, J. L. (2005). Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the 'red complex', a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology 2000*, 38(1), 72-122.
- Horiba, N., Maekawa, Y., Yamauchi, Y., Ito, M., Matsumoto, T., & Nakamura, H. (1992). Complement activation by lipopolysaccharides purified from gram-negative bacteria isolated from infected root canals. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology*, 74(5), 648-51.

- Huang, R., Li, M., & Gregory, R. L. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence*, 2(5), 435-44.
- Humphreys, H. (2012). Staphylococcus aureus: the enduring pathogen in surgery. *the surgeon*, 10(6), 357-60.
- Ishii, T., Mahanonda, R., & Seymour, G. (1992). The establishment of human T cell lines reactive with specific periodontal bacteria. *Oral microbiology and immunology*, 7(4), 225-9.
- İzol, B. S., & Üner, D. D. (2019). A new approach for root surface biomodification using injectable platelet-rich fibrin (I-PRF). *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 4744.
- Jain, V., Triveni, M., Kumar, A. T., & Mehta, D. S. (2012). Role of platelet-rich-fibrin in enhancing palatal wound healing after free graft. *Contemporary clinical dentistry*, 3(Suppl 2), S240.
- Jasmine, S., Thangavelu, A., Janarthanan, K., Krishnamoorthy, R., & Alshatwi, A. A. (2020). Antimicrobial and antibiofilm potential of injectable platelet rich fibrin—a second-generation platelet concentrate—against biofilm producing oral staphylococcus isolates. *Saudi journal of biological sciences*, 27(1), 41-6.
- Jepsen, S., Berglundh, T., Genco, R., Aass, A. M., Demirel, K., Derks, J., . . . Lambert, F. (2015). Primary prevention of peri-implantitis: Managing peri-implant mucositis. *Journal of clinical periodontology*, 42, S152-S7.
- Jhinger, N., Kapoor, D., & Jain, R. (2015). Comparison of Periochip (chlorhexidine gluconate 2.5 mg) and Arestin (Minocycline hydrochloride 1 mg) in the management of chronic periodontitis. *Indian journal of dentistry*, 6(1), 20.
- John, G., Becker, J., & Schwarz, F. (2015). Modified implant surface with slower and less initial biofilm formation. *Clinical implant dentistry and related research*, 17(3), 461-8.
- Jordan, H., & Keyes, P. (1964). Aerobic, gram-positive, filamentous bacteria as etiologic agents of experimental periodontal disease in hamsters. *Archives of oral biology*, 9(4), 401-IN11.
- Jousimies-Somer, H., Asikainen, S., Suomala, P., & Summanen, P. (1988). Activity of metronidazole and its hydroxy metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral microbiology and immunology*, 3(1), 32-4.
- K Yadav, S., Khan, G., & Mishra, B. (2015). Advances in patents related to intrapocket technology for the management of periodontitis. *Recent patents on drug delivery & formulation*, 9(2), 129-45.
- Karbach, J., Callaway, A., Kwon, Y.-D., d'Hoedt, B., & Al-Nawas, B. (2009). Comparison of five parameters as risk factors for peri-mucositis. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(3).
- Killoy, W. J. (2002). The clinical significance of local chemotherapies. *Journal of clinical periodontology*, 29, 22-9.
- Kinane, D. (1992). Metalloproteinases in the pathogenesis of periodontal diseases. *Current opinion in dentistry*, 2, 25-32.
- Kinder, S. A., & Holt, S. C. (1989). Characterization of coaggregation between *Bacteroides gingivalis* T22 and *Fusobacterium nucleatum* T18. *Infection and Immunity*, 57(11), 3425-33.
- Kinder, S. A., & Holt, S. C. (1993). Localization of the *Fusobacterium nucleatum* T18 adhesin activity mediating coaggregation with *Porphyromonas gingivalis* T22. *Journal of bacteriology*, 175(3), 840-50.

- Kistler, J. O., Booth, V., Bradshaw, D. J., & Wade, W. G. (2013). Bacterial community development in experimental gingivitis. *PLoS one*, 8(8), e71227.
- Kitzis, M., Goldstein, F., Mieg, M., & Acar, J. (1990). In-vitro activity of azithromycin against various Gram-negative bacilli and anaerobic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 25(suppl_A), 15-8.
- Kjeldsen, M., Holmstrup, P., & Bendtzen, K. (1993). Marginal periodontitis and cytokines: a review of the literature. *Journal of periodontology*, 64(11), 1013-22.
- Kleinberg, I., & Hall, G. (1969). PH and depth of gingival crevices in different areas of the mouths of fasting humans. *Journal of Periodontal Research*, 4(2), 109-17.
- Kobayashi, E., Flückiger, L., Fujioka-Kobayashi, M., Sawada, K., Sculean, A., Schaller, B., & Miron, R. J. (2016). Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations*, 20(9), 2353-60.
- Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P. G., Foster, J. S., & Palmer, R. J. (2002). Communication among oral bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 486-505.
- Kolenbrander, P. E., & London, J. (1993). Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *Journal of bacteriology*, 175(11), 3247.
- Kolenbrander, P. E., Palmer Jr, R. J., Rickard, A. H., Jakubovics, N. S., Chalmers, N. I., & Diaz, P. I. (2006). Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000*, 42(1), 47-79.
- Kornman, K. S. (1993). Controlled-release local delivery antimicrobials in periodontics: Prospects for the future. *Journal of periodontology*, 64, 782-91.
- Kour, P., Pudukkatti, P. S., Vas, A. M., Das, S., & Padmanabhan, S. (2018). Comparative evaluation of antimicrobial efficacy of platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and injectable platelet-rich fibrin on the standard strains of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Contemporary clinical dentistry*, 9(Suppl 2), S325.
- Krasse, B. (1954). The proportional distribution of *Streptococcus salivarius* and other streptococci in various parts of the mouth. *Odont. Rev.*, 5, 203-11.
- Kreth, J., Merritt, J., Shi, W., & Qi, F. (2005). Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *Journal of bacteriology*, 187(21), 7193-203.
- Kreutzer, K., Storck, K., & Weitz, J. (2014). Current evidence regarding prophylactic antibiotics in head and neck and maxillofacial surgery. *BioMed research international*, 2014.
- Kronström, M., Svenson, B., Hellman, M., & Persson, G. R. (2001). Early implant failures in patients treated with Brånemark System titanium dental implants: a retrospective study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 16(2).
- Kronström, M., Svensson, B., Erickson, E., Houston, L., Braham, P., & Persson, G. R. (2000). Humoral immunity host factors in subjects with failing or successful titanium dental implants. *Journal of clinical periodontology*, 27(12), 875-82.
- Kung, R. T., Ochs, B., & Goodson, J. (1990). Temperature as a periodontal diagnostic. *Journal of clinical periodontology*, 17(8), 557-63.

- Kvinnslund, I., & Heyeraas, K. (1992). Effect of traumatic occlusion on CGRP and SP immunoreactive nerve fibre morphology in rat molar pulp and periodontium. *Histochemistry*, 97(2), 111-20.
- Lacroix, J. M., & Mayrand, D. (1989). The effect of subminimal inhibitory concentrations of antimicrobial agents on three bacterial mixtures. *Oral microbiology and immunology*, 4(2), 82-8.
- Ladeira Casado, P., Villas-Boas, R., de Mello, W., Leite Duarte, M. E., & Mauro Granjeiro, J. (2013). Peri-implant disease and chronic periodontitis: is interleukin-6 gene promoter polymorphism the common risk factor in a Brazilian population? *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(1).
- Lalla, E., Lamster, I. B., Hofmann, M. A., Bucciarelli, L., Jerud, A. P., Tucker, S., . . . Schmidt, A. M. (2003). Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(8), 1405-11.
- Lam, O. L., McGrath, C., Bandara, H., Li, L. S., & Samaranayake, L. (2012). Oral health promotion interventions on oral reservoirs of *Staphylococcus aureus*: a systematic review. *Oral diseases*, 18(3), 244-54.
- Lamster, I. B., Celenti, R., & Ebersole, J. L. (1990). The relationship of serum IgG antibody titers to periodontal pathogens to indicators of the host response in crevicular fluid. *Journal of clinical periodontology*, 17(7), 419-25.
- Lea, S. C., & Walmsley, A. D. (2009). Mechano-physical and biophysical properties of power-driven scalars: driving the future of powered instrument design and evaluation. *Periodontology 2000*, 51, 63-78.
- Lee, K., Maiden, M., Tanner, A., & Weber, H. (1999). Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *Journal of periodontology*, 70(2), 131-8.
- Leonhardt, Å., Dahlén, G., & Renvert, S. (2003). Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of peri-implantitis in man. *Journal of periodontology*, 74(10), 1415-22.
- Leonhardt, Å., Renvert, S., & Dahlén, G. (1999). Microbial findings at failing implants. *Clinical oral implants research*, 10(5), 339-45.
- Li, L., Messas, E., Batista Jr, E. L., Levine, R. A., & Amar, S. (2002). Porphyromonas gingivalis infection accelerates the progression of atherosclerosis in a heterozygous apolipoprotein E-deficient murine model. *Circulation*, 105(7), 861-7.
- Li, X., Kolltveit, K. M., Tronstad, L., & Olsen, I. (2000). Systemic diseases caused by oral infection. *Clinical microbiology reviews*, 13(4), 547-58.
- Libby, P., Ridker, P. M., & Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*, 105(9), 1135-43.
- Linden, G. J., McKinneil, J., Shaw, C., & Lundy, F. T. (1997). Substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *Journal of clinical periodontology*, 24(11), 799-803.
- Linden, G. J., Mullally, B. H., Burden, D. J., Lamey, P. J., Shaw, C., Ardill, J., & Lundy, F. T. (2002). Changes in vasoactive intestinal peptide in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *Journal of clinical periodontology*, 29(6), 484-9.
- Lindhe, J., Liljenberg, B., Adielson, B., & Börjesson, I. (1983). Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 10(1), 100-12.

- Lindhe, J., & Nyman, S. (1975). The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *Journal of clinical periodontology*, 2(2), 67-79.
- Linkevicius, T., Puisys, A., Vindasiute, E., Linkeviciene, L., & Apse, P. (2013). Does residual cement around implant-supported restorations cause peri-implant disease? A retrospective case analysis. *Clinical oral implants research*, 24(11), 1179-84.
- Listgarten, M., & Socransky, S. (1965). Electron microscopy as an aid in the taxonomic differentiation of oral spirochetes. *Archives of oral biology*, 10(1), 127-IN27.
- Lodi, G., Figini, L., Sardella, A., Carrassi, A., Del Fabbro, M., & Furness, S. (2012). Antibiotics to prevent complications following tooth extractions. *Cochrane Database of Systematic Reviews*(11).
- Loesche, W., & Gibbons, R. (1965). A practical scheme for identification of the most numerous oral gram negative anaerobic rods. *Archives of oral biology*, 10(4), 723-5.
- Loesche, W., Syed, S., Morrison, E., Kerry, G., Higgins, T., & Stoll, J. (1984). Metronidazole in periodontitis: I. clinical and bacteriological results after 15 to 30 Weeks. *Journal of periodontology*, 55(6), 325-35.
- Loesche, W., Syed, S., Schmidt, E., & Morrison, E. (1985). Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *Journal of periodontology*, 56(8), 447-56.
- Loesche, W. J. (1976). Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*, 9, 65-107.
- Loesche, W. J., Syed, S. A., Laughon, B. E., & Stoll, J. (1982). The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *Journal of periodontology*, 53(4), 223-30.
- Loos, B. G., Craandijk, J., Hoek, F. J., Dillen, P. M. W. v., & Van Der Velden, U. (2000). Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of periodontology*, 71(10), 1528-34.
- Lopatin, D. E., Martel, L. M., & Mangan, D. F. (1985). Microbe-induced lymphocyte blastogenesis enhancement after preculture. *Infection and Immunity*, 48(1), 159-64.
- López-Boado, Y. S., & Rubin, B. K. (2008). Macrolides as immunomodulatory medications for the therapy of chronic lung diseases. *Current opinion in pharmacology*, 8(3), 286-91.
- Lowy, F. (1998). Staphylococcus aureus infections. *N. Engl. J. Med.*
- Löe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). Experimental gingivitis in man. *The Journal of periodontology*, 36(3), 177-87.
- Lucarelli, E., Beccheroni, A., Donati, D., Sangiorgi, L., Cenacchi, A., Del Vento, A. M., . . . Fornasari, P. M. (2003). Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials*, 24(18), 3095-100.
- Lundy, F. T., Mullally, B. H., Burden, D. J., Lamey, P. J., Shaw, C., & Linden, G. J. (2000). Changes in substance P and neurokinin A in gingival crevicular fluid in response to periodontal treatment. *Journal of clinical periodontology*, 27(7), 526-30.
- Lundy, F. T., Shaw, C., McKinnell, J., Lamey, P. J., & Linden, G. J. (1999). Calcitonin gene-related peptide in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease. *Journal of clinical periodontology*, 26(4), 212-6.
- Luthman, J., Johansson, O., Ahlström, U., & Kvint, S. (1988). Immunohistochemical studies of the neurochemical markers, CGRP, enkephalin, galanin, γ -MSH, NPY, PHI, proctolin, PTH,

