

Antimikroiyal Fotodinamik Etkinin Ağızda Enfeksiyon Yaratabilen Fırsatçı Mikroorganizmalara Etkisi

The Effect of Antimicrobial Photodynamic Action on the Opportunistic Microorganisms That May Cause Infection in the Mouth

Nurgül KÖMERİK

Eastman Dişhekimliği Enstitüsü, Londra, İngiltere

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı ağızda enfeksiyon yaratabilecek fırsatçı mikroorganizmaların, ve ağız florasının bazı bakterilerinin fotodinamik etkiye (PDE) duyarlılıklarını araştırmaktır.

Yöntem: Mikroorganizmaların karışık kültürleri, 50 µg/ml toluidin mavisi (TM) eklendikten sonra, değişik dozlardaki (3,7; 22,3 ve 74,4 J/cm²) helyum neon lazer ışığına maruz bırakıldılar. Kontrol grubu süspansiyonlara TM yerine %0,85'lik sodyum klorür (NaCl) eklendi ve ışınlama yapılmadı. PDE deneylerini takiben mikroorganizmaların canlılık sayımları yapıldı. Ayrıca, PDE sonrası *E. coli* hücrelerinde meydana gelen yapısal değişiklikler elektron mikroskopu ile incelendi.

Bulgular: Çalışılan tüm bakterilerin (hem ağız mikroflorاسının hem de fırsatçı mikroorganizmaların) PDE'ye yüksek seviyelerde ve benzer duyarlılıkta olduğu kaydedildi. Bununla birlikte *C. albicans*'ın duyarlığının incelenen bakterilere oranla daha az olduğu belirindi. PDE sonucu hücre duvarında dalgılı eksfoliyasyonlar ve sitopiazmada kondansasyon meydana geldiği gözlandı. Bu çalışmanın sonuçları, incelenen mikroorganizmaların düşük dozlarda TM ve kırmızı ışık ile muamele edildiğinde *in vitro* olarak öldürdüklerini göstermektedir.

Sonuç: Benzer sonuçlar *in vivo* olarak da elde edilebilirse, fotodinamik terapi ağız kavitesinin lokal enfeksiyonlarında antibiyotik ve antiseptiklere alternatif bir tedavi yöntemi olabilir.

Anahtar sözcükler: fotodinamik etkisi, toluidin mavisi, lazer, ağız florası, fırsatçı mikroorganizmalar

Abstract

Objectives: The aim of this study was to investigate the susceptibility of the opportunistic microorganisms that may cause infection in the oral cavity, and some indigenous bacteria in the oral microflora to photodynamic action (PDA).

Methods: After the addition of 50 µg/ml toluidine blue (TB) the cultures were exposed to various doses of light (3,7, 22,3 and 74,4 J/cm²) from a helium neon gas laser. Suspensions in the control group received 0,85% sodium chloride (NaCl) instead of TB, and not irradiated. Following the experiments, the viability of the microorganisms was assessed. In addition, the ultrastructural alterations of *E. coli* cells were examined under electron microscope.

Results: It was shown that all microorganisms in the study were highly susceptible to PDA. Both the oral microflora and the opportunistic microorganisms had similar susceptibility to PDA. However, *C. albicans* was less susceptible in comparison to bacteria. Treated microorganisms demonstrated exfoliations in the outer membrane and the condensation of the cytoplasm.

Conclusion: The microorganisms evaluated in this study were killed by low doses of TB and light *in vitro*. If similar results are achieved *in vivo*, PDT may be an alternative approach to antibiotics and antiseptics for local infections in the oral cavity.

Keywords: Photodynamic action, toluidine blue, laser, oral microflora, opportunistic microorganisms

Giriş

İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ağız mikroflorasının dengesi bozulabilir ve fırsatçı mikroorganizmalar (örneğin, *Escherichia coli* gibi aerobik Gram-negatif basiller, *Staphylococcus* suşları ve *Candida*) ağız içinde kolonize olarak enfeksiyonlara yol açabilirler. Ağız içerisinde fokal odak meydana getiren bu mikroorganizmalar ayrıca, ciddi sistemik enfeksiyonlara da kaynak olabilirler.¹⁻³ Fırsatçı mikroorganizmalar tarafından oluşturulan enfeksiyonların tedavisi, bu organizmaların antibiyotiklere dirençli olmaları nedeniyle büyük bir problem olarak gündeme gelmektedir.

