T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI

PERİAPİKAL LEZYONLU DİŞLERDE CANDİDA ALBİCANS'IN ELEKTRONİK-BURUN TEKNOLOJİSİ KULLANILARAK TESPİTİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Proje No:

2389
Proje Türü
NAP

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Doç.Dr. Özgür ER
Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

Arş.Gör.Yasemin Kahraman
Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı

KAYSERİ

İÇİNDEKİLER: SAYFA NO:

ÖZET……1
ABSTRACT……2
GİRİŞ……...3
GENEL BİLGİLER……4
GEREÇ VE YÖNTEM……4
BULGULAR……5
TARTIŞMA VE SONUÇ……5
KAYNAKLAR……7

ÖZET

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 ezavantajları bulunmaktadır.

Elektronik burun yöntemi, insan doku duyusunu taklit edebilen bir elektronik sistami tanımlar. Elektronik burun sistemleri tıp alanında ve mikrobiyolojik araştırmalarda başarıyla kullnaılmaktadır. 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. Mikroskobi ile Candida varlığı tespit edilen örneklerin elektronik burun tarafından da tespit edilip edilemediği araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan elektronik burun sisteminin var olan teknolojisi 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 microflora including both aerobic and anaerobic microorganism. Clinicians must understand the close relationship between the presence of microorganism and endodontic disease process to determinate an effective procedure with respect to the treatment.

Culture and molecular methods are used to detect bacterial species in root canal infections. Despite the advances in molecular methods recently, 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 property of electronic nose system is the ability to detect different odour types in a short period of time with almost sensivity of human nose. Furthermore, the result of process using electronic nose system is objective.

In this study, samples that were collected from root canals, were compared macro- 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 intracanal candida species and needs more sensitive chemical sensors.

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

GİRİŞ

Endodontik tedavi, kök kanal sistemini mikroorganizmalardan temizlemek amacı ile biyomekanik preparasyon, irrigasyon ve sızdırmaz bir biçimde kök kanal dolgusu uygulamalarını içerir. Kök kanallarında bulunan mikroorganizmalar ağrılı alevlenmeler,periapikal yıkım ve inatçı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (1-6). Bu mikroorganizmaların identifikasyonu 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 kanalları ile ilgilidir. Mantarlarla kök kanal hastalıkları arasındaki ilişkinin araştırıldığı daha çok sayıda çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kök kanal enfeksiyonlardaki mikroorganizma türlerini ortaya çıkarmak için mikrobiyolojik kültür 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 (8).

Etkin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi, mikroorganizma varlığı ile endodontik hastalık arasındaki yakın ilişkinin kavranmasına bağlıdır. Bu proje ile elektronik burun teknolojisi kullanılarak mantarların periapikal lezyonlu dişlerin kök kanallarından hızlı ve güvenilir şekilde tespit edilmesi amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

Günümüzde bilim adamları ve mühendisler, görme ve işitme duyularının elektronik anlamdaki gelişmelerine tanıklık ederken, insan burnunun taklit eden sistemlerin yer alacağı piyasaların tahminlerini yapmaya başladılar. Elektronik-burun (e-nose) sistemleri bir kimyasal algılayıcılar (sensörler) dizisi kullanarak verilen bir kokunun "parmak izini" elde eder ve örüntü tanıma yazılımları kokunun tanımını ve ayrımını yapar. E-nose sisteminin başlıca uygulama alanları; gıda, çevre sağlığı, tıp ve bakteriyolojidir.