- somatostatin, SP, VIP, tyrosine hydroxylase and neurofilament in nerves and cells of the human attached gingiva. *Archives of oral biology*, 33(3), 149-58.
- Mabboux, F., Ponsonnet, L., Morrier, J.-J., Jaffrezic, N., & Barsotti, O. (2004). Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials—an in vitro study. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 39(4), 199-205.
- MacDonald, T. (1999). Effector and regulatory lymphoid cells and cytokines in mucosal sites. *Defense of mucosal surfaces: pathogenesis, immunity and vaccines*, 113-35.
- Madigan, M. T., & Martinko, J. M. (2006). Brock Biology of microorganisms, Pearson Prentice Hall. *New York, NY [Google Scholar]*.
- Mallison, S., Smith, J., Schenkein, H., & Tew, J. (1991). Accumulation of plasma cells in inflamed sites: effects of antigen, nonspecific microbial activators, and chronic inflammation. *Infection and Immunity*, 59(11), 4019-25.
- Mandlik, V., & Jha, A. (2007). Periochip. *Medical journal, Armed Forces India*, 63(4), 368.
- Mangan, D. F., Won, T., & Lopatin, D. E. (1983). Nonspecific induction of immunoglobulin M antibodies to periodontal disease-associated microorganisms after polyclonal human B-lymphocyte activation by *Fusobacterium nucleatum*. *Infection and Immunity*, 41(3), 1038-45.
- Marsh, P. D. (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of clinical periodontology*, 32, 7-15.
- Marsh, P. D., McDermid, A. S., McKee, A. S., & Baskerville, A. (1994). The effect of growth rate and haemin on the virulence and proteolytic activity of *Porphyromonas gingivalis* W50. *Microbiology*, 140(4), 861-5.
- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 85(6), 638-46.
- Matsumura, Y., Mitani, A., Suga, T., Kamiya, Y., Kikuchi, T., Tanaka, S., . . . Noguchi, T. (2011). Azithromycin may inhibit interleukin-8 through suppression of Rac1 and a nuclear factor-kappa B pathway in KB cells stimulated with lipopolysaccharide. *Journal of periodontology*, 82(11), 1623-31.
- Máximo, M. B., De Mendonça, A. C., Alves, J. F., Cortelli, S. C., Peruzzo, D. C., & Duarte, P. M. (2008). Peri-implant diseases may be associated with increased time loading and generalized periodontal bone loss: preliminary results. *Journal of Oral Implantology*, 34(5), 268-73.
- Mazor, Z., Horowitz, R. A., Del Corso, M., Prasad, H. S., Rohrer, M. D., & Dohan Ehrenfest, D. M. (2009). Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *Journal of periodontology*, 80(12), 2056-64.
- McLaren, A. C. (2004). Alternative materials to acrylic bone cement for delivery of depot antibiotics in orthopaedic infections. *Clinical Orthopaedics and Related Research®*, 427, 101-6.
- Mekalanos, J. J. (1992). Environmental signals controlling expression of virulence determinants in bacteria. *Journal of bacteriology*, 174(1), 1.
- Miller, R. S., Wongsrichanalai, C., Buathong, N., McDANIEL, P., Walsh, D. S., Knirsch, C., & Ohrt, C. (2006). Effective treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria with azithromycin-quinine combinations: a randomized, dose-ranging study. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74(3), 401-6.

- Miron, R., Choukroun, J., & Ghanaati, S. (2018). Controversies related to scientific report describing g-forces from studies on platelet-rich fibrin: necessity for standardization of relative centrifugal force values. *International Journal of Growth Factors and Stem Cells in Dentistry*, 1(3), 80.
- Miron, R. J., & Zhang, Y. (2018). Autologous liquid platelet rich fibrin: A novel drug delivery system. *Acta biomaterialia*, 75, 35-51.
- Mombelli, A., Buser, D., & Lang, N. (1988). Colonization of osseointegrated titanium implants in edentulous patients. Early results. *Oral microbiology and immunology*, 3(3), 113-20.
- Mombelli, A., Feloutzis, A., Brägger, U., & Lang, N. P. (2001). Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline: Clinical, microbiological and radiological results. *Clinical oral implants research*, 12(4), 287-94.
- Mombelli, A., & Lang, N. P. (1998). The diagnosis and treatment of peri-implantitis. *Periodontology 2000*, 17(1), 63-76.
- Mombelli, A., Marxer, M., Gaberthüel, T., Grander, U., & Lang, N. P. (1995). The microbiota of osseointegrated implants in patients with a history of periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*, 22(2), 124-30.
- Mombelli, A., Van Oosten, M., Schürch Jr, E., & Lang, N. (1987). The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral microbiology and immunology*, 2(4), 145-51.
- Moore, W. (1987). Microbiology of periodontal disease. *Journal of Periodontal Research*, 22(5), 335-41.
- Moore, W., Holdeman, L., Cato, E., Smibert, R., Burmeister, J., Palcanis, K., & Ranney, R. (1985). Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. *Infection and Immunity*, 48(2), 507-19.
- Moore, W., Holdeman, L., Smibert, R., Cato, E., Burmeister, J., Palcanis, K., & Ranney, R. (1984). Bacteriology of experimental gingivitis in children. *Infection and Immunity*, 46(1), 1-6.
- Moore, W., Holdeman, L., Smibert, R., Good, I., Burmeister, J., Palcanis, K., & Ranney, R. (1982). Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. *Infection and Immunity*, 38(2), 651-67.
- Moore, W., & Moore, L. V. (1994). The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 5(1), 66-77.
- Moreno Villagrana, A. P., & Gómez Clavel, J. F. (2012). Antimicrobial or subantimicrobial antibiotic therapy as an adjunct to the nonsurgical periodontal treatment: a meta-analysis. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- Murphy, B. S., Sundareshan, V., Cory, T. J., Hayes Jr, D., Anstead, M. I., & Feola, D. J. (2008). Azithromycin alters macrophage phenotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(3), 554-60.
- Müller, M. (1983). Mode of action of metronidazole on anaerobic bacteria and protozoa. *Surgery*, 93(1), 165-71.
- Nair, S. C., & Anoop, K. (2012). Intrapreperiodontal pocket: An ideal route for local antimicrobial drug delivery. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 3(1), 9.
- Naito, Y., Okuda, K., & Takazoe, I. (1984). Immunoglobulin G response to subgingival gram-negative bacteria in human subjects. *Infection and Immunity*, 45(1), 47-51.

- Nakagawa, T., Yamada, S., Oosuka, Y., Saito, A., Hosaka, Y., Ishikawa, T., & Okuda, K. (1991). Clinical and microbiological study of local minocycline delivery (Periocline) following scaling and root planing in recurrent periodontal pockets. *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 32(2), 63-70.
- Nakazawa, F., Zambon, J., Reynolds, H., & Genco, R. (1988). Serological studies of oral *Bacteroides intermedius*. *Infection and Immunity*, 56(6), 1647-51.
- Nakou, M., Mikx, F., Oosterwaal, P., & Kruijssen, J. (1987). Early microbial colonization of permucosal implants in edentulous patients. *Journal of dental research*, 66(11), 1654-7.
- Nastro, L. J., & Finegold, S. M. (1972). Bactericidal activity of five antimicrobial agents against *Bacteroides fragilis*. *Journal of Infectious Diseases*, 126(1), 104-7.
- Newman, M. G., Takei, H., Klokkevold, P. R., & Carranza, F. A. (2011). *Carranza's clinical periodontology*: Elsevier health sciences.
- Newman, T. (2006). Klokkevold, Carranza's Clinical Periodontology. *Middle East and African edition*. Saunders, 1133-5.
- Noack, B., Genco, R. J., Trevisan, M., Grossi, S., Zambon, J. J., & De Nardin, E. (2001). Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *Journal of periodontology*, 72(9), 1221-7.
- Noedl, H., Krudsood, S., Chalermratana, K., Silachamroon, U., Leowattana, W., Tangpukdee, N., . . . Jongsakul, K. (2006). Azithromycin combination therapy with artesunate or quinine for the treatment of uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in adults: a randomized, phase 2 clinical trial in Thailand. *Clinical infectious diseases*, 43(10), 1264-71.
- Notten, F., Koek-Van Oosten, A., & Mikx, F. (1982). Capillary agar diffusion assay for measuring metronidazole in human gingival crevice fluid. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 21(5), 836-7.
- Nyman, S., Lindhe, J., & Rosling, B. (1977). Periodontal surgery in plaque-infected dentitions. *Journal of clinical periodontology*, 4(4), 240-9.
- O'Connell, S. M. (2007). Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology*, 103(5), 587.
- Ohmori, Y., Honda, K., Kikuchu, H., Hanazawa, S., Amano, S., Hirose, K., . . . Kitano, S. (1988). Inducing effect of periodontopathic bacteria on interleukin-1 production by mouse peritoneal macrophages. *Oral microbiology and immunology*, 3(4), 169-72.
- Onderdonk, A., Louie, T., Tally, F., & Bartlett, J. (1979). Activity of metronidazole against *Escherichia coli* in experimental infra-abdominal sepsis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 5(2), 201-10.
- Ozgul, O., Senses, F., Er, N., Tekin, U., Tuz, H. H., Alkan, A., . . . Atil, F. (2015). Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: Randomized multicenter split-mouth clinical trial. *Head & face medicine*, 11(1), 37.
- Öncü, E., & Alaaddinoglu, E. E. (2015). The effect of platelet-rich fibrin on implant stability. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 30(3).
- Öncü, E., & Kaymaz, E. (2017). Assessment of the effectiveness of platelet rich fibrin in the treatment of Schneiderian membrane perforation. *Clinical implant dentistry and related research*, 19(6), 1009-14.

- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14(1), 9-11.
- Page, R. C., & Schroeder, H. E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 34(3), 235.
- Pajukanta, R. (1993). In vitro antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* to azithromycin, a novel macrolide. *Oral microbiology and immunology*, 8(5), 325-6.
- Papapanou, P. N., Baelum, V., Luan, W. M., Madianos, P. N., Chen, X., Fejerskov, O., & Dahlén, G. (1997). Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *Journal of periodontology*, 68(7), 651-66.
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., . . . Graziani, F. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*, 89, S173-S82.
- Paquette, D., Oringer, R., Lessem, J., Offenbacher, S., Genco, R., Persson, G. R., . . . Williams, R. C. (2003). Locally delivered minocycline microspheres for the treatment of periodontitis in smokers. *Journal of clinical periodontology*, 30(9), 787-94.
- Passariello, C., Puttini, M., Iebba, V., Pera, P., & Gigola, P. (2012). Influence of oral conditions on colonization by highly toxigenic *Staphylococcus aureus* strains. *Oral diseases*, 18(4), 402-9.
- Paster, B. J., Olsen, I., Aas, J. A., & Dewhirst, F. E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontology 2000*, 42(1), 80-7.
- Persson, S., Edlund, M. B., Claesson, R., & Carlsson, J. (1990). The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral microbiology and immunology*, 5(4), 195-201.
- Pfeilschifter, J., Bonewald, L., & Mundy, G. R. (1990). Characterization of the latent transforming growth factor β complex in bone. *Journal of Bone and Mineral Research*, 5(1), 49-58.
- Pianotti, R., Lachette, S., & Dills, S. (1986). Desulfuration of cysteine and methionine by *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of dental research*, 65(6), 913-7.
- Polak, D., Clemer-Shamai, N., & Shapira, L. (2019). Incorporating antibiotics into platelet-rich fibrin: A novel antibiotics slow-release biological device. *Journal of clinical periodontology*, 46(2), 241-7.
- Pongnarisorn, N. J., Gemmell, E., Tan, A. E., Henry, P. J., Marshall, R. I., & Seymour, G. J. (2007). Inflammation associated with implants with different surface types. *Clinical oral implants research*, 18(1), 114-25.
- Pontoriero, R., Tonelli, M., Carnevale, G., Mombelli, A., Nyman, S., & Lang, N. (1994). Experimentally induced peri-implant mucositis. A clinical study in humans. *Clinical oral implants research*, 5(4), 254-9.
- Qi, M., Miyakawa, H., & Kuramitsu, H. K. (2003). *Porphyromonas gingivalis* induces murine macrophage foam cell formation. *Microbial pathogenesis*, 35(6), 259-67.
- Quirynen, M., De Soete, M., & Van Steenberghe, D. (2002). Infectious risks for oral implants: a review of the literature. *Clinical Oral Implants Research: Review article*, 13(1), 1-19.

