

***PERİAPİKAL LEZYONLU DIŞLERDE CANDIDA ALBICANS'İN ELEKTRONİK-BURUN TEKNOLOJİSİ VE
MİKROBİYOLOJİK KÜLTÜR YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ
ELECTRONICS-NOSE OF CANDIDA ALBICANS IN PERIAPICAL LESIONED THREADS EVALUATION BY
TECHNOLOGY AND MICROBIOLOGICAL CULTURE METHOD**

Özgür ER¹, Burhan Can ÇANAĞCI², Öznur TUNCA³, Yasemin KAHRAMAN⁴

¹Trakya Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Edirne

²Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Kayseri

³Akdeniz Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Endodonti Anabilim Dalı, Antalya

⁴Serbest Endodonti Uzmanı

ÖZ

Pulpa ve periradiküler doku hastalıklarının çoğu hem aerop hem de anaerop mikroorganizmaları içeren karışık bir mikroflora ile ilişkilidir. Hekim tedavi ile ilgili etkili bir yöntem belirleyebilmek için mikroorganizma varlığı ile endodontik hastalık arasındaki yakın ilişkiyi kavramalıdır.

Endodontik enfeksiyonlardaki bakteri türlerini ortaya çıkarmak için kültür ve moleküler metodlar kullanılmaktadır. Son yıllarda moleküler yöntemlerdeki gelişmelere rağmen her iki metodun da bir takım dezavantajları bulunmaktadır.

Elektronik burun yöntemi, insan doku duyusunu taklit edebilen bir elektronik sistemi tanımlar. Elektronik burun sistemleri tıp alanında ve mikrobiyolojik araştırmalarda başarıyla kullanılmaktadır. Bu sistemlerin en önemli özelliği, koku çeşitlerini çok kısa zamanda insan burnundaki hassasiyet derecesinde ayrıştırabilmesi ve sonucu objektif olarak sunmasıdır.

Bu çalışmada insan diş köklerinden alınan örnekler elektronik burun sistemine tabi tutulmuş ve makroskobik ve mikroskobik analizleri yapılmıştır. Örneklerde mikroskopi ile tespit edilen Candida varlığının, elektronik burun tarafından da tespit edilip edilemediği araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan elektronik burun sisteminin var olan teknoloji ile kök kanallarında var olan mikroorganizma tipini tespit edemediği ve ileri teknik donanımlara ihtiyacı olduğu anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Elektronik burun; kök kanal enfeksiyonu; mikrobiyoloji; bakteri; mantar

ABSTRACT

Most diseases of pulp and periradicular tissues are associated with mixed micro flora including both aerobic and anaerobic microorganisms. Clinicians must understand the close relationship between the presence of microorganism and endodontic disease process to determine an effective procedure with respect to the treatment.

Culture and molecular methods are used to detect bacterial species in root canal infections. Despite the recent advances in molecular methods, both culture and molecular methods have several disadvantages.

The term electronic nose describes an electronic system that is able to mimic the human sense of smell. Electronic nose systems have already been used with success in the medical science and microbiological research. The most important feature of an electronic nose system is its ability to detect different odour types in a short period of time almost with the sensitivity of human nose. Furthermore, the result obtained using electronic nose system are objective.

In this study, samples collected from root canals were compared both macroscopically and microscopically and also with an electronic nose system in order to detect the presence of candida species in teeth with periapical lesions. The electronic nose device used in this study was found insufficient to detect intra canal candida species and needs more sensitive chemical sensors.

