

**PORPHYROMONAS GİNGIVALIS'İN DENTAL İMPLANT ÜZERİNE  
YAPIŞMASININ SCANNİNG ELEKTRON MİKROSKOP'TA İNCELENMESİ**  
**The Investigation of Adhesion of *Porphyromonas Gingivalis* on Dental  
Implants Using Scanning Electron Microscope**

Servet KESİM<sup>1</sup>, Mustafa ZORTUK<sup>2</sup>, Esmâ KAYA<sup>3</sup>, Hatice ÖZBİLGE<sup>4</sup>

**Özet :** Dental implantlar eksik dişlerin yerine kullanılabilen ve geleneksel protezler için alternatif oluşturan önemli bir tedavi seçeneğidir. Dental implantlarda önemli başarısızlık nedenlerinden biri periimplantitis mukozitistir. Bu çalışmanın amacı, scanning elektron mikroskop (SEM) ile periimplantitis mukozitis etkeni olan *Porphyromonas gingivalis*'in titanyum dental implant üzerine yapışmasını değerlendirmektir. Çalışmada kullanılmak üzere 6 adet dental implant (ITI, Strouman, 4.25mm x 10mm) steril durumda temin edilmiş ve bu implantların yüzeyine *Porphyromonas gingivalis*'in in vitro yapışması değerlendirilmiştir. Dental implantlardan alınan scanning elektron mikroskop görüntülerinde, yüzeyde yoğun *Porphyromonas gingivalis* bakterileri görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda *Porphyromonas gingivalis*'in titanyum implant üzerine yapışma özelliğinin olmasının ve periimplantitis mukozitisin etyolojisinde mikrobiyal virulans faktör olarak rol oynayabileceğinin göz önünde bulundurulması gerektiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Dental implantlar, periimplantitis mukozitis, *porphyromonas gingivalis*

Gittikçe yaygınlaşmakta olan dental implantlar, geleneksel protezler için önemli bir alternatiftir (1). Dental implantların klinik başarısı birçok çalışma ile gösterilmesine karşın, başarısızlıkla da karşılaşılabilir. Esposito ve arkadaşları (2), kullanım süre-

<sup>1</sup> Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Diş Hek.Fak,Periodontoloji AD, Kayseri

<sup>2</sup> Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Diş Hek.Fak,Protetik Diş Ted. AD, Kayseri

<sup>3</sup> Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Eczacılık Fak,Farmasötik Mik.AD, Kayseri

<sup>4</sup> Doç.Dr.Erc.Ün.Eczacılık Fak,Farmasötik Mik.AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 12.09.2007 Kabul Tarihi : 07.12.2007

**Summary :** Titanium dental implants are an important treatment option in the replacement of missing teeth. Implant failures can, however, occur and may be promoted the loss of tissue as a result of local bacterial infection (peri-implantitis). Consequently, the aim of this study is to identify the effects of the bacterial adherence on titanium dental implants using scanning electron microscope (SEM). In this study, sterile 6 titanium implants (ITI, Strouman, 4.25mm x 10mm) were prepared for bacterial adherence. An in vitro adhesion assay using *Porphyromonas gingivalis* was used to assess the adherence on the dental implants. Considerations of SEM images, a great deal *P.gingivalis* were found on the dental implants. This study revealed that *P.gingivalis* has the property to adhere to titanium implant, and therefore it should be considered in the etiology of periimplantitis mucositis as a microbial virulence factor.

**Key words:** Dental implants, periimplantitis mukositis, *porphyromonas gingivalis*

si 5 yılın üzerinde olan, 2812 implant üzerinde yaptıkları çalışmada %7.7 oranında, Jaffin ve arkadaşları (3) ise çalışmalarında % 35 oranında başarısızlık göstermişlerdir. Heydenrijk ve arkadaşları (4) geç başarısızlıkların periimplantitis mukozitisten ve aşırı yükten kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Periodontitis dişlerin destek dokularının kaybı ile kendini gösteren olaylar zinciridir. Hastalığın nedeni biofilm şeklindeki bakteriyel dental plaktır. Biofilm içindeki bir bakterinin patojen olabilmesi

ve dental implantta başarısızlığa yol açması için gerekli olan ilk aşama dokulara yapışabilme özelliğine sahip olmasıdır. Bakteriyel dental plağın büyük oranda toplandığı bölgelerde periodontal dokuların etkilenme riski de artmaktadır. Hastalığın oluşabilmesi için konakta ve florada bazı değişikliklerin olması beklenir. Bu değişikliklerden bazıları hastanın sigara içmesi ya da oral hijyenini yeterince sağlayamaması gibi faktörler yanında, floradaki mikroorganizmaların da sayısının artarak patojenite kazanması şeklinde sıralanabilir.

*P.gingivalis* ve *Actinobacillus actinomycetemcomitans* gibi mikroorganizmaların sayısındaki artışın, periodontal hastalığa yatkınlığı arttırabildiği üzerinde durulmaktadır (5,6). Özellikle *P.gingivalis*, periodontal sağlığı bozulmuş dişlerin subgingival florasından yoğun olarak elde edilmiştir. Sağlıklı bölgelerden elde edilen *P.gingivalis* oranı ise düşük olarak belirlenmiştir (7-9).

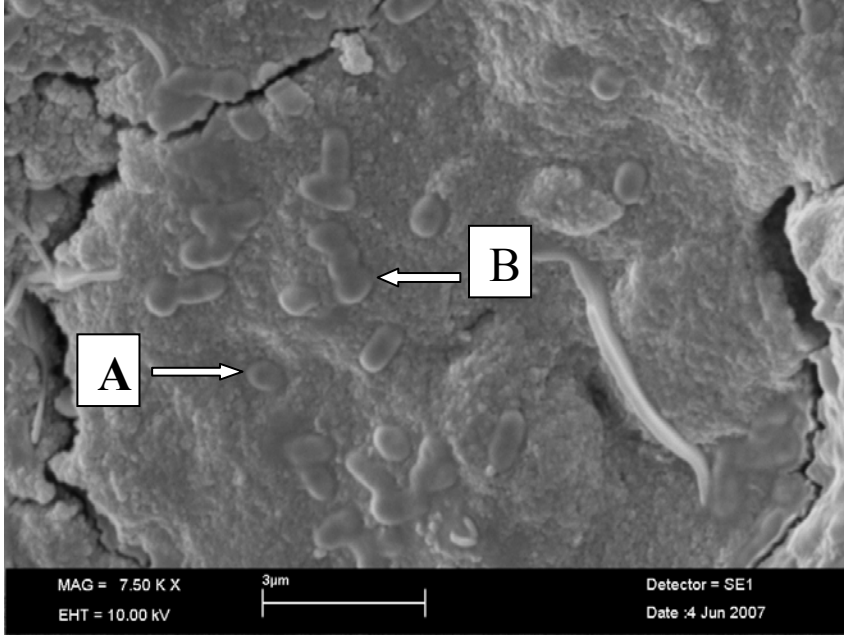
Bu çalışmanın amacı, scanning elektron mikroskop (SEM) kullanarak periodontal dokuların hastalanması ile doğrudan ilişkili olduğu düşünülen *P.gingivalis*'in kullanılabilir durumdaki steril dental implantlar üzerine yapışma durumunun belirlenmesidir.

## GEREÇ YÖNTEM

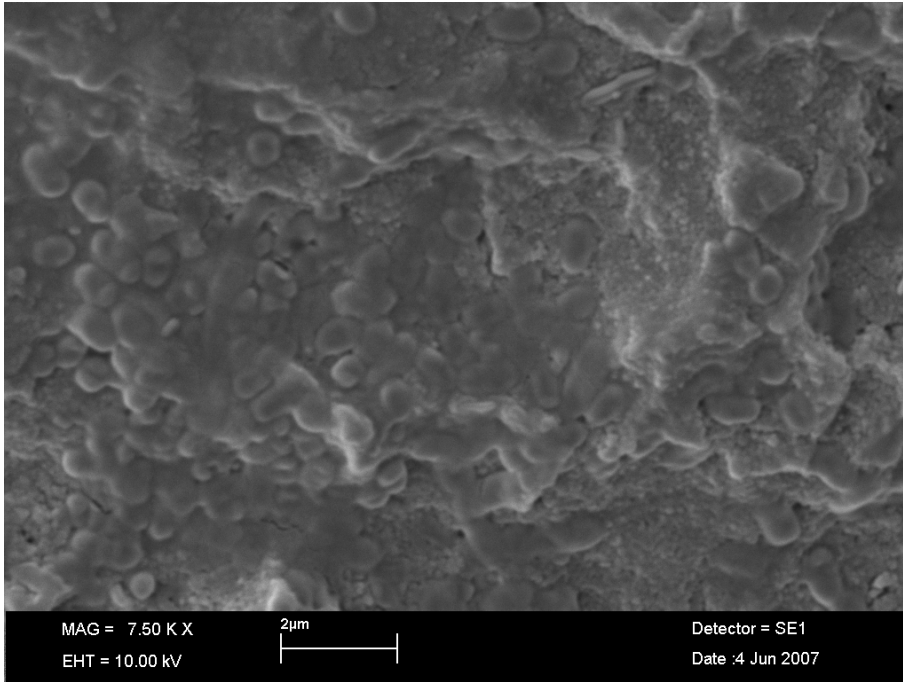
Çalışmada kullanılmak üzere 6 adet dental implant (ITI, Strouman, 4.25mm x 10mm) steril durumda temin edildi. Bakteriyel yapışmayı göstermek amacıyla *P.gingivalis* ATCC 33277 standart suşu kullanıldı. Bakteri tiyoglikolatlı sıvı besiyerine ekilerek 37°C'de 60 saat anaerobik şartlarda inkübe edildi. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu 4000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi ve bakteriyel pellet iki kez fosfat buffer saline (PBS) ile yıkandı. Son çökelti PBS ile dilüe edilerek bakteri yoğunluğu 0.5 McFarland standart bulanıklığına ayarlandı. Steril 96 kuyucuklu ELISA mikropleytinin çalışma yapılacak kuyucuklarına hazırlanan bakteri süspansiyonundan 50' şer µl konuldu ve her bir implantın 4 mm' lik apikal kısmı bu kuyucuklar içine ayrı ayrı yerleştirildi. Üzeri parafilmle kapatılan mikropleyt 37 °C' de 1 saat anaerobik şartlarda inkübe edildi. Daha sonra dental implantlar çıkarıldı ve PBS ile yıkandı. Kuruduktan sonra mini sputter coaterda (Polaron, UK) yaklaşık 135 A° kalınlığında altın paladyum (Au/Pd) ile kaplandı. Numune tutucuya (stab) sabitlenen dental implantlar, SEM'e (LEO-440, UK) yerleştirilerek görüntüler alındı.

