

JÜVENİL VE ERİŞKİN PERİODONTİTLİ İLE SAĞLIKLI BİREYLERDE SUBGINGİVAL FLORANIN KARANLIK ALAN MİKROSKOBİSİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ¹

Köksal BALOŞ² Gönen ÖZCAN³ Belgin BAL⁴
Emel AYTUĞ⁵ Gökhan AÇIKGÖZ⁶

GİRİŞ

Periodontal hastalıkların etiolojisinde ve ilerlemesinde bakteri plaqının rolü yapılan çeşitli klinik ve bakteriyolojik araştırmalarla ortaya konmuştur (1, 2, 3, 6, 7, 8, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19). Bu sebeple hastalığa bağlı yıkımın oluşmasında konakçının lokal doku cevabının önemi yanında, subgingival floranın kalitatif ve kantitatif özelliklerinin önemine değinen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (1, 2, 10, 12, 19). Plak yapısının mikrobiyolojik yönünü inceleyen bu araştırmaların bir kısmı karanlık alan mikroskopisi ile gerçekleştirilmiş ve uygulanma yönteminin oldukça pratik olması nedeni ile bu teknik günümüzde de yaygın olarak kullanılan bir araştırma metodu haline gelmiştir (10, 13, 14). Yine karanlık alan mikroskopisi ile yapılan çalışmalarla Jüvenil ve post-jüvenil kriterlerine uygun hastaların subgingival mikrofloraları incelenmeye çalışılmıştır (5).

Ülkemizdede sınırlı düzeyde incelenen bu konuya katkıda bulunmak, özellikle henüz kesin bir kriterle ulaşılmayan jüvenil, post-jüvenil ve erişkin periodontitis tanısında subgingival floranın durumunu ince-

-
- (1) Klinik çalışma. G.Ü. Dişhek. Fak. 1. Bilimsel Kongresinde tebliğ edilmiştir. Milli Kütüphane, Ankara, 16 - 21 Haziran 1987.
 - (2) G.Ü. Dişhek. Fak. Dekanı ve Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı, Prof. Dr.
 - (3) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi, Doç. Dr.
 - (4) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Araş. Gör., Dr. Dt.
 - (5) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Araş. Gör., Dr. Dt.
 - (6) G.Ü. Dişhek. Fak. Periodontoloji Anabilim Dalı Araş. Gör., Dt.

SUBGINGİVAL FLORA VE KARANLIK ALAN MİKROSKOPİSİ

lemek, ayrıca bu floraların sağlıklı bireylere ait subgingival floraya ayrıcalık gösterip göstermediğini tespit edebilmek için çalışmamız planlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamız, G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na başvuran, klinik ve radyolojik muayeneleri sonucunda alt ve üst çene 1. Molarlar ile kesticiler bölgelerinde aşırı vertikal kemik kaybı bulunan, aynı bölgelerde derin ceplere sahip, yaşları 15 - 18 arasında, 7'si bayan, 3'ü erkek olan ve literatür bilgilerine göre jüvenil periodontitis tanısına uyan 10 hasta ile bu belirtilerin daha ciddi olarak görüldüğü, yaşları 25 - 28 arası değişen ve post-jüvenil kriterlerine uyan 11 kişi ve yaygın horizontal kemik kaybı olan erişkin yaştaki 16 kişi üzerinde yapılmış, ayrıca kontrol grubu olarak G.Ü. Dişhek. Fak. öğrencilerinden sağlıklı dişetlerine sahip 10 birey dahil edilerek kontrol grubu oluşturulmuştur.

