

ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS'A KARŞI FARKLI ANTİBİYOTİKLERİN İN VİTRO AKTİVİTELERİ

Doç.Dr. Emel ÖKTE*

IN VITRO ACTIVITY OF DIFFERENT ANTIBIOTICS AGAINST ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS

SUMMARY

Actinobacillus actinomycetemcomitans is a gram negative, facultative anaerob coccobacillus that plays an important role in the etiology of especially localized juvenile periodontitis. The aim of this study was to evaluate this microorganism's susceptibility to different antibiotics. 10 localized juvenile periodontitis patients were included in the study. Subgingival microbiologic samples were taken from the deepest pocket of first molars in each quadrant with paper points. Samples were than immediately cultured on Tryptic Soy-Serum-Bacitracin-Vancomycin agar plates. They were incubated at 37°C for 3 days. At the end of this incubation period microorganisms were evaluated according to their colony morphologies and then, they were gram stained and tested for oxidase and catalase activity. All localized juvenile periodontitis patients were culture positive for subgingival Actinobacillus actinomycetemcomitans. Antibiotic susceptibility tests of 10 Actinobacillus actinomycetemcomitans isolates were performed by using standard antibiotic discs on Columbia agar. Among the six antibiotics, all of the Actinobacillus actinomycetemcomitans isolates were susceptible to tetracycline, ofloxacin and azithromycin.

Key Words: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Antibiotics, Antibiotic susceptibility.

ÖZET

Actinobacillus actinomycetemcomitans özellikle lokalize juvenil periodontitiste etiyolojik ajan olarak tanımlanan gram negatif, fakültatif anaerob bir kokobasildir. Çalışmanın amacını bu mikroorganizmanın farklı antibiyotiklere olan duyarlılığının incelenmesi oluşturmıştır. Çalışma, lokalize juvenil periodontitis tanısı konan 10 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. Subgingival mikrobiyolojik örnekler steril paper pointler ile her quadrandaki en derin cebe sahip birinci molar dişlerden alınmıştır. Örnekler alındıktan hemen sonra Tryptic Soy-Serum-Bacitracin-Vancomycin besi yerlerine ekilmiştir. Besi yerleri anaerobik jara yerleştirilerek 37°C'da 3 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon periodunu takiben izlenen mikroorganizmalar koloni morfolojileri, gram boyası, oksidaz ve katalaz reaksiyonu yönünden değerlendirilmiş ve hastaların tümünde Actinobacillus actinomycetemcomitans mevcudiyeti saptanmıştır. İzole edilen 10 Actinobacillus actinomycetemcomitans suşunda da farklı antibiyotikleri içeren standart disklerle Columbia agarda antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. Test edilen 6 antibiyotikten 10 Actinobacillus actinomycetemcomitans suşuna da duyarlı olanların tetrasiklin, ofloksasin ve azitromisin olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Antibiyotikler, Antibiyogram

GİRİŞ

Gram negatif, fakültatif anaerob kokobasil olan Actinobacillus actinomycetemcomitans'ın (A.a) prevalansı son yıllardaki çalışmalarda sağlıklı bireylerde % 10, erişkinlerde izlenen ileri periodontitislerde % 30-50 ve lokalize juvenil periodontitiste (LJP) % 90 olarak izlenmiştir.^{1,27} Ayrıca prepubertal, hızlı ilerleyen ve refractory periodontitis vakalarında da izole edilebildiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.^{8,25,37} A.a'nın dişeti bağ dokusuna invaze olduğu gözlenen bir çalışmada bu bölgede yapılan kültür yöntemi sonucunda canlılığı da tespit edilmiştir.⁶ Bu nedenle diğer periodontitis türlerine göre A.a'nın neden olduğu periodontitisli hastalarda mekanik

tedavi ile arzu edilen iyileşme sağlanamamaktadır.^{5,12,30} Buna bağlı olarak supra ve subgingival bölgelerdeki patojenik bakterilerin eliminasyonu amacıyla etkin antibiyotikler olarak özellikle LJP'li hastalarda tetraksiklinler ve metronidazol-amoksisilin kombinasyonları kullanılmaktadır.^{7,22-24,31,33} Ancak bu antibiyotiklerin A.a'ı elimine etmede yetersiz olduğunu gösteren klinik çalışmalar da mevcuttur.^{10,15,16,32} Ayrıca yıkıcı periodontal hastalığa sahip bireylerin aynı subgingival mikroflora kompozisyonuna sahip olmamaları da antibiyotik seçiminin önemini göstermektedir.³³ Bu nedenle çalışmanın amacını LJP'li hastalarda izole edilen A.a'ya karşı etkin antibiyotiği in vitro olarak belirlemek oluşturmıştır.

* Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Gazi Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalına tedavi amacıyla gelen, klinik ve radyolojik yönden Baer'in² kriterlerine uygun olarak LJP tanısı konan 10 hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hastaların sistemik yönden sağlıklı ve son 6 ay içerisinde antibiyotik kullanmamış olmalarına dikkat edilmiştir. Subgingival mikrobiyolojik örnekler her quadrantdaki 1.molar dişlerin en derin bölgesinden paper pointler ile alınmıştır.

Örneğin Alınması: Örnekler alınmadan önce pamuk peletlerle supragingival plak uzaklaştırılmıştır. Cep içine yerleştirilen 3 adet steril paper point 10 sn.sonra uzaklaştırılarak 1.0 ml. Ringer solusyonu içeren Eppendorf tüplerine alınmıştır.

Besi yerlerinin hazırlanması: Litrede 40 gr. tryptic soy agara, 1 gr. yeast extract ilave edilerek, pH 7.2 olacak şekilde hazırlanan bu medyum 121 °C'daki otoklavda 15 dakika tutulmuştur. Otoklav sonrası manyetik karıştırıcı ve ısıtıcıda (Nüve) medyum ısısı 50°C olduğunda 100 ml. at serumu ve sterilize filtreden (MFS 25 Syringe Filter Unit) geçirilen bacitracin ve vankomisin final konsantrasyonları % 10 olacak şekilde 75 µg/ml ve 5 µg/ml ilave edilmiştir.²⁹

Laboratuvar İşlemleri: Örnekler alındıktan hemen sonra ekim işlemine geçilmiştir. Alınan örnekler 30 sn. süreyle vortex mixer'da homojenize edildikten sonra Tryptic Soy-serum-Bacitracin-Vancomycin (TSBV) besi yerine 0.1 ml ekim yapılmıştır. Besi yerleri anaerobik jara (Merck) yerleştirilerek, Anaerocult C (Merck) ilavesiyle % 8-10 CO₂'li ortamda 37°C'da 3 gün süreyle inkübe edilmiştir. Jar içindeki anaerobik ortam jar içine yerleştirilen Anaerotest strip (Merck) üzerindeki mavi rengin 4 saat sonra beyaza dönüşmesiyle test edilmiştir.

İnkübasyon periodunu takiben koloni morfolojileri renk, şekil ve yüzey yapısı yönünden değerlendirilmiştir. Çapları 0.5-1.0 mm., dışbükey, kenarları hafif düzensiz, translusent (şeffaf), parlak ve iç yapısı yıldız benzeyen, agar yüzeyine çok sıkı tutunmuş olan kolonilerden örnek alınarak gram boyası ile boyanmıştır. Gram negatif kokobasillere de oksidaz ve katalaz testi uygulanmıştır.

Oksidaz testi

Kültür ortamından öze ile alınan örnek, test için geliştirilmiş striplerin (Roche) renkli kısmına sürülüp 2 dakika süreyle bekletilmiş ve bu işlem sonucunda koyu maviye dönüşme pozitif olarak kabul edilmiştir.

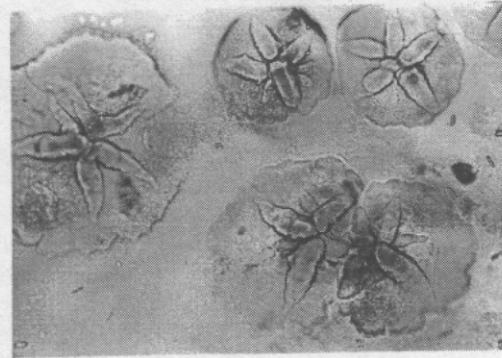
Katalaz testi

10 ml Tween 80, 90 ml. distile suda çözdürüldükten sonra, eşit miktarda % 30 H₂O₂ ilave edilir. Bu solusyondan bir damla kolonilere damlatıldığında kabarcık oluşması katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir.

10 hastadan izole edilen A.a'nın agar disk difüzyon tekniği (Kirby-Bauer yöntemi)⁴ ile antibiogramlarını yapmak amacıyla da Columbia agarlara penisilin, eritromisin, tetrasiklin, siprofloksasin, ofloksasin ve azitromisin içeren standart test diskleri yerleştirilerek bu disklerin oluşturduğu inhibisyon zonları değerlendirilmiştir.

BULGULAR

10 hastadan alınan subgingival plak örneklerinin özel TSBV besi yerine ekilmesiyle izlenen mikroorganizmalar koloni morfolojileri, gram boyası, oksidaz ve katalaz reaksiyonu değerlendirilerek hastaların tümünde A.a mevcudiyeti saptanmıştır (Resim 1).



Resim 1. TSBV agarda izlenen tipik A.a. koloni morfolojisinin mikroskopik görünümü.

Elde edilen A.a. suşlarının antibiotik duyarlılık test sonuçları Tablo I'de yer almaktadır.

Buna göre LJP'li hastalardan izole edilen 10 A.a. suşunun da tetrasiklin, ofloksasin ve azitromisine duyarlı olduğu izlenmiştir. Siprofloksasinde 9 ve penisilinde de 6 suşun duyarlılığı tespit edilmiştir. Eritromisine karşı ise 1 suş duyarlı, 6 suş duyarlı ve 3 suşta az duyarlı olarak bulgulanmıştır.

Tablo 1. Test edilen 6 antibiyotiğe ait duyarlılık sonuçları.

	Suş sayıları:		
	Duyarlı	Duyarsız	Az duyarlı
Tetrasiklin	10		
Ofloksasin	10		
Azitromisin	10		
Siproflaksasin	9	1	
Penisilin	6	4	
Eritromisin	1	6	3

TARTIŞMA

LJP'de primer mikrobiyal etken olarak saptanan A.a'nın tespitinde özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ucuzluğu ve antibiyogram ve serotip çalışmalarında da gerekliliği nedeniyle kültür yöntemi güncelliğini korumaktadır.¹³ Bu nedenle çalışmada da piyasada mevcut antibiyotiklerin duyarlılığını incelemek amacıyla kültür yöntemi kullanılmıştır.

Mombelli ve arkadaşları¹⁸ da adult periodontitisli bireylerde A.a dağılımını inceledikleri çalışmalarında, tedavi öncesi örneklerinde A.a'ya en fazla kanama olan derin ceplerde rastladıklarını belirtmişlerdir. Periodontal tedavi sonrası da 5 mm ve üzerindeki ceplerden A.a izole edildiğini göstermişlerdir ve bu izolasyonlarda 5 farklı tip örnek alımı karşılaştırılmış, her kvadrantdan en derin cebin seçildiği örnek alma şekli ile hem A.a'nın daha iyi saptandığı, hem de mikroorganizmanın en yüksek kültüre edilebilir miktarının daha iyi belirlenebileceği belirtilmiştir. Alınan örnek sayısının sınırlandırılması aranılan mikroorganizmanın mevcut olmasına rağmen yanlış bir şekilde negatif sonuç elde etme riskini doğurmaktadır. Bu çalışmada da her kvadrantdaki en fazla etkilenen dişin en derin bölgesinden olmak üzere 4'er örnek alınmıştır.

Son yıllarda yapılan kültür çalışmalarının hemen hepsinde Slots'un²⁹ A.a için geliştirdiği özel TSBV besi yeri kullanılmaktadır, bu özel besi yerine kan yerine % 10'luk at serumu ilave edilerek hemine gereksinim duyan Haemophilus suşlarının baskılanması ve katalaz testinin yapılabilmesi sağlanmıştır, ayrıca çoğu oral mikroorganizmalar da basitrasine duyarlı oldukları için besiyerine bu antibiyotik katılmıştır. Vankomisin ise streptokok suşları ve diğer gram pozitif suşları baskıladığı için besi yerine ilave edilmiştir. Diğer kontaminantların üremesi de inkübasyon anaerobik chamber (etüv) da yapılamadığında, % 90

hava-% 10 CO₂ içeren Torbal jar veya candle jarda inkübe edilmesi ile baskılanabilmektedir. Bu nedenle çalışmada TSBV beyi yeri ve anaerobik jar kullanılmıştır.

TSBV agarda katalaz pozitif ve yıldız şekilli koloniler oluşturan A.a suşlarının gram negatif kokobasil olduğu bilinmektedir.²⁷ Ancak yapılan bir çalışmada koloni rengi beyaz veya sarı, yüzeyi de kaba veya düzgün olmak üzere hem hastalar arasında, hem de aynı hastada olmak üzere farklı fenotipik karakteristikler izlenmiş, ayrıca nitratı indirgeme ve oksidaz aktiviteleri de değişkenlik göstermiştir.¹⁹ Bu çalışmada da 10 LJP'li hastanın tümünden izole edilen A.a suşlarında aynı şekilde kaba ve düzgün yüzey yapılarına rastlanmıştır.

LJP'li hastalarda tek başına uygulanan küretaj ve kök düzeltmesi veya periodontal cerrahi işlemlerinin A.a'ı elimine etmede yeterli olmadığı ve bu mikroorganizmanın doku içine invaze olduğu ve canlılığı immunohistolojik olarak gösterilmiştir.⁶

A.a'nın az da olsa ağızdaki tüm bölgelerden izolasyonu da lokal yerine sistemik antibiyotik verilmesinin daha uygun olduğunu göstermektedir.^{34,37} LJP'li hastalarda küretaj ve cerrahi tedaviye ek olarak 4 hafta süreyle günde 1 gr. tetrasiklin kullanıldığında daha iyi cevap alındığı açıklanmıştır.¹⁴ Sistemik olarak 14 gün süreyle günde 1 defa alınan 100 mg. doksisisiklinin de, günde 4 defa alınan 250 mg. 'lık tetrasikline karşı bir alternatif olabileceği belirtilmiştir.¹⁵ Son yıllarda tetrasiklinin yanısıra ofloksasin ve azitromisin gibi antibiyotiklerin de A.a'ya etkin bulunması A.a'ya bağlı periodontitislerin tedavilerinde alternatif antibiyotiklerin de olabileceğini göstermektedir.^{17,20,36} Çalışmada da bu nedenle mekanik tedaviyi uygun bir şekilde destekleyebilecek etkili antibiyotigi belirleyebilmek amacıyla çeşitli antibiyotikler in vitro olarak değerlendirilmiştir.

Penisilinlerin çoğu periodontal patojenlere karşı in vitro olarak etkili olmalarına karşın, subgingival bölgedeki patojenik mikroorganizmaların ürettiği yüksek betalaktamaz prevalansı nedeniyle in vivo olarak etkileri azalmaktadır.³⁵ Son yıllarda beta-laktamaz inhibitörlerini içeren, klavulanik asit gibi penisilin formülasyonları geliştirilmiştir, ancak penisilinaz üretimine bağlı olmaksızın penisiline dirençli A.a suşlarının olması bu antibiyotigin kullanımını sınırlandırabilmektedir.²⁸ Cep sıvısı konsantrasyonu tam olarak bilinmeyen penisilinler bu nedenlerle A.a'ya bağlı periodontal hastalıkta çok fazla tercih edilmemektedir. Özellikle enfektif endokardit riski olan periodontitisli hastalarda tedavi öncesi yapılan mikrobiyal analizde yüksek sayıda

penisiline dirençli A.a bulunursa, A.a'ı baskılamak amacıyla farklı antibiyotik seçiminin gerekliliği bulgulanmıştır.³¹ Bu çalışmada da 10 A.a suşundan 6'sının penisiline duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Eritromisinlerin ise çoğu periodontal patojenlere etkili olamayacak seviyede yetersiz dişeti cep sıvısı konsantrasyonuna sahip olmaları nedeniyle periodontolojideki kullanımı sınırlıdır.^{20,21} Yapılan in vitro çalışmalarda da A.a'ya etkin bulunmamıştır.^{3,20,31} Bu çalışmada da A.a suşlarına karşı eritromisinin in vitro aktivitesinin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir.

Tetrasiklinlerin cep sıvısı konsantrasyonları serumdakine göre 2-10 kat fazladır ve antikollajenez etkileriyle de doku yıkımını önleyerek kemik rejenerasyonuna yardımcı olabilirler.³¹ Yapılan in vitro çalışmalara benzer olarak incelenen tüm A.a suşlarına karşı tetrasiklin'in in vitro duyarlılığı saptanmıştır.^{11,30} Ancak tetrasiklinlerle yapılan birkaç haftalık tedavi sonrasında, bazı periodontal bölgelerde in vitro olarak A.a varlığı bulgulanmış ve tetrasiklin tedavisini takiben, periodontitisi hastaların subgingival mikrofloralarında tetrasikline dirençli bakterilerin sayıca arttığı, ayrıca bu dirençli bakteriler arasında muhtemel patojenler mevcut ise periodontal hastalığın tedavi edilemediği belirtilmiştir.³¹

Siproflaksisin gram negatif ve gram pozitif fakültatif bakterilere karşı etkili quinolone aktif geniş spektrumlu bir antibiyotiktir.^{26,31} Çoğu A.a suşlarının bu antibiyotiğe duyarlı olduğu bildirilmiştir, ancak bu konu ile ilgili olarak dişeti cep sıvısı konsantrasyonu tam olarak değerlendirilmemiştir.³¹ Yeni geliştirilmiş olan bu antibiyotiğe karşı bu çalışmada 9 A.a suşunun duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Sentetik pridon karboksilik asitin (pyridone carboxylic acid, PCA) yeni geliştirilmiş bir türevidir olan ofloxacinin anaerobik ve gram negatif ve pozitif bakterileri öldürebildiği ve A.a, fusobakteri ile Bacteroides türlerine karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiş, ancak bu etkinin eritromisin, tetrasiklin ve klindamisin gibi antibiyotiklerde çok zayıf veya hiç olmadığı belirtilmiştir.¹⁷ In vitro olarak ofloksasinin 10 A.a suşuna da duyarlı olduğu izlenmiştir.

Azolid olarak bilinen yeni bir makrolid antibiyotik olan azitromisinin, eritromisinle karşılaştırılarak değerlendirildiği çalışmalarda, A.a'nın bu antibiyotiğe in vitro duyarlılığı agar dilüsyon metodu ile incelenmiş ve eritromisine göre 8-16 kat daha etkili bulunmuştur.³⁶ A.a'ya karşı in vitro aktivitesi oldukça yüksek bulunan azitromisinin dişeti cep sıvısındaki düzeyinin de A.a'ı inhibe etmede yeterli olabileceği bildirilmiştir.^{20,36}

Azitromisinin bu çalışmada izole edilen tüm A.a suşlarında etkili olduğu gözlenmiştir.

SONUÇ

Son yıllarda özellikle refractory periodontitis vakalarında periodontal tedaviye ek olarak verilen antibiyotik seçiminde antibiogram yapılması önem kazanmıştır.⁹ Genellikle antibiyotik seçiminde bireyden bireye değişen subgingival floranın kompozisyonu ve in vitro antimikrobiyal duyarlılığı göz önüne alınmamakta veya çok az önemsenmektedir. Oysa periodontal tedavi öncesinde antibiyotik subgingival flora kompozisyonunun analizi ve antibiyotik hassasiyet testi sonrasında yapılmalı, aynı zamanda hastanın medikal durumu, ilacın muhtemel yan etkileri ve etkileşimleri ile cep sıvısı konsantrasyonu da göz önüne alınmalıdır. Tetrasiklinlerin yanı sıra azitromisin ve ofloksasin de A.a'ya bağlı periodontitilerin tedavisinde tercih edilebilecek antibiyotikler olabilir, ancak konuyla ilgili klinik ve in vitro çalışmalara gereksinim vardır. Ayrıca antimikrobiyal tedaviyi takiben 1-2 ay sonra da şüpheli patojenlerin elimine edilip edilemediği ve süperenfeksiyon oluşup oluşmadığı tekrarlanan mikrobiyal analiz ile kontrol edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Asikainen S, Alaluusua S. Bacteriology of dental infections. *European Heart J* 1993; 14(Suppl K): 43-50.
2. Baer PN. The case for periodontosis as a clinical entity. *J Periodontol* 1971; 42: 516-519.
3. Baker PJ, Evans RT, Slots J, Genco RJ. Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from oral cavity. *J Dent Res* 1985; 64: 1233-1244.
4. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC. Antibiotic susceptibility testing by a single disc method. *Am J Clin Pathol* 1966; 45: 493.
5. Christersson LA, Slots J, Roslin B, Genco RJ. Microbiological and clinical effects of surgical treatment of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1985; 12: 465-476.
6. Christersson LA. Actinobacillus actinomycetemcomitans and localized juvenile periodontitis: clinical, microbiologic and histologic studies. *Swed Dent J* 1993; Supplement 90: 1-46.
7. Christersson LA, Zambon JJ. Suppression of subgingival Actinobacillus actinomycetemcomitans in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 395-401.
8. Ebersole JL, Cappelli D, Sandoval M-N. Subgingival distribution of A. actinomycetemcomitans in periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994; 21:65-75.
9. Fine D-H. Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. A report of 3 Cases. *J Clin Periodontol* 1994; 21(2): 98-106.

10. Goene RJ, Winkel EG, Abbas F, Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ de Graff J. Microbiology in diagnosis and treatment of severe periodontitis. A report of four cases. *J Periodontol* 1990; 61: 61-64.
11. Gordon JM, Walker CB, Murphy J. Gingival crevicular fluid levels of Tetracycline and the in vitro effect on periodontal bacteria. Part I Concentration in crevicular fluid after repeated doses. *J Periodontol* 1981; 52: 609.
12. Kornman KS, Robertson PD. Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985; 56: 443-446.
13. Leys EJ, Griffen AL, Strong SJ, Fuerst PA. Detection and strain identification of A.a by nested PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1288-1294.
14. Lindhe J, Liljenberg B. Treatment of localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1984; 11: 399-410.
15. Mandell RL, Tripodi LS, Savitt E, Goodson JM, Socransky SS. The effect of treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1986; 57: 94-99.
16. Mandell EJ, Socransky SS. Microbiological and clinical effects of surgery plus doxycycline on juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1988;59: 373-379.
17. Miyake Y, Onoe T, Sagawa H, Takamori A, Suginaka H. In vitro antibacterial activity of Ofloxacin against periodontal disease-associated bacteria. *J Per Res* 1988; 23: 222-223.
18. Mombelli A, Gmür R, Gobbi C, Lang N-P. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol* 1994; 65: 820-826.
19. Mombelli A, Gmür R, Gobbi C, Lang N-P. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis.II. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol* 1994; 65: 827-834.
20. Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H. In vitro activity of azithromycin compared with that of erythromycin against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimic Agents Chemother* 1992; 36: 1241-1243.
21. Pappas JD, Walker C. Gingival crevicular fluid levels of erythromycin and the in vitro effect on periodontal bacteria. *J Dent Res* 1987; 66: 154. abstr. 382.
22. Pavicic MJAMP, van Winkelhoff, de Graaff J. Synergistic effects between amoxicillin, metronidazole and the hydroxymetabolite of metronidazole against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimic Agents Chemother* 1991; 35: 961-966.
23. Pavicic MJAMP, van Winkelhoff AJ, Pavicic -Temming YAM, de Graaff J. Amoxicillin causes an enhanced uptake of metronidazole in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; A mechanism of synergy. *J Antimic Chemother* 1994; 34: 1047-1050.
24. Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Douque NH, Steures RW, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* - associated periodontitis. A 2 year evaluation. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 107-112.
25. Preus HR, Zambon JJ, Dunford RG, Genco RJ. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with established adult periodontitis. *J Periodontol* 1994; 65: 2-7.
26. Sanders CC. Ciprofloxacin: in vitro activity, mechanism of action, and resistance. *Rev Infect Diseases* 1988; 10: 516-527.
27. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: A crosssectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1983; 29: 1013-1020.
28. Slots J, Evans RT, Lobbins PM, Genco RJ. In vitro antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimic Agents Chemother* 1980; 18: 9-12.
29. Slots J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 606-609.
30. Slots J, Rosling B. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 465-486.
31. Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 479-493.
32. Van Winkelhoff AJ, Rodenburg JP, Goene RJ, Abbas F, Winkel EG, de Graff J. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 128-131.
33. Van Winkelhoff AJ, Tjihof CJ, de Graff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63: 52-57.
34. Van Winkelhoff AJ, de Groot P, Abbas F, de Graff J. Quantitative aspects of the subgingival distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a patient with localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 199-202.
35. Walker CB, Tyler KZ, Low SB, King CJ. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microb Immunol* 1987; 2: 129-131.
36. Williams JD, Maskell JP, Shain H, Chryso G, Sefton AM, Fraser HY, Hardie JM. Comparative in vitro activity of azithromycin, macrolides (erythromycin, clarithromycin and spiramycin) and streptogramin RP 59500 against oral organisms. *J Antimic Chemother* 1992; 30: 27-37.
37. Zambon JJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1985; 12: 1-20.

Yazisma Adresi:

Doç.Dr. Emel ÖKTE

Gazi Üniversitesi

Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji Anabilim Dalı

Tel: 2126220/235

ANKARA