

PULPASI NEKROZE DIŞLERİN KÖK KANALLARINDAN ELDE EDİLEN MİKROORGANİZMALAR VE KEMOTERAPÖTİKLERE DUYARLIKLARI

Gündüz BAYIRLI¹, Sema YILDIRIM¹, Nezahat GÜRLER²,
Kurtuluş TÖRECİ²

ÖZET

Pulpası nekroze olmuş 52 dişin kök kanallarından alınan materyallerden 90 aerop, 67 anaerop bakteri ve 2 *Candida* suşu üretilmiştir. Aerop bakteriler içinde en sık izole edilenler 34 kanaldan üretilen alfa hemolitik streptokok ve 24 kanaldan üretilen koagülaz negatif stafilokoklar; anaerop bakteriler içinde en sık izole edilenler ise 17'si siyah pigmentli olmak üzere 36 kanaldan üretilen *Bacteroides* (*Porphyromonas* ? *Prevotella* ?) cinsinden bakteriler olmuştur. Aerop bakterilerin denendiği 22 antibiyotik ve anaerop bakterilerin denendiği 18 antibiyotik ve ornidazol arasında ampisilin+sulbaktam ve amoksisilin+klavulanik asit her iki grup bakterilerin; ofloksasin ve siprofloksasin aerop bakterilerin, kloramfenikol anaerop bakterilerin % 90'dan fazlasına etkili bulunmuştur.

SUMMARY

Microorganisms isolated from root canals of teeth with necrotic pulps and their susceptibility to chemotherapeutics.

From 52 root canals of teeth with necrotic pulps, 90 aerobic and 67 anaerobic bacteria and 2 *Candida* strains were isolated. The most frequently isolated aerobic bacteria were alpha hemolytic streptococci (from 34 canals) and coagulase negative staphylococci (from 24 canals), and anaerobic bacteria were 36 *Bacteroides* (*Porphyromonas* ? *Prevotella* ?) strains, 19 of which were nonpigmented and 17 were black pigmented. The susceptibility of aerobic bacteria was determined to 22 antibiotics, and of anaerobic bacteria to 18 antibiotics and ornidazole. Antibiotics effective on more than 90 % of strains were ampicillin+sulbactam and amoxicillin+clavulanic acid for both aerobic and anaerobic strains; ofloxacin and ciprofloxacin for aerobic and chloramphenicol for anaerobic strains.

GİRİŞ

Özellikle 1960'lı yıllarda kök kanallarındaki mikroorganizmalar ve kök kanallarının temizlenmesi için çeşitli yöntemler uygulanarak mikrobiyolojik araştırmalar yapılmıştır. 1980'li yıllara kadar kanalları doldurmadan önce mutlaka bir negatif kültür, hatta daha da ileri gidilerek iki negatif kültür elde edilmesi gerektiği ileri sürülmüştür. Tek seansta kanal tedavisi yöntemleri geliştirildikçe, kök kanallarından materyel alma işlemleri uygulanamaz olmuştur. Tabii bunda, negatif kültür almanın gereksiz olduğunu açıklayan araştırmaların da etkisi vardır.

II. Endodonti Kongresinde sunulmuştur (21-24 Nisan 1992, İstanbul).

1- İstanbul Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi, Endodonti Bilim Dalı, Çapa, İstanbul.

2- İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Bilim Dalı, Çapa, İstanbul.

Bununla beraber, özellikle periapikal lezyonların oluşmasında mikroorganizmaların önemli rolü bilinmektedir. Bu nedenle de, infekte kök kanallarındaki mikroorganizmaların incelenmesi için araştırmalar yapılmaktadır. İnfekte kök kanallarının mikroflorası çeşitli faktörlere bağlıdır. Kanaldan kültür alma metodu, kültür alma zamanı, kullanılan besiyeri, aerop ve anaerop şartların sağlanması, bulunan mikroorganizmalara etkili olabilir. 1960'lı yıllarda, henüz anaerop şartlarda materyal alıp, besiyerine ekme yöntemleri yaygınlaşmadığı için, araştırmaların çoğunda aerop mikroorganizmalar üretilmiştir. Bu nedenle, 1970'li yıllardan önce yapılan araştırmalarda birkaç adet siyah pigmentli *Bacteroides* (*Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp.) türü elde edilebilmiştir. 1970'li yılların başında anaerop kültür tekniklerinin yaygınlaşması ile kök kanallarının mikroflorası hakkındaki bilgilerimizde büyük değişiklik olmuş, infekte kök kanal sisteminde en çok bulunan bakterilerin anaeroplardan olduğu anlaşılmıştır (2). Anaeroplardan neden olduğu enfeksiyonlar, nekrotik dokuda, kan dolaşımının bozulduğu yerlerde, aerop ve fakültatif anaeroplardan yaptığı enfeksiyonu takiben oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarının azaldığı derin dokularda gelişir (2).

Siyah pigmentli anaerop Gram negatif çomak suşları ağız boşluğundan kaynaklanan, çeşitli mikroorganizmaların var olduğu cerahatli enfeksiyonlarda çok bulunurlar. Bunlar ayrıca, ilerlemiş periodontal hastalıklarda, periodontal ceplerin içinde en fazla bulunan bakterilerdir. Başlangıçta bir tür olarak *Bacteroides melaninogenicus* bildirilirken daha sonra birçok türü saptanmıştır: *B.asaccharolyticus*, *B.corporis*, *B.denticola*, *B.intermedius*, *B.melaninogenicus* ve *B.loescheii* (9). Bu türlerin virulansları arasında farklar vardır. *B.intermedius* ve *B.endodontalis* lokalize abseslere neden oldukları halde, *B.gingivalis*'in çok süratle yayılan absesler yaptığı bildirilmiştir (9). Siyah pigmentli *Bacteroides*'lerin diğer türlerinin virulansları hakkında, henüz elimizde az bilgi vardır.

Anaerop Gram negatif çomak şeklindeki bakterilerin proteolitik aktivitelerinin oldukça önemli virulans faktörü olduğu düşünülür. Bu bakterilerin proteinazları, bir savunma işlevi gören plazma proteinlerini etkilerler. *B.gingivalis*'in immunoglobulinleri bozduğu veya fonksiyonunu yitirdiği (8), plazma proteinaz inhibitörü olduğu (2) gösterilmiştir. *B.asaccharolyticus*, *B.denticola*, *B.endodontalis* gibi diğerleri de bu proteinlerin birini veya birçoğunu bozma gücüne sahiptirler (9).

Yakın bir geçmişe kadar *Bacteroides* cinsindeki türler olarak belirlenen bu bakterilerin sınıflandırılması ve nomenklatürü halen çok değişmiştir. Örneğin *B.asaccharolyticus* şimdi *Porphyromonas asaccharolytica*, *B.intermedius* şimdi *Prevotella intermedia*, *B.melaninogenicus* şimdi *Prevotella melaninogenica* cins ve tür adları ile, *B.endodontalis* ve *B.gingivalis* ise *Porphyromonas* cinsi içinde aynı tür adları ile, *B.corporis*, *B.denticola* ve *B.loescheii* ise *Prevotella* cinsi içinde aynı tür adları ile anılmaktadır (6). Eskiden *Bacteroides* cinsinden olarak bildirilen suşlar bugünkü nomenklatürde, çoğu *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella* cinslerinde olmak üzere, onun üzerinde cinsten olabilir ve o suşların bildirildiği zaman yeni sınıflandırmadaki kriterler kullanılmadığı için çoğunun yeni nomenklatürde hangi cins veya tür adıyla anılması gerekeceği bilinemez. Bu nedenle bu yazıda literatüre ait bilgiler, kaynağında kullanılan nomenklatür ile verilecektir.

Literatür incelendiğinde, kök kanallarındaki özellikle anaerop mikroorganizmaların izolasyonu için pek çok araştırma yapıldığı görülür, Periapikal akut iltihapların tedavisi için, kök kanalı dolgusu ile beraber çeşitli antimikrobiyal ilaçlar da kullanılmaktadır (11).