Fotodinamik terapi (FDT) istenmeyen hücrelerin, duyarlısııcı bir ajanın ve uygun dalga boyuna sahip ışık ile reaksiyonuyla meydana gelen sitotoksik ürünler (temel olarak singlet oksijen) vasıtıyla elmine edilmesi esasına dayanır. Bu tedavi türünde hastalara duyarlısııcı ajanın topikal, oral veya intravenöz olarak verilmesini takiben ilgili bölgeye ışınlama yapılır. FDT lokal ve tekrarlanabilir bir tedavidir ve lokal enfeksiyonlar için ideal bir alternatif olabilir. Değişik ajanlarla ve dozlarında uygulanan FDT, tümörlerin tedavisinde yaygın olarak araştırma konusu olmuş ve umut verici sonuçlar kaydedilmiştir. Bununla birlikte, bu yaklaşımın mikroorganizmaların (bakteriler, mantarlar ve virüslerin) yok edilmesinde başarılı bir teknik olduğu birçok çalışma tarafından ortaya konulmuştur.⁴⁻⁶

Antimikrobiyal fotodinamik etkide (FDE) birçok duyarlısııcı ajanın etkinliği araştırılmış ve bunlar arasında toluidin mavisinin (TM) başarılı bir duyarlısııcı ajan olduğu gösterilmiştir. Wilson ve grubu^{4,7,8} çürük ve dişeti hastalıklarına neden olan ve ağızda enfeksiyon yaratabilecek *Streptococcus sanguis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* gibi birçok organizmanın TM ve kırmızı ışık kullanarak uygulanan FDE ile kolaylıkla öldürülebildiğini *in vitro* deneylerle ortaya koymuştur. Genel olarak, TM ve kırmızı ışığın tek başlarına mikroorganizmaların canlılığı üzerinde herhangi bir etkilerinin olmadığı saptanmıştır.^{4,7-9} Anılan çalışmalarda mikroorganizmaların tek tek süspansan edildiği kültürler kullanılmıştır. Ancak ağız mikroflorasında karışık olarak bulunan mikroorganizmalar tedaviye farklı duyar-

ılıklarda cevap verebilirler. Bu çalışmanın amacı, ağız içinde enfeksiyon yaratabilecek mikroorganizmaların bir arada bulunduğu karışık süspansiyonlarda, TM ve helyum neon (HeNe) lazer ışığı kullanılarak yapılan FDEye duyarlılık derecelerini *in vitro* olarak araştırmaktır. Ayrıca, TM kullanarak yapılan FDE ile bakterilerde oluşturulmuş yapısal hasar incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda duyarlısııcı ajan olarak TM kullanıldı. TM (Sigma, Poole, İngiltere), %0,85'lik NaCl içerisinde hazırlandı. ışık kaynağı olarak 35 mW gücünde HeNe gazı lazeri (Spectra Physics, Tokyo, Japonya) kullanıldı. Bu lazerler düşük güçle ışık kaynaklardır ve 633 nm dalga boyunda kırmızı ışık verirler.

FDTye duyarlılığı değerlendirilen mikroorganizmalar: *Actinomyces viscosus* (NCTC 10951), *Streptococcus mutans* (NCTC 10449), *Neisseria subflava* (ATCC 1078), *Veillonella dispar* (NCTC 11831), *Escherichia coli* (NCTC 10418), *S. aureus* (NCTC 6571) ve *C. albicans* (NCTC 3091A) suşları idi. Tüm suşlar 'National Collection of Type Cultures'dan (Colindale, İngiltere) sağlanmıştır. Mikroorganizmalar, Wilkins-Chalgren sıvı besiyerinde 37°C'de 24 saat enkübe edildi ve 5000 g'de 15' dk santrifüje edildi. Daha sonra, kültürler (spektroskopide bakteriler için 1.0 ve *Candida* için 2.0 optik densite değerleri elde edilecek) benzer sayıda hücre içerecek şekilde %0,85'lik NaCl içerisinde süspansan edildi.

Her bir mikroorganizma kültürü içeren süspansiyonlar karıştırıldıktan sonra 100 µl'lik süspansiyonlar 96-kuyucuklu mikrotitre tabaklarına transfer edildi. Aynı hacimdeki TM (50 mg/ml) süspansiyonlara eklendi ve 1 dk enkübasyon periyodundan sonra, kuyucuklar 3,7 J/cm² (ışınlama süresi: 30 sn) lazer ile ışınlandı. Deneyler 22,3 ve 74,4 J/cm² (ışınlama süreleri: 3 ve 10 dk) ışın kullanarak tekrarlandı. Kontrol grubundaki süspansiyonlara ise TM yerine eşit hacimde %0,85'lik NaCl verildi ve ışınlama yapılmadı. Deney süresince homojen bir karışım, her kuyucuk içine 4 mm miknatis karıştırıcı konularak ve mikrotitre tabakları miknatis karıştırıcı tabloları üzerinde olmak kaydıyla gerçekleştirildi. ışınlama işlemlerini takiben, Wilkins-Chalgren sıvı besiyeri ile seri seyreltmeler yapıldı ve süspansiyonlar 10 dakika boyunca 37°C'de enkübe edildi. Deneylerde 10 farklı kültür, 2 farklı ışınma gücü ve 2 farklı ışınma süreleri kullanılmıştır. Her kültürde 10 farklı lazer ışınlama süresi (30 sn) kullanılmıştır. Deneylerde 10 farklı kültür, 2 farklı ışınma gücü ve 2 farklı ışınma süreleri kullanılmıştır. Her kültürde 10 farklı lazer ışınlama süresi (30 sn) kullanılmıştır.

siyonlar selektif besiyerlerine yayıldı. *E. coli* için MacConkey, *S. mutans* için Mitis salivarius, *C. albicans* için Sabouraud, *S. aureus* için Baird Parker, *V. dispar* için Veillonella, *A. viscosus* için Cadmium fluoride acriflavin telluride ve *N. subflava* için Thayer Martin besiyerleri kullanıldı (Oxoid, Basingstoke, İngiltere; Dilco, Detroit, ABD). *E. coli*, *S. aureus*, *N. subflava* ve *C. albicans*'ın aerobik, *A. viscosus*, *V. dispar* ve *S. mutans*'ın ise anaerobik kabinlerde (Don Whitley Scientific, Shipley, İngiltere) 7 günlük enkubasyonlarından sonra canlılık sayımları yapıldı.

Ayrıca, *E. coli* kültürlerinin FDE (50 mg/ml TM ve/veya 74,4 J/cm² ışık) ile muamelesini takiben hücrelerin transmisyon elektron mikroskopu ile yapısal değişiklikleri incelendi. Kontrol grubu bakterilere TM yerine %0,85'lik NaCl uygulandı ve ışınlama yapılmadı.

Bulgular

Mikroorganizmaların FDE'ye duyarlılıkları

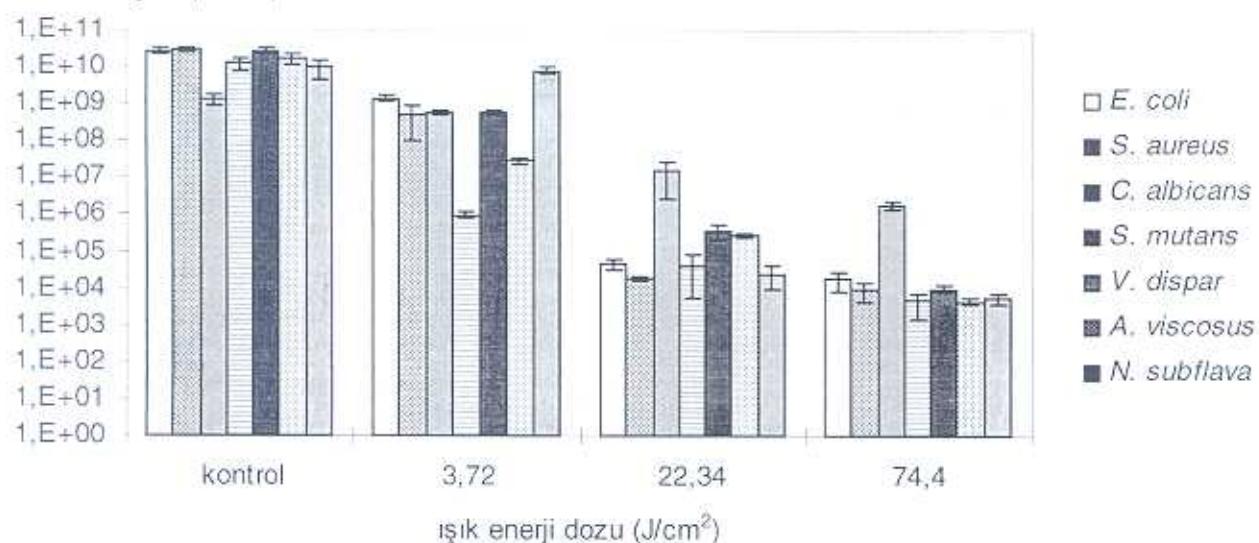
İncelenen tüm mikroorganizmaların uygulanan parametrelerde, FDE'ye duyarlı oldukları gözlemlendi (Grafik). Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin FDE'ye benzer şekilde duyarlılık gösterdikleri saptandı. Bakterilerin ölüm oranı, 3,7 J/cm² ışık kullanıldığında,

*N. subflava*da diğer bakterilere oranla istatistiksel olarak daha düşükmasına rağmen ($p<0,001$), ışık dozları artırıldığında bu oranlarda herhangi bir fark gözlemlendi. Bununla birlikte, kullanılan tüm ışık dozlarında, *C. albicans*'da elde edilen öldürme oranlarının, test edilen öteki bakterilerle kıyaslandığında istatistiksel olarak daha az olduğu belirlendi ($p\leq 0,004$). Kullanılan ışığın enerji dozunun artması, her bir bakteri için benzer eğimde olmak üzere, organizmalarada daha yüksek derecede ölümlere neden oldu. TM ile uygulamasını takiben 3,7 J/cm², 22,3 J/cm² ve 74,4 J/cm² ışık dozu ile muamele edilen bakterilerde elde edilen ölüm oranları sırasıyla %90, %99,99 %99,999 üzerinde olarak saptandı. Aynı ışık dozları, *C. albicans*'da %54, %88 ve %98 oranlarında ölüme yol açtı.

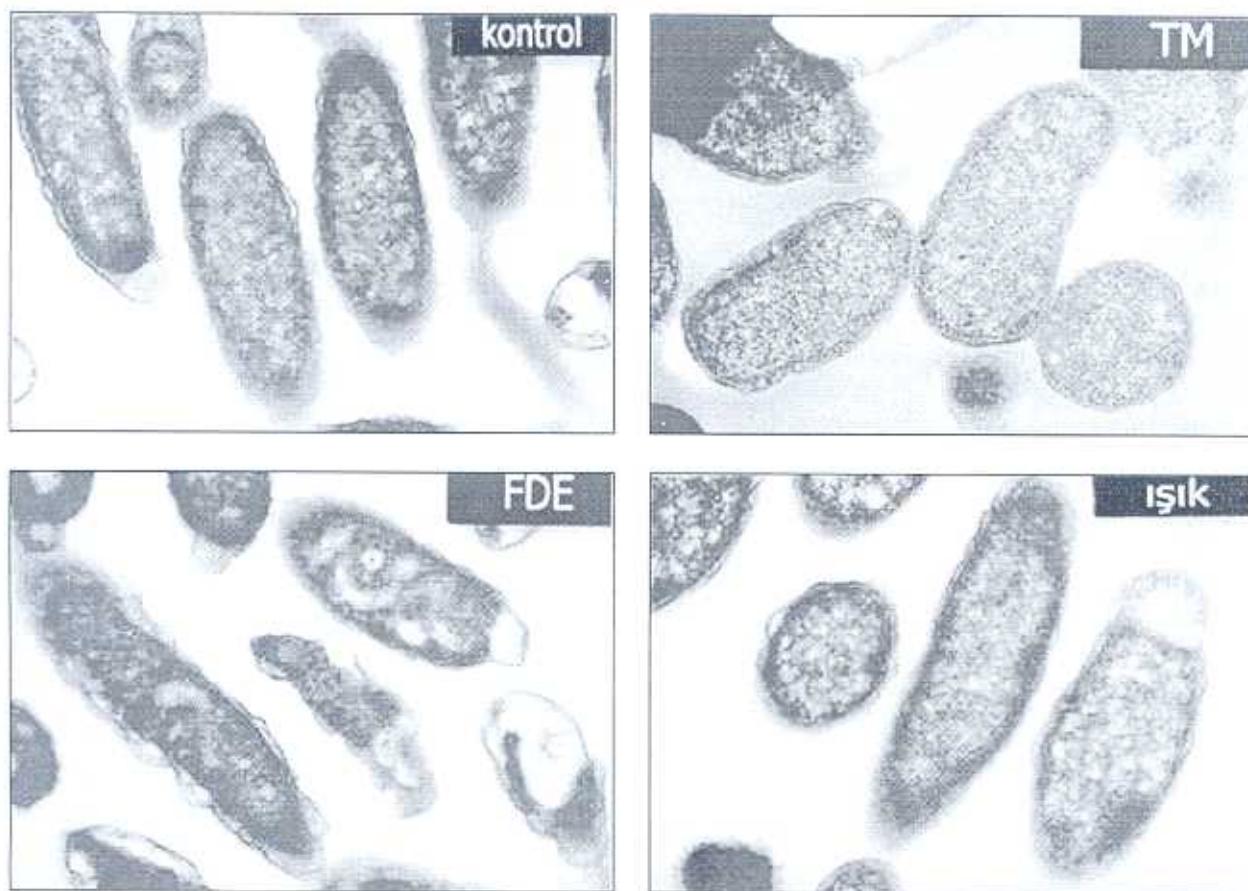
Hücrelerdeki yapısal değişimler

FDE uygulanmış hücrelerde hücre dış duvarının sitoplazmik membrandan dalga şeklinde eksfoliyasyonu dikkat çekicidir (Resim 1). Ayrıca, sitoplazmada kondansasyon ve vakuol formasyonu izlenmektedir. FDE uygulanmış hücrelerdeki vakuoller sitoplazmada yarıklar şeklinde kendini göstermektedir ve kontrol grubundaki elektron mikroskopu için örneklerin hazırlanması sırasında meydana gelen hücrenin bir tarafındaki boşluklar şeklinde görülen artefaktlar ile

canlılık sayısı (cfu/ml)



Grafik. Her bir organizmanın 25 µg/ml TM varlığında çeşitli periyotlarla yapılan ışınlamaya verdiği yanıt. Organizmaların canlılık sayımları bir mililitredeki colony forming unit olarak ifade edilmiştir (cfu/ml). Barlar ortalama canlılık sayısını ($n=4$) ve hata barları standart sapmayı temsil etmektedir.



