



Ortodonti Hastalarında Mutans Streptokokların Dağılımı: Pilot Çalışma

Distribution of Mutans Streptococci in Orthodontic Patients: Pilot Study



**Yrd. Doç. Dr. Emad
HUSSEIN***
**Yrd. Doç. Dr. Alev
AKSOY-DOĞAN****

Arap-Amerikan Üniv.
Dişhek. Fak. Ortodonti A.D.
Cenin, Filistin, ** Süleyman
Demirel Üniv. Dişhek. Fak.
Ortodonti A.D. Isparta,
Türkiye / Arab-American
Univ. Faculty of Dentistry,
Dept. of Orthodontics, Jenin,
Palestine, Süleyman Demirel
Univ. Faculty of Dentistry,
Dept. of Orthodontics,
Isparta, Turkey

Yazışma adresi:
Corresponding Author:
Dr. Alev Aksoy-Doğan
Süleyman Demirel Üniversitesi
Dişhekimliği Fakültesi,
Ortodonti A.D.
Isparta/ Turkey
Tel.: +90 246 211 3374
Faks: +90 246 237 0607
E-mail:
alevak2000@yahoo.com

ÖZET

Bu çalışmanın amacı Mutans Streptokoklarının kolonize olduğu bölgelerin ve seviyelerinin yeni bir metod olan ölçü alma tekniği kullanılarak ortodontik tedavi öncesi ve sonrasında görüntülenmesidir.

Çalışma 30 ortodonti hastası içermektedir. Katı sakaroz içeren matris örnek dişler üzerine bastırılarak ölçü alınmıştır. İnkübasyon sonunda bakterilerin büyümesi matris üzerinde direkt olarak incelenmiştir.

Sabit ortodontik apareyler takıldıktan sonra MS seviyelerinde anlamlı düzeyde bir artış bulunmuştur ($p<.05$). Sağ ve sol kaninler MS birikimi açısından en yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Dişlerin diş eti-ne yakın üçte birlik bölümü ve de braketlerin etrafı bakterilerin büyümesi için en uygun bölgeler olarak tespit edilmiştir. Santral ve lateral kesicilerin kesici kenarları bakterilerin büyümesinin en az olduğu bölgedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ortodonti hastalarının arasında yüksek çürük riski taşıyanlarının tespit edilmesinde yardımcı olur. Yüksek risk grubundaki hastalara, dişlere ve de kolonizasyonun en fazla görülme sıklığı olan bölgelere özel ilgi gösterilmelidir. Bu dişler ve bölgeler daha dikkatli tedavi edilmeli ve ortodontik tedavi öncesinde ve sırasından daha yoğun çürük kontrolü tedbirleri alınmalıdır. (*Türk Ortodonti Dergisi 2009;22:26-36*)

Anahtar Kelimeler: Mutans Streptokokus, Sabit ortodontik apareyler.

SUMMARY

The aim of the present study is to monitor Mutans Streptococcus (MS) level and sites of teeth using a novel imprint technique, before and after bonding orthodontic brackets.

The study included 30 orthodontic patients. An imprint was obtained by pressing a solid sucrose-containing matrix against the sampled tooth surfaces. Following incubation, the matrix was examined directly for bacterial outgrowth.

A significant increase in MS levels were found after bonding a fixed orthodontic appliance ($p<.05$). The right and left canines were the teeth scored the highest increase in the mean reading for accumulation of MS. The gingival third of the teeth, and the area around the brackets were the most preferable sites for bacterial outgrowth, while the incisal areas of the centrals and laterals were the least favorable site for bacterial outgrowth.

The results of this study can help in screening and classifying the high-risk individuals among orthodontic patients. Special concern must be given to the high-risk patients, the high-risk teeth and the most favorable sites for bacterial accumulation. These teeth and sites should be treated more carefully and pursued under a more frequent regimen of caries control before and during orthodontic treatment (*Turkish J Orthod 2009;22:26-36*)

Key Words: Mutans Streptococcus, Fixed Orthodontic appliances.



GİRİŞ

Mutans Streptokokları (MS) plak içerisinde yüzdesi en çok bulunan bakterilerden olup günümüzde diş çürüklerinin ana etmeni sayılmaktadır. Mutans Streptokoklarının ana özelliği karbohidratları en hızlı şekilde aside ve hücre içi ve dış polisakkaritlere dönüştürmesidir. Tercihen diş yüzeylerinde kolonize olurlar (1,2).

Diş yüzeylerinin mikrobiyal tetkiki özellikle de belirli bazı mikroorganizmalar saptandığında çürük riski endikasyonu konulması açısından önem arz etmektedir. Diş yüzeylerinde çürük endişesi bulunan bölgeler, tükürükle yada oral hijyen sağlama metodları uygulandığında iyice yıkanamayan veya dilin ulaşmadığı bölgeler olup gıda artıklarının biriktiği ve bakterilerin kolaylıkla toplandığı yerlerdir (1,3).

Sabit apareylerle yapılan ortodontik tedavi dişlerdeki plak birikimine zemin temin eden yeni alanlar yaratıp diş çürük gelişiminin ilk basamağının oluşumuna yataklık eder (4-8). Dahası sabit apareylerle tedavi patolojik bakterilerin büyümesini geçici olarak da olsa arttırarak sonuçta dişetin iltihabi cevabına neden olur (9).

Günümüzde diş çürüklerini tetkik etmek için kullanılan tek yöntem ayna sond kullanılarak elle yapılan subjektif klinik muayene yöntemidir (10,11). Probla teşhis metodu tam sonuç vermediği gibi dişlere zarar verebilecek bir yöntem olabileceği konusunda zaman zaman tenkitler de olmuştur. Görünen o ki ağız enfeksiyon seviyesini belirlemede destekleyici bir takım yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (12,13). Streptococcus mutans gibi diş çürüklerine neden olan bakterilerin sayımı şimdiye kadar sakkaroz ve basitresinle desteklenmiş çeşitli tipte mitis salivarius agarın kullanımı ile hesaplanmıştır (14-18).

Çalışmamızda diş yüzeylerindeki mikrobiyal örnekleme için yeni bir yaklaşım olan kopyalama (ölçü alma) tekniğinden bahsetmekteyiz (19). Başlangıç testleri klinik kullanımı kolay, bakteriyel retansiyon bölgelerinin dolayısı ile çürüğe meyilli bölgelerin belirlenmesinde uygun bir test olan bu yöntem kullanılarak bakterilerin çoğaldıkları bölgelerin aleni olarak rahatlıkla gözlenebildiğini göstermiştir. Bundan dolayı çürük tespitinde ve çürük oluşabilecek bölgelerini tahmin etmede mikroorganizmaların gözle tayininde ve

INTRODUCTION

Mutans streptococci (MS) are the most predominant cultivable forms of microorganisms found in plaque and considered the main bacteria involved in dental caries. The significance of MS is due to their capability of rapidly converting carbohydrates to acid and to intra- and extra-cellular polysaccharides, and they preferably colonize the tooth surface (1,2).

Microbial examination of the tooth surfaces can provide an indication of caries development, especially when several species are sampled. Caries susceptible sites on the tooth surfaces are sites, which are not thoroughly washed by saliva or during oral hygiene procedures and not reached by the tongue. These are regions where food is retained and bacteria readily accumulate (1,3).

Orthodontic treatment with fixed appliances creates new sites that will most likely enhance dental plaque accumulation, which is the first step of caries development (4-8). Moreover the therapy with fixed appliances may transitionally increase the growth of pathogenic bacteria and consequently result in gingival inflammatory response (9).

At present, the main clinical technique for diagnosing caries is a subjective, manual test using a sharp explorer and dental mirror (10,11). In addition to its inaccuracy, this probing method has been criticized as exacerbating tooth destruction. There appears a need for supplementary test for determining the oral infection level (12,13). The count of dental caries inducing bacteria, Streptococcus mutans (*S.mutans*) have been calculated using several kinds of mitis salivarius agar with sucrose and bacitracin (14-18).

In our study we used a novel approach to microbial sampling of tooth surfaces, based on an imprint technique (19). Initial tests have shown that this approach enables clear visualization of discrete growth loci, amenable to clinical use and may provide information on microbial retention sites which can be used to detect and possibly predict caries development. Thus it can be a useful tool in locating caries and predicting loci of caries development and microbial examination by visualization and monitoring the levels of these cariogenic bacteria on the tooth surfaces and



diş yüzeylerinde ve braketlerin çevresinde ortodontik tedavi öncesinden ve sırasında çürük yapıcı organizma seviyelerinin tespitinde yararlı bir yöntemdir.

Bu tekniğin avantajları;

Testin kolaylığı dişhekimliği yardımcı personelinde kullanımına müsade eder.

Laboratuvarda yapılmış öncül deneyler ölçü yüzeyinde büyüyen mikropların çürük olan yada potansiyel çürük meyili olan bölgelerde sınırlı kaldığını göstermiştir.

Çürüğün yada çürük oluşumuna yatkın bölgelerin tespitinde kullanılacak ucuz bir yöntemdir.

Sonuç olarak bu çalışma şu sorulara cevap vermeye çalışmıştır:

MS seviyesinde sabit ortodontik braketlerin yapıştırılmasından sonra bir artış olmuş mudur?

Eğer MS seviyesinde bir artış olmuşsa, bakteriler braketlerin etrafında mı yoksa diş yüzeyinin herhangi ayrı bir bölgesinde mi toplanmayı (dişeti kenarları gibi) tercih etmişlerdir?

MS seviyesinin artışından hangi diş en yüksek düzeyde etkilenmiştir?

Yeni bir teknik olan kopyalama (ölçü alma) tekniği kullanılarak ortaya attığımız hipotezimiz şudur;

MS seviyesi ortodontik tedavi sırasında artış gösterir. İkinci ölçümde (tedavinin 6. ayında) tedavi başlamadan hemen önceki değerlere göre daha yüksek olması beklenmektedir.

Mutans Streptokoklarının seviyesi braketlerin etrafında daha yüksek beklenmektedir. Diğer yerleşim bölgeleri de ayrıca incelenecektir.

Braketlerin topuzları ile MS kolonizasyonundaki korelasyon göz önünde tutularak karnin dişlerine özellikle dikkat edilmelidir.

BİREYLER ve YÖNTEM

Bireyler

Çalışma popülasyonu yaşları 12 ila 20 arası ortalama $14,5 \pm 2,27$ olan 30 (18 kız, 12 erkek) ortodonti hastasından oluşmaktadır. Bu çalışma Helsinki Deklerasyonunda (The World Medical Association, 1964) kabul edilen etik kurallara uyularak yürütülmüştür. Hastaların herbiri ölçü almadan önce, çalışmanın amacı ve elde edilen sonuçların nerede nasıl kullanılacağı hakkında bilgilendirildikten sonra, yazılı onam belgesi imzalatılmıştır. Tüm bireyler Arab-Amerikan Üniversitesi-

in areas adjacent to orthodontic brackets before and during orthodontic treatment.

Advantages of this technique are;

The simplicity of the test enables it to be carried out by paramedical personnel.

Preliminary experiments in this laboratory have shown that microbial growth on the imprint surface is confined to either sites which are carious, or to sites of potential caries development.

Inexpensive way in locating caries and predicting loci of caries development.

As a result this study tried to answer the following questions:

Was there an increase in the MS levels after bonding of fixed orthodontic brackets?

If there was such an increase in MS levels, would the bacteria tend to accumulate around the brackets? Or in other areas on the tooth surface (i.e the gingival margins).

Which teeth were mostly affected by the increase of MS levels?

Our research hypothesis by using a novel imprint technique was as follows;

MS level would increase during orthodontic treatment. It was supposed to be higher in the second measurement (6 months into treatment) compared to baseline measurements.

MS level was expected to be higher around the brackets. Other locations were also going to be investigated.

Special attention would be paid to the canine teeth, to examine the correlation between the bracket auxiliaries and their effect on MS colonization.

SUBJECTS and METHODS

Subjects

The study population consisted of 30 orthodontic patients (18 females, 12 males), ranging in age from 12 years to 20 years with the mean age of 14.5 ± 2.27 years. This study was conducted according to the ethical standards of the Declaration of Helsinki (The World Medical Association, 1964) that promote respect for all human beings and protect their health and rights. After informing each participant about the purpose of the study, and where and how the results would be used, before obtaining the imprint, written consent was obtained. All of the subjects rec-



tesisi, Diş Hekimliği Fakültesi, Ortodonti Anabilim dalından temin edilmiştir. Çalışmaya kabul edilen bireyler sistemik rahatsızlığı bulunmayan, kserostomisi veya ilerlemiş çürüğü olmayan hastalardan seçilmiştir. Hiç bir hastada açık çürük lezyonu, florozis yada protektik restorasyon bulunmamakta idi. Hiç bir hasta en az iki ay antibiyotik kullanmamıştı. Tüm hastalar tedavi öncesi ağız bakım öğretilmiş fakat herhangi bir flor uygulaması yapılmamış yada çürük önleyici ajan kullanımı önerilmemişti.

Örnekleme

Hastalar oral hijyenleri düzeltildikten bir hafta sonra başlangıç değerlerinin tespiti için muayene edilmişlerdir. Başlangıç (yapıştırma işlemi yapılmadan önceki) değerleri her bir hasta için kontrol grubunu oluşturmaktadır (T0).

Ölçümler iki kez tekrarlanmıştır: Başlangıç ölçümleri (daha önceden de belirtildiği gibi yapıştırma öncesi ölçümler)(T0) ve tüm dişlere sabit apareyler yapıştirılarak ortodontik tedavi başladıktan 6 ay sonraki değerler (T1) (koloni/mm²).

Ölçü Alma Tekniği

Çalışma 4 aşamada yürütülmüştür: i) ölçü alma; ii) ölçü yüzeyini yüzeye tutunmamış bakterilerden arındırmak için yıkama, ör: tükürükten arındırma; iii) sıvı besiyerinde bir gecelik inkübasyon; iv) bakteri üreyen bölgelerin incelenmesi

Ölçü sakkoroz içeren matris diş yüzeylerine bastırılarak alınmıştır (altı ön dişin bukkal yüzeylerine) (Şekil 1). Daha sonra katı matris yüzeye tutunmamış bakterilerden ve tükürük kalıntısından temizlenmesi amacıyla

ruited from Department of Orthodontics, School of Dental Medicine, Arab-American University. Qualified subjects were free of systemic disease, without xerostomia and rampant caries. None had open caries lesions, fluorosis or prosthodontic appliances. None of them had received antibiotic therapy for at least 2 months. All the patients received oral hygiene instruction before the treatment and received no application of fluoride or other cares-preventive reagents during the treatment.

Sampling

Patients were examined following one-week program of oral hygiene regimen for (baseline measurements) (colony/mm²). Each baseline measurement (before bonding procedure) would be the control for each patient (T0).

Measurements were carried out twice: at baseline (as described above before bonding) (T0) and 6 months into orthodontic treatment with fixed appliances attached to all teeth (T1).

The Imprint Technique

The test is carried out in four steps: i) impression taking; ii) to wash the imprint surface to remove non-bound bacteria e.g. from saliva; iii) overnight incubation in the liquid medium; iv) observation of growth loci.

An imprint was obtained by pressing a solid sucrose-containing matrix against the sampled tooth surfaces (the buccal surfaces of the six anterior teeth) (Fig 1). The solid matrix is then washed in tap water to remove the non-adherent cells and saliva, which may



Şekil 1: Sakkoroz içeren matrisin altı ön dişin bukkal yüzeylerine yüzeylerine bastırılarak elde edilen ölçüsü.

Figure 1: An imprint obtained by pressing a solid sucrose-containing matrix against the buccal surfaces of the six anterior teeth..



musluk suyunda yıkanmıştır. Matris daha sonra sakaroz içermeyen trypan blue, Gentain violet ve potassium tellurite içeren, S.mutans ve diğer kariyojenik streptokoklara özel sıvı besiyerine yerleştirilmiştir. Ölçüler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda, matris sıvı besiyerinden çıkarılıp bakterilerin büyüdüğü bölgeler direkt olarak gözlemlenmiştir (kromojenik ajanla koyu mavi ile boyanan koloniler). Ölçü içerisinde büyümüş olan mikroorganizmalar sayılmıştır (Şekil 2).

Şekil 2: İnkübasyon sonrasında bakterilerin direkt olarak tespiti. Kromatik ajanla koyu mavi boyanan noktalar bölgedeki mikroorganizmaların çoğaldığı yeri göstermektedir.

Figure 2: The matrix examined directly for bacterial outgrowth following incubation.

Colonies stained dark blue by the chromogenic agents show the outgrowth of the imprinted microorganisms

Mikroorganizmaların büyümesini katı sıvı ortamda sınırlandırmak için, katı matris sıvı ortamda eksik olan bakterilerin büyümesi için gerekli ajanlar ilave edilmiştir (en önemli karbon ve enerji kaynağı olan sakkaroz gibi). Çürük ve potansiyel çürük oluşumuna yatkın bölgeler ölçü yüzeyinde bakterilerin çoğaldığı alana denk gelen bölgeler olarak belirlenmiştir.

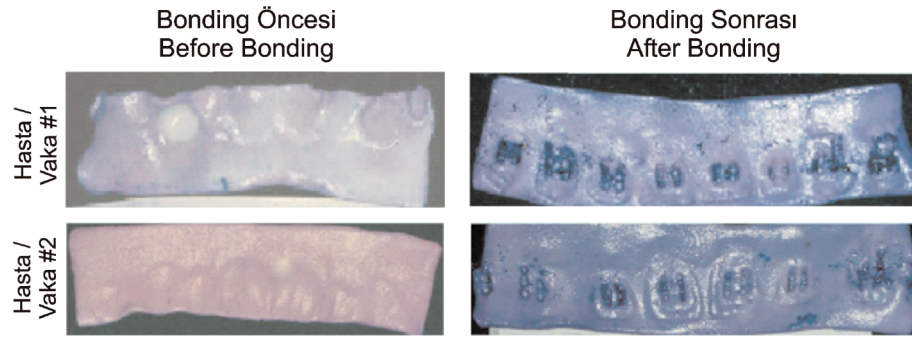
İnkübasyonu takiben her bir ölçünün değerlendirilmesi iki şekilde yapılmıştır. İlki altı ön dişi içeren tüm ölçünün bütün olarak değerlendirilmesi. İkinci olarak da üç bölüme ayrılan ön altı dişlerden her birinin tek tek değerlendirilmesidir. Her bir ölçünün fotoğrafı çekilip Tablo 1'de gösterildiği gibi 0-4 arası derecelendirilmiştir. Genel olarak değerlendirmeyi takiben, diş yüzeyleri Şekil 3'de görüldüğü üzere üç alana bölünüp Tablo 1'de gösterilen aynı anahtara göre yeniden değerlendirilmiştir. T(0) ve T(1)'deki tüm ölçümler aynı gözlemci (E.H) tarafından gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

T(0) anındaki değerlendirme T(1)'in kontrolü olarak kabul edilmiştir. Her iki değerlendirmede de T(0) ve T(1) arasındaki farkı

interfere. The matrix is then placed in a sucrose-free liquid medium selective for S.mutans and other cariogenic streptococci that contain trypan blue, Gentain violet and potassium tellurite. The imprints were incubated at 37°C for 24 hours. Following incubation, the matrix was removed from the liquid medium and examined directly for bacterial outgrowth (colonies stained dark blue by the chromogenic agents). Outgrowth of the imprinted microorganisms was counted (Fig 2).

In order to confine microbial growth to the



solid liquid interface, the solid matrix is impregnated with a necessary growth substrate which is absent from the growth medium (sucrose as major carbon and energy source), and identification of carious and potentially carious sites were determined according to the corresponding loci of bacterial growth on the impression surface.

Following incubation, the scoring of each imprint was performed in two occasions; first the general scoring of the imprint involving the six anterior teeth as a whole. The second part was more detailed involving each tooth of the six anterior teeth, where each tooth was divided into three parts. Each imprint was photographed and scored on a scale of 0-4 as mentioned in Table 1. Following general view scoring, teeth surfaces were divided into three zones (Fig. 3) and were scored individually according to the same key in Table 1. All the measurements at T(0) and T(1) were performed by the same investigator (E.H).

Statistical Analysis

Scoring results at T(0) was considered the control for the measurements at T(1). An independent sample t-test was used to study



0	Ölçü üzerinde görünür herhangi bir bakteri çoğalması izlenmemektedir <i>No visible bacterial outgrowth is seen on the imprint</i>
1	Ölçü üzerinde braketterin etrafına denk gelen bölgede hafif bir bakteriyel çoğalma görülmektedir <i>Slight bacterial outgrowth is seen around the bracket on the imprint</i>
2	Ölçü üzerinde braketterin etrafına denk gelen bölgede belirgin bir bakteriyel çoğalma görülmektedir <i>Marked bacterial outgrowth is seen around the brackets on the imprint</i>
3	Ölçü üzerinde braketterin etrafına denk gelen bölgede belirgin bir bakteriyel çoğalma ile birlikte braket ve dişeti arasındaki bölgede de bakteriyel çoğalma izlenmektedir <i>Marked bacterial outgrowth is seen around the brackets, in addition to the area between the bracket and the gingival margin on the imprint</i>
4	Ölçü üzerinde tüm diş yüzeyinde belirgin bir bakteriyel çoğalma izlenmektedir <i>Marked bacterial outgrowth involving all tooth surfaces on the imprint</i>

Tablo I: Sonuçlarının değerlendirilmesi.

Table I: Scoring the Imprint Results.

hem genel skorlama hemde her bir diş için yapılan detaylı skorlamada değerlendirilebilir amaçlı bağımsız t-testi uygulanmıştır.

Güvenilirlik

Her bir hasta üzerinde iki gün sonra aynı gözlemci tarafından (E.H) tekrar bir ölçüm yapılmıştır. Ölçüm hatasını belirlemek için Dahlberg'in formula kullanılmıştır. Sistemik hatalar tek-örnek t testi analizi ile belirlenmiştir.

BULGULAR

Ölçüm hataları genelde düşüktü. Eşleştirilmiş t-testi sonucu hiç bir veri yüzde 5 anlamlılık düzeyinde farklılık göstermemiştir.

Erkekler ve kızlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 2).

Sabit ortodontik apareyler yapıştırıldıktan sonra MS seviyesinde iki kata varan artış gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Yapıştırma öncesi ölçüm yüzeyindeki ortalama değer $1,50\text{koloni/mm}^2 \pm 1,14$ iken ortodontik sabit apareyler yapıştırıldıktan 6 ay sonra $3,16\text{koloni/mm}^2 \pm 0,985$ yükselmiştir (Tablo 3).

Dişlerin dişetine yakın üçte birlik kısmı ve de braketterin etrafı bakterilerin çoğalıp büyümesi için en tercih edilen bölge iken kesicilerin ve laterallerin kesici kenarlarına yakın

the difference between T(0) and T(1) for both readings: the general view and the detailed scoring for each third of the six anterior teeth.

Reliability

A replicate measurement trial was performed on each patient after an interval of two days by the same investigator (E.H). In order to estimate the measurement error, Dahlberg's formula was used. Systematic error was estimated by one-sample t-test.

RESULTS

In general measurement errors were small. No variable reached the 5 per cent level of significance in the paired t-test.

There was no significant difference between the results of males and females ($p>0,05$) (Table 2).

There was a significant increase in about two folds in MS levels after bonding a fixed orthodontic appliance ($p<0,05$). The mean reading of the imprints before bonding was $1.50\text{colony/mm}^2 \pm 1.14$ and rose dramatically to $3.16\text{colony/mm}^2 \pm 0.985$ after six months of bonding the fixed orthodontic appliance (Table 3).

The right and left canines were the teeth

Şekil 3: Dişlerin özel olarak değerlendirilmesi. Her bir diş kendi içinde aynı anahtar diagram kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir diş yüzeyi üç bölgeye ayrılmıştır.

Anahtar Diagram

A Bölgesi: Diş yüzeyinin servikal, diş etine yakın üçte birlik bölgesi

B Bölgesi: Diş yüzeyinin orta üçte birlik bölgesi

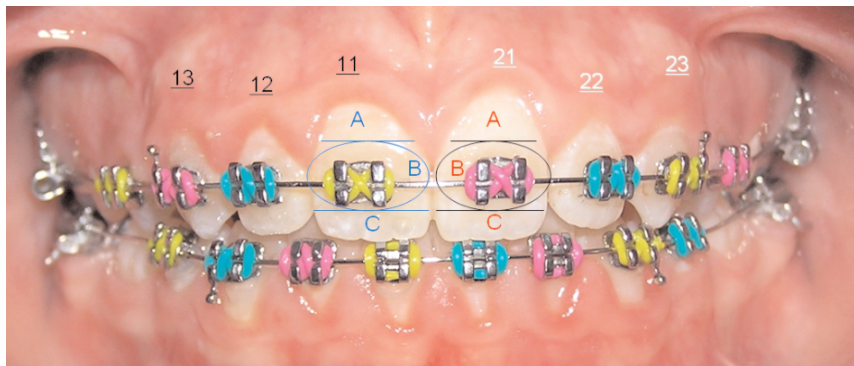
C Bölgesi: Diş yüzeyinin kesici üçte birlik bölgesi

Figure 3: Specific Tooth Scoring. Each tooth was scored individually according to the same key, each tooth surface was divided into three zones. Key Diagram

Zone A: the cervical -gingival - third of tooth surface

Zone B: the middle third of tooth surface

Zone C: the incisal third of tooth surface





Tablo II: Tanımlayıcı analizler

Cinsiyet / Gender	N	Ortalama / Mean	SD	SE
Bayan / Female	18	3.111	1.07861	0.25423
Erkek / Male	12	3.250	0.86603	0.25000

Table II: Descriptive analysis

SD: Standart sapma / Standard Deviation; SE: Standart hata, Standard Error

üçte birlik bölgesi en düşük tercih bölgesi olarak belirlenmiştir (Tablo 3) (Şekil 1,2).

TARTIŞMA

Ortodontik apareylerin kullanımı ağız mikroflorasının kalitesini ve miktarının dağılımını önemli düzeyde etkiler (20-25). Ortodontik tedavi sırasında oluşan demineralizasyon karbonhidrat diyeti ve tükürük modifikasyonu bakteriyel enfeksiyon hastalığı olarak kabul edilmiştir. MS ve laktobasil gibi plakın pH'ını düşürme potansiyeli olan plak mikroorganizmasının bölgede karbonhidrat artışına bağlı olarak etkisini göstermesi ana nedendir. Plak içerisindeki bu bakterilerin oranlarının değişmesi asit ortam toleranslarının yüksek olmasına bağlandırılmıştır (26).

Ne varki diş yüzeylerinin önemi ve braketli her bir diş üzerindeki bakteriyel oluşum daha önceden çalışılmamıştır. MS toplanmasına bağlı olarak demineralizasyona yatkın bölgelerin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Bundan dolayı çalışmamız sabit tedavi gören Filistinli ortodonti hastaları üzerinde yürütülmüştür. Ölçü alma tekniği kullanılarak 6 aylık ortodontik tedavi sonunda ön 6 dişin

scored the highest increase in the mean reading for accumulation of MS.

The gingival third of the tooth, and the area around the brackets were the most preferable sites for bacterial outgrowth, while the incisal areas of the centrals and laterals were the least favorable site for bacterial outgrowth (Table 3)(Fig 1,2).

DISCUSSION

The use of orthodontic appliances may affect the qualitative and quantitative distribution of the oral microflora (20-25). Demineralization during orthodontic treatment was considered a dietary carbohydrate- and saliva-modified bacterial infectious disease. Its key feature is a dietary carbohydrate-induced enrichment of the plaque microbiota with organisms such as MS and lactobacilli which cause an increase in the pH-lowering potential of dental plaque. The shift in the plaque proportions of these organisms has been thought to be related in part to their high tolerance of acidic environments until now (26).

Nevertheless the importance of the brac-

Tablo III: Ortodontik braketlerin yapıştırılmasından önce ve 6 ay sonra ki bakterilerin sayısal olarak dağılımını gösteren tanımlayıcı analiz

Vaka / Case	N	Yapıştırma Öncesi / Before Bonding		Yapıştırma Sonrası / After Bonding			Ortalama farkı / Mean Difference
		Ortalama / Mean	SD	Mean/Ortalama	SD	p	
Hakemin genel gözlemi / General view by judge	30	1.5167	1.14533	3.1667	.98553	.000***	-1.6667
13a	30	1.1667	1.31525	2.8000	1.37465	.000***	-1.6333
13b	30	.5333	1.19578	2.9333	1.20153	.000***	-2.4000
13c	30	.7667	1.27802	1.1333	1.77596	.362	-0.3667
12a	30	.6333	1.03335	1.0667	1.68018	.234	-0.4333
12b	30	.3667	.88992	2.0333	1.35146	.000***	-1.6667
12c	30	.3000	.87691	.9333	1.63861	.067	-0.6333
11a	30	.6000	.96847	1.3000	1.62205	.047*	-0.7000
11b	30	.3000	.65126	1.9667	1.35146	.000***	-1.6667
11c	30	.1667	.64772	.7333	1.46059	.057	-0.5667
21a	30	.6667	1.06134	1.3667	1.65015	.056	-0.7000
21b	30	.4000	.96847	1.9333	1.31131	.000***	-1.5333
21c	30	.3333	.95893	0.9333	1.62629	.053	-0.6000
22a	30	.5333	.86037	1.0333	1.56433	.130	-0.5000
22b	30	.3000	.70221	2.4000	1.16264	.000***	-2.1000
22c	30	.2000	.66436	1.1333	1.65536	.006**	-0.9333
23a	30	1.0333	1.27261	2.4000	1.45270	.000***	-1.3667
23b	30	.8000	1.24291	2.3667	1.44993	.000***	-1.5667
23c	30	.5667	1.10433	1.1333	1.71672	.134	-0.5667
Toplam / Total	30	.5823	.654942	1.6365	1.04515		

*P>0.05, **P>0.01, ***P>0.001

Table III: Descriptive analysis of bacterial count distribution before and 6 months after orthodontic bonding



braketleri etrafındaki MS seviyeleri gözlemlenmiştir. Altı maksiller ön dişin mandibular dişlere tercihinin nedeni Ahn ve arkadaşlarının (27) çalