Furkasyon Problemi Olan Endodontik Sorunlu Dişlerde PZR Yöntemi Kullanılarak Peridontal Cep ve Kök Kanalı Arasındaki Mikrobiyolojik İlişkinin İncelenmesi

Investigation of the Microbiological Relationship between Periodontal Pocket and Root Canal of the Teeth with Furcation Defect and Endodontic Problem using PCR Analysis

Hasan Güney YILMAZ¹

Ata Devrim ÇAĞLAYAN²

¹Yakın Doğu Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji AD, ²Confident Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi

Özet

Periodontal ve endodontik dokular arasındaki olası etkileşim yıllardır incelenen bir konudur. Periodontal hastalıklar anedenolan etkenler endodontik enfeksiyonlara da neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı, çürüksüz, furkasyonlezyonuolan, primer periodontal-sekonder endodontik enfeksiyonlu dişlerin polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile mikrobiyolojik olarak incelenmesidir. Çalışmaya 24 hastanın primer periodontal-sekonder endodontik lezyonu olan 24 molar dişi dahil edildi. Tedavi uygulanacak dişlerin plak ve gingival indeksleri, cep derinlikleri, furkasyon lezyonları ve mobiliteleri kaydedildi. Dişler izole edildikten sonra subgingival plak örnekleri steril kağıt konlar yardımıyla alındı. Aynı seansta kök kanalından steril kağıt konlar kullanılarak mikrobiyolojik örnekler alındı. DNA izolasyonu ve PZR analizi üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı ve hedeflenen mikroorganizmaların tespiti için *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *E. feacalis* ve *A. actinomycetemcomitans*'a özel primerler kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen dişlerde en derin cep 10 mm, en sıgı cep ise 6 mm olarak belirlenmiştir. Dişlerin % 75'inde 2. sınıf, %25'inde ise 3. sınıf furkasyon problemi saptanmıştır. *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, ve *T. denticola*'nın periodontal cep ve kök kanalında bulunması arasında anlamlı ilişki bulunurken, diğer bakterilerde anlamlı sonuç gösterilememiştir. Cep derinliğinde artış ile subgingival plakta bakteri bulunması arasındaki ilişki, *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* ve *T. denticola* için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, *E. feacalis* ve *A. actinomycetemcomitans* için anlamlı sonuç saptanmamıştır. Periodontal ve endodontik tedavilerin başarısı etken mikroorganizmaların eliminasyonu ile yakından ilişkilidir. Bu çalışmanın sınırları dahilinde, 2. ve 3. sınıf furkasyon problemi olan dişlerdeki periodontal enfeksiyon, sekonder olarak endodontik enfeksiyona sebep olmaktadır. Böyle dişlerin endodontik tedavilerinin başarısı periodontal problemlerin ortadan kaldırılması ile sağlanabilir.

Anahtar sözcükler: Periodontal hastalıklar, endodontik hastalıklar, polimeraz zincir reaksiyonu, furkasyon problemleri

Abstract

It was shown that the factors cause periodontal diseases also lead endodontic problems. The aim of this study is to investigate the primer periodontally seconder endodontic infected non-carious teeth with furcation defects, microbiologically, using polymerase chain reaction (PCR). The study included 24 molar teeth of 24 patients with primer periodontally seconder endodontic problems. Plaque and gingival indexes, pocket depths, furcation defect and mobility of each tooth were recorded. After isolation of the tooth, subgingival plaque samples and microbiological samples from the root canal were collected with the use of sterile paper points. DNA isolation and PCR analysis were performed according to manufacturer's instructions and special primers of *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *T. denticola*, *E. feacalis* and *A. actinomycetemcomitans* were used. The deepest and smallest pockets were 10 and 6mm, respectively. 75% of the teeth had Class 2 and 25% of teeth had Class 3 furcation defects. *P.gingivalis*, *P.endodontalis* and *T. Denticola* were detected in both pocket and root canal, significantly. There was a significant correlation between increasing the pocket dept and presence of the *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P.gingivalis*, *P. endodontalis* and *T. denticola* in subgingival plaque. The success of periodontal and endodontic treatments is closely related to elimination of microorganisms. Within the limitations of this study, periodontal disease of teeth with Class 2 and Class 3 furcation defects leads to secondary endodontic infection. Endodontic treatment of these teeth can be achieved by the elimination of periodontal problems.

Keywords: Periodontal diseases, endodontic diseases, polymerase chain reactin, furcation defects

Giriş

Diş ve dişin çevre dokuları tek bir biyolojik ünite olarak değerlendirilebilir. Bu üniteye dokuların fonksiyonunu ve sağlığını etkileyen çeşitli ilişkiler vardır. Periodontal ve endodontik dokular arasındaki olası etkileşim yıllardır incelenen bir konudur. Periodonsiyum ve pulpa arasındaki ilişki ilk olarak Simring ve Golberg¹ tarafından 1964 yılında gösterilmiştir. Periodontal endodontik lezyonlar 3 ana yolla birbirini etkilemektedir bunlar; dentin tübülleri, lateral ve aksesuar kanallar ve apikal foramendir.² Pulpa enfeksiyonu sadece çürük nedeni ile oluşmaz. Periodontal hastalığa yol açan mikroorganizmalar periodontal-endodontik etkileşim sonucu bir dişin pulpasını, diş çürüksüz bile olsa, tahrip edebilmektedir.^{1,2} Polimeraz zincir reaksiyonu³ (PZR) gibi moleküler mikroorganizma tespit yöntemleri, bu hastalıklarda rol alan mikroorganizmaların ve geçiş yollarının, tekrarlayan hastalık nedenlerinin ve tedavinin ne derece etkili olduğunun belirlenmesine büyük katkıda bulunmaktadır. PZR tekniğinin periodontal ve endodontal hastalıkların etiolojisinde yer alan mikroorganizmaların tespitinde kullanılmasıyla birlikte bu hastalıklarda rol alan mikroorganizmalar daha net olarak açığa çıkmıştır.

Periodontal endodontik etkileşimden büyük oranda sorumlu olan aksesuar kanalların çoğunluğu, dişlerin apikalinde ve molar dişlerin furkasyon bölgesinde bulunmaktadır.² Periodontal-endodontik problemler anterior dişlerden çok molar dişlerde görülür, çünkü molar dişlerde çok daha fazla sayıda aksesuar kanal bulunmaktadır.² Molar dişlerdeki furkasyon bölgesinde aksesuar kanal oranının %16-24 arasında değiştiği gösterilmiştir.⁴ Ancak literatür incelendiğinde, bugüne kadar furkasyon lezyonu olan, çürüksüz, primer periodontal sekonder endodontik problemlerli dişlerde periodontal-endodontik ilişkiyi inceleyen bir çalışma bulunamamıştır. Bu çalışmanın hipotezi, furkasyon lezyonunu oluşturan mikroorganizmaların endodontik enfeksiyonlara da sebep olduğu şeklinde kurulmuştur. Bu sebeplerden çalışmamızda, çürüksüz, furkasyon lezyonu olan, primer periodontal-sekonder endodontik enfeksiyonlu dişlerde PZR yöntemi kullanılarak

peridontal cep ve kök kanalı arasındaki mikrobiyolojik ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Periodontoloji ve Endodonti kliniklerine tedavi için başvuran, yaşları 42-65 (ortalama 48.4) arasında değişen, kronik periodontitis teşhisi konmuş 24 hastanın (14 erkek 10 kadın), toplam 24 adet molar diş dahil edildi. Hastaların sistemik olarak sağlıklı olmasına, son 3 ay içerisinde herhangi bir sebeple antibiyotik kullanmamış ve son 6 ay içinde periodontal tedavi görmemiş olmasına dikkat edildi. Dişlerde, çürük, travma hikayesi ve periapikal lezyonu olmaması, endodontik tedaviye ihtiyaç duyulan, 2. ve 3. derecede furkasyon lezyonu olan 1. ve 2. molar dişler olması kriterleri arandı. Bir hastada bu özellikleri taşıyan birden fazla diş olduğunda, sonuçların etkilenmemesi için bu dişlerden sadece biri çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalara yapılacak işlemler ve muhtemel komplikasyonlar anlatılarak çalışma öncesinde bilgilendirilmiş olurları alındı.

Verilerin toplanması

Tedavi uygulanacak dişlerin mesio-bukkal, bukkal, disto-bukkal ve lingual bölgelerinden plak⁵ ve gingival indeks⁶ değerlendirmeleri ve cep derinliği ölçümleri yapıldı ve bu ölçümlerin ortalamaları alınarak her bir diş için mevcut değer belirlendi. Dişlerin furkasyon lezyonlarının derecesi⁷ ve mobilite skorları⁸ kaydedildi.

Mikrobiyolojik örneklerin toplanması

Subgingival plak örnekleri alınmadan önce dişler steril pamuk rulolar ile izole edildi, diş yüzeyleri steril pamuk peletler ile silindi ve sonrasında 2 ml hacmindeki enjektör kullanılarak %0,2'lik klorheksidin diglukonat ile dezenfekte edildi. Daha sonra, dişin etrafı steril salin solüsyonu ile tekrar yıkandı ve pamuk peletler ile silinerek kurutuldu. Dişin periodontal cebine, ayrı ayrı en az 4 kez olmak üzere, 35 numaralı steril kağıt konlar yerleştirilip 20 sn bekletildi ve bu konlar 1ml %5'lik dimetilsulfoksit içeren trypticase-soy broth

(triptikaz içeren et suyu) (Difco, Detroit, MI, Amerika) içeren kriyo tüplere konuldu. Örnekler anında -20°C derecede donduruldu ve PZR işlemine kadar bu ortamda tutuldu. Aynı seansta subgingival plak örneği alınan dişlerin kanallarından mikrobiyal örnek de alındı. Dişlerin kök kanallarından örnek alınmadan önce politür yapılarak dişlerin okluzal yüzeyleri temizlendi. Anestezi uygulandıktan sonra rubber dam ile izole edildip, diş ve çevresi 2ml hacmindeki enjektör kullanılarak %3'lük hidrojen peroksit ile temizlendi ve %2.5'lik sodyum hipoklorit ile dezenfekte edildi. Giriş kavitesi açılırken (oklüzal) aeratör önce su soğutmalı şekilde kullanıldı, pulpa odası tavanına gelindiğinde su soğutması kaldırıldı ve pulpa odasına su soğutmasız bir ortamda, yeni bir steril frez kullanılarak girildi. Operasyon alanı, pulpa odası da dahil olmak üzere 2ml hacminde enjektör kullanılarak %2.5'lik sodyum hipokloritle yıkandı. Daha sonra bu solüsyon % 5'lik steril sodyum tiyosülfat kullanılarak inaktive edildi. Kök kanalının kuru olduğu durumda bir miktar steril salin solüsyonu kanallara damlatılarak kanallar içinden örnek alımı için uygun koşul sağlandı. Bunu takiben 15 nolu K tipi eğeler (Dentsply/Mailfeller, Ballaiguesi, İsviçre) tüm kanallar içine apekse 1 mm kalacak şekilde yerleştirildi. Kanal aleti yardımı ile enfekte dentin artıklarının kanallar içindeki sıvıya karışması sağlandı. Örnek alımı sırasında kontaminasyonun önlenmesi için, kullanılacak presel her seferinde alevden geçirildi. Bu işleminden sonra kanallar içine steril kağıt konlar (15-20 numara) yerleştirildi ve en az 5 steril kağıt konla örnek alındı. Daha sonra kağıt konlar 1ml %5'lik dimetilsulfoksit içeren triptikazsoybroth içeren hasta kodları ile işaretlenmiş kriyo tüplere konularak anında -20°C derecede donduruldu ve PZR işlemine kadar bu ortamda bekletildi.

DNA izolasyonu ve PZR tanımlamaları

Tüm dondurulmuş deney örnekleri 37°C' de 10 dakika süre ile eritildi ve 30 saniye vortekslendi. Hedeflenen mikroorganizmaları tespit için *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromon asgingivalis*, *Porphyromon asendodontalis*, *Treponomadenticola*, *Entero-*

coccusfaecalis ve *Aggregatibacteractinomycetemcomitans*'a özel primerler kullanıldı (Alfa DNA, Montreal, Quebec, Kanada). Pozitif kontrol grubu olarak primerleri kullanılan tüm mikroorganizmaların 16S rDNA genlerine uyan bir çift ubiquitous bakteri primeri PZR reaksiyonları 50 µl'lik reaksiyon karışımı içerisinde gerçekleştirildi. DNA izolasyonları ve PZR tanımlamaları üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı.

Örnek alımı işlemlerinden sonra ilgili dişlerin gerekli endodontik ve periodontal tedavileri yapıldı.