Resim 1-4. *E. coli* hücrelerinin FDE öncesi (1), sonrası (2), sadece TM (3) ve sadece ışık (4) ile muameleleri sonrası transmisyon elektron mikroskopu ile görüntümeleri.

Karşıtlıtmamalıdır (Resim 2). TM ve ışık, tek başlarına uygulandıklarında hücrelerde herhangi bir yapısal değişiklik gözlenmedi (Resim 3 ve 4).

Tartışma

Birçok mikroorganizmanın antibiyotiklere direnç kazanması enfeksiyonların kontrol altına alınması konusunda endişelerin artmasına neden olmaktadır. Yeni geliştirilen antibiyotikler genel olarak, eski jenerasyonların bir türevi olmakta ve mikroorganizmalar bir süre sonra bu antibiyotiklere de direnç kazanmaktadır. Bu nedenle, farklı antimikrobiyal yöntemlerin geliştirilmesi konusunda çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir. FDE, lokal enfeksiyonların tedavisinde antibiyotiklere ideal bir alternatif olabilir. Antimikrobiyal FDE'de hücre hasarı, duyarlılaştırıcı ajan ve ışığın etkileşimi sonucu meydana gelen *singlet* oksijen vasıtasyonudur. Son derece reaktif olan *singlet* oksijen, hücrelerde lipit peroksidasyonuna ve

proteinlerin hasarına yol açar. Mikroorganizmaların *singlet* oksijene duyarlılık geliştirmeleri ise oldukça düşük bir olasılıktır. Ayrıca, hayvanlar üzerinde yapılan histolojik çalışmalarla, TM ile uygulanan FDE'nin antimikrobiyal parametrelerinin çok üzerindeki dozlarda dahi ağız mukozasına herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir.¹⁰