- Quirynen, M., Vogels, R., Pauwels, M., Haffajee, A., Socransky, S., Uzel, N., & van Steenberghe, D. (2005). Initial subgingival colonization of 'pristine'pockets. *Journal of dental research*, 84(4), 340-4.
- Quirynen, M., Vogels, R., Peeters, W., van Steenberghe, D., Naert, I., & Haffajee, A. (2006). Dynamics of initial subgingival colonization of 'pristine'peri-implant pockets. *Clinical oral implants research*, 17(1), 25-37.
- Rams, T., & Slots, J. (1992). Antibiotics in periodontal therapy: an update. *Compendium (Newtown, Pa.)*, 13(12), 1130, 2, 4 passim-, 2, 4 passim.
- Rams, T. E., Feik, D., & Slots, J. (1990). Staphylococci in human periodontal diseases. *Oral microbiology and immunology*, 5(1), 29-32.
- Rams, T. E., & Slots, J. (1996). Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. *Periodontology 2000*, 10(1), 139-59.
- Ramseier, C. A., Kinney, J. S., Herr, A. E., Braun, T., Sugai, J. V., Shelburne, C. A., . . . Giannobile, W. V. (2009). Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *Journal of periodontology*, 80(3), 436-46.
- Rasigade, J.-P., & Vandenesch, F. (2014). Staphylococcus aureus: a pathogen with still unresolved issues. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 510-4.
- Rasmussen, E., Gibbons, R., & Socransky, S. (1966). A taxonomic study of fifty gram positive anaerobic diphtheroids isolated from the oral cavity of man. *Archives of oral biology*, 11(6), 573-9.
- Renvert, S., Lessem, J., Dahlén, G., Lindahl, C., & Svensson, M. (2006). Topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement of incipient peri-implant infections: a randomized clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 33(5), 362-9.
- Renvert, S., Lessem, J., Dahlén, G., Renvert, H., & Lindahl, C. (2008). Mechanical and repeated antimicrobial therapy using a local drug delivery system in the treatment of peri-implantitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology*, 79(5), 836-44.
- Renvert, S., Lessem, J., Lindahl, C., & Svensson, M. (2004). Treatment of incipient peri-implant infections using topical minocycline microspheres versus topical chlorhexidine gel as an adjunct to mechanical debridement. *Journal of the International Academy of Periodontology*, 6(4 Suppl), 154-9.
- Renvert, S., Lindahl, C., Renvert, H., & Persson, G. R. (2008). Clinical and microbiological analysis of subjects treated with Brånemark or AstraTech implants: a 7-year follow-up study. *Clinical oral implants research*, 19(4), 342-7.
- Renvert, S., Lindahl, C., Roos Jansåker, A. M., & Persson, G. R. (2011). Treatment of peri-implantitis using an Er: YAG laser or an air-abrasive device: a randomized clinical trial. *Journal of clinical periodontology*, 38(1), 65-73.
- Renvert, S., & Polyzois, I. (2015). Risk indicators for peri-implant mucositis: a systematic literature review. *Journal of clinical periodontology*, 42, S172-S86.
- Renvert, S., Roos-Jansåker, A. M., & Claffey, N. (2008). Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a literature review. *Journal of clinical periodontology*, 35, 305-15.
- Renvert, S., Roos-Jansåker, A. M., Lindahl, C., Renvert, H., & Rutger Persson, G. (2007). Infection at titanium implants with or without a clinical diagnosis of inflammation. *Clinical oral implants research*, 18(4), 509-16.

- Rietschel, E. T., & Brade, H. (1992). Bacterial endotoxins. *Scientific american*, 267(2), 54-61.
- Rinke, S., Ohl, S., Ziebolz, D., Lange, K., & Eickholz, P. (2011). Prevalence of periimplant disease in partially edentulous patients: a practice-based cross-sectional study. *Clinical oral implants research*, 22(8), 826-33.
- Ritz, H. (1967). Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Archives of oral biology*, 12(12), 1561-8.
- Roche, Y., & Yoshimori, R. N. (1997). In-vitro activity of spiramycin and metronidazole alone or in combination against clinical isolates from odontogenic abscesses. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 40(3), 353-7.
- Rogosa, M. (1964). The Genus *Veillonella* I.: General Cultural, Ecological, and Biochemical Considerations. *Journal of bacteriology*, 87(1), 162-70.
- Romagnani, S. (2000). T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Annals of allergy, asthma & immunology*, 85(1), 9-21.
- Roos-Jansåker, A. M., Renvert, H., Lindahl, C., & Renvert, S. (2006). Nine-to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part III: factors associated with peri-implant lesions. *Journal of clinical periodontology*, 33(4), 296-301.
- Rosebury, T. (1962). Microorganisms indigenous to man. *Microorganisms Indigenous to Man*.
- Rosenkranz, S., & Kazlauskas, A. (1999). Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor α and β subtypes. *Growth Factors*, 16(3), 201-16.
- Rossano, F., Rizzo, A., Sanges, M. R., de L'Ero, G. C., & Tufano, M. A. (1993). Human monocytes and gingival fibroblasts release tumor necrosis factor- α , interleukin-1 α and interleukin-6 in response to particulate and soluble fractions of *Prevotella melaninogenica* and *Fusobacterium nucleatum*. *International Journal of Clinical and Laboratory Research*, 23(1-4), 165-8.
- Ryan, M. E. (2005). Nonsurgical approaches for the treatment of periodontal diseases. *Dental Clinics*, 49(3), 611-36.
- Salcetti, J. M., Moriarty, J. D., Cooper, L. F., Smith, F. W., Collins, J. G., Socransky, S. S., & Offenbacher, S. (1997). The clinical, microbial, and host response characteristics of the failing implant. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 12(1).
- Salvi, G. E., Aglietta, M., Eick, S., Sculean, A., Lang, N. P., & Ramseier, C. A. (2012). Reversibility of experimental peri-implant mucositis compared with experimental gingivitis in humans. *Clinical oral implants research*, 23(2), 182-90.
- Salvi, G. E., Mombelli, A., Mayfield, L., Rutar, A., Suvan, J., Garrett, S., & Lang, N. P. (2002). Local antimicrobial therapy after initial periodontal treatment: A randomized clinical trial comparing three biodegradable sustained release polymers. *Journal of clinical periodontology*, 29(6), 540-50.
- Salvi, G. E., Persson, G. R., Heitz-Mayfield, L. J., Frei, M., & Lang, N. P. (2007). Adjunctive local antibiotic therapy in the treatment of peri-implantitis II: clinical and radiographic outcomes. *Clinical oral implants research*, 18(3), 281-5.
- Sanz, M., Teughels, W., & Periodontology, G. A. o. t. E. W. o. (2008). Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of clinical periodontology*, 35, 3-7.