## BULGULAR

*P.gingivalis* bakterilerinin dental implantlar üzerindeki SEM görüntüleri değerlendirildi. Dental implantların üç farklı bölgesinden SEM görüntüleri elde edildi, yer yer tekli, yer yer zincirler ve kümeler yapan basiller ve kokobasiller gözlemlendi (Resim 1,2).



**Resim 1.** Bir dental implantın SEM görüntüsünde tekli ve kümeler yapan basillerin görünümü (A:tek basilin görünümü, B:basil kümelerinin görünümü)



**Resim 2.** Bir dental implantın SEM görüntüsünde kümeler yapan kokobasillerin görünümü.

## TARTIŞMA

Periimplantitis mukozitise neden olabilen *P.gingivalis*'in enfeksiyona neden olması için öncelikle bakterinin kolonize olması ve dental implant bölgesine tutunması gerekir (9,10).

Periodontopatojenlerin belirlenmesi için yapılan hayvan çalışmalarında *P.gingivalis*'in, periodontitis lezyonlarında arttığı, periodontal cep epiteliyle ilişkili olduğu, tekrarlayan lezyonlarda başarılı tedavilerle baskılanabildiği ya da yok edilebildiği gösterilmiştir (11,12). Ayrıca *P.gingivalis*'in virulans faktörleri arasında, konak dokusuna yapışma ve invazyon yeteneğinin olduğu, konak hücrelerinden kollagenaz, tripsin benzeri enzim, fibrinolizin, fosfolipaz a, fosfolipataz enzimleri ile nötrofillerin fonksiyonunu etkileyen faktörlerin salınmasına yol açtığı bildirilmektedir (10,13).

Periimplant mukozitis, dental implant ve destek dokular arasındaki osteointegrasyonun kaybına yol açabilen olaylar zinciridir. Bakteriyel dental plağın büyük oranda toplandığı bölgelerde periimplant mukozitis riski de artmaktadır(5,6).

Narimatsu ve arkadaşları (14), çok şiddetli periodontal hastalıklı dokulardan aldıkları biyopsi- de *P.gingivalis* fibrinolizini tespit etmişler ve semente yapışan, plak üzerinde *P.gingivalis* fibrinözlerini bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen SEM görüntülerinde de, yoğun *P.gingivalis* ağlarına rastlanmış ve bunların dental implant üzerinde plak oluşumunu arttırabileceği düşünülmüştür. *P.gingivalis*'in SEM görüntüleri ayrıca, bakterinin dental implant üzerine yapışması ve lokalize olması hakkında bilgi vermektedir. İmplantlarda yüzey özellikleri ile bakteri yapışması arasındaki ilişkiyi inceleyen pek çok çalışma vardır (15,16). Ancak sonuçlar çelişkilidir. Bollen ve arkadaşları

(9) yaptıkları çalışmalarında, düzgün yüzeyler ve bakteri yapışması arasında anlamlı bir ilişki bulamamalarına rağmen, genel olarak yüzey pürüzlülüğünün mikrobiyal kolonizasyonu arttırdığına inanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan dental implantlar saf titanyumdan yapılmış, hidroksiapatit kaplama yöntemi ve enerji artırımı ile sahip olduğu yüzey özellikleri sayesinde korozyona karşı dirençli hale getirilmişlerdir. Bu tür dental implantlar kemik elastisitesine en yakın materyaller olup sıklıkla tercih edilmektedir.