Bu çalışma, mikroorganizmaların TM ve kırmızı ışıkla uygulanan FDE'ye, *in vitro* olarak kayda değer derecelerde duyarlı olduğunu göstermiştir. TM ile uygulanan FDE sonrası hücrelerde dış membranda dalga şeklinde kırışıklıklar ve sitoplazmik membrandan ayrılmalar; sitoplazmada ise kondansasyon ve yarık tarzında kaviteler dikkat çekici bulguları. Benzer yapı bozuklukları Nitzan ve arkadaşları¹¹ tarafından *E. coli* hücreleri polimiksin nonapeptit ile muamele edildiğinde ve duyarlılaştırıcı ajan olarak porfirin kullanıldığında gösterilmiştir. Hücredeki bu değişiklikler, TM ile uygulanan FDE ile yaratılan sitotoksik

hasarın önce hücre dış duvarında olduğu ve FDE süresince TM'nin zarara uğramış hücre duvarı yoluyla, hücre içine girerek diğer organelleri de etkileşimiğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, antimikrobiyal FDE'nin spesifik olmadığı ve hem Gram-negatif, hem de Gram-pozitif bakterilere benzer etkinlikte bir teknik olduğu gözlandı. Gram-negatif bakterilerin antibakteriyel ajanlara genel olarak Gram-pozitiflerden daha dirençli oldukları bilinmektedir. Birçok Gram-pozitif mikroorganizma FDE'ye duyarlı olmasına rağmen,^{4,12} Gram-negatif bakterilerin çeşitli duyarlaştırıcı ajanlarla (özellikle porfirinlerle) uygulanan FDE'ye duyarlı oldukları gözlemlenmiştir.¹³ Bazı araştırmacılar Gram-negatif bakterilerin FDE'ye dirençli olmalarını bakterilerin geçirgenlik bariyeri oluşturan hücre duvarı yapısına bağlamaktadırlar. Tris-EDTA ve polimiksin nonapeptit gibi hücre dış membran yapısını değiştiren ajanlar FDE öncesi uygulanmış ve böylece porfirinler ve talosyaninler (porfirin analogları) ile yapılan FDE'nin Gram-negatif bakteriler üzerinde etkili olmasına yardımcı olunmuştur.^{11,14} Çalışmamızda ise Gram-negatif bakterilerin önceden herhangi bir membran yapısı bozucu madde kullanımına gereksinim olmaksızın TM ile uygulanan FDE ile öldürülübeldikleri belirlendi. Bakterinin FDE'ye duyarlılığının kullanılan ajanın elektrik yükü ile ilgisi olduğu ve FDE'de, katyonik ajanların anyonik olanlardan daha etkili olduğu düşünülmektedir. Katyonik maddelerin FDE'de hem Gram-negatif, hem de Gram-pozitif bakterilere karşı etkili ajanlar olduğu ama anyonik veya nötral ajanların foto-duyarlaştırıcı etkilerinin olmadığı bildirilmiştir.^{15,16} Katyonik ajanların neden daha etkili oldukları tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen pozitif yüklü ajanların bakterinin dış membran gibi hücrenin anyonik bölgelerine afititeleri bir neden olabilir. TM'nin katyonik bir ajan olması ve TM ile yapılan FDE'nin hücre dış membranına direkt etkisi gibi belirli özellikleri, bakterilere karşı etkili bir duyarlaştırıcı madde olmasında rol oynayabilir.

Ağız içi florası ve fırsatçı mikroorganizmaların FDE'ye benzer derecelerde duyarlı olduğu saptanmakla birlikte, *Candida* da elde edilen ölüm oranları bakterilere göre daha düşük bulunmuştur. Çalışmamızda, benzer sayınlarda mikroorganizmalar içeren süspansiyonlar kullanılmıştır. Ancak, ağız içinde kolozine olan *Candida* sayısı (dolayısı ile işinlama

alanına düşen *Candida* sayısı), ağız içi florasına oranla çok daha düşük seviyelerde olacaktır. Bunun sonucu tedavi sonrası ortamda bulunan *Candida* sayısı kayda değer oranda düşecektir. Bununla birlikte, eğer tedavi belli bir mikroorganizmaya hedeflenmek istenirse, TM'nin hedef mikroorganizmaya karşı geliştirilmiş antikorlarla konjuge edilerek seçici kullanımı mümkün olabilir. Duyarlaştırıcı ajan olarak kullanılan Sn (IV) chlorin e6, anti-*P. aeruginosa* monoklonal antikorlara bağlılığında *S. aureus* varlığında *P. aeruginosa*'yı seçici olarak öldürdükleri bildirilmiştir.¹⁷ Benzer sonuçlar, *P. gingivalis*'n Strep. *sanguis* ile karışık süspansiyonunda TM'ye konjuge edilmiş antikorlarla hedeflenerek öldürülmesi ile gösterilmiştir.¹⁸ Ayrıca, hastalarda sağlıklı bir ağız florası, tedaviden hemen sonra ağızın normal ağız florasını içeren gargaralarla çalkalanması sureti ile sağlanabilir.