Hastaların ve kontrol grubunun oluşturulmasında son 3 ayda antibiotik kullanılmış olmalarına, ayrıca sistemik hastalıklarının bulunmamasına dikkat edilmiştir. Bunun dışında bayanların hamilelik döneminde bulunmamalarına, geçmiş anamnezlerinde ortodontik ve protetik aparey kullanılamamalarına özen gösterilmiş, mevcut 20 yaş dişleri değerlendirme dişi tutulmuştur. Bu şartlara uygun olarak tespit edilen 37 hasta ve 10 sağlıklı birey olmak üzere toplam 47 kişinin önceki ağızda bulunan tüm dişlerinden Quigley-Hein'in plak indeksi (1962), Silness ve Löe'nün gingival indexi (1963) ve periodontal sonda cep derinlikleri aynı araştırcı tarafından saptanarak kişisel anamnez formlarına kaydedildi. Daha sonra subgingival floranın sağlanması amacıyla 5 - 7 mm. arasında cep derinliğine sahip dişlerin üzerindeki supragingival plak tamamen temizlenerek subgingival plak numuneleri elde edildi. Bu işlem sağlıklı bireylerde 1. molar ve önkeserlerin mezial yüzlerinde gerçekleştirildi. Steril bir küretle sulkusun tabanına kadar inilerek alınan plak örneği % 85'lik steril serum fizyolojik ile % 1 jelatinli solusyon içine yerleştirildi. Genellikle 0.1 ml. solusyon içindeki plak, bir enjektör yardımıyla homojenize edildi ve buradan lam üzerine bir damla konularak üzeri hava kabarcığı yapmadan lamelle kapatılıp 1200 büyütülmeli karanlık alan mikroskopisinde ince-

lemeye alındı. Seçilen bir bölgeden yaklaşık 100 - 200 bakteri morfolojik yapılarına bakılarak kok, çubuk, spiroket, fusiform, filament ve hareketli çubuklar olmak üzere 6 ayrı sınıfta sayılarak formlarına işlendi.

Bireysel ve grup ortalamaları alındıktan sonra grupların ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi ve Student t testi, varyans analizi sonucunda ortalamalar arası fark anlamlı bulunduğuanda farklılık yaratan grup veya grupları tespit etmek için Dun-can testi uygulandı.

BULGULAR

Plak indeks, gingival indeks ve cep derinliği yönünden mevcut 4 gruba ait değerler Tablo 1'dedir.

Tablodan da görüldüğü gibi her 3 parametre için sağlıklı grubun değerleri, diğer gruplara göre farklıdır ve bu fark sağlık ve tespit edilen hastalığın seviyesi ile ilgilidir.

4 gruptan elde edilen subgingival floranın morfolojik yapılarına göre 6 ayrı mikroorganizma için yöntem gereği yapılan değerlendirme ve karşılaştırılmalarına ait sonuçlar ise Tablo 2'de verilmiştir.

Yine bu grplarda inceleen bakterilerin % dağılımını gösteren sonuçlar Grafik 1'de gösterilmiştir.

Kokların gruplar arası dağılımı sağlıklı ve jüvenil grupta % 81.11 ve % 51.72 ile floranın en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Birbirine benzer oranda olmak üzere post-jüvenil ve erişkin grupta oldukça düşük yüzdelerededir (Grafik 2).

Hareketli çubuklar ise post-jüvenil ve erişkin grupta % 19.63 ve % 16.26 ile oldukça yakın değerlerde bulunmakta, jüvenil ve sağlıklı grupta ise floranın az bir kısmını oluşturmaktadırlar (Grafik 3).

Gruplar arası çubuk dağılımına baktığımızda hemen hemen tüm grplarda benzer sonuçlar alındığı, ancak en yüksek değerin erişkin grupta bulunduğu görülmektedir (Grafik 4).

Spiroket dağılımı ise görüldüğü gibi en yüksek oranda ve benzer şekilde post-jüvenil ve erişkin grupta bulunmaktadır (Grafik 5).

TABLO 1 : İncelenen kriterlerin gruplar arası karşılaştırılması.

