

## DENTAL BİYOFİLMİN KONTROLÜNDE YENİ TEDAVİ YAKLAŞIMLARI

### NEW APPROACHES TO THE CONTROL OF DENTAL BİYOFİLM

<sup>1</sup>\*Sema ÇELENK, <sup>2</sup>Ahmet ARAS

<sup>1</sup>Doç. Dr. Dicle Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, DİYARBAKIR.

<sup>2</sup>Dt. Dicle Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı, DİYARBAKIR.

#### Özet

Kompleks ve dinamik bir mikrobiyal ekosistem olarak tanımlanan dental biyofilmin, diş çürükleri ve periodontal hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu hastalıklarla ilişkili olan dental biyofilmin kontrolü, geleneksel anlamda mekanik olarak plağın uzaklaştırılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte, plak biyofilmlerinin kontrolü ve oral hijyenin sürdürülebilmesi için çeşitli antiplak ve antimikrobiyal ajanlar, diş macunları ve gargaralarda başarıyla formüle edilmiştir. Bu çalışmanın amacı, dental biyofilmin mevcut özelliklerini tanımlamak, plak kontrolü ve yeni tedavi yaklaşımlarını değerlendirmektir.

**Anahtar kelimeler:** Dental biyofilm, antimikrobiyal ajan, ozon, plak uzaklaştırma.

#### Abstract

Dental biofilm described as a complex and dynamic microbial ecosystem is known to play an important role in the development of caries and periodontal diseases. Control of dental biofilm-related diseases has traditionally relied on non-specific removal of plaque by mechanical means. Numerous antiplaque and antimicrobial agents have been successfully formulated into toothpastes and mouthrinses to control plaque biofilms. The aim of this study is to define existing properties of dental biofilm and to evaluate plaque controlling and new treatment approaches.

**Key words:** Dental biofilm, antimicrobial agent, ozone, removing plaque.

#### Giriş

Dental biyofilm, kompleks ve dinamik bir mikrobiyal ekosistem olarak tanımlanabilmekte ve diş çürükleri ile periodontal hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (1, 2, 3, 4). Ağız içerisinde yaklaşık olarak 700 bakteri türü bulunmaktadır. Dental biyofilm, çok sayıda bakteri içermesi sebebiyle karışık bir yapıya sahiptir (5, 6, 7). Her mikroorganizma (m.o) biyofilm oluşturmayabilir. Bazı mikroorganizmalar ise belirli özel şartlar altında biyofilm oluşturabilmektedir.

Dental biyofilm; dental plak olarak da tanımlanabilmektedir (6, 8). Dental plak öncelikle, ağız içinde onu kaldıracak kuvvetlerden korunabileceği durgun bölgelerde toplanmaktadır (6).

Diş yüzeylerinde biyofilm oluşması için 3 basamak gereklidir (2, 6) .

1) Diş minesini üzerinde kazanılmış bir pelikül ya da 'hazırlayıcı film' oluşması,

2) Bunu takiben primer kolonizasyon yapan hücrelerin yüzeye yapışması

3) İkincil ve üçüncül kolonizasyon yapan hücrelerin birbirlerine ve primer kolonizasyon yapan hücrelere tutunmalarıdır.

#### PLAK KONTROLÜ

Dental plakta bulunan m.o ların uzaklaştırılması veya yok edilmesi 7 şekilde sağlanabilir.

1. Mekanik plak kontrolü
2. Kimyasal plak kontrolü
3. Bitkisel Terapi
4. Oral Mikroorganizmaları Değiştirme Terapisi
5. Işıkla Öldürme
6. Fonksiyonel İnhibisyon
7. Mikrobiyal Proteaz İnhibitörleri

Hastalıklarla ilişkili olan dental plağın kontrolü, geleneksel anlamda mekanik olarak non-spesifik plağın uzaklaştırılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Oral hijyenin

#### \*İletişim Adresi

Dr. Sema ÇELENK  
Dicle Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi  
Pedodonti Anabilim Dalı,  
DİYARBAKIR.

Gsm: 0-532-2678544  
Tel: 0-412-2488101  
e-mail: [semacelenk@gmail.com](mailto:semacelenk@gmail.com)

sürdürülmesi genellikle kimyasal maddelerin kullanımını da içerir (1).

Antiplak ajanlar biofilmin formasyonunu önlemek ve/veya oluşmuş biofilmi kaldırmak için dizayn edilmiştir. Buna karşın anti mikrobial ajanlar, hedef bakterinin gelişimini engelleyici veya öldürücü olarak etki gösterir. Antimikrobial ajanların kullanımını içeren antimikrobial yöntemler mekanik plak kontrolünü tamamlayıcı bir niteliktedir. Ancak sentetik antimikrobiallere karşı artan direnç problemleri alternatif doğal ürünlerin aranmasına yol açmaktadır. Oral kavitede biyolojik dengeyi etkilemeden biyofilm oluşumunu önlemek gerekir (9, 10).

### 1. Mekanik plak kontrolü

Mekanik plak kontrolü plağın uzaklaştırılması amacı ile kullanılan en yaygın yöntemdir. Bu amaçla başta diş fırçaları ve diş ipi olmak üzere boyayıcı ajanlar, ağız içerisindeki yiyecek artıklarını temizlemek için yüksek basınçta su püskürten cihazlar ve dil temizleyicileri kullanılmaktadır (11).

Parmak fırçalar, oral mukoza ve dişleri travmatize etmeden kolaylıkla bebeklerin ağızına girebildikleri için çocuk diş hekimlerince yeni doğan ağız temizliği için sıklıkla önerilmektedir (11). Turlu diş fırçalarının kullanımı hastaların fırça manüplasyon yeteneklerinin azalmasına bağlı olarak plak uzaklaştırmadaki yetersizlikleri sonucu gündeme gelmiştir. Turlu fırçalar başlarının otomatik hareketleri sayesinde el becerisi ihtiyacını azaltırlar. Ancak turlu diş fırçalarının plak uzaklaştırma etkinliğine dair ilk çalışmalar bu fırçaların manuel fırçalara göre daha etkili temizlik sağladığını gösterememiştir (12, 13).

### 2. Kimyasal plak kontrolü

Kimyasal plak kontrolü topikal ve sistemik antimikrobiyal ajan uygulamalarını içermektedir. Bunlardan bazıları;

- Florid Bileşikleri
- Klorheksidin
- Povidon İodin
- Kitosan
- Sülfat ve Sülfonatlı Bileşikler
- Ozon

### Florid Bileşikleri

Kimyasal plak kontrolü topikal ve sistemik antimikrobiyal ajan uygulamalarını içermektedir. Bu ajanlar içerisinde günümüzde en çok florid bileşikleri diş hekimliği uygulamalarında kabul görmektedir. Floridin dişin sürme öncesi dönemde minenin yapısına girmesinden çok sürme sonrası dönemde ağız içinde düşük konsantrasyonlarda ve sürekli bulunmasının çürük önlemede daha etkili olduğu bildirilmektedir (14).

Floridin topikal uygulamaları diş macunları, jeller, vernikler ve yavaş salınım cihazları gibi topikal floridli ajanları veya iyonoforez yöntemi ile yapılmaktadır. Günümüzde % 2'lik sodyum florid, % 8'lik kalay floridli ve % 1.23'lük asidüle fosfat florid (APF) içeren floridli jel sistemleri yeterli olarak incelenmiş ve klinik topikal uygulamada kabul edilmiştir (12, 15, 16).

### Klorheksidin

Kimyasal plak kontrolünde kullanılan diğer bir ajan da klorheksidindir. Klorheksidin etkinliği ile ilgili oldukça çeşitli çalışmalar mevcuttur. Etki mekanizması zamana bağlıdır ve iki aşamada gelişir. İlk olarak güçlü katyonik klorheksidin molekülü anyonik diş yüzeyine bağlanır. Bakteri ile uzun süren kontak hücre duvarını zayıflatır ve yapısına zarar verir (17). Klorheksidin çürük oluşumunu önlemesi yanında Streptococcus mutans sayısını da kontrol edebildiği bildirilmiştir (18).

### Povidon İodin

Povidon iodin mikrobiyal etkisi yıllardır cerrahi aletlerin temizlenmesinde, cerrahi işlemler öncesi el ve vücut dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Gram pozitif ve gram negatif bakteriler, funguslar, mikobakteriler, virüsler ve protozoalara karşı etkili olan bu ajan klorheksidinden farklı olarak, mikrobiyal etkisini direkt mikrobiyal hücre duvarıyla kontak kurarak gösterir (19).

%10'luk povidon iodin %1 aktif iyot içerir. Povidon iodin bir özelliği de çocuklarda hem streptokoklara hem de laktobasillere karşı etkili olmasıdır. Topikal iodin uygulamasına karar vermeden önce tüm hasta ve hasta yakınlarının potansiyel iodin allerjisi olabileceği düşünülmelidir (12).

## Kitosan

Bir diğer antibakteriyel ajan olan kitosan, kitinin N-deasetilasyonundan elde edilen doğal bir polisakkarittir. Kitosan, in vitro olarak Streptococcus mutans, Aktinobasillus aktinomycesetemkomitans ve Porfiromonas gingivalis üzerinde antibakteriyel etkiye sahiptir (20, 21). Düşük molekül ağırlıklı kitosanın Streptococcus mutans'ın hidroksiapatite girişini engellediği bildirilmiştir (22, 23).

Decker ve arkadaşları kitosanın bioadeziv özelliğine bağlı olarak klorheksidin/kitosan kombinasyonunun sinerjistik antiplak etkisini bildirmişlerdir (24). Antiplak ve antimikrobiyal özelliklerine rağmen suda çözünememesi ve diş macunu ve gargaralarla formulasyonunun uyumsuzluğu nedeniyle bu ürünlerin kimyasal ajan olarak kullanım alanları sınırlı bulunmuştur (25,26).

## Sülfat ve Sülfonatlı Bileşikler

Sülfat ve sülfonatlı bileşikler diş üzerindeki plaktan suyu çekmek amacı ile oral kavitedeki herhangi bir bölge üzerine basit ve güvenli bir şekilde uygulanabilen, su absorbe edici maddelerdir. Plağın hidrasyonu, fonksiyonu itibariyle kritiktir. Çevreden yeterli su gelmeyince plak matrisinin temelini teşkil eden organik polimerlerin fiziksel yapısı çökecek ve plak yok olacaktır. Plağın çökmesi ve yok olması mikroorganizmaların ölmesine ve plağın yüzeyden ayrılmasına yol açacaktır (27).

## Ozon (O<sub>3</sub>)

Ozon, oksijen atomunun bir formu olarak tanımlanmaktadır (28, 29). Virüs, mantar ve bakterilere karşı çok güçlü bir antimikrobiyal ajan olarak bilinmektedir (28, 29, 30, 31). Son yıllarda ozon gazı çürük yapıcı bakterilerin sayısının azaltılmasında kullanılan alternatif non-invaziv antibakteriyel, antiviral ve antifungal bir ajan olarak yer almaktadır (29, 32, 33). Ozon patojenik mikroorganizmaların üremesini engelleyerek, nötralize ederek ya da hücre duvarını yıkıma uğratarak dezenfeksiyon sağlamaktadır (28, 32, 33).

Bu süreç boyunca; ozon glikoproteinler, glikolipidler ve diğer aminoasitlere saldırmakta ve hücrelerin enzimatik kontrol sistemlerini bloke ederek engellemektedir. Bunun sonucu olarak; membran geçirgenliği artmakta, anahtar Cilt / Volume 12 • Sayı / Number 2 • 2011

element olan hücre canlılık fonksiyonunun durdurulmasına kadar uzanmaktadır. Sonrasında ozon molekülleri hızlıca hücreye girebilmekte ve mikroorganizmaların ölümüne sebep olmaktadır (28, 34).

## 3. Bitkisel Terapi

Geleneksel antimikrobiyal ajanlar hem mevcut hem de yeni mikrobiyal hastalıklara karşı etkisiz kalırken; popüler tıpta bitkisel kaynaklı antimikrobiyal kullanımı giderek artmaktadır.

Bitkiler çoğunlukla fenoller veya onların yerine türevleri ve çoğu ikincil metabolitler olan aromatik maddelerin geniş yelpazesinde sentezlenir. Bugüne kadar binlerce fitokimyasalın antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Kullanılan antimikrobiyal fitokimyasallar birkaç sınıfa ayrılabilir (35).

### a) Basit fenoller ve fenolik asitler:

Tek başlarına değil de fenolik halka şeklindedir. Caffeic asit, Catechol ve pyrogolol lar gibi örnekler verilebilir. Düşük bir oksidasyon düzeyinde bir C3 yan zinciri taşıyan ve oksijen içermeyen bu fenolik bileşikler esansiyel yağlar olarak sınıflandırılır.

### b) Kuinonlar:

Aromatik halkada iki keton yer alır. Bitki pigmentlerinden sorumludur. Özellikle antrakuinonlar antimikrobiyal aktiviteleriyle tanınırlar.

### c) Flavonlar, flavonoidler ve flavonoller:

Flavonlar bir karbonil grup içeren fenolik yapılardır. 3 hidroksil grubu eklenmesiyle flovenol oluşur. Flovonoidler de C6-C3 bölümleriyle aromatik halkaya bağlanan hidroksilli fenolik maddelerdir. Bu gruplar da geniş bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Örneğin Catechin ile yeşil çayda bulunurlar.

### d) Tanninler ve kumarinler:

Polimerik ve sırasıyla erimiş benzen ve  $\alpha$ -piron halkalarından oluşan fenolik maddelerdir.

### e) Terpenoidler/ esansiyel yağlar:

Esansiyel yağların fraksiyonu bitkilere koku verir. Bu yağlar bir isoprone yapısı üzerinde bileşikleriyle zenginleştirilmiştir. Terpenler olarak sınıflandırılırlar ve terpenlere oksijen gibi bir element eklendiğinde terpenoid adını alırlar. Terpenoidlere yaygın örnekler; mentol ve

camphor, farnesol ve artemisin (sesquiterpenoidler) dir. Terpenler ve terpenoidlerin bakteri, virüs, mantar ve protozoalara karşı geniş spektrumlu aktivitesi söz konusudur.

f) **Alkaloidler:** Heterosiklik nitrojen bileşikleridir. Diterpenoid alkaloidlerin yaygın antimikrobiyal özelliklerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

g) **Lektinler/ antimikrobiyal peptidler:** Genellikle pozitif yüklüdür ve disülfür köprüleri içerirler.

#### 4. Oral Mikroorganizmaları Değiştirme Terapisi

##### Probiyotikler

WHO tarafından tanımlanan probiyotikler, yeterli miktarda uygulandığında konak sağlığına yarar sağlayan, yaşayan mikroorganizmalardır. *L. Ramnosus* CG (36) , *L. Casei* (37), *L.reuteri* (38) ve *Bifidobakterium* DN-173 010 (39) karyojenik bakterilerin kolonizasyonlarını değiştirdiği ve bunun çürüğü önlediği gösterilmiştir. Krasse ve arkadaşları, orta şiddetli gingivitis üzerine *L. Reuteri* uygulamasıyla plak seviyesinde ve gingival inflamasyonda bir azalma olduğunu göstermiştir (40).

Probiyotiklerin diğer bakterilerle konak dokusuna bağlanma ve besin için yarışmaları plağın bozulmasının muhtemel nedenlerindedir. Oral bakterileri inhibe eden antimikrobiyal bileşiklerin üretimi de önemli bir mekanizma olabilir. Laktik asit bakterileri, organik asit, hidrojen peroksit, düşük molekül ağırlıklı antimikrobiyal bileşikler, bakteriosin ve adhezin inhibitörleri gibi antimikrobiyal ajanlar üretir (1).

##### Replasman Terapisi

Bu teknikler, konağa ve antimikrobiyal bileşikler için kodlanan gen bileşimine zarar verebilecek olan metabolitleri genin aktivasyonu ile ortadan kaldırmaya dayanır (41).

##### Faj Terapisi

Bakteriofajlar A. *Actinomyces* *comitans* (42) gibi patojenlerde tespit edilmiştir ve sistemik hastalıklarda olduğu gibi oral hastalıkların kontrolü için tedavi olanakları sunabilir (43). Gerçekten de son Cilt / Volume 12 • Sayı / Number 2 • 2011

zamanlarda fajlar, enfekte kök kanallarındaki bakteri birikiminin azaltılması için *Enterococcus Faecalis* e yönelik deneysel sistemlerde kullanılmaktadır (44).

##### Prebiyotikler

Prebiyotik maddeler, GİS mikroflorasına yaralı olabilecek sindirilemeyen besin maddeleridir; aynı zamanda plağa bağlı hastalıkların kontrolü ile potansiyel ilgisi vardır. Çocukların oral mikroflorasının beslenmeden büyük ölçüde etkilendiği bilinmektedir. Bu bağlamda insan sütünde bulunan oligosakkarit de prebiyotik karakteristiğe sahiptir (45).

#### 5. Işıkla Öldürme

Mikroorganizmaların ışıkla öldürülmesi süreci, hassaslaştırıcı veya ışıkla aktive olan bir ajanın uyarmasıyla, serbest radikallerin ve sitotoksik tekli oksijenin üretimine bağlıdır (46). Uyarmanın sonucu olarak, hassaslaştırıcı elektronik çevresinden üçlü bir duruma doğru hareket eder ve sitotoksik parçalar üretmek için hücre komponentleriyle etkileşime girer. Işıkla öldürmenin önemli noktalarından birisi kimyasal antimikrobiyal ajanların aksine tekli oksijenin olası yayılmasına karşı bir direnç oluşmasıdır. Bakteriler üzerinde en çok test edilen hassaslaştırıcılar trisiklik boyalar (metilen mavisi, eritrosin vb), tetrapirroller (parafinler) ve furokoumarinlerdir (psoralen gibi) (1, 47).

#### 6. Fonksiyonel İnhibisyon

İnfeksiyonların tedavisinde en çok tercih edilen yöntem sorumlu mikroorganizmaların öldürülmesi veya yok edilmesidir. Ancak sorumlu mikroorganizmanın tam olarak bilinmediği durumlarda, örneğin kompleks organizmalarla bağlantılı kronik infeksiyonlarda alternatif tedavi yöntem olan popülasyonun sahip olduğu ortamın devamlılığını sağlamak yararlı olacaktır. Bir başka yöntem de daha önce anlatıldığı gibi patojenik suşların yerine non patojenik suşların yerleştirilmesidir (replasman tedavisi). Diğer bir yöntem de hastalık sürecinin sorumlu bakterinin kimliğine bakılmaksızın 'virulans yükü' açısından dikkate alınmasıdır. Bu kritik virulans faktörlerinin fonksiyonelliğinin sınırlandırılması, konak savunma mekanizmalarının topluluk oluşturan organizmalarla başa çıkmasına olanak tanıyacaktır(1).

## 7. Mikrobiyal Proteaz İnhibitörleri

Bakteriyel virulans faktörlerinin önemli bir sınıfı, böyle bir tedavi yönteminde potansiyel bir hedef olan ekstraselüler proteazların bulunduğu sınıftır. Bunlardan bazıları tripsin benzeri proteazlar gibi geniş özelliklere sahipken diğerleri oldukça spesifiktir (IgA proteaz gibi) (48, 49).

4 ana proteaz sınıfı vardır.