Bu ilaçların daha bilinçli olarak kullanılabilmesi için, bulunan mikroorganizmaların duyarlık deneylerinin yapılması gerekir. Literatür

araştırmalarında, bu konuda yapılan bazı çalışmalar vardır; fakat ya ağızdaki diğer lezyonlardan materyal alınmuştur veya kök kanalından elde edilen bir iki tür mikroorganizma incelenmiştir (10).

Bu araştırma nekroze pulpalı dişlerin kök kanallarında bulunan mikroorganizmaların, bugün ençok kullanılan kemoterapötik ilaçlara duyarlılık deneylerini yapmak için planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, I.. Dişhekimliği Fakültesi, Endodonti Bilim Dalına müracaat eden 52 hastanın nekroze pulpalı dişlerinden elde edilen materyaller İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalında incelenmiştir.

Dişi, ağız ortamından izole etmek için lastik örtü kullanılmıştır. Dişin kron kısmı tendrdiyotla silinerek ve endodontik kavite açılarak, sinir çekicilerle kanal boşaltılmıştır. rnek almak için sivri uçlu steril kağıt koni kök kanalına konularak bir dakika kadar beklenmiş, içinde 10 cm³ kıymalı buyyon besiyeri bulunan tüplere konmuş ve hemen mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmiştir. Kıymalı buyyon besiyerleri 48 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. Inkübasyondan sonra aerop kültür için koyun kanlı jeloz besiyerine, anaerop kültür için koyun kanlı triptik soy agar besiyerine azaltma yöntemiyle ekilmiştir. Anaerop kültür için kullanılan triptik soy agar besiyerine ve kıymalı buyyon besiyerine ayrıca zenginleştirici madde olarak maya zeti, vitamin K, hemin, redükleyici madde olarak da sistein monohidroklorr ilave edilmiştir.

Ekim yapılan anaerop besiyerleri BBL Gas Pak kavanozuna yerleştirilerek 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. 48 saatlik inkübasyondan sonra anaerop besiyerleri, aerop koşullarda 37°C'de bekletilen besiyerleri ile karşılaştırılarak farklı üreme olduğunda, önce bir Gram preparasyonu hazırlanmış, daha sonra aerop ve anaerop koşullarda bekletilmek üzere kolonilerden ikişer eğri besiyerinde saf kültür alınmıştır. Sadece anaerop koşullarda bekletilen besiyerinde üreme olduğunda suşun anaerop olduğuna karar verilmiştir. İzole edilen aerop (fakültatif) ve anaerop bakteriler rutin yöntemlerle idantifiye edilmiştir (1).

Bu çalışmada izole edilen ve anaerop Gram negatif omak olarak bildirilen suşlar eski sınıflandırmaya göre *Bacteroides* cinsinden olarak idantifiye edilmiştir. Yeni sınıflandırma ve nomenklatre (6) göre bu suşlar *Porphyromonas* veya *Prevotella* cinslerinden de olabileceğinden "anaerop Gram negatif omak" deyimi kullanılacaktır.

İzole edilen aerop bakterilerden *Neisseria* cinsi dışındakilerin kemoterapötiklere duyarlılıkları disk diffüzyon yöntemiyle, anaerop bakterilerinki ise buyyonda disk elüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Buyyonda disk elüsyon yönteminde antibiyotik içeren sıvı besiyerlerinden bulanık olarak görülen tüplerde o suşun o antibiyotiğe dirençli olduğuna; bulanık görülmeyip, Őeffaf kalan besiyerinde suşun o antibiyotiğe duyarlı olduğuna karar verilmiştir.

BULGULAR

Pulpası nekroze olmuş 52 dişin kök kanallarından üretilen aerop ve anaerop mikroorganizmalar tablo 1'de gösterilmiştir. İzole edilen 159 mikroorganizma suşunun 90'ı (% 57) aerop bakteri, 67'si (% 42) anaerop bakteri ve ikisi (% 1) *Candida*'dır. 20'sinden tek, 19'undan iki, 3'nden  tür olmak üzere 42 (% 81) dişin kök kanalından anaerop bakteri izole edilmiş, 10'undan izole edilmemiştir.