Esposito ve arkadaşları (2) 2812 implantın 5 yıllık takibinde %7.7, Jaffin ve Bermen (3) ise %35 oranında başarısızlık bildirmişlerdir. Heijdenrijk ve arkadaşları (4) geç dönemdeki başarısızlıkların nedeni olarak periimplantitis mukozitis ve okluzal travmayı göstermişlerdir. Bu yüzden plak kontrolünün implantın ağız ortamına açılmasından hemen sonra başlaması gerektiği ve idame dönemindeki hijyen kontrolünün önemli olduğu vurgulanmaktadır. İmplant gövdesi hacimli ve aşırı konturlu olduğundan geleneksel ev bakım işlemleri daha zor olmaktadır. Ayrıca implant hastalarının genelde doğal dişlerini hijyen yetersizliği nedeni ile kaybettikleri düşünülürse bu bireylerin hijyen konusunda motivasyonunun önemi ortaya çıkmaktadır.

İn vitro çalışmalar, periodontal hastalıkların oluşmasında mikrobiyal kompozisyonunun değerlendirilmesi açısından önemlidir. Bu çalışmada 37°C 'de 1 saatlik bir inkübasyondan ve yıkama işleminden sonra titanyum dental implant üzerinde yer yer tekli, yer yer zincir ve kümeler yapan *P.gingivalis*'in varlığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, titanyum implant yerleştirilmiş hastalarda *P.gingivalis*'in implanta yapışma özelliğinin olmasının periimplantitis mukozitisin etyolojisinde mikrobiyal virulans faktör olarak rol oynayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

#### KAYNAKLAR

1. Pier-Francesco A, Adams RJ, Waters MG, Williams DW. Titanium surface modification and its effect on the adherence of *Porphyromonas gingivalis*: an in vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 2006,17:633-637.
2. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Failure patterns of four osseointegrated oral implant systems. *J Mater Sci Mater Med.* 1997, 8: 843-847.
3. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. *J Periodontol.*1991, 62: 2-4.
4. Heydenrijk K, Meijer HJ, Van Der Reijden, WA, Raghoobar GM, Vissink A Stegenga B. Microbiota around root-form endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants.*2002, 17: 829-838.
5. Drake DR, Paul J, Keller JC. Primary bacterial colonization of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999,14:226-232.
6. Scarano A, Piattelli M, Vrespa G, Caputi S, Piattelli A. Bacterial adhesion on titanium nitride-coated and uncoated implants: an in vivo human study. *J Oral Implantol.* 2003;29:80-85.
7. Wu-Yuan CD, Eganhouse KJ, Keller JC, Walters KS. Oral bacterial attachment to titanium surfaces: a scanning electron microscopy study. *J Oral Implantol.* 1995,21:207-213.
8. Tran SD, Rudney JD. Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Clin Microbiol.* 1996,34:2674-2678.
9. Bollen CM, Papaioanno W, Van Eldere J, Schepers E, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of abutment surface roughness on plaque accumulation and peri-implant mucositis. *J Clin Oral Implants Res.* 1996,7:201-211.
10. Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K, Hirayama A. Influence of surface modifications to titanium on oral bacterial adhesion in vitro. *J Biomed Mater Res.* 2000,52:388-394.
11. Soskolne WA, Cohen S, Sennerby L, Wennerberg A, Shapira L. The effect of titanium surface roughness on the adhesion of monocytes and their secretion of TNF-alpha and PGE2. *J Clin Oral Implants Res.* 2002,13:86-93.
12. Mabboux F, Ponsonnet L, Morrier JJ, Jaffrezic N, Barsotti O. Surface free energy and bacterial retention to saliva-coated dental implant materials an in vitro study. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2004,25; 39:199-205.
13. Grossner-Schreiber B, Griepentrog M, Haustein I, et al. Plaque formation on surface modified dental implants. An in vitro study. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12:543-551.
14. Narimatsu M, Noiri Y, Itoh S, Noguchi N, Kawahara T, Ebisu S. Essential role for the *gtfA* gene encoding a putative glycosyltransferase in the adherence of *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2004,72: 2698-2702.
15. Yoshinari M, Oda Y, Kato T, Okuda K. Influence of surface modifications to titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials.* 2001,22:2043-8.
16. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Differential diagnosis and treatment strategies for biological complications and failing implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants.*1999,14: 473-490.