Mikrobiyoloji de e-nose kullanılarak yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Bir başka çalışmada ise petri kaplarındaki farklı mikroorganizma kültürlerinin e-nose teknolojisi ile koku verileri elde edilmiştir. Genel olarak birincil kök kanal enfeksiyonlarında kompleks ve anaerobik bakteriler baskındır. İnatçı ikincil enfeksiyonlarda mikroorganizmalar tek çeşittir veya birincil enfeksiyonlarla karşılaştırıldığında daha az çeşitlilik gösterir. Mantarlar birincil enfeksiyonlara göre ikincil enfeksiyonlarda daha yüksek oranda bulunmaktadır. Candida albicans ağız kavitesindeki en dirençli mikroorganizmalardandır, kök kanal sisteminde zor şartlarda bile yaşamlarını sürdürebilmektedir. C.albicans incelenen deney modellerinde en sık görülen ve en virülent Candida türüdür. Virülens faktörlerin değişkenliği sayesinde C.albicans dentine tutunabilmekte ve hatta penetre olabilmektedir. Enfekte kök kanallarında mantarların bulunma sıklığı %1 ile %17 arasında değişmektedir. Möller, sağlam kuronlu dişlerin nekrotik pulpa örneklerinden kültür ile Candida türlerini, Siqueira PCR ile 50 enfekte kök kanalını incelemişleridir. Şen ve ark. SEM ile periradiküler lezyonlu 10 çekilmiş dişteC.albicans bulunma sıklığını ve Siqueira da SEM ile birincil kök kanal enfeksiyonlarında mantar bulunma olasılığını araştırmışlardır. Kök kanalı enfeksiyonlarında mevcut olan mikroorganizmalar moleküler teknikler kullanılarak da araştırılmıştır. Birincil ve ikincil endodontik enfeksiyona sahip kök kanallarındaki mantar bulunma sıklığının incelendiği çeşitli çalışmalar Tablo 1' de gözlenmektedir. E-nose 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.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya dâhil edilecek olan hastalar Erciyes Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Diş Hastalıkları ve Tedavisi Anabilim Dalı'na kök kanal tedavisi yaptırmak amacıyla gelenler arasından seçildi. Birincil enfeksiyon (nekrotik pulpalı) ya da ikincil enfeksiyona (eski kanal tedavili) sahip hastaların kök kanallarından tek araştırıcı tarafından mikrobiyolojik örnek alındı. Bütün hastalardan çalışma öncesi RVG cihazı ile dijital radyografi alınarak kök ucundaki periapikal lezyon belirlendi. Tedavi edilecek dişlere rubber dam yerleştirildikten sonra uygun şekilde hazırlanarak giriş kaviteleri açıldı.

Mikrobiyolojik inceleme için örnekler, RVG ve apeks bulucu ile belirlenen çalışma boyutunda 2 dakika boyunca eğeleme işlemi yapıldıktan sonra Saboraud Dekstroz Broth besi yeri içerisine aktarıldı. Aynı işlem e-nose için tekrarlanarak data alımı yapılmak üzere hazırlandı. Besi yeri içerisinde uygun şartlar altında bekletilen örneklerden inkübasyon süresi sonunda üreyen koloniler, makroskobik ve mikroskobik olarak incelenerek Candida albicans varlığı tayin edildi. E-nose sistemi içinde daha önce dataları bulunan Candida albicans, örneklerden alınanlar ile karşılaştırılarak yine Candida albicans varlığı tespit edilmesi amaçlandı.

BULGULAR

İstenilen şartlara uygun olan 60 adet hastadan alınan örnekler, elektronik burun ile analiz edildi ve besi yerinde çoğaltılan örnekler makroskobik ve mikroskobik olarak incelendi. 60 örneğin içinde 6 örnekte Candida albicans varlığı gözlendi. Elektronik burun analizlerinde ise, Candida albicans varlığı tespit edilen 6 örnekte ve de diğer örneklerin hiç birinde Candida albicans varlığı tespit edilemedi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pulpal ve periradiküler hastalıklara mikroorganizmaların neden olduğu bilinmektedir. 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.

İki nedenle kök kanalından kültür yapılmaktadır;

1. Kök kanalının doldurulmasından önce uygulanan kanal tedavisi işleminin antibakteriyel etkinliğini değerlendirmek.
2. İnatçı enfeksiyonlu vakalarda, izole edilen mikroorganizmalardan antiniyotiklere duyarlılığı ve direnci olanları tespit etmek.