Tablo 1. Pulpası nekroze olmuş 52 dişin kök kanallarından üretilen mikroorganizmalar.

Mikroorganizma	Sayı	%
Aerop bakteriler		
Alfa hemolitik streptokok	42	81
Koagülaz negatif stafilokok	29	56
Staphylococcus aureus	8	15
Neisseria spp	6	12
Escherichia coli	3	6
Enterobacter spp	2	4
Mayalar		
Candida spp	2	4
Anaerop bakteriler		
Pigmentsiz anaerop Gram negatif çomak*	19	37
Pigmentli anaerop Gram negatif çomak*	17	33
Peptostreptococcus spp	11	21
Difteroid çomak	6	12
Lactobacillus spp	4	8
Fusobacterium spp	4	8
Actinomyces spp	4	8
Peptococcus niger	2	4

* Eski nomenklature göre Bacteroides (Porphyromonas?, Prevotella?).

Kök kanallarından izole edilen *Neisseria* cinsindekiler dışında 84 aerop bakteri süşunun 22 antibiyotiğe, 67 anaerop bakteri süşunun 18 antibiyotik ve ornidazole duyarlılıkları tablo 2 ve tablo 3'de verilmiştir. Ampisilin+sulbaktam, amoksisilin+klavulanik asit ve iki kinolon aerop bakteriler için; kloramfenikol, amoksisilin+klavulanik asit, ampisilin+sulbaktam anaerop bakteriler için, süşların % 90'dan fazlasının duyarlı bulunduğu en etkili antibiyotikler olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA

Bu araştırmada izole edilen mikroorganizmaların % 42'sinin anaerop bakteriler olduğu görülmüştür. Yalnız bakteriler dikkate alındığında bu oran % 42.7'dir. Sundqvist ve arkadaşları (9), nekrotik pulpalı ve apikal periodontitisli dişlerden izole ettikleri bakterilerin % 91.4'ünün anaerop bakteriler olduğunu bildirmişlerdir. Baumgartner ve Falkler (2) periapikal lezyonlu dişlerin köklerinin apikal 5 mm'lik kısmında bu oranı % 68 olarak saptamışlardır. Araştırmamızda anaerop bakterilerin oranının daha az olması, sadece pulpası nekroze dişlerden materyal alınmasına bağlı olabilir. Dişlerde periapikal lezyon varsa, anaerop bakteri oranı daha yüksek olacaktır. Nekrotik dokuda kan dolaşımı bozulmuş veya hiç yoktur, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli düşüktür. Dolayısıyla böyle bir ortam anaerop yaşama daha uygundur (2). Nitekim Fabricius ve arkadaşları (3) maymunlarda yaptıkları araştırmada, pulpa boşluğu ağız ortamına açılmış olan dişlerin dolgusundan sonra zamanla anaerop bakterilerin oranının arttığını bildirmişlerdir. Kobayashi ve arkadaşları (7) da, kök kanallarında anaerop bakterileri daha fazla bulmuşlardır.

Bu çalışmada kök kanallarından izole edilen anaerop bakteriler toplu olarak incelendiğinde, 52 kök kanalının 19'unda pigmentsiz, 17'sinde pigmentli anaerop Gram negatif çomak bulunmuştur (Tablo 1). Bu süşler eski nomenklaturde *Bacteroides* cinsinden, yeni nomenklaturde ise *Porphyromonas* veya *Prevotella* cinslerinden olarak bildirilecek süşlardır; ancak yeni nomenklature göre cins ve tür

Tablo 2. İzole edilen aerob bakterilerde kemoterapötiklere duyarlı suş sayıları.