Keywords: electronic nose; root canal infection; microbiology; bacteria; fungi

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir.
Proje Numarası: TSA-09-903

Makale Geliş Tarihi : 02.10.2014
Makale Kabul Tarihi: 27.11.2017

Corresponding Author: Yrd.Doç.Dr. Burhan Can ÇANAĞCI,
Trakya Üniversitesi, Balkan Yerleşkesi, Diş Hekimliği Fakültesi,
Edirne
Telefon:0505 8829070
E-posta:burhancanacki@trakya.edu.tr

GİRİŞ

Endodontik tedavi, kök kanal sistemini mikroorganizmalardan temizlemek amacı ile biyo mekanik şekillendirme, irrigasyon ve sızdırmaz bir biçimde kök kanal dolgusu uygulamalarını içerir. Kök kanallarında bulunan mikroorganizmalar ağırlı alevlenmeler, periapikal yıkım ve inatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (1-4). Bu mikroorganizmaların tanımlanması tedavinin başarısı açısından önemlidir. Son yıllarda mikrobiyal patojenler ve spesifik hastalıklar arasındaki ilişki konusunda moleküler biyolojik çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Bakteriler, en çok çalışılan mikrobiyal patojen olsalar da mantarlar da enfekte kök kanallarında bulunmaktadır (4).

Kök kanal enfeksiyonlarındaki mikroorganizma türlerini ortaya çıkarmak için mikrobiyolojik kültür alma ve moleküler biyolojik metotlar kullanılmaktadır. Mikrobiyolojik kültür, kök kanal enfeksiyonlarındaki baskın türleri belirler. Mikrobiyolojik kültür ve biyokimyasal metotlar zaman alıcıdır ve zaman zaman çelişkili sonuçlar verebilmektedir (5). Etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, mikroorganizma varlığı ile endodontik hastalık arasındaki yakın ilişkinin kavranmasına bağlıdır.

Genel olarak birincil kök kanal enfeksiyonlarında kompleks ve anaerobik bakteriler baskındır. İnataçı ikincil enfeksiyonlarda mikroorganizmalar tek çeşittir veya birincil enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha az çeşitlilik gösterir (6,7). Mantarlar, birincil enfeksiyonlara göre ikincil enfeksiyonlarda daha yüksek oranda bulunmaktadır (8-11). *Candida albicans* (*C. albicans*) ağız kavitesindeki en dirençli mikroorganizmalardan, kök kanal sisteminde zor şartlarda bile yaşamlarını sürdürebilmektedir. *C. albicans*, incelenen deney modellerinde en sık görülen ve en virulent *Candida* türüdür. Virülens faktörlerin değişkenliği sayesinde *C. Albicans* dentine tutunabilmekte ve hatta penetre olabilmektedir (6). Enfekte kök kanallarında mantarların bulunma sıklığı % 1 ile %22 arasında değişmektedir (4,6,12,13). Günümüzde bilim adamları ve mühendisler, görme ve işitme duyularının elektronik anlamdaki gelişmelerine tanıklık ederken, insan burnunun taklit eden sistemlerin yer aldığı cihazlar geliştirmektedirler. Bu cihazlardan elektronik-burun (EB) sistemleri bir kimyasal algılayıcılar (sensörler) dizisi kullanarak verilen bir kokunun "parmak izini" elde eder ve tanıma yazılımları ile kokunun tanımını ve ayırımını yapar. EB sisteminin başlıca uygulama alanları; gıda, çevre sağlığı, tıp ve bakteriyolojidir (14-16). Mikrobiyolojide de EB kullanılarak yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada, petri kaplarındaki farklı mikroorganizma kültürlerinin EB teknolojisi ile koku verileri elde edilmiştir (17).

EB teknolojisi diş hekimliği alanında, ağız kokusunun klinik olarak değerlendirilmesinde, enfekte kök kanallarındaki koku ile elektronik burun ve kök kanallarından izole edilen bakteriler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır (11,18).

Bu çalışmanın amacı, periapikal bölgesinde lezyon bulunan ve kök kanal tedavisi endikasyonu konulmuş dişlerde *C. albicans*'ın bulunma sıklığını mikrobiyolojik kültür alma ve EB teknolojisi kullanılarak değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Erciyes Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Fakülte Araştırma Etik Kurulu tarafından etik onay

alınmıştır. Çalışmaya Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Endodonti Anabilim Dalı'na rutin kök kanal tedavisi yaptırmak amacıyla başvuran hastalar arasından birincil (nekrotik pulpal) ya da ikincil enfeksiyon (eski kanal tedavili) nedeniyle radyolojik olarak dişinin periapikal bölgesinde odontojenik kaynaklı lezyon bulunan, ayrıca dişinin semptomatik ve kök kanalları çürük ya da düşmüş dolgu sebebi ile ağız ortamına direkt açık olmadığı 60 hasta seçildi. Hastaların klinik muayenesi kapsamında elektrikli vitalite testi, buz çubuk uygulaması ve perküsyon testleri yapılarak kök kanal tedavisi endikasyonu konuldu. Hastalar uygun olan yöntemle anestezi altına alındı. Tedavi edilecek dişlere rubber dam yerleştirildikten sonra dişler %5.25'lik sodyum hipoklorit ile silinerek kontaminasyon önlenildi. Çürük veya önceki restorasyonlar uzaklaştırıldıktan sonra steril frezler ile giriş kavitesi açıldı. Mikrobiyolojik inceleme için örnekler, apeks bulucu ile belirlenen çalışma boyutunda 2 dakika boyunca bekletilen steril kağıt konun Saboraud Dekstroz Broth besi yerine aktarılmasıyla gerçekleştirildi. Aynı işlem EB (Cyranose 320, SmithsDetection, Hertfordshire, İngiltere) için tekrarlanarak veri alımı yapılmak üzere hazırlandı. Besi yeri içerisinde uygun şartlar altında bekletilen örneklerden inkübasyon süresi sonunda üreyen koloniler, makroskopik ve mikroskopik olarak incelenerek *C. albicans* varlığı araştırıldı. EB sistemi içinde daha önce sınıflandırma verileri bulunan (19) *C. albicans*, örneklerden alınanlar ile karşılaştırdı. Tanımlayıcı istatistik olarak yüzde ve sıklık verilmiştir.

BULGULAR

İstenilen şartlara uygun olan 60 örneğin içinde, 6 örnekte (%10) *C. albicans* varlığı mikrobiyolojik teknik yöntemleri ile gözlemlendi. EB analizlerinde ise, *C. albicans*, mikrobiyolojik kültür yöntemi ile tespit edilen 6 örnekte ve diğer örneklerin hiç birinde tespit edilemedi (Tablo 1).

Tablo 1: Yöntemlere Göre *Candida* Tespit Edilen Örnek Sayıları

	İncelenen Örnek Sayısı	<i>Candida</i> Tespit Edilen Örnek Sayısı
Mikrobiyolojik Yöntem	60	6 (%10)
EB	60	0 (%0)

TARTIŞMA

Pulpal ve periradiküler hastalıklara mikroorganizmaların neden olduğu bilinmektedir (20). Bu hastalıkların tedavisi, nedenin yani mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasıdır. Sonuç olarak, mevcut olan çeşitli tedavi protokolleri bakteri eliminasyonuna doğru yönelmiştir. Mikroorganizma ve klinik endodonti arasındaki bu sıkı ilişki nedeniyle, mikroorganizmaların gelişimi ve varlığı ile ilgili bilgiler mikrobiyolojik kök kanal kültürü verilerine dayanır (21).

Kültür yöntemlerinin en büyük avantajı, araştırılmayan mikroorganizmalar da dahil olmak üzere çok sayıda

mikroorganizmanın belirlenmesini sağlamasıdır. Dezavantajları ise zahmetli, zaman alıcı ve maliyetli olmasıdır. Kök kanal enfeksiyonlarında yer alan patojen mikroorganizmalardan bazıları kültür ve daha ileri yöntemlerden farklı olarak EB sistemi kullanılarak da araştırılmıştır (11,18,22). EB, gaz halindeki maddelerde bulunan kimyasalların hızla tasnif edilmesi için geliştirilmiş elektronik bir alettir. Bu sistemin pulpa ve periradiküler hastalıklara neden olan patojenlerin tespiti için uygun olup olmadığının çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir. EB sisteminin geliştirilmesi ve uygulanabilirliğinin tespiti durumunda, potansiyel avantajları arasında, kök kanal patojenlerinin hızlı ve objektif olarak belirlenme olasılığının bulunması, bu sayede doğru teşhis ve tedavi yöntemlerinin uygulanmasının sağlanması ve klinik uygulamada kullanılan yöntemlerin etkinliğinin hızlı değerlendirilebilmesi sayılabilir. Bu çalışmada klasik bir yöntem olan mikrobiyolojik kültür alma yöntemi ve EB sistemi kullanılarak hem kök kanallarındaki *C. albicans* varlığı değerlendirilmiş hem de EB yöntemi test edilmiştir.

Mantarların kök kanal enfeksiyonlarında bulunma sıklığı çeşitli araştırmalarda araştırılmış, moleküler yöntemler ve kültür metotlarının kullanıldığı araştırmalarda bu oran %2-21 arasında bulunmuştur (4,6,12,23,24). Şen ve ark (25) periradiküler lezyonlu çekilmiş 10 dişin kök kanalları SEM ile incelenmiş ve 4'ünde mantar bulunmuştur. Baumgartner et al (13) periapikal radyolusensili vakaların değerlendirildiği çalışmada birincil apikal periodontitisli enfekte kök kanallı 24 dişin 5'inde (%21) *C. Albicans*'ı tespit etmişlerdir.

C.albicans uzun süreli kök kanal enfeksiyonlarında bulunur, invaze olabilir ve virülans etkinliğine sahiptir. Bu özelliklerinde dolayı periapikal bölgede yaşayabilme ve bu bölgeyi enfekte edebilme kabiliyeti önem arz etmektedir (26). Ayrıca, kök kanal tedavisinden sonra başarısız olan vakalarda periradiküler bölgede inatçı *C.albicans* varlığı da önemli bir etken olabilir. EB sistemi kullanılarak *C.albicans* tespit edilmesindeki amaç, kök kanal patojenlerini mümkün olduğunca hızlı teşhis edebilmektir. Geleneksel kültür yöntemlerinde tespit süresi *C.albicans* için 24 saat sürmektedir. EB sisteminin başarılı olması durumunda ilgili patojene yönelik uygulamaların yapılması, tedaviyi olumlu yönde etkileyecektir.

Mikroorganizmaların belirlenmesi için kullanılan geleneksel kültür ve moleküler yöntemlerin aksine EB sistemi, mikroorganizmaları sadece birkaç dakika içerisinde objektif olarak tespit edebilir ancak bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte EB veri seti büyüklüğünün yeterli olduğu, verilerin değerlendirme yöntemlerinin geliştirildiği ve hassaslaştırıldığı daha fazla sayıda araştırmanın yapılması gerektiği düşünülmektedir. EB sistemi ile daha yüksek başarı oranlarına ulaşıldığı takdirde bir sonraki aşamada klinik kullanımda hasta başında hızlı teşhiste kullanılıp kullanılmayacağı değerlendirilebilir. Önceki çalışmalara göre kök kanal patojeni mikroorganizmaların EB teknolojisi ile % 80 başarı oranı ile sınıflandırılabilmesi görülmüştür (19). Çalışmamızın sonuçlarına göre, mikrobiyolojik olarak *C. albicans* varlığı tespit edilen örneklerin hiçbirinde EB sistemi ile pozitif cevap alınmamıştır. Bu durumun sebebi cihazın gerek duyduğu mikroorganizma sayısının izole edilen mikroorganizma sayısından daha

yüksek olduğu için olması olabilir. Daha önce yapılan laboratuvar çalışmalarına göre EB sisteminin tespit edebileceği en düşük *C. albicans* sayısının kök kanalında bulunan *C. albicans* sayısından olduğu tespit edilmiştir (19). Ama EB sisteminin ortama yayılan gazları değerlendirerek ölçüm yapması ve ölçüm ortam farklılıkları (laboratuvar-klinik) sebebi ile EB sistemi başarısız olmuş olabilir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre klinik şartlarda, periapikal ve kök kanal sisteminde bulunan *C. albicans* miktarının EB sisteminin günümüzdeki hassasiyet derecesi ile tespit edilemeyeceği görülmektedir.

REFERANSLAR

1. Sjögren U, Hånström L, Happonen R, Sundqvist G. Extensive bone loss associated with periapical infection with *Bacteroides gingivalis*: a case report. *Int Endod J* 1990;23:254-262.
2. de Oliveira JCM, Siqueira JF, Alves GB, Hirata R, Andrade AF. Detection of *Porphyromonas endodontalis* in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. *J Endon* 2000;26:729-732.
3. Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1980;50:457-461.
4. Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U. Prevalence of black-pigmented bacteroides species in root canal infections. *J Endod* 1989;15:13-19.
5. Odell LJ, Baumgartner JC, Xia T, David LL. Survey for collagenase gene prtC in *Porphyromonas gingivalis* and *Porphyromonas endodontalis* isolated from endodontic infections. *J Endod* 1999;25:555-558.
6. Waltimo T, Siren E, Torkko H, Olsen I, Haapasalo M. Fungi in therapy-resistant apical periodontitis. *Int Endod J* 1997;30:96-101.
7. Chávez de Paz L. Gram-positive organisms in endodontic infections. *End Topics* 2004;9:79-96.
8. Siqueira JF, Sen BH. Fungi in endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad Endod* 2004;97:632-641.
9. Möller A. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *Methodological studies*. *Odont Tids* 1966;74:15-19
10. Nair PR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K-E, Sundqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990;16:580-588.
11. Tanaka M, Anguri H, Nonaka A, Kataoka K, Nagata H, Kita J, et al. Clinical assessment of oral malodor by the electronic nose system. *J Dent Res* 2004;83:317-321.
12. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative retreatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Rad Endod* 1998;85:86-93.

13. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurrence of *Candida albicans* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2000;26:695-698.
14. Trihaas J, Vognsen L, Nielsen P. Electronic nose: New tool in modelling the ripening of Danish blue cheese. *Int Dairy J* 2005;15:679-691.
15. Stuetz R, Fenner R, Engin G. Characterisation of wastewater using an electronic nose. *Wat Res* 1999;33:442-452.
16. Gardner JW, Shin HW, Hines EL. An electronic nose system to diagnose illness. *Sens Act Chemical* 2000;70:19-24.
17. Pavlou A, Turner A, Magan N. Recognition of anaerobic bacterial isolates in vitro using electronic nose technology. *Letters in Applied Microbiology*. 2002;35(5):366-369.
18. Yamada Y, Takahashi Y, Konishi K, Katsuimi I. Association of odor from infected root canal analyzed by an electronic nose with isolated bacteria. *J Endod* 2007;33:1106-1109.
19. Aksebzeci BH, Asyali MH, Kahraman Y, Er Ö, Kaya E, Özbilge H, et al. Classification of root canal microorganisms using electronic-nose and discriminant analysis. *Biomed Eng Online* 2010;9:77.
20. Baumgartner J, Hutter J, Siqueira J. Endodontic microbiology and treatment of infections. *Pathways of the Pulp* 2006;2:580-607.
21. Byström A, Sundqvist G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. *Euro J Oral Sci* 1981;89:321-328.
22. Dutta R, Hines EL, Gardner JW, Boilot P. Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose. *Biomed Eng Online* 2002;1:4.
23. Hancock H, Sigurdsson A, Trope M, Moiseiwitsch J. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad Endod* 2001;91:579-586.
24. Cheung G, Ho M. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. *Molecular Oral Microb* 2001;16:332-337.
25. Sen B, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. *Dent Trauma* 1995;11:6-9.
26. Şen BH, Safavi KE, Spångberg LS. Growth patterns of *Candida albicans* in relation to radicular dentin. *Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad Endod* 1997;84:68-73.