- Serin proteaz (tripsin benzeri, elastaz vb)
- Sistein proteaz (gingipainler)
- Aspartik proteaz
- Metallo proteaz

Bireysel olarak veya toplu olarak bu enzim sınıfları direkt doku yıkımı, konak proteazların aktivasyonu, konak proteaz inhibitörlerinin inaktivasyonu ve sitokin bağlantılarının yıkımı gibi hafif etkilerle sonuçlanan infeksiyonlarda kritik roller oynar (50, 51). Sadece doku ve sistemlerindeki indirekt ve direkt etkilerinden korunmak için değil, aynı zamanda proteazlar bakterilerin beslenmesi ve korunmasında rol oynamaktadır (52, 53). Bu yüzden bakteriyel proteazlar, tedaviler için kullanışlı bir hedeftir.

Terapotik inhibitör değeri genellikle inorganik/ sentetik ajanlar olarak düşünülmektedir. Ancak bunlar, uygun bir şekilde manüple edilmiş konak ürünleri de olabilirler. Konak ürünlerinden bilinen bir örnek periodontal hastalıklarda bakterinin ve konağın proteazlarını inhibe eden tükrükteki histadindir (54). Bu antimikrobiyal (konak savunması) peptit aynı zamanda çeşitli organizmalara özellikle de funguslara karşı genel inhibitör etkiye sahiptir (55, 56). Bu peptitlerin tükrüğün ulaşabildiği mukozal yüzeylere etkisi olduğu bilinir, ancak tükrük sekresyonunun ulaşmadığı periodontal bölgelere penetre olamaz. Bu yüzden histadin terapotik bir ajan olarak uygun bir araçla subgingival bölgeye direkt uygulayarak kullanılmalıdır.

İnorganik veya sentetik inhibitörlerin ana sınıflaması şelatörler, oksidasyon ajanları, tiol bloke edici ajanlar, ağır metal iyonları, methanethisulfonatlar ve organo-merkuriollerdir. EDTA gibi şelatörler metallo enzimlerin yaygın inhibitörleridir. Landhanitler Ca<sup>+2</sup> yi inhibe ederken proteaza ihtiyaç duyarlar. Çünkü Ln<sup>+2</sup> iyonları Ca<sup>+2</sup> ile yer değiştirir ve inaktif enzim-

substrat kompleksini oluştururlar (57, 58). Bununla birlikte Landhanitler tripsinojenin tripsine dönüştürülmesini aktive ederler (59).

## Kaynaklar

1. Allaker P, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *International Journal Antimicrobial Agents* 2009; 33: 8-13.
2. Çömlekçi H. Ozonun antimikrobiyal etkinliğinin çürük tedavisinde in vitro olarak değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Pedodonti AD. Doktora Tezi. İstanbul. 2009.
3. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003;30:7-9.
4. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. *Microbes Infect* 2000 ; 2: 1599- 607.
5. Rickard AH, Gilbert P, High NJ, Kolenbrander PE, Handley PS. Bacterial coaggregation: an integral process in the development of multi-species biofilms. *Trends Microbiol* 2003; 11: 94-100.
6. Marsh PD. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Res* 2004; 38: 204–11.
7. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community-implications for health and disease. *BMC Oral Health* 2006; 6:1-14.
8. Rudney JD. Saliva and dental plaque. *Adv Dent Res* 2000; 14 :29-39.
9. Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of Clinical Periodontology* 2005;32:7–15.
10. Marsh PD. Controlling the oral biofilm with antimicrobials. *Journal of Dentistry* 2010;38:11-15
11. Mc Donald, Avery, Dean. *Dentistry For The Child and Adolescent*, 2004, Indiana, Mosby.
12. A.T Ulusoy. *Pedodontide Güncel Koruyucu Yaklaşımlar*. J Dent Fac Atatürk Uni 2010;3:28-37
13. Kerlinger FN *Foundations Of Behavioral Research, Educational And Psychological Injury*, New York, 1965, Holt, Rinehart and Winston.
14. Gaffar A, Afflitto J, Nabi N. Chemical Agents For The Control Of Plaque And Plaque Microflora. *Eur J Oral Sci* 1997;105:502–507.
15. Hawley GM, Hamilton FA, Worthington HV, Davies RM, Holloway PJ, Davies TG, Blinkhorn AS. A 30- Month Study Investigating The Effect Of Adding Triclosan/Copolymer To A Fluoride Dentifrice. *Caries Res* 1995; 29: 163–167.
16. Blinkhorn A, Bartold PM, Cullinan MP, Madden TE, Marshall RI, raphael SL, Seymour GJ. Is There A Role For Triclosan/copolymer Toothpaste In The Management Of Periodontal Disease. *Br Dent J* 2009; 207(3): 117-125
17. Quirynen M, Teughels W, De Soete M, van Steenberghe D. Topical Antiseptics And Antibiotics In The Initial Therapy Of Chronic Adult Periodontitis: Microbiological Aspects. *J Periodontol*. 2000; 28: 72-90.
18. Lopez L, Berkowitz R, Spiekerman C, Weinstein P. Topical Antimicrobial Therapy In The Prevention Of Early Childhood Caries. *Pediatr Dent*. 1999; 21(1): 9–11.
19. Jenkins G.N. Recent Changes In Dental Caries. *Br Med J* 1985; 291:1297–1298.
20. Rahiotis C, Vougiouklakis G. Effect Of A CPP-ACP Agent On The Demineralization And Remineralization Of Dentine In Vitro. *J Dent* 2007; 35: 695–698.
21. Reynolds EC. Remineralization Of Enamel Subsurface Lesionsby Casein Phosphopeptide- Stabilized Calcium Phosphate Solutions. *J Dent Res* 1997 Sep;76(9):1587–1595.
22. Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention In Plaque And Remineralization Of Enamel Lesions By Various Forms Of Calcium In A Mouthrinse Or Sugar-Free Chewing Gum. *J Dent Res*. 2003;82: 206–211.

23. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect Of CPP-ACP Paste On Mechanical Properties Of Bovine Enamel As Determined By An Ultrasonic Device. *J Dent.* 2006; 34: 230–236.
24. Decker EM, Von Ohle C, Weiger R, Wiech I, Brex M. A synergistic chlorhexidine/chitosan combination for improved antiplaque strategies. *J Periodontal Res.* 2005;40(5):373-7.
25. Çubukcu ÇE. Çocuklarda Dis Çürüğünden Korunmada Flor Uygulamalarının Yeri. *Güncel Pediatri* 2005; 4: 115–117.
26. Axelsson. Other Caries-Preventive Factors. An Introduction To Risk Prediction And Preventive Dentistry, Ed(s), 1999, Chery Anderson, Wiedenbeck, 77–102.
27. Landa AS, van der Mei HC, Busscher HJ. Detachment of linking film bacteria from enamel surfaces by oral rinses and penetration of sodium lauryl sulphate through an artificial oral biofilm. *Adv Dent Res* 1997;11:528-538
28. Azarpazhooh A, Limeback H. The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. *Journal of Dentistry* 2008; 36: 104-16.
29. Johansson E, Claesson R, van Dijken J. Antibacterial effect of ozone on cariogenic bacterial species. *Journal of Dentistry* 2009; 37: 449 - 53.
30. Estrela C, Estrela CR, Decurcio Dde A, Silva JA, Bammann LL. Antimicrobial potential of ozone in an ultrasonic cleaning system against *Staphylococcus aureus*. *Braz Dent J* 2006; 17: 134-38.
31. Loncar, M. Stipetic, D. Matosevic, Z. Tarle. Ozone Application in Dentistry. *Archives of Medical Research* 2009; 40: 136-7.
32. Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *Eur J Oral Sci* 2007; 115: 77–80.
33. Baysan A, Whitley RA, Lynch E. Antimicrobial effect of a novel ozonegenerating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro. *Caries Res* 2000; 34: 498-501.
34. Nagayoshi M, Fukuizumi T, Kitamura C, Yano J, Terashita M, Nishihara T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19: 240-6.
35. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:564–82.
36. Nase L, Hatakka S, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. Effect of longterm consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* CG, in milk on dental caries and caries risk children. *Caries Res* 2001;35:412–20.
37. Busscher HJ, Mulder AF, van der Mei CH. In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by lactobacilli from a bio-yogurt. *Caries Res* 1999;33:403–4.
38. Calgar E, Cilder SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 2006;64:314–8.
39. Caglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand* 2005;63:317–20.
40. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006;30:55–60.
41. Hillman JD, Brooks TA, Michalek SM, Harmon CC, Snope JL, van derWeijden CC. Construction and characterization of an effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries. *Infect Immun* 2000;68:543–9.
42. Haubeck D, Willi K, Poulsen K, Meyer J, Kilian M. Presence of bacteriophage Aa phi 23 correlates with the population genetic structure of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Eur J Oral Sci* 1997;105:2–8.
43. Duckworth DH, Gulig PA. Bacteriophages: potential treatment for bacterial infections. *Biodrugs* 2002;16:57–62.
44. Paisano AF, Spira B, Cai S, Bombana AC. In vitro antimicrobial effect of bacteriophages on human dentin infected with *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19:327–30.
45. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, Soldi S, Gabrielli O. The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:S80–3.
46. MacRobert AJ, Bown SG, Phillips D. What are the ideal photo properties for a sensitizer? In Bock G, Harnett S, editors. Photosensitizing compounds: their chemistry, biology and clinical use. Ciba Foundation Symposium; 2007. p. 146.
47. MacRobert AJ, Bown SG, Phillips D. What are the ideal photo properties for a sensitizer? In Bock G, Harnett S, editors. Photosensitizing compounds: their chemistry, biology and clinical use. Ciba Foundation Symposium; 2007. p. 146.
48. Kuramitsu HK. Proteases of *Porphyromonas gingivalis*: what don't they do? *Oral Microbiol Immunol* 1998;13:263–70.
49. Batten MR, Senior BW, Kilian M, Woof JM. Amino acid sequence requirements in the hinge of human immunoglobulin A1 (IgA1) for cleavage by streptococcal IgA1 proteases. *Infect Immun* 2003;71:1462–9.
50. Grayson R, Douglas CWI, Heath J, Rawlinson A, Evans GS. Activation of human matrix-metalloproteinase 2 by gingival crevicular fluid and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Periodontol* 2003;30:542–50.
51. Andrian E, Mostefaoui Y, Rouabhia M, Grenier D. Regulation of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases by *Porphyromonas gingivalis* in an engineered human oral mucosa model. *J Cell Physiol* 2007;211:56–62.
52. Travis J, Potempa J. Bacterial proteinases as targets for the development of second generation antibiotics. *Biochem Biophys Acta* 2000;1477: 35–50.
53. Maeda H. Role of microbial proteases in pathogenesis. *Microbiol Immunol* 1996;40:685–99.
54. Gusman H, Travis J, Helmerhorst EJ, Potempa J, Troxler RF, Oppenheim FG. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes in periodontal disease. *Infect Immun* 2001;69:1402–8.
55. Giacometti COA, Ghiselli R, Orlando F, Kamysz W, D'Amato G, Mocchegiani F, et al. Potential therapeutic role of histatin derivative P-113d in experimental rat models of *Pseudomonas aeruginosa* sepsis. *J Infect Dis* 2004;190: 356–64.
56. Zhu J, Luther PW, Leng Q, Mixson AJ. Synthetic histidine-rich peptides inhibit *Candida* species and other fungi in vitro: role of endocytosis and treatment implications. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:2797–805.
57. Mellgren RL. Calcium-dependent proteases: an enzyme system active at cellular membranes? *Faseb J* 1987;1:110–5.
58. Eichinger A, Beisel HG, Jacob U, Huber R, Medrano FJ, Banbula A, et al. Crystal structure of gingipain R: an Arg-specific bacterial cysteine proteinase with a caspase-like fold. *Embo J* 1999;18:5453–62.
59. Gomez JE, Birnbaum ER, Darnall DW. The metal ion acceleration of the conversion of trypsinogen to trypsin. Lanthanide ions as calcium ion substitutes. *Biochemistry* 1974;13:3745–50.