Kültür yöntemlerinin en büyük avantajı araştırılamayan mikroorganizmalar da dâhil 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 elektronik burun sistemi kullanılarak da araştırıldı. 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 geiştirilmesi veuygulanabirliğinin bulunması durumunda, potansiyel avantajları arasında, kök kanal patojenlerinin hızlı ve objektif olarak belirleme olasılığının bulunması, bu sayede doğru teşhis ve tedavi yöntemlerinin uygulanmasının sağlaması ve klinik uygulamada kullanılan yöntemlerin etkinliğinin hızlı değerlendirilebilmesi sayılabilir.
Mantarların kök kanal enfeksiyonlarında bulunma sıklığı çeşitli araştırmalarda belirlenmiştir. Moleküler yöntemler ve kültür metotlarının kullanıldığı araştırmalarda bu oran %2-21 arasında bulunmuştur. Ayrıca farklı bir çalışmada periradüküler lezyonlu çekilmiş 10 dişin kök kanalları SEM ile incelenmiş ve 4'ünde mantar bulunmuştur. Baumgartner ve ark.periapikal radyolusenssili vakaların değerlendirildiği çalışmada birincil apikal periodontitli enfekte kök kanallı 24 dişin 5 (%21)'inde C. Albicans'ı tespit etmişlerdir.
C.albicans uzun süreli kök kanal enfeksiyonlarında bulunur, invaze olarabilir ve virülans etkinliğine sahiptir. Bu özelliklerinde dolayı periapikal bölgede yaşayabilme ve bu bölgeyi enfekte edebilme kabiliyeti önem arz etmektedir. 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 olmaktadır. EB sisteminin başarılı olması durumunda ilgili patojene yönelik uygulamaların yapılması, tedaviyi olumlu yönde etkileyecektir.

Mikroorganizmaların belirlenmesi için kullanılan geleneksel kültür ve moleküler yöntemlerin aksine elektronik burun sistemi, mikroorganizmaları sadece birkaç dakika içerisinde objektif olarak tespit edebilir ancak bu konuda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte elektronik burun veri seti büyüklüğünün yeterli olduğu, verilerin değerlendirme yöntemlerinin geliştirildiği ve hassaslaştırıldığı daha fazla sayıda araştırmanın yapılması gerektiği düşünülmektedir. Elektronik burun sistemi ile daha yüksek başarı oranlarına ulaşıldığı taktirde bir sonraki aşamada klinik kullanımda hasta başında hızlı teşhiste kullanılıp kullanılamayacağı değerlendirilebilir. Önceki çalışmalara göre kök kanal patojeni mikroorganizmaların elektronik burun teknolojisi ile %80 başarı oranı ile sınıflandırılabileceği görülmüştür. Ama bu çalışmada klinik şartlarda, periapikal ve kök kanal sisteminde bulunan C. Albicans miktarının elektronik burun sisteminin günümüzdeki hassasiyet derecesi ile tespit edilemeyeceği görüldü.

KAYNAKLAR:

1.Sjögren U, Hanström L, Happonen RP, Sundqvist G. Extensive bone loss associated with periapical infection with Bacteroides gingivalis: a case report. Int Endod J 1990; 23(5): 254-262.

2. Oliveira JCM, Siqueira JF, Alves G, Hirata RJ, Andrade AFB. Detection of Porphyromonas endodontalis in infected root canals by 16S rRNA gene-directed polymerase chain reaction. J Endod 2000; 26(12): 729-732.

3. Griffee MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrawy AH, Newton CW. The relationship of Bacteroides melaninogenicus to symtoms associated with pulpal necrosis. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 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. Yoshida M, Fukushima H, Yamamoto K, Ogawa T, Toda T, Sagawa H. Correlation between clinical symtoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. J Endod 1987; 13: 24-28.

6. Fouad AF, Barry J, Caimano M, Zhu Q, Carver R, Hazlett K, Radolf JD. PCR-based identification of bacteria associated with endodontic infections. J Clin Microbiol 2002; 40(9): 3223-3231.

7. Siqueira JF, Roças IN. PCR methodology as a valuable tool for identification of endodontic pathogens. J Dent 2003; 31(5): 333-339.

8. Odell LJ, Baumgartner JG, Xia T, David LL. Survey for collagenase gene prtC in Porphyromonas gingivalis and Porphyromonas endodontalis isolated from endodontic infections. J Endod 1999; 25(8): 555-558.

9. http://www.gyte.edu.tr/ebulten/sayi9/makale1.htm

10. Gibson T.D., Prosser O., Hulbert J.N., Marshall R.W., Corcoran P. Detection and Simultaneous Identification of Microorganisms from Headspace Samples Using an Electronic Nose. Sens Actuators B Chem 1997; 44, 413–422.

11. Dutta R., Hines E. L., Gardner J. W., Boilot P. Bacteria classification using Cyranose 320 electronic nose, BioMed Eng OnLine 2002; 1-4.

12. Boilot P., Hines E.L., Gardner J.W., Pitt R., John S., Mitchell J., Morgan D.W., Classification of bacteria responsible for ENT and eye infections using the Cyranose system. IEEE Sens J 2002; 3, 247-253.

13. McEntegart C.M., PenroseW.R., Strathmann S., Stetter J.R. Detection and discrimination of coliform bacteria with gas sensor arrays. Sens Actuators B Chem 2000; 70, 170-176.
14. Pavlou A., Turner A.P.F., Magan N. Recognition of anaerobic bacterial isolates in vitro using electronic nose technology. Lett Appl Microbiol 2002; 35, 366-369.
15. Kara S, Aksebzeci BH, Kodaz H, Gunes S, Kaya E, Ozbilge H. Medical Application of Information Gain Based Artificial Immune Recognition System (IG-AIRS):
Classification of Microorganism Species, Expert Systems with Applications 2008 (article in press).
16. Sundqvist G, Fidor D, Persson S, Sjögren U.Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg 1998; 85: 86-93.
17. Siqueira JF Jr, Sen BH. Fungi in endodontic infections. Oral Surg Oral Med Oral Path Oral Rad and Endod 2004, 97: 632-41.
18. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbial status of root-filled teeth with apical periodontitis. Int Endod J 1998; 31. 1-7.
19. Sundqvist G, Figdor D. Life as an endodontic pathogen. Endod Topics 2003; 6: 3-8.
20. Slack G. The resistance to antibiotics of microorganisms isolated from canals. Br Dent J 1957; 18: 493-494.
21. Baumgartner JC, Watts CM, Xia T. Occurence of Candida albicans in infections of endodontic origin. J Endod 2000; 26: 695-698.
22. Möller AJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Odontologisk Tidskrift 1966; 74:380.
23. Siqueira JF, Roças IN, Moraes SR, Santos KR. Amplification of rRNA gene sequences for identification of selected oral pathogens in root canal infections. Int Endod J 2002; 35:345-251.
24. Sen BH, Piskin B, Demirci T. Observation of bacteria and fungi in infected root canals and dentinal tubules by SEM. Endod Dent Traumatol 1995; 11: 6-9.
25. Siqueira JF Jr, Roças IN, Lopes HP. Patterns of microbial colonization in primary root canal infections. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002;93:174-8.
26. Debelian GJ, Olsen I, Tronstad L. Observation of Saccharomyces cerevisiae in blood of patient undergoing root canal treatment. Int Endod J 1997;30:313-7.

27. Lana MA, Ribeiro-Sobrinho AP, Stehling R, Garcia GD, Silva BK, Hamdan JS. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility in vitro. Oral Microbiol _mmunol 2001;16:100-5.

28. Nair PNR, 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.

29. Waltimo TMT, Siren EK, Torkko HLK, Olsen I, Haapasalo MPP. Fungi in therapy resistant apical periodontitis. Int Endod J 1997; 30: 96-101.

30. Peciuline V, Reynaud A, Balciunene I, Haapasalo M. Isolation of yeasts and entericbacteria in root-filled teeth with chronic apical periodontitis. Int Endod J 2001;34:429- 434.

31. Hancock HHI, SigurdSson AD, Trope MB, Moiseiwitsch JB. Bacteria isolated after unsuccessful endodontic treatment in a North American population. Oral Surg Oral Med Oral Path 2001;91:579-586. 32. Cheung GS, Ho MW. Microbial flora of root canal-treated teeth associated with asymptomatic periapical radiolucent lesions. Oral Microbiol Immunol 2001;16: 332-7.

33. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Feraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganisms from canals of root- filled teeth with periapical lesions Int Endod J 2003;36:1-11.

34. Siqueira JF Jr, Roças IN. Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004; 97:85-94.

35. Tanaka M, Anguri H, Nonaka A, Kataoka K, Nagata H, Kita J, Shizukuishi S.Clinical assesment of oral malodor by the electronic nose system. J Dent Res. 2004 Apr;83(4):317-21.

36. Nonaka A, Tanaka M, Anguri H, Nagata H, Kita J, Shizukuishi S. Clinical assesment of oral malodor intensity expressed as absolute value using an electronic nose. Oral Dis. 2005;11 Suppl 1:35-6.

37. Yamada Y, Takahashi Y, Konishi K, Katsuumi I. Association of odor from from infected root canal analyzed by an electronic nose with isolated bacteria. J Endod. 2007 Sep;33(9):1106-9.