Bakteriler	Ertromisin	Penisilin G	Ampisilin	Ampisilin+ sulbaktam	Amoksisilin+ klavulanik asit	Azidosilin	Mezlosilin	Sefalotin	Sefuroksim	Seftraksion	Sevoperazon	Sefotaksim	Seflazidim	Aztreonam	Gentamisin	Tobramisin	Amikasin	Netilmisin	Kloramfenikol	Terasiklin	Ofloksasin	Siprofloksasin	
Alfa hemolitik streptokok (n: 42)	34	20	22	42	41	31	39	37	34	39	37	37	30	-	32	34	35	32	38	30	41	40	
Koagülaz negatif stafilokok (n: 29)	24	20	22	29	29	25	28	28	26	25	26	26	21	-	20	24	28	26	25	21	25	26	
Staphylococcus aureus (n: 8)	5	2	3	7	6	4	3	4	4	7	6	5	3	-	5	6	8	7	7	4	7	7	
Escherichia coli (n: 3)	-	-	3	3	2	1	2	2	3	3	3	3	2	1	1	3	3	3	2	2	1	3	3
Enterobacter spp (n: 2)	-	-	2	2	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	2	1	2	1	1
Toplam (n: 84)	63	42	52	83	80	61	73	71	67	74	73	71	56	1	58	68	75	69	74	57	78	77	

Tablo 3. İzole edilen anaerop bakterilerde kemoterapötiklere duyarlı suş sayıları.

Bakteriler	Eritromisin	Penisilin G	Ampisilin	Ampisilin+ subaktam	Amoksisilin+ klavulanik asit	Azidosilin	Mezlosilin	Sefalotin	Sefuroksim	Seftraksion	Sefoperazon	Sefotaksim	Sefazidim	Kloramfenikol	Tetrasklin	Seftizoksim	Kindamisin	Rifampisin	Ornidazol
Pigmentsiz anaerop Gram negatif çömek (n:19)	7	5	4	17	18	11	16	3	4	6	7	5	3	17	5	15	14	8	16
Pigmentli anaerop Gram negatif çömek (n: 17)	9	5	6	16	16	8	13	4	4	7	9	7	5	17	8	13	15	7	15
Fusobacterium spp (n: 4)	4	3	4	4	4	3	4	2	3	4	4	3	2	4	3	4	3	2	4
Peptostreptococcus spp (n:11)	9	8	9	10	11	8	10	7	6	7	7	5	4	10	7	9	7	6	7
Peptococcus niger (n: 2)	2	1	1	2	2	2	2	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2
Actinomyces spp (n:4)	4	4	3	4	4	3	4	2	2	3	3	2	2	4	3	3	3	2	3
Lactobacillus spp (n:4)	4	3	3	4	4	3	4	2	2	2	4	2	1	4	2	3	4	2	4
Difteroid çömek (n:6)	5	3	4	6	5	3	5	3	3	4	4	3	2	6	3	5	5	3	5
Toplam (n: 67)	44	32	34	63	64	41	58	24	25	34	40	29	20	64	33	54	53	32	56

ayırımı için gerekli olan incelemelerin tümü yapılmadığından "anaerop Gram negatif çomak" olarak bildirilmektedir. Bu durumda 52 dişin 36'sından (% 69) anaerop Gram negatif çomak (*Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella?*) suşları izole edilmiştir. Sundqvist ve arkadaşları (9) 72 kanalın 22'sinde siyah pigmentli anaerop bakteri bulmuşlardır. Haapasalo (4) ve Haapasalo ve arkadaşları (5) çürüksüz dişlerin nekroze pulpalı kök kanallarının % 50'sinde siyah pigmentli *Bacteroides* bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda pulpası nekroze 52 dişin kök kanallarının, % 33'ünden siyah pigmentli olmak üzere, % 81'inden en az bir anaerop bakteri izole edilmiş ve sonuçlarımız diğer araştırmacıların bulgularıyla uyumuştur.

Kobayashi ve arkadaşları (7) kök kanallarında en çok kokların bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada da en çok bulunan bakteriler streptokok ve stafilokoklar olmuştur (Tablo 1). İnfekte kök kanallarından en çok anaerop *Bacteroides*, streptokok ve peptostreptokok bulunduğu başka çalışmalarda da açıklanmıştır (9). Bu sonuçlar bizimkilere uymaktadır.