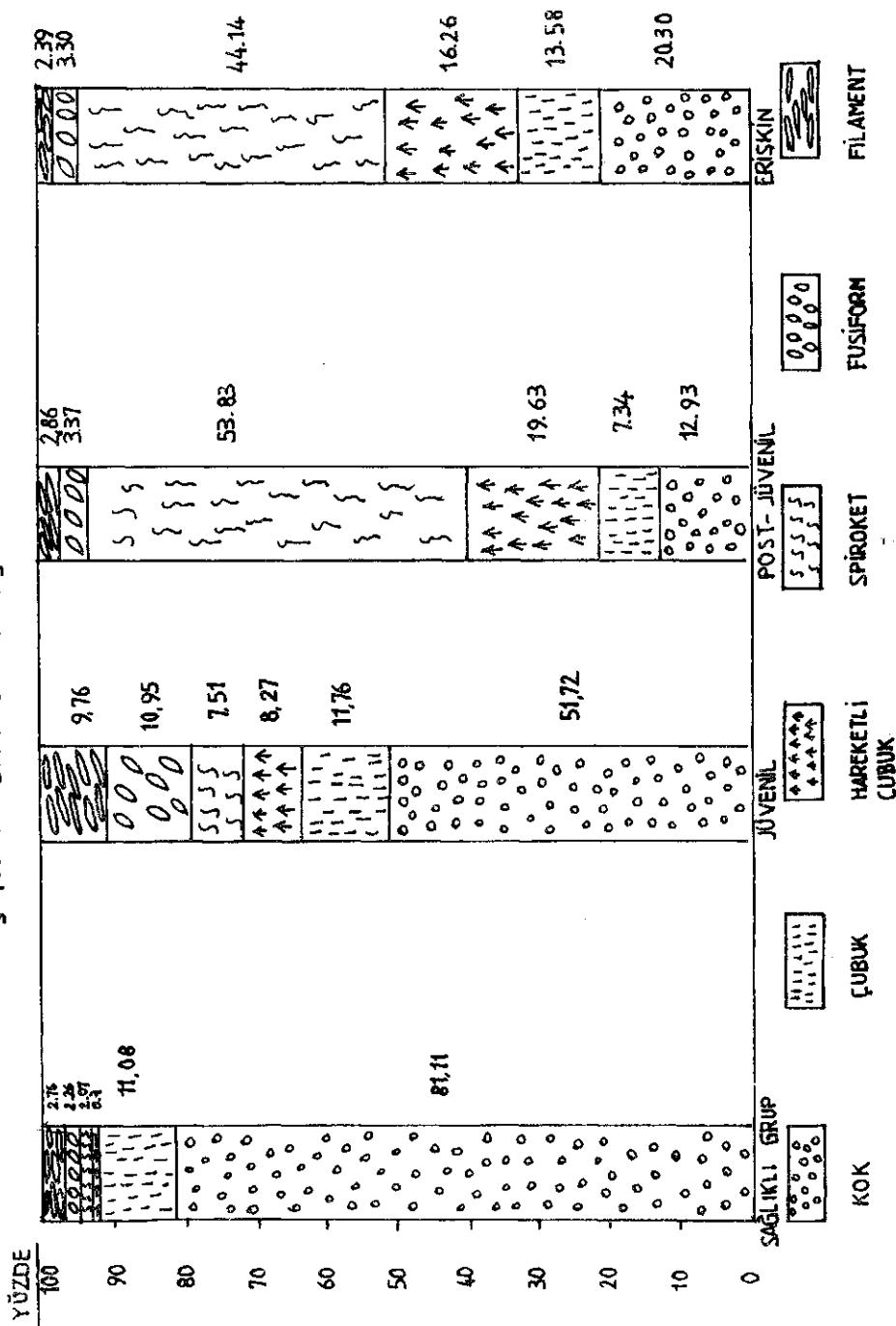
İNCELENEN KRİTERLER		SAĞLIKLI GRUP	ERİŞKİN P	JÜVENİL P	POST-J P		S E	S J	S P-J	E J	E P-J	J P-J
Plak İndeks	n	10	16	10	11							
	x	1.175	1.747	1.773	2.250	P	<0.01	<0.01	<0.01			
	Sx	0.116	0.153	0.151	0.217							
Gingival İndeks	n	10	16	10	11							
	x	0.108	2.220	1.399	1.614	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.05
	Sx	0.039	0.113	0.172	0.213							
Cep Derinliği	n	10	16	10	11							
	x	1.227	5.190	3.550	3.463	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	<0.01	<0.01
	Sx	0.040	0.266	0.392	0.438							

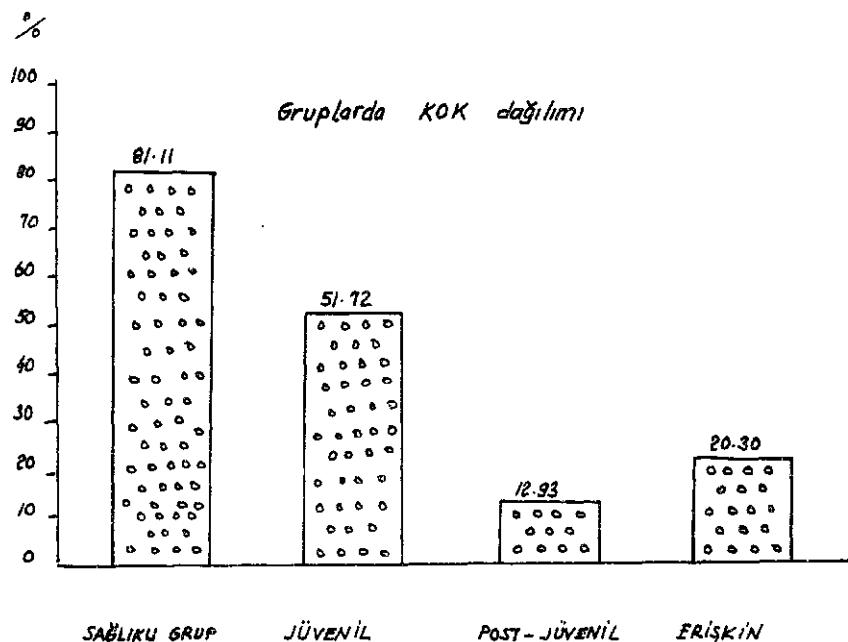
TABLO II : İncelenen kriterlerin gruplar arası karşılaştırılması.

İNCELENEN KRİTERLER		SAĞLIKLI GRUP	ERİŞKİN P	JÜVENİL P	POST-J P		S E	S J	S P-J	E J	E P-J	J P-J
Kok	n	10	16	10	11	P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	x	81.117	20.301	51.725	12.938		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
	Sx	3.450	0.466	1.510	0.613							
Çubuk	n	10	16	10	11	P						
	x	11.082	13.583	11.765	7.345							
	Sx	2.067	1.037	1.491	0.518							
Hareketli Çubuk	n	10	16	10	11	P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	x	0.700	16.267	8.275	19.645		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	Sx	0.334	0.646	0.524	0.521							
Spiroket	n	10	16	10	11	P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	x	2.070	44.146	7.515	53.833		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	Sx	0.648	1.087	0.473	0.750							
Fusiform	n	10	16	10	11	P						
	x	2.269	3.305	10.958	3.370							
	Sx	0.853	0.268	0.434	0.296							
Filament	n	10	16	10	11	P						
	x	2.762	2.273	9.762	2.869							
	Sx	0.960	0.291	0.439	0.427							

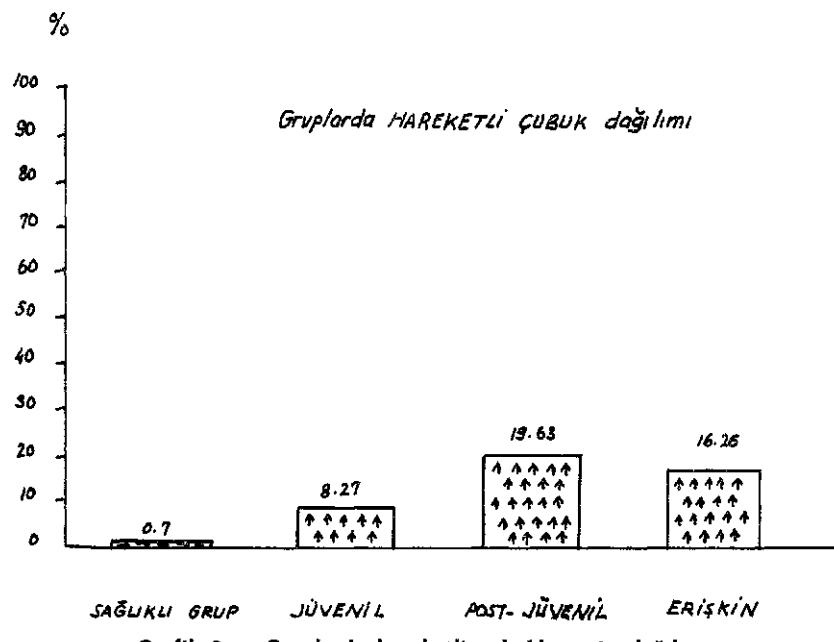
SUBGINGİVAL FLORA VE KARANLIK ALAN MİKROSKOPİSİ

Grafik 1: Sağlıklı, Jüvenil, Post-Jüvenil ve Erişkin periodontitis gruplarında bakterilerin % dağılımı



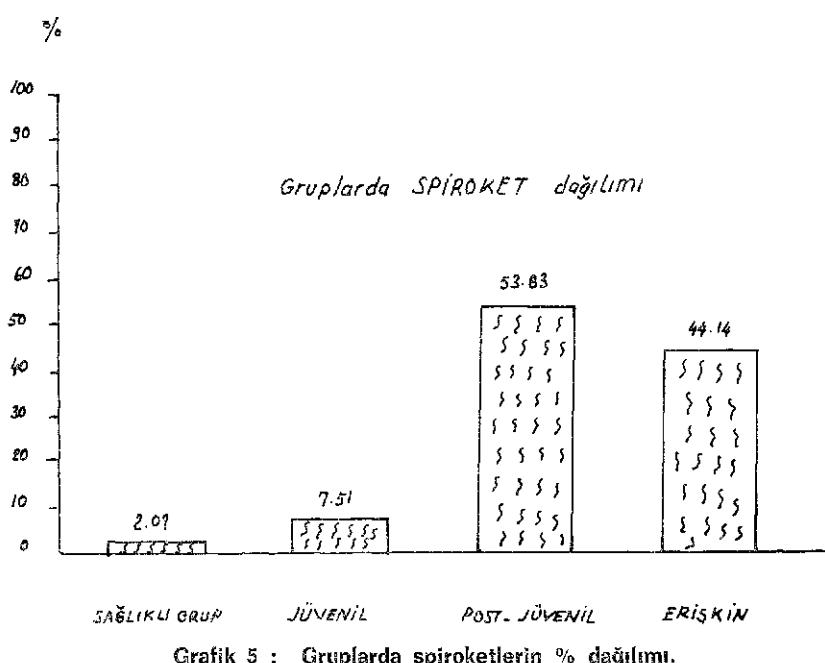
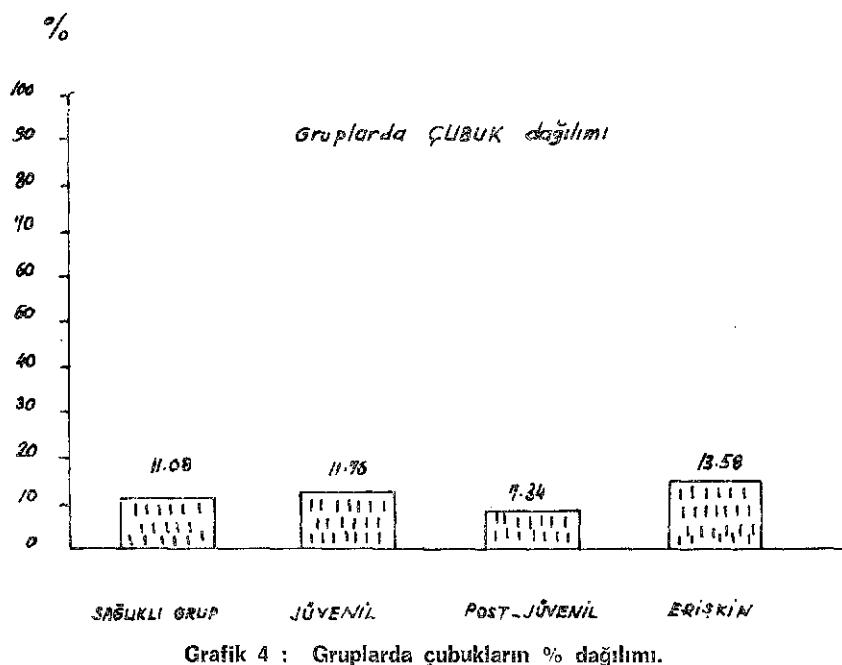


Grafik 2 : Gruplarda kokların % dağılımı.



Grafik 3 : Gruplarda hareketli çubukların % dağılımı.

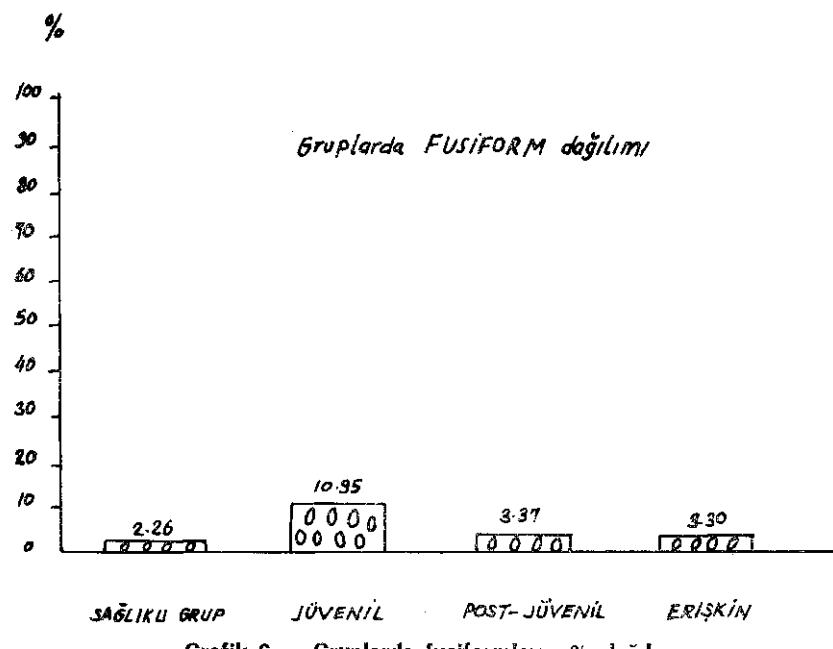
SUBGINGİVAL FLORA VE KARANLIK ALAN MİKROSKOPİSİ



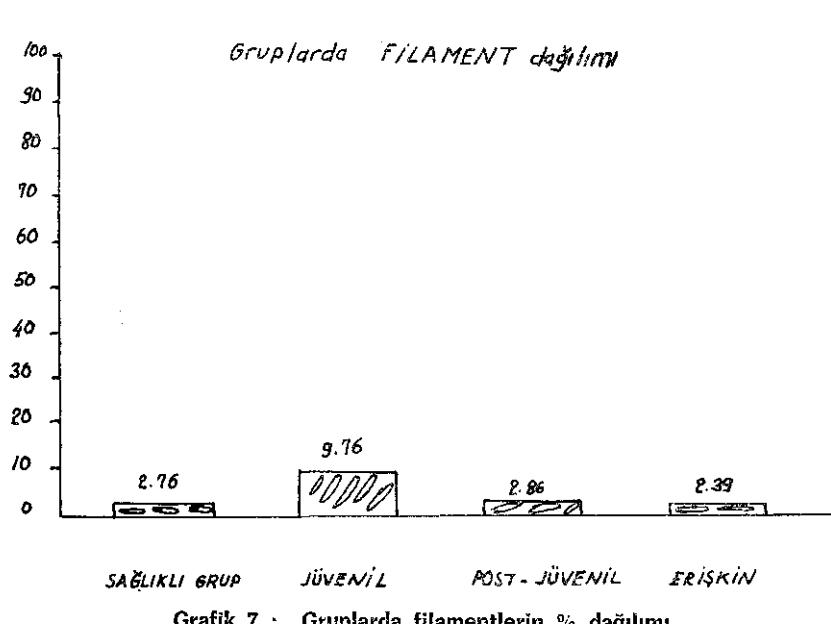
Fusiformlar jüvenil grupta floranın % 10.95'ini oluşturarak diğer gruplarla farklılık göstermektedir (Grafik 6).

Köksal BALOS, Gönен ÖZCAN, Belgin BAL, Emel AYTUG, Gökhan ACIKGOZ

Benzer şekilde filamentler en yüksek oranda jüvenil grupta bulunmaktadır. Diğer gruplar arasında fark gözlenmemektedir (Grafik 7).



Grafik 6 : Gruplarda fusiformların % dağılımı.



TARTIŞMA

Günümüze kadar yapılan çeşitli araştırmalarla karanlık alan mikroskopisinin periodontal hastalığın tanımlanmasındaki önemine değinmiştir (5, 9). Periodontal hastalıkların teşhisinde yardımcı pratik bir yönetim olan bu metodu, periodontal hastalığa sahip çeşitli yaş gruplarındaki bireylerin subgingival floralarının kantitatif ve kalitatif olarak değerlendirilmesinde kullanmak ve metodun teşhis aracı olarak etkinliğini araştırmak amacımızı oluşturmuştur.

Listgarten ve Hellden (1978) yaşıları 21 ile 42 arasında değişen bireylerin sağlıklı ceplerine ait subgingival floralarında kokların baskın olduğunu vurgulamışlardır (9). Araştırmacıların sonuçları bizim araştırmamızdaki sağlıklı grubun sonuçları ile uyum halindedir. Bu grupta koklar florada % 81.11 oranında baskın bulunmuştur.

Çalışmamızda jüvenil periodontitis grubunu oluşturan bireylerin floralarında baskın olan grup % 51.72 ile koklardır. Spiroketler % 7.51, hareketli çubuklar % 8.27, çubuklar ise % 11.76 oranında bulunmuş ve bu veriler benzer çalışmaların sonuçlarıyla uyum göstermiştir. Greenstein ve Polson yapılan kültür çalışmaları sonucu jüvenil periodontitisde izlenen *Actinomyces Actinomycetemcomitans*'ın, mikroskopik olarak spiroket veya hareketli mikroorganizma olarak değil, kokoid forma izlendiğini belirtmişlerdir. Periodontal hastalığın aktivitesinde etkin grup olduğu söylenen hareketli çubuk ve spiroketlerin, diğer hastalık gruplarına göre jüvenil periodontitisde az miktarda görülmesi, genç yaşıarda aşırı yıkım gözlenen bu bireylerde hastalık etkeni olarak başka faktörlerinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu da jüvenil grubunda oluşan yıkımın bakteriler arasındaki patojenite ve birbirleriyle tutunma farkındanda olabileceği kadar asıl immün sistem meseleleriyle yakından ilgilidir.

Araştırmamıza katılan post-jüvenil ve erişkin gruplarından alınan subgingival mikroorganizmaların birbirlerine oranı benzer şekilde bulunmuştur ve her 2 gruptada spiroketlerle, hareketli çubuklar floranın en büyük bölümünü oluşturmuşlardır. Bu sonuçlar Lilienberg ve Lindhe'nin 1980'de yaptıkları çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Post-jüvenil ve erişkin gruplarında bakteri oranlarının benzer şekilde bulunmuş olması, bu grupların farklı olarak adlandırılmasının ne derecede geçerli olduğunu düşündürdüğü gibi bizleri şüpheli tanımlara götürebilir.

Kompleks bir yapısı olan periodontal mikrofloranın hangi türlerinin periodontal hastalıkların patogenezinde ana etken olduğu halen tartışma konusudur ve tam olarak belirlenmemiştir. Durum böyle olduğu halde özellikle son yıllarda periodontitislerin sınıflanmasında erişkin, jüvenil, post-jüvenil gibi yeni yeni terminolojiler konulduğu, bunlar arasında da kesin tanıya gidecek bir kriterin olmadığı görülmektedir.

Periodontal hastalığın tanısında, karanlık alan mikroskobisi pratik ve ekonomik bir yöntem olmasına karşılık, kanımızca tek başına yeterli ve hassas bir metod değildir. Bu nedenle tanıya yönelik yapılacak araştırmaların kültür çalışmaları ile desteklenmesi ve sonuçların klinikle tedavi planı açısından iyi birleştirilmesi gereğine inanıyoruz.

ÖZET

Çalışmamızda 21 jüvenil (10 jüvenil, 11 post-jüvenil), 16 erişkin ve 10 sağlıklı olmak üzere toplam 47 kişiden plak indeks (Quigley-Hein), gingival indeks (Löe-Silness), periapikal radyografileri ve cep derinlikleri tüm dişlerden olmak üzere alınmıştır. Ayrıca 5 - 7 mm. olan bölgelerden subgingival plak numunesi alınarak karanlık alan mikroskobisinde incelenmiş ve sonuçlar gruplar arasında karşılaştırılarak biyometrik olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak kokların sağlıklı ve jüvenil grupta floranın en büyük bölümünü oluşturduğu, post-jüvenil ve erişkin grupta ise oldukça düşük yüzdelerde bulunduğu görülürken, spiroketlerin en yüksek oranda ve benzer şekilde post-jüvenil ve erişkin grupta olduğu bulgulanmıştır.

SUMMARY

THE EVALUATION OF SUBGINGIVAL FLORA AT JUVENILE, ADULT AND HEALTHY INDIVIDUALS BY DARK FIELD MICROSCOPY

In the present study, PI, GI, pocket depth, periapical radiographies were obtained from 21 juvenile periodontitis (10 juvenile, 11 post-juvenile), 16 adult periodontitis patients and 10 healthy individuals teeth.

SUBGINGİVAL FLORA VE KARANLIK ALAN MİKROSKOPİSİ

Also subgingival plaque samples were obtained from the pockets of 5 - 7 mm. depth to evaluate their composition under darkfield microscopy. The results were correlated between the groups statistically. Finally, it was found that the % of coccus were very high in healthy and juvenile groups but they were seen at a low % in post-juvenile and adult groups. Also the ratio of spirochetes were found at a high degree in post-juvenile and adult groups.

K A Y N A K L A R

- 1 — Addy, M., Newman, H., Langereud, M., Gho, J.G.L. : Dark field Microscopy of the Microflora of Plaque. *Br. Dent. J.*, 155 : 269, 1983.
- 2 — Africa, C.N., Parker, J.R., Reddy, J. : Bacteriological Studies of Subgingival Plaque, in a Periodontitis-Resistant Population. 1. Darkfield Microscopic Studies. *J. Per. Res.*, 20 : 1, 1985.
- 3 — Axelsson, P. : The Effect of Plaque Control Procedures on Gingivitis, Periodontitis and Dental Caries. Thesis, University of Göterberg, 1978.
- 4 — Greenstein, G., Polson, A. : Microscopic Monitoring of Pathogens Associated with Periodontal Diseases. A Review. *J. Periodontol.*, 56 : 740, 1985.
- 5 — Liljenberg, B., Lindhe, J. : Juvenile periodontitis. Some microbiological, histopathological and clinical characteristics. *J. Clin. Per.*, 7 : 48, 1980.
- 6 — Lindhe, J., Hamp, A.E., Löe, H. : Experimental Periodontitis in the Beagle Dog. *J. Per. Res.*, 8 : 1, 1973.
- 7 — Lindhe, J., Hamp, A.E., Löe, H. : Plaque Induced Periodontal Disease in Beagle Dogs. A 4 year Clinical, Roentgenographical and Histometrical Study. *J. Per. Res.*, 10 : 243, 1975.
- 8 — Lindhe, J., Liljenberg, B., Listgarten, M. : Some Microbiological and Histopathological Features of Periodontal Disease in Man. *J. Periodontol.*, 51 : 264, 1980.
- 9 — Lisgarten, M.A., Hellden, L. : Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J. Clin. Per.*, 5 : 115, 1978.
- 10 — Lisgarten, M.A., Levin, S., Schifter, C.C., Sullivan, P., Evian, C.I., Rosenberg, E.S. : Comparative Differential Dark Field Microscopy of Subgingival Bacteria from Tooth Surfaces With Recent Evidence of Recurring Periodontitis and from Nonaffected Surfaces. *J. Periodontol.*, 55 : 398, 1984.

- 11 — Löe, H., Theilade, E., Jensen, S.B., Schiott, G.R. : Experimental Gingivitis in Man (III). The Influence of Antibiotics on Gingival Plaque Development. *J. Per. Res.*, 2 : 282, 1967.
- 12 — Magnusson, I., Lindhe, J., Yonoyama, T., Liljenberg, B. : Recolonization of a Subgingival Microbiota following Scaling in Deep Pockets. *J. Clin. Per.*, 11 : 193, 1984.
- 13 — Özcan, G., Baloş, K., Yalım, M. : Çeşitli Konsantrasyonlardaki Chlorhexidine Direkt İrrigasyonlarının Subgingival Floraya Etkileri. *G.Ü. Dişhek. Fak. Der.*, Cilt 2, Sayı 2 : 85, 1985.
- 14 — Özcan, G., Baloş, K., Yalım, M. : Metronidazol, Chlorhexidine ve Povidone İodene'nin Bakteri Plağı Eliminasyonuna Etkileri. *G.Ü. Dişhek. Fak. Der.*, Cilt 2, Sayı 2 : 101, 1985.
- 15 — Rosling, B. : Plaque Control. A Determining Factor in the Treatment of Periodontal Disease. Thesis, University of Göteborg, 1976.
- 16 — Singletary, M.M., Crawford, J.J., Simpson, D.M. : Dark-field Microscopic Monitoring of Subgingival Bacteria During Periodontal Therapy. *J. Periodontol.*, 53 (11) : 671, 1982.
- 17 — Socransky, S.S. : Microbiology of Periodontal Disease : Present Status and future Considerations. *J. Periodontol.*, 48 : 497, 1977.
- 18 — Theilade, E., Theilade, J. : Role of Plaque in the Etiology of Periodontal Disease and Caries. *Oral Sciences. Rev.*, 9 : 23, 1978.
- 19 — Theilade, E., Wright, W.H., Jensen, S.B., Löe, H. : Experimental Gingivitis in Man. (II). A Longitudinal Clinical and Bacteriological Investigation. *J. Per. Res.*, 1 : 1, 1966.