İstatistiksel Analiz

Seçilen mikroorganizmaların periodontal cep ve kök kanalında bulunmasındaki ilişki Ki-kare testi ile cep derinliğindeki artış ile mikro-organizma bulunmasındaki ilişki ise lojistik regresyon analizi ile belirlendi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen 24 dişin plak ve gingival indeks skorlarının, cep derinliklerinin minimum, maksimum ve ortalama değerleri ile standart sapması (SS) Tablo 1'de gösterilmiştir. En derin cep 10 mm bulunurken, en sığ cep ise 6 mm belirlenmiştir. Dişlerin %75'inde 2. sınıf, %25'inde ise 3. sınıf furkasyon lezyonu saptanmıştır. Seçilen mikroorganizmaların, periodontal cep ve kök kanalı içindeki dağılımı Tablo 2'de, cep derinliği ile olan ilişkileri Tablo 3'de gösterilmiştir. Mikroorganizmaların, cep derinliğinde artış ile kök kanalında bulunması arasındaki ilişki ise Tablo 4'de gösterilmiştir. İncelenen bakteriler içinde *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, ve *T. denticola* bakteri gruplarının periodontal cep ve kök kanalında bulunması arasında anlamlı bir ilişki bulunurken diğer bakteri türleri için anlamlı sonuç elde edilememiştir (Tablo 2). Cep derinliğinde artış ve bakteri bulunması arasındaki ilişki incelendiğinde ise *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* ve *T. denticola* için istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunurken, *E. faecalis* ve *A. actinomycetemcomitans* türü bakterilerde anlamlı sonuç saptanmamıştır (Tablo 3).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen dişlerin, plak indeksi (PI), gingival indeks (GI) skorlarının ve cep derinliğinin (CD) minimum, maksimum ve ortalama değerleri ile standart sapması (SS)

	En düşük	En yüksek	Ortalama	SS
PI	2	3	2,31	0,29
GI	1	3	2,18	0,64
CD	6	10	7,46	1,15

Tablo 2. Analizi yapılan mikroorganizmaların subgingival plak (SP) ve kök kanalı (KK) içindeki dağılımları.

	SP ve KK	Yalnızca SP	Yalnızca KK	Negatif	p
<i>T. forsythia</i>	2	18	0	4	0.53
<i>F. nucleatum</i>	1	10	0	13	0.287
<i>P. gingivalis</i>	14	4	0	6	0.001*
<i>P. endodontalis</i>	11	5	1	7	0.008*
<i>T. denticola</i>	9	4	1	10	0.002*
<i>E. feacalis</i>	0	1	0	23	0.84
<i>A. actinomycetans</i>	0	3	0	21	0.71

* Belirtilen bakterinin, subgingival plak örneklerinde ve kök kanalında bulunması arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki ($p < 0.05$).

Tablo 3. Analizi yapılan mikroorganizmaların cep derinliğindeki artış ile subgingival plak örneklerinde bulunması arasındaki korelasyon.

	r	p
<i>T. forsythia</i>	0.620	0.001*
<i>F. nucleatum</i>	0.380	0.04*
<i>P. gingivalis</i>	0.670	0.001*
<i>P. endodontalis</i>	0.560	0.003*
<i>T. denticola</i>	0.710	0.001*
<i>E. feacalis</i>	0.030	0.72
<i>A. actinomycetans</i>	0.093	0.68

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$).

Tablo 4. Analizi yapılan mikroorganizmaların cep derinliğindeki artış ile kök kanalı içinde bulunması arasındaki korelasyon.

	r	p
<i>T. forsythia</i>	0.120	0.49
<i>F. nucleatum</i>	0.230	0.16
<i>P. gingivalis</i>	0.610	0.001*
<i>P. endodontalis</i>	0.520	0.001*
<i>T. denticola</i>	0.630	0.001*
<i>E. feacalis</i>	0.100	0.34
<i>A. actinomycetans</i>	0.040	0.54

* İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$)