Sonuç

In vitro kaydedilen sonuçlar *in vivo* olarak da elde edilirse ağız içindeki fırsatçı mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonların FDE ile tedavisi mümkün olabilir. Daha etkili ışık kaynaklarının ve mikroorganizmalara hedeflenen duyarlaştırıcı ajanların geliştirilmesi ile birlikte antimikrobiyal PDT lokal enfeksiyonlarda alternatif bir tedavi olabilir.

Teşekkür

Prof. M. Wilson'a uzman önerilerinden ve N. J. Morden'a elektron mikroskopundaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Kaynaklar

1. Scully C. Oral infections in the immunocompromised patient. *Br Dent J* 1992; 172: 401-401.
2. Makkonen TA, Borthen L, Heimdahl A, Joensuu H, Lehtonen OP, Nord CE. Oropharyngeal colonisation with fungi and Gram-negative rods in patients treated with radiotherapy of the head and neck. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1989; 27: 334-340.
3. Peterson DE, Minah GE, Reynolds MA et al: Effect of granulocytopenia on oral microbial relationships in patients with acute leukemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70: 720-723.
4. Wilson M, Yianni C. Killing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by low-power laser light. *J Med Microbiol* 1995; 42: 62-66.

5. Paardekooper M, van Den Broek JA, De Bruijne AW, Elferink JGR, Dubbelman TMAR, Staveninck JV: Photodynamic treatment of yeast cells with the dye toluidine blue: all-or-none loss of plasma membrane barrier properties. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1108: 86-90.
6. Perlin M, Mao JCH, Otis ER, Shipkowitz NL, Duff RG: Photodynamic inactivation of influenza and herpes viruses by haematoporphyrin. *Antiviral Res* 1987; 7: 43-51.
7. Wilson M, Dobson J, Harvey W: Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* 1992; 25: 77-81.
8. Wilson M, Mia N: Sensitisation of *Candida albicans* to killing by low-power laser light. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 354-357.
9. Kömerik N, Hopper C, Wilson M: Lethal photosensitisation of mucositis-associated bacteria. *J Dent Res* 1997; 76: 1024.
10. Kömerik N, Speight P, Cumow A, Postle-Hacon M, Wilson M, Hopper C: The effect of photodynamic therapy on rat buccal mucosa. *J Dent Res* 1998; 77: 978.
11. Nitzan Y, Guttermann M, Malik Z, Ehrenberg B: Inactivation of Gram-negative bacteria by photosensitized porphyrins. *J Photochem Photobiol B* 1992; 55: 89-96.
12. Nitzan Y, Shainberg B, Malik Z: Photodynamic effects of deuteroporphyrin on Gram-positive bacteria. *Curr Microbiol* 1987; 15: 251-258.
13. Martinetto P, Gariglio M, Lombard GF, Fiscella B, Boggio F: Bactericidal effects induced by laser irradiation and haematoporphyrin against Gram-positive and Gram-negative microorganisms. *Drugs Exp Clin Res* 1986; 12: 335-342.
14. Bertoloni G, Rossi F, Valduga G, Jori G, van Lier J: Photosensitising activity of water- and lipid-soluble phthalocyanines on *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 1990; 71: 149-156.
15. Minnock A, Vernon DI, Schofield J, Griffiths J, Parish JH, Brown ST: Photo-inactivation of bacteria. Use of a cationic water-soluble zinc phthalocyanine to photo-inactivate both Gram-negative and Gram-positive bacteria. *J Photochem Photobiol B* 1996; 32: 159-164.
16. Merchat M, Bertoloni G, Giacomini P, Villanueva A, Jori G: Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Photochem Photobiol B* 1996; 32: 153-157.
17. Friedberg JS, Tompkins RG, Rakestraw SL, Warren SW, Fichman AJ, Yarmush ML: Antibody-targeted photolysis: Bactericidal effects of Sn (IV) chlorin e6-dextran-monoclonal antibody conjugates. *Ann NY Acad Sci* 1991; 1618: 383-393.
18. Bhatti M, MacRobert A, Henderson B, Shepherd P, Cridland J, Wilson M: Antibody-targeted lethal photosensitization of *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2615-2618.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Nurgül KÖMERİK

Süleyman Demirel Üniversitesi, Dişhekimi Fakültesi
Ağzı, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD
ISPARTA

E-posta : Nkomerik@med.sdu.edu.tr