Haapasalo (4) kök kanallarında, pigmentsiz *Bacteroides*'lerin pigmentli *Bacteroides*'ler kadar bulunduğunu bildirmiştir. Yamamoto ve arkadaşları (11) 24 dişte pigmentsiz *Bacteroides* bulurken, 30 dişte de siyah pigmentli *Bacteroides* bulmuşlardır. Araştırmamızda da, kök kanallarının 19'unda pigmentsiz, 17'sinde de pigmentli anaerop Gram negatif çomak (eski nomenklatüre göre *Bacteroides*) bulunmuştur (Tablo 1).

Bu çalışmada beta-laktamaz inhibitörlü iki beta-laktam antibiyotigin ve iki kinolonun kök kanallarından izole edilen aerop bakterilerin % 90'dan fazlasına etkili olduğu, sınır % 80 olarak alındığında amikasin, kloramfenikol, seftriakson, sefoperazon, mezlosilin, sefotaksim ve sefalotin de en etkili antibiyotikler grubuna girdikleri saptanmıştır (Tablo 2). Anaerop bakterilere gelince kloramfenikol ve beta-laktamaz inhibitörlü iki beta-laktam antibiyotik suşların % 90'dan fazlasına, mezlosilin, ornidazol ve seftizoksim % 80'den fazlasına etkili bulunmuştur (Tablo 3). Pigmentli ve pigmentsiz anaerop Gram negatif çomak suşları dikkate alındığında klindamisin de son gruba girmektedir. Beta-laktamaz inhibitörlü iki beta-laktam antibiyotik hem aerop ve hem anaerop bakteriler için suşların % 90'ından fazlasına etkili olmuştur. Yamamoto ve arkadaşları (11) da kök kanalından izole edilen bakterilerin en çok beta-laktam antibiyotiklere duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

KAYNAKLAR

- 1- Allen S D, Siders J A, Marler L M: Isolation and examination of anaerobic bacteria, "E H Lennette, A Balows, W J Hausler Jr, H J Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, Fourth ed." kitabında p. 413, Am Soc Microbiol, Washington (1985).
- 2- Baumgartner J C, Falkler W A: Bacteria in the apical 5 mm of infected root canals, *J Endod* 17: 380 (1991).
- 3- Fabricius L, Dahlen G, Öhman A E, Möller A J R: Predominant indigenous oral bacteria isolated from infected root canals after varied times of closure, *Scand J Dent Res* 90: 134 (1982).
- 4- Haapasalo M: *Bacteroides buccae* and related taxa in necrotic root canal infections, *J Clin Microbiol* 24: 940 (1986).
- 5- Haapasalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H: Black-pigmented *Bacteroides* spp. in human apical periodontitis, *Infect Immun* 53: 149 (1986).

- 6- Jousimies-Somer H R, Finegold S M: Anaerobic Gram-negative bacilli and cocci, "A Balows, W J Hausler Jr, K L Hermann, H D Isenberg, H J Shadomy (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, Fifth ed." kitabında s.538, Am Soc Microbiol, Washington (1991).
- 7- Kobayashi T, Hayashi R, Yashikawa K, Okuda K, Hara K: The microbial flora from root canals and periodontal pockets of non-vital teeth associated with advanced periodontitis, *J Endod* 23: 100 (1990).
- 8- Nair P N R: Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions, *J Endod* 13: 29 (1987).
- 9- Sundqvist G, Johansson E, Sjögren U: Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections, *J Endod* 15: 13 (1989).
- 10- Sutter V L, Finegold S M: Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents, *Antimicrob Agents Chemother* 10: 736 (1976).
- 11- Yamamoto K, Fukushima H, Tsuchiya H, Sagawa H: Antimicrobial susceptibilities of *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, and *Bacteroides* isolated from root canals of teeth with periapical pathosis, *J Endod* 15: 112 (1989).