Tartışma

Periodontal ve endodontik hastalıkların her ikisi de büyük oranda bakteriyel kaynaklıdır. Periodonsiyumun çeşitli yollarla kök kanalı ile ilişkide olması, bu hastalıklara sebep olan bakterilerin bir bölgeden diğer bölgeye geçerek sekonder enfeksiyonlara yol açmasına sebep olabilir.² Bu nedenle, periodontal cep ve kök kanalı içersinde bulunan spesifik mikroorganizmaların tespiti, enfeksiyonun primer etkenini tanımlamayı ve bu sayede etkenin eliminasyonuna yönelik tedavinin yapılmasını ve inatçı enfeksiyonların başarı ile ortadan kaldırılmasını sağlayabilir. Bu çalışmada, diğer yöntemlere göre çok daha hassas ve hızlı bir yöntem olan PZR analizi^{3,9} kullanılarak seçilen mikroorganizmaların periodontal cep ve kök kanalı içersindeki varlığı araştırılmıştır. Jervøe-Storm ve ark.¹⁰ subgingival plak örneklerinde *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *T. forsythia* bakterilerinin saptanmasında gerçek zamanlı PZR analizi ile kültür yöntemini karşılaştırmıştır. Kültür yönteminin anaerobik bakterilerin saptanması, örnek alımı sırasında bakterilerin canlılığının korunması ve bakteri sayılarının belirlenmesi gibi bazı sınırları ve zorlukları olduğu, buna karşın PZR analizinin bu durumlarda daha başarılı bulunduğunu belirtmişlerdir. Tomazinho ve ark.¹¹ ise kronik endodontik lezyonu olan dişlerde kök kanalından elde ettikleri örneklerde *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *P. intermedia*, ve *P. nigrescens* bakterilerinin varlığını saptamada PZR ile kültür yöntemini karşılaştırmışlar ve kültür yönteminin canlı olmayan ya da sayıca az olan bakterileri saptamada yeterli olmadığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda periodontal cep ve kök kanalı içindeki anaerobik bakterilerin varlığının hassas bir şekilde saptanması, periodontal-endodontik ilişkiyi gösterebilmek açısından önemli olduğundan, bu çalışmada bakteri varlığını saptamada hassas bir yöntem olan PZR analizi tercih edilmiştir.

Bu çalışmada analizi hedeflenen *T. forsythia*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, *E. feacalis*, *T. denticola* ve *A. actinomycetans*, çalışmalarda periodontal ve endodontik enfeksiyonlardan ve bu dokulardaki yıkımdan en sık sorumlu gösterilen mikro-

organizmalar oldukları için seçilmiştir.⁹⁻¹⁷Foschi ve ark.¹² endodontik hastalığı olan dişlerin kök kanalından aldıkları örneklerde PZR analizi ile *T. denticola*, *E. faecalis*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* ve *T. forsythia* bakterilerinin varlığını ve bu bakterilerin klinik semptomlar ile olan ilişkisini göstermeyi hedeflemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, *T. denticola* ve *E. faecalis*'in kanallarda sıklıkla bulunduğunu belirtmişler, diğer bakteri türlerinin kök kanalında bulunması ile endodontik enfeksiyon arasında anlamlı bir ilişki bulamamışlardır *T. denticola*'nın apikal rezorbsiyon ve diğer semptomlar ile ilişkili olduğunu, *E. faecalis*'in ise başarısız endodontik tedavilerden sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Lau ve ark.¹⁷ subgingival plak örneklerinde çeşitli periodontal patojenleri incelemişler ve özellikle *P. gingivalis*, *A. actinomycetans* ve *T. forsythia*'in periodontitisli bireylerde yüksek oranda bulunduğu saptamışlardır. Imbrunito ve ark.¹⁵ kronik periodontitis, generalize agresif periodontitis ve gingivitisli hastalarda subgingival plakta çeşitli bakteri ve virüs türleri arasındaki farklılıkları araştırmışlar, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*'nin her iki periodontitis grubunda da gingivitis grubuna göre daha fazla olduğunu ayrıca *A. actinomycetemcomitans*'nin generalize agresif periodontitis grubunda kronik periodontitis grubuna göre daha fazla bulunduğunu göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda *E. faecalis* ve *T. denticola* gibi primer endodontik enfeksiyonlarda en sık bulunan bakterilerin kök kanalı içinde bulunmaması, buna karşın kronik periodontitisli hastalarda yüksek oranda rastlanan bakterilerin hem subgingival plakta hem de kök kanalında saptanması, çalışmaya dahil edilen dişlerdeki enfeksiyonların primer periodontal-sekonder endodontik kaynaklı olduğunu göstermesi açısından önemlidir.

Bu çalışmada kullanılan PZR analizinin, kültür yöntemine göre hızlı ve hassas olması gibi avantajları olsa da, son zamanlarda kullanılan kantitatif PZR analizlerinden en önemli farkı, saptanan patojenlerin sayısını belirlemedeki eksikliğidir,¹⁸ ve bu çalışmamızın sınırlarından

birini oluşturmaktadır. Bu çalışmanın *in vivo* olması sebebiyle, örnek alınan dişlerin dentin ve aksesuar kanallarının tarama elektron mikroskopisi gibi çeşitli yöntemler ile incelenememiş olması da çalışmamızı sınırlayan bir diğer etkidir.

Sonuç

Periodontal ve endodontik tedavilerin başarısı etken mikroorganizmaların eliminasyonu ile yakından ilişkilidir. Bu çalışmanın sınırları dahilinde, 2. ve 3. sınıf furkasyon problemi olan dişlerden alınan subgingival plakta saptanan ve mevcut periodontal yıkımdan sorumlu olan, *P. gingivalis*, *P. endodontalis*, ve *T. denticola*'nın, sekonder olarak endodontik enfeksiyona da sebep olduğu PZR analizi ile gösterilmiştir. Bununla birlikte, cep derinliğindeki artış ile bu mikroorganizmaların cepte ve kök kanalında bulunmasındaki pozitif korelasyonlar göz önüne alındığında, derin periodontal cepler endodontik tedavinin prognozunu önemli derecede etkileyebilmektedir. Bu bilgiler ışığında, primer periodontal sekonder endodontik enfeksiyonlu dişlerin endodontik tedavilerinin başarısı, yapılacak olan periodontal tedavinin başarısı ile yakından ilişkili olduğu görülmektedir.

Kaynaklar

1. Simring M, Goldberg M. The pulpal pocket approach: Retrograde periodontitis. *J Periodontol* 1964; 35: 22-48.
2. Zehnder M, Gold SI, Hasselgren G. Pathologic interactions in pulpal and periodontal tissues. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 663-671.
3. Kinney JS, Morelli T, Braun T, et al. Saliva/Pathogen Biomarker Signatures and Periodontal Disease Progression. *J Dent Res* 2011 Mar 15 (article in press).
4. Haznedaroğlu F, Ersev H, Odabaşı H ve ark. Incidence of patent furcal accessory canals in permanent molars of a Turkish population. *Int Endod J* 2003; 36: 515-9.
5. Silness J, Loe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 121-35.

6. Loe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. 1. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-51.
7. Mühlemann HR. Toothmobility: a review of clinical aspects and research findings. *J Periodontol* 1967; 38: 686-713.
8. Ammons WF, Harrington GW: The furcation problem and its management. In: Newman MG, Takei HH, Caranza FA. *Caranza's Clinical Periodontology*, ed 9. Philadelphia; Saunders; 2002. P.825-840.
9. Williams JM, Trope M, Caplan DJ, Shugars DC. Detection and quantitation of *E. faecalis* by real-time PCR (qPCR), reverse transcription-PCR (RT-PCR), and cultivation during endodontic treatment. *J Endod* 2006; 32: 715-21.
10. Jervøe-Strom P-M, Koltzsch M, Falk W, Dörfler A, Jepsen S. Comparison of culture and real-time PCR for detection and quantification of five putative periodontal pathogenic bacteria in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 778-783.
11. Tomazinho LF, Avila-Campos MJ. Detection of Porphyromonas gingivalis, Porphyromonas endodontalis, Prevotella intermedia, and Prevotella nigrescens in chronic endodontic infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 103: 285-8.
12. Foschi F, Cavrini F, Montebugnoli L, Stashenko P, Sambri V, Prati C. Detection of bacteria in endodontic samples by polymerase chain reaction assays and association with defined clinical signs in Italian patients. *Oral Microbiol Immunol* 2005; 20: 289-295.
13. Imbrunite AV, Okuda OS, Maria de Freitas N, Moreira Lotufo RF, Nunes FD. Detection of herpes viruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, gingivitis. *J Periodontol* 2008; 79: 2313-21.
14. Wara-aswapati N, Pitiphat W, Chanchaimongkon L, Taweekaisupapong S, Boch JA, Ishikawa I. Red bacterial complex is associated with the severity of chronic periodontitis in a Thai population. *Oral Dis* 2009; 15: 354-9.
15. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens world wide. *J Clin Periodontol* 2008; 35: 346-361.
16. Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. Real-time polymerase chain reaction for detection and quantification of bacteria in periodontal patients. *J Periodontol* 2005; 76: 1542-9.
17. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 1061-9.
18. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Tannerella forsythensis in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 1034-47.

Yazışma Adresi:

HasanGüney YILMAZ
Yakın Doğu Üniversitesi,
Diş Hekimliği Fakültesi,
Periodontoloji AD,
Lefkoşa-KKTC
Tel : 0392 680 20 30 / 26 54
Faks : 0392 680 20 25
E-posta : guneyyilmaz@hotmail.com