- Sawai, T., Hiruma, R., Kawana, N., Kaneko, M., Taniyasu, F., & Inami, A. (1982). Outer membrane permeation of beta-lactam antibiotics in *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 22(4), 585-92.
- Scannapieco, F., Papandonatos, G., & Dunford, R. (1998). Associations between oral conditions and respiratory disease in a national sample survey population. *Annals of Periodontology*, 3(1), 251-6.
- Scannapieco, F. A. (1998). Position paper of The American Academy of Periodontology: periodontal disease as a potential risk factor for systemic diseases. *Journal of periodontology*, 69(7), 841.
- Scannapieco, F. A., Bush, R. B., & Paju, S. (2003). Associations between periodontal disease and risk for atherosclerosis, cardiovascular disease, and stroke. A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), 38-53.
- Schwarz, F., Mihatovic, I., Becker, J., Bormann, K. H., Keeve, P. L., & Friedmann, A. (2013). Histological evaluation of different abutments in the posterior maxilla and mandible: an experimental study in humans. *Journal of clinical periodontology*, 40(8), 807-15.
- Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovic, V., Eick, S., Iglhaut, T., & Becker, J. (2014). Experimental peri-implant mucositis at different implant surfaces. *Journal of clinical periodontology*, 41(5), 513-20.
- Seymour, G. (1987). Invited review: Possible mechanisms involved in the immunoregulation of chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of dental research*, 66(1), 2-9.
- Seymour, G., Gemmell, E., Reinhardt, R. A., Eastcott, J., & Taubman, M. (1993). Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *Journal of Periodontal Research*, 28(7), 478-86.
- Sharawy, A., & Socransky, S. (1967). Effect of human streptococcus strain GS-5 on caries and alveolar bone loss in conventional mice and rats. *Journal of dental research*, 46(6), 1385-91.
- Shenker, B., & DiRienzo, J. (1984). Suppression of human peripheral blood lymphocytes by *Fusobacterium nucleatum*. *The Journal of Immunology*, 132(5), 2357-62.
- Shinkai, M., Henke, M. O., & Rubin, B. K. (2008). Macrolide antibiotics as immunomodulatory medications: proposed mechanisms of action. *Pharmacology & therapeutics*, 117(3), 393-405.
- Shinn, D. (1962). Metronidazole in acute ulcerative gingivitis. *The lancet*, 279(7240), 1191.
- Singer, R. E., & Buckner, B. A. (1981). Butyrate and propionate: important components of toxic dental plaque extracts. *Infection and Immunity*, 32(2), 458-63.
- Slade, G., Offenbacher, S., Beck, J., Heiss, G., & Pankow, J. (2000). Acute-phase inflammatory response to periodontal disease in the US population. *Journal of dental research*, 79(1), 49-57.
- Slade, G. D., Ghezzi, E. M., Heiss, G., Beck, J. D., Riche, E., & Offenbacher, S. (2003). Relationship between periodontal disease and C-reactive protein among adults in the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Archives of internal medicine*, 163(10), 1172-9.
- Slots, J. (1984). Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J. dent. Res.*, 63, 412-21.
- Slots, J., & Rams, T. E. (1990). Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *Journal of clinical periodontology*, 17, 479-93.

- Slots, J., Rams, T. E., & Listgarten, M. A. (1988). Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral microbiology and immunology*, 3(2), 47-52.
- Slots, J., & Ting, M. (1999). Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontology 2000*, 20(1), 82-121.
- Smith, A., Jackson, M., & Bagg, J. (2001). The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. *Journal of medical microbiology*, 50(11), 940-6.
- Smith, B., Caffesse, R., Nasjleti, C., Kon, S., & Castelli, W. (1987). Effects of citric acid and fibronectin and laminin application in treating periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 14(7), 396-402.
- Socransky, S., & Haffajee, A. (1991). Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment. *Journal of Periodontal Research*, 26(3), 195-212.
- Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C., & Kent Jr, R. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology*, 25(2), 134-44.
- Socransky, S., Hubersak, C., & Propas, D. (1970). Induction of periodontal destruction in gnotobiotic rats by a human oral strain of Actinomyces naeslundii. *Archives of oral biology*, 15(10), 993-IN13.
- Socransky, S., Listgarten, M., Hubersak, C., Cotmore, J., & Clark, A. (1969). Morphological and biochemical differentiation of three types of small oral spirochetes. *Journal of bacteriology*, 98(3), 878-82.
- Socransky, S. S. (1970). Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *Journal of dental research*, 49(2), 203-22.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *Journal of periodontology*, 63, 322-31.
- Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, 38(1), 135-87.
- Soffer, E., Ouhayoun, J. P., & Anagnostou, F. (2003). Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 95(5), 521-8.
- Solomon, A. W., Holland, M. J., Alexander, N. D., Massae, P. A., Aguirre, A., Natividad-Sancho, A., . . . Courtright, P. (2004). Mass treatment with single-dose azithromycin for trachoma. *New England Journal of Medicine*, 351(19), 1962-71.
- Sorsa, T., Ingman, T., Suomalainen, K., Haapasalo, M., Kontinen, Y., Lindy, O., . . . Uitto, V. (1992). Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infection and Immunity*, 60(11), 4491-5.
- Souto, R., Andrade, A. F. B. d., Uzeda, M., & Colombo, A. P. V. (2006). Prevalence of " non-oral" pathogenic bacteria in subgingival biofilm of subjects with chronic periodontitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(3), 208-15.
- Souto, R., & Colombo, A. P. V. (2008). Prevalence of Enterococcus faecalis in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Archives of oral biology*, 53(2), 155-60.
- Speer, B. S., Shoemaker, N. B., & Salyers, A. A. (1992). Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clinical microbiology reviews*, 5(4), 387-99.

- Stevens, C. M., Tetsworth, K. D., Calhoun, J. H., & Mader, J. T. (2005). An articulated antibiotic spacer used for infected total knee arthroplasty: a comparative in vitro elution study of Simplex® and Palacos® bone cements. *Journal of Orthopaedic Research*, 23(1), 27-33.
- Stoltze, K. (1995). Elimination of Elyzol® 25% Dentalgel matrix from periodontal pockets. *Journal of clinical periodontology*, 22(3), 185-7.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.
- Sutter, V. L., & Finegold, S. M. (1977). In vitro studies with metronidazole against anaerobic bacteria. *Excerpta Medica, ICS*, 438, 279-85.
- Suvan, J. E. (2005). Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontology 2000*, 37(1), 48-71.
- Takada, H., Ogawa, T., Yoshimura, F., Otsuka, K., Koikeguchi, S., Kato, K., . . . Kotani, S. (1988). Immunobiological activities of a porin fraction isolated from *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953. *Infection and Immunity*, 56(4), 855-63.
- Tally, F., Snyderman, D., Shimell, M., & Goldin, B. (1979). *Mechanisms of antimicrobial resistance of Bacteroides fragilis*. Paper presented at the Metronidazole. Proceedings of the 2nd international symposium on anaerobic infection. Geneva.
- Tally, F. P., Goldin, B. R., Sullivan, N., Johnston, J., & Gorbach, S. (1978). Antimicrobial activity of metronidazole in anaerobic bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 13(3), 460-5.
- Tamura, A., Ara, T., Imamura, Y., Fujii, T., & Wang, P. (2008). The effects of antibiotics on in vitro biofilm model of periodontal disease. *Eur J Med Res*, 13(9), 439-45.
- Tanner, A., Maiden, M., Lee, K., Shulman, L., & Weber, H. (1997). Dental implant infections. *Clinical infectious diseases*, 25(Supplement_2), S213-S7.
- Taubman, M., Stoufi, E., Seymour, G., Smith, D., & Ebersole, J. (1988). Immunoregulatory aspects of periodontal disease. *Advances in dental research*, 2(2), 328-33.
- Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2017). *Staphylococcus aureus*.
- Teughels, W., Van Assche, N., Sliepen, I., & Quirynen, M. (2006). Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clinical oral implants research*, 17(S2), 68-81.
- Tew, J., Marshall, D., Moore, W., Best, A., Palcanis, K., & Ranney, R. (1985). Serum antibody reactive with predominant organisms in the subgingival flora of young adults with generalized severe periodontitis. *Infection and Immunity*, 48(2), 303-11.
- Thakkar, S., & Misra, M. (2017). Electrospun polymeric nanofibers: New horizons in drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107, 148-67.
- Theilade, E., Wright, W., Jensen, S. B., & Löe, H. (1966). Experimental gingivitis in man: II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of Periodontal Research*, 1(1), 1-13.
- Turner, J., & Meingassner, J. (1978). Isolation of *Trichomonas vaginalis* resistant to metronidazole. *The lancet*, 312(8092), 738.

- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., & Bannerjee, S. K. (2012). Drug delivery systems: An updated review. *International journal of pharmaceutical investigation*, 2(1), 2.
- Tolo, K., & Schenck, K. (1985). Activity of serum immunoglobulins G, A, and M to six anaerobic, oral bacteria in diagnosis of periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 20(2), 113-21.
- Tonetti, M. S. (1998). Local delivery of tetracycline: from concept to clinical application. *Journal of clinical periodontology*, 25(11), 969-77.
- Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of periodontology*, 89, S159-S72.
- Tracey, K. J. (2002). The inflammatory reflex. *Nature*, 420(6917), 853-9.
- Tunali, M., Özdemir, H., Küçükodacı, Z., Akman, S., & Fıratlı, E. (2013). In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51(5), 438-43.
- Tunali, M., Özdemir, H., Küçükodacı, Z., Akman, S., Öncü, E., Aydınbelge, M., . . . Fıratlı, E. (2016). A New Centrifugation Method for the Improvement of Platelet-rich Fibrin Products: A Preliminary Study. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 1-10.
- Tunali, M., Özdemir, H., Küçükodacı, Z., Akman, S., Yaprak, E., Toker, H., & Fıratlı, E. (2014). A novel platelet concentrate: titanium-prepared platelet-rich fibrin. *BioMed research international*, 2014.
- Van der Weijden, G., & Timmerman, M. (2002). A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, 29, 55-71.
- Van Dyke, T., Bartholomew, E., Genco, R., Slots, J., & Levine, M. (1982). Inhibition of neutrophil chemotaxis by soluble bacterial products. *Journal of periodontology*, 53(8), 502-8.
- Van Oosten, M., Notten, F., & Mikx, F. (1986). Metronidazole concentrations in human plasma, saliva, and gingival crevice fluid after a single dose. *Journal of dental research*, 65(12), 1420-3.
- Van Winkelhoff, A. J., Goené, R. J., Benschop, C., & Folmer, T. (2000). Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clinical oral implants research*, 11(6), 511-20.
- Verdel, B. M., van Puijenbroek, E. P., Souverein, P. C., Leufkens, H. G., & Egberts, A. C. (2008). Drug-Related Nephrotoxic and Ototoxic Reactions. *Drug safety*, 31(10), 877-84.
- Verheyen, C., Dhert, W., de Blicke-Hogervorst, J., Van der Reijden, T., Petit, P., & De Groot, K. (1993). Adherence to a metal, polymer and composite by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Biomaterials*, 14(5), 383-91.
- Vincent, J. W., Falkler Jr, W. A., Cornett, W. C., & Suzuki, J. B. (1987). Effect of periodontal therapy on specific antibody responses to suspected periodontopathogens. *Journal of clinical periodontology*, 14(7), 412-7.
- Vincent, J. W., Suzuki, J. B., Falkler Jr, W. A., & Cornett, W. C. (1985). Reaction of human sera from juvenile periodontitis, rapidly progressive periodontitis, and adult periodontitis patients with selected periodontopathogens. *Journal of periodontology*, 56(8), 464-9.

- Wahl, S., Costa, G., Mizel, D., Allen, J., Skaleric, U., & Mangan, D. (1993). Role of transforming growth factor beta in the pathophysiology of chronic inflammation. *Journal of periodontology*, *64*(5 Suppl), 450-5.
- Wahlstrom, E., Zamora, J. U., & Teichman, S. (1995). Improvement in cyclosporine-associated gingival hyperplasia with azithromycin therapy. *New England Journal of Medicine*, *332*(11), 753-4.
- Walker, C. B. (1996). Selected antimicrobial agents: mechanisms of action, side effects and drug interactions. *Periodontology 2000*, *10*(1), 12-28.
- Walker, C. B., Gordon, J. M., Magnussen, I., & Clark, W. B. (1993). A role for antibiotics in the treatment of refractory periodontitis. *Journal of periodontology*, *64*, 772-81.
- Walsh, L., Stritzel, F., Yamazaki, K., Bird, P., Gemmell, E., & Seymour, G. (1989). Interleukin-1 and interleukin-1 inhibitor production by human adherent cells stimulated with periodontopathic bacteria. *Archives of oral biology*, *34*(9), 679-83.
- Wang, P.-L. (2010). Roles of oral bacteria in cardiovascular diseases—from molecular mechanisms to clinical cases: treatment of periodontal disease regarded as biofilm infection: systemic administration of azithromycin. *Journal of pharmacological sciences*, *113*(2), 126-33.
- Weiss, E., Shanitzki, B., Dotan, M., Ganeshkumar, N., Kolenbrander, P., & Metzger, Z. (2000). Attachment of *Fusobacterium nucleatum* PK1594 to mammalian cells and its coaggregation with periodontopathogenic bacteria are mediated by the same galactose-binding adhesin. *Oral microbiology and immunology*, *15*(6), 371-7.
- Williams, R. C., Paquette, D. W., Offenbacher, S., Adams, D. F., Armitage, G. C., Bray, K., . . . Fiorellini, J. P. (2001). Treatment of periodontitis by local administration of minocycline microspheres: a controlled trial. *Journal of periodontology*, *72*(11), 1535-44.
- Winkler, R., Pasleau, F., Boussif, N., & Hodzic, D. (2000). The IGF system: summary and recent data. *Revue Medicale de Liege*, *55*(7), 725-39.
- Wiseman, G. M. (1975). The hemolysins of *Staphylococcus aureus*. *Bacteriological reviews*, *39*(4), 317.
- Wolter, J., Seeney, S., Bell, S., Bowler, S., Masel, P., & McCormack, J. (2002). Effect of long term treatment with azithromycin on disease parameters in cystic fibrosis: a randomised trial. *Thorax*, *57*(3), 212-6.
- Ximénez-Fyvie, L. A., Haffajee, A. D., & Socransky, S. S. (2000). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *Journal of clinical periodontology*, *27*(9), 648-57.
- Yang, L. C., Hu, S. W., Yan, M., Yang, J. J., Tsou, S. H., & Lin, Y. Y. (2015). Antimicrobial activity of platelet-rich plasma and other plasma preparations against periodontal pathogens. *Journal of periodontology*, *86*(2), 310-8.
- Yang, N. Y., Zhang, Q., Li, J. L., Yang, S. H., & Shi, Q. (2014). Progression of periodontal inflammation in adolescents is associated with increased number of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, and *Fusobacterium nucleatum*. *International journal of paediatric dentistry*, *24*(3), 226-33.
- Yu, J.-H., Ustach, C., & ChoiKim, H.-R. (2003). Platelet-derived growth factor signaling and human cancer. *Bmb Reports*, *36*(1), 49-59.

- Zadeh, H. H., Nichols, F. C., & Miyasaki, K. T. (1999). The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontology 2000*, 20(1), 239-88.
- Zigdon, H., & Machtei, E. E. (2008). The dimensions of keratinized mucosa around implants affect clinical and immunological parameters. *Clinical oral implants research*, 19(4), 387-92.
- Zitzmann, N., Berglundh, T., Marinello, C., & Lindhe, J. (2001). Experimental peri-implant mucositis in man. *Journal of clinical periodontology*, 28(6), 517-23.
- Zitzmann, N. U., Abrahamsson, I., Berglundh, T., & Lindhe, J. (2002). Soft tissue reactions to plaque formation at implant abutments with different surface topography: An experimental study in dogs. *Journal of clinical periodontology*, 29(5), 456-61.




8. ÖZGEÇMİŞ

AYBARS PIŞİREN



9. EKLER

Ek-A: Etik Kurul Onayı



NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ DIŞI ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: 2020/04 10.05.2020


Sayın Doç.Dr. Elif ÖNCÜ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10.05.2020 tarihinde yapılan 2020/04 sayılı toplantısında, yürütücüsü olduğunuz "Trombositten Zengin Fibrinin Lokal Salımlı Antibiyotik Taşıyıcısı Olarak Kullanımının Mikrobiyolojik Etkilerinin İn vitro Değerlendirilmesi" başlıklı projenin bilimsel etik açıdan uygun olduğuna karar verildi.

Saygılarımla...

Prof. Dr. Sevgi ÖZCAN
NEÜ Diş Hekimliği Fakültesi
İlaç ve Tıbbi Cihaz Dışı Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Ek-B: Bilgilendirilmiş Hasta Olur Formu

	BİLGİLENDİRİLMİŞ HASTA OLUR FORMU
---	--

ÇALIŞMA: Bu çalışma üniversitemiz bünyesinde yapılan akademik bir araştırmadır.

AMAÇ: Hastadan damar yolundan elde edilmiş kanın, Trombositten Zengin Fibrin (TZF) isimli cihaz içerisinde santrifüj edilmesi (hızla döndürülmesi) ile elde edilen kan esaslı dokunun içerisinde işlem öncesi antibiyotik eklenmesi ve sonrasında oluşturulan bu dokunun ağız içinde sıkça bulunan inatçı bakterileri öldürme etkinliğinin laboratuvar ortamında, bakteri kültürleri ile saptanması.

UYGULANACAK TEDAVİLER: Toplardamar yolundan kan alınması.

UYGULANACAK YÖNTEMLER: Toplardamar yolundan kan alınması.

HASTANIN SORUMLULUKLARI: Kendisine sözlü veya yazılı anlatılan işlem sonrası önerilere uymak, beldenmedik bir durumla karşılaşıldığında kendisi ile paylaşılmış irtibat numaraları üzerinden iletişime geçmek.

ARAŞTIRMANIN DENEYSEL KISIMLARI: Alınan kana antibiyotik ilavesini takiben doku elde edilmesi (TZF) ve bu dokunun bakteri kültür ortamlarında etkinliğinin saptanması.

HASTANIN MARUZ KALACAĞI RİSKLER: Kan alımı işleminin, gerekli önlemler alındığı takdirde, bilinen hayati bir riski yoktur.

HEDEFLenen KLİNİK YARAR: Bu araştırma bir *in-vitro* çalışma olduğu için, hastada hedeflenen klinik yarar bulunmamaktadır.

UYGULANABİLECEK ALTERNATİF YÖNTEMLER: Bu araştırmaya alternatif bir yöntem hastaya sunulmamaktadır.

MEVZUAT GEREĞİNCE HASTAYA VERİLECEK TAZMİNAT VEYA SAĞLANACAK TEDAVİLER: Hastanın yasal hakları dışında, bu araştırmanın icrası esnasında ve/veya sonucunda herhangi bir tazminat veya sağlanacak tedavi planlanmamıştır.

HASTANIN ARAŞTIRMADAN ÇEKİLEBİLME HAKKI: Hastanın araştırmaya katılımı isteğe bağlıdır ve hasta istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir. Araştırma konusuyla ilgili ve hastanın araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde hasta veya yasal temsilcisi zamanında bilgilendirilecektir.

HASTANIN GİZLİLİĞİ: İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin hastanın orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilir, ancak bu bilgilerin gizli tutulacağı, yazılı bilgilendirilmiş hasta olur formunun imzalanmasıyla hasta veya yasal temsilcisi söz konusu erişime izin vermiş olacaktır. İlgili mevzuat gereğince hastanın kimliğini ortaya çıkaracak kayıtların gizli tutulacağı, kamuoyuna açıklanamayacağı; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi hastanın kimliği gizli kalacaktır.

DİĞER BİLGİLER: Hastanın araştırmaya katılımının sona erdirilmesini gerektirecek durumlar veya nedenler yoktur. Hastanın araştırmaya devam etmesi için öngörülen süre, sadece kan alımı süresi kadardır. Araştırmaya katılımı beklenen tahmini hasta sayısı beştir. Hastalardan elde edilecek olan biyolojik materyaller yukarıda bahsedilen amaçlar için kullanılacaktır. Biyolojik materyallerin analizleri yurtiçinde yapılacaktır.

HASTALARIN İHTİYAÇ HALİNDE ERİŞEBİLECEĞİ KİŞİ VE İRTİBAT NUMARASI: Doç. Dr. Elif ÖNCÜ, +903322200025

HASTA ONAMI: "Bilgilendirilmiş Hasta Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya hasta olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum."

Hastanın Adı Soyadı

İmzası

Tarih

Araştırmacının Adı Soyadı

İmzası

Tarih

Tanıgın / Yasal Temsilcinin Adı Soyadı

İmzası

Tarih