

**KARANLIK ALAN MİKROSKOBİSİ İLE PERİAPİKAL
LEZYONLU DİŞLERDE KÖK KANAL FLORASININ
İNCELENMESİ**

Hüma ÖMÜRLÜ* Esra KÖSELİ** Oya SİYAHHAN**

ÖZET

Bu çalışmada periapikal lezyonlu 30 adet dişin kök kanal florası karanlık alan mikroskobu ile incelendi. Klinik semptomlar ile kok, çubuk, filament, spiroket ve fusiformların ortalama yüzdesi arasında bir ilişki bulunmadı. Perküsyon ağrısı olan fakat spontan ağrısı olmayan 2. grup ve spontan ağrısı, perküsyon ağrısı ve eksudası olmayan 3. grupta spiroket, filament, fusiformların dağılımı ile periapikal lezyon densitesi arasında pozitif bir ilişki saptandı.

Anahtar kelimeler : Karanlık alan mikroskobisi, Mikrodensitometrik analiz, Periapikal patoloji.

SUMMARY

**DARK - FIELD OBSERVATION OF THE MICROORGANISMS
ISOLATED FROM ROOT CANALS OF TEETH WITH
PERIAPICAL PATHOSIS**

The results of the present study based on the dark - field microscopy of the 30 root canals of all periapically affected teeth. There was no relationship between the percentage of cocci, rods, fla-

(*) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. Anabilim Dalı, Öğr. Üyesi, Yrd. Doç. Dr.

(**) G.Ü. Dişhek. Fak. Diş Hast. ve Ted. Anabilim Dalı, Araş. Gör.

KARANLIK ALAN MİKROSKOBİSİ

ments, spirochetes, fusiforms and the clinical symptoms. A significant positive correlation was observed between the percentage of spirochetes, filaments, fusiforms and the density of periapical pathosis in group 2 and 3.

Key words : Dark - field microscopy, Microdensitometric Analysis, Periapical disease.

GİRİŞ

Periapikal lezyonlar oral mikrofloranın neden olduğu endojen enfeksiyonlar olup, hastalarda halsizlik, iştahsızlık, artrit, nefrit ve bazen de septik endokardite kadar giden ağır tablolar ortaya çıkarabilmektedir (8,13). Bu nedenle etyolojik ajanın belirlenmesi ve ortadan kaldırılması endodontinin temel hedeflerindedir.

Pulpa ve periapikal doku hastalıklarında bakterilerin etyolojik rolleri kesinlik kazandıktan sonra hem aerob hem de anaerob bakteriler farklı yönleriyle araştırmalara konu olmuş ve spesifik oral bakteriler ile periapikal hastalığın klinik sonuçları arasındaki ilişkiyi araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır (1,4, 8,11,13).

Periapikal patolojinin etyolojik ajanlarının belirlenmesi genellikle bakteriyel kültürle yapılır. Ancak geliştirilmiş taşıyıcı vasatlarla rağmen enfekte kök kanalındaki mikrofloranın sınırlı bir bölümü belirlenebilmektedir. Bugün bütün mikroorganizmaların üremesini sağlayacak basit, tek bir vasat geliştirilmemiştir(11). Ayrıca bakterilerin kültüre edilip tanınmaları için zamana, özel tekniğe, malzemeye ve bu konuda uzman kişilere ihtiyaç vardır. Bu nedenle son yıllarda diş hekimliğinin çeşitli alanlarında mikrobiyel yapıların ve özelliklerinin tanınmasında karanlık alan ve faz kontrast mikroskopisi kullanılmaktadır (5,10,11).

Diş hekimliğinde kemiklezyonlarının radyografik yorumu teşhisin önemli kısmını oluşturur. Elde edilen radyograflar çeşitli yollarla değerlendirilir. Bu yöntemlerden biri de mikrodensitometrik analizdir. Radyografların densitesine göre tayin yapılır. Densite, radyografa gelen ışık ünitesinin oranının 10 tabanına göre logarit-

mik ifadesi olarak tanımlanır ve tayini densitometre denilen cihazlarla yapılır (12).

Bu çalışmanın amacı, periapikal lezyonlu dişlerde karanlık alan mikroskopu kullanarak kök kanalındaki bakteriyel florayı incelemek ve lezyon büyüklüğü ve klinik semptomlarla farklı bakteri tipleri arasında ilişki olup olmadığını densitometri ile araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Hastaların Seçimi:

Klinik ve radyografik muayene sonucu periapikal patoloji bulunan hastaların 30 adet daimi dişinin kök kanallarından materyal alındı. Bu hastalar semptomlarının durumuna göre şu şekilde sınıflandırıldı:

1. Grup : Spontan ağrısı, perküsyon ağrısı ve eksudası olanlar,
2. Grup : Perküsyon ağrısı olan fakat spontan ağrısı olmayanlar,
3. Grup : Spontan ağrısı, perküsyon ağrısı ve eksuda olmayanlar (Kontrol grubu).

Hasta seçiminde, antibiyotik almamış olmaları ve son 6 ay içinde antimikrobiyel ağız çalkalama solüsyonu kullanmamış olmalarına dikkat edildi. Medikal hikayelerinde malign tümör, diabet, kan hastalığı, allerji veya kronik karaciğer rahatsızlığı bulunanlar ve hamile olanlar araştırmaya alınmadı.

Bakteriyel numunenin elde edilişi:

Dişler izole edildikten sonra tentürdiyot ile dezenfekte edildi. Giriş kavitesi steril rond frezle prepare edildi. Steril bir tirnerf kök kanalı içine apekse doğru sokularak kanal içeriği dışarı çıkartıldı. Bu işlem yeterli numune elde edilinceye kadar bir kaç kez tekrarlandı. Elde edilen bu numuneler 0.1 - 0.3 ml % 1 jelatinli % 0.9 NaCl

KARANLIK ALAN MIKROSKOBİSİ

solusyonu içeren tüpler içersine aktarıldı. Numuneyi içeren bu solüsyon steril bir enjektörle bir kaç defa aspire edilip bırakılarak homojen hale getirildi. Daha sonra bu homojen numunenin bir damlası lam üzerine hava kabarcığı kalmayacak şekilde dikkatlice konuldu ve zaman geçirilmeden 1200 X büyütmede karanlık alan mikroskopunda (Ernst Leitz Wetzlar, Germany) incelendi. Klinik muayeneler, bakteri numunelerinin alınması ve bakteri sayımı aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi. Numunelerdeki bakteri kümelenmesi ve bakteri hareket kaybının önüne geçilebilmesi amacıyla lamelin etrafı tırnak cilası ile kapatılıp havayla teması kesildi.

Bu şekilde hazırlanan numunelerin mikroskopik incelenmesinde rastgele seçilen 200 bakterinin Listgarten ve Hellden'in (5) ortaya koydukları klasifikasyona göre; 1 — Kok, 2 — Çubuk, 3 — Flament, 4 — Fusiform, 5 — Spiroket, 6 — Hareketli şeklinde incelenmesi yapıldı.

Radyografların alınması:

Klinikte vakaların radyografları çift olarak ve paralel radyografi tekniği kullanılarak alındı (Siemens - Heliodent, 70KVp, 2 saniye ışınlama süresi - Agfa - Gevaerth periapikal film).

Bu şekilde elde edilen tüm periapikal grafiler eşit banyo koşullarında banyo edildi ve daha sonra Başbakanlık Atom Enerji Başkanlığı Nükleer Araştırma Merkezinde optik densiteleri Transmission Densitometer DT 1005 densitometrisi ile ölçüldü. Densitometrik ölçümler her filmin 3'er noktasından yapıldı.

Veriler toplandıktan sonra Barlett Chi kare testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

SONUÇLAR

Periapikal patolojisi bulunan 30 adet dişin kök kanal florasında dağılımı incelenen bakteri tiplerinin deney grupları arasında karşılaştırılmasının istatistiksel sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO 1. Üç hasta grubundaki bakteri tiplerinin dağılımının istatistiksel karşılaştırması.

	Kok	Çubuk	Flament	Hareketli	Spiroket	Fusiform
1. Grup	161,9±17,1*	11,8±7,2	10,0±7,6	14,1±10,1	0,66±0,55	0,55±0,38
2. Grup	156±24,4	12,6±7,9	14,3±13,5	16,0±12,1	0,1±0,10	0,01±0,1
3. Grup	169,9±18,4	10,7±8,1	9,3±6,6	7,9±9,2	0,5±0,34	2,7±1,13
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

* Ortalama yüzde ± SE ve eşleştirilmiş t testi.

Bu sonuçlara göre spontan ağrı, perküsyon ağrısı ve eksuda bulunan 1. grup dişlerin kök kanal florasında tesbit edilen mikroorganizma gruplarının ortalama yüzdesi ile spontan ağrısı olmayan perküsyon ağrısı bulunan 2. grup dişlerin ve spontan ağrısı, perküsyon ağrısı ve eksudası olmayan 3. grup dişlerin kök kanal florasındaki mikroorganizmaların ortalama yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($P>0.05$). Aynı şekilde 2. grubu oluşturan dişlerin kök kanal florasındaki mikroorganizma gruplarının ortalama yüzdesi arasında ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Üç grupta dağılımı incelenen bakterilerin ortalama yüzdesi ile periapikal lezyonların densitesi arasındaki ilişki Tablo 2'de gösterilmiştir.

Bu sonuçlara göre 1. gruptaki altı bakteri tipinin ortalama yüzdesi ile densite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. 2. grupta ise kok, çubuk, flament, hareketli ve fusiformların ortalama yüzdesi ile densite arasında anlamlı bir ilişki bulunmazken spiroketlerin ortalama yüzdesi ile densite arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur.

Kontrol grubu oluşturan üçüncü gruptaki bakteri gruplarından kok, çubuk, ve hareketli mikroorganizmaların ortalama yüzdesi ile densite arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki kurulamazken spiroket flament ve fusiformların ortalama yüzdesi arasında ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

TABLO 2. Periapikal lezyon densitesi ile üç grupta bulunan bakterilerin ortalama yüzdesi arasındaki istatistiksel ilişki.

	Densite	Kok	Çubuk	Flament	Hareketli	Spiroket	Fusiform
1. Grup	1430,22–330,4	r = 0,09 (NS)*	r = 0,22 (NS)	r = 0,23 (NS)	r = 0,14 (NS)	r = 0,003 (NS)	r = 0,08 (NS)
2. Grup	1335,2–274,7 (NS)	r = 0,31 (NS)	r = 0,42 (NS)	r = 0,30 (NS)	r = 0,02 (NS)	r = 0,04 (p<0,01)	r = 0,02 (NS)
3. Grup	1448,3–372,4	r = 0,09 (NS)	r = 0,055 (NS)	r = 0,54 (p<0,01)	r = 0,24 (NS)	r = 0,55 (p<0,01)	r = 0,61 (p<0,01)

*NS = No significant.

KARANLIK ALAN MİKROSKOBİSİ

Periapikal lezyonların densiteleri üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermemiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada pulpa nekrozlu periapikal lezyonlu dişleri içeren üç grup halindeki 30 adet dişin kök kanal florasının karanlık alan mikroskopisi ile incelenmesi ile elde edilen sonuçlarda floranın koklar, çubuklar, filament, spiroket, fusiform ve hareketli mikroorganizmaları içerdiği görülmüştür. Bu bulgumuz diğer araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir (1,11,13). Ancak çalışmamızda gruplar arasında bakterilerin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Oysa son yıllarda klinik semptomlar ve spesifik bakteri türleri arasında çeşitli çalışmalarda ilişkiler gösterilmektedir. Sundqvist (9) akut periapikal semptomlu dişlerde semptomsuzlardan daha fazla oranda peptostreptokok, camplobacter, peptokokus eubakterium ve özellikle B.melaninogenicus bulmuştur. Yoshida ve ark. (13) B.melaninogenicus ve P.magnus'u akut semptomlu vakalardan izole etmiştir. Bizim çalışmamızda klinik semptomlar ve spesifik bakteri türleri arasında pozitif bir ilişki kurulamamış olması gruplar arasındaki vaka sayısının az olmasından kaynaklanabileceği gibi kök kanallarından veya periapikal bölgeden çeşitli mikroorganizmaları izole ve tanımlama girişiminde bulunan bir çok araştırmacının klinik vaka seçimi, örnek alma, kültür ve identifikasyon yöntemlerinden farklı olmasıyla da ilgili olabilir.

Klinik lezyonların radyografik olarak incelenmesi teşhiste önemli bir yer tutar. Kemik lezyonlarının radyografik görüntüsü lezyon büyüklüğü ile ilişkili olmayıp kemikteki mineral kaybının miktarına bağlıdır. Işınlama açısındaki değişiklikler lezyon büyüklüğünü değiştirebilir. Ayrıca gözlemciler arasında da değişik değerlendirmeler söz konusu olmaktadır (1, 10). Son yıllarda periapikal radyografların değerlendirilmesinde xeroradyograflar kullanılmaktadır. Xeroradyografi lamina dura ve periodontal ligament boşluğunun görünümünde daha büyük bir çözüm getirmekle beraber kesin kemik destrüksiyonu var veya yok demek için yeterli olmaktadır (3,10). Çoğu kez periapikal grafler gerek netlik, gerekse

boyutlar bakımından 2 veya 3 duvarlı yıkımların yeterince incelenmesine olanak vermez. Bu nedenle çalışmamızda belirtilen problemleri azaltacak veya sınırlandıracak aynı zamanda biyomekanik ölçülebilecek ve özellikle hassas bir değerlendirme şekli olması nedeniyle mikrodensitometrik incelemeye başvurulmuştur.

Araştırmamızda gruplar arasında periapikal patoloji densiteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamakla beraber 2. grubu oluşturan periapikal lezyonlu dişlerde spiroketlerin ortalama yüzdesi ile 3. grubu oluşturan periapikal lezyonlu dişlerin spiroket, filament ve fusiformların ortalama yüzdesi ile densite arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Spiroketler periodontal patojen olarak bilinmekle beraber, enfekte kök kanallarından nadiren izole edilir. Karanlık alan mikroskopisinde nadir görülme nedeni ise preparatı hazırlama sırasında parçalanmalarından ileri gelmektedir (13). Thilo ve ark. (11) kök kanal florasının % 3'ünü spiroket olarak saptamışlardır.

Her ne kadar mikroorganizmaların metabolik ürünleri, toksinleri, enzimleri periapikal dokuyu etkilerse de Nair (6) akut semptomlu periapikal lezyonu bulunan bir kaç olguda TEM ile lezyon merkezinde bakteri göstererek periapikal lezyon ile bakteri arasında doğrudan bir ilişki olabileceğini ileri sürmüştür.

Spiroket, fusiform ve filamentlerin patojenik potansiyellerinin kemik destrüksiyonunun etyolojisinde kesin rolleri olduğunu söylemek mümkün olmamakla beraber uzun süreli bakteri kolonizasyon çalışmalarıyla konunun çözüme kavuşabileceği kanısındayız.

Sonuç olarak karanlık alan mikroskopisinin pulpa - periapikal patolojiyle ilgili olarak bu bölgedeki değişik morfolojik tipteki bakterilere ait temel bilgiler verebileceği ve endodontide kullanılabilceği ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1 — Barnett, F., Schwartzhen, L.J., Tronstad, L. : Extensive Periapical lesion with inconsistent radiographic findings. *J. Endod.* 10 (1) : 26-27, 1984.
- 2 — Cole, A.M., Newcomb, G.M., Nixon, K.C. : Dark - field microscopy and patient education. 29 (6) : 394-397, 1984.
- 3 — Gratt, B.M., White, S.C., Lucatonto, F.M. : A clinical comparison of xeroradiography and conventional film for the interpretation of periapical structures. *J. Endod.* 12 (8) : 346-351, 1986.
- 4 — Lin, L., Shoulin, F., Skribner, J., Langeland, K. : Pulp biopsies from the teeth Associated with periapical radiolucency. *J. Endod.* 10 (9) : 436-448, 1984.
- 5 — Listgarten, M.A., Hellden, L. : Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J. Clin. Periodon.*, 5, 1155-132, 1978.
- 6 — Nair, R. : Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J. Endod.* 13 (1) : 29-39, 1987.
- 7 — Petterson, A.R., Petersson, K., Krasny, R. : Observer variations in the interpretation of periapical osseous structures : A comparison between xeroradiography and conventional radiography. *J. Endod.*, 10 (5) : 205-209, 1984.
- 8 — Stabholz, A., Sela, M. : The role of oral microorganisms in the pathogenesis of periapical pathosis. 1. Effect of streptococcus mutans and its cellular constituents on the dental pulp and periapical tissue of cats. *J. Endod.*, 9 (5) : 171-175, 1983.
- 9 — Sundqvist, G.K., Eckerbom, M.I., Larsson, A.P. : Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infect. Immun.*, 25 (2) : 685-693, 1979.
- 10 — Tidmarsh, B.G.: Radiographic interpretation of endodontic lesions-a shadow of reality. *Int. dent. Journal*, 37, 10-15, 1987.
- 11 — Thllo, B., Baehni, P., Holz, J. : Dark - field observation of the bacterial distribution in root canals following pulp necrosis. *J. Endod.*, 12 (5) : 202-205, 1986.
- 12 — Wuehrmann, A.H., Manşon, H. : Dental radiology. 2nd ed. St. Louis C.V. Mosby Çorap., 1969.
- 13 — Yoshida, M., Fukushimo, H., Yamamoto, K. : Correlation between clinical symptoms and microorganisms Isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. *J. Endod.*, 13 (1) : 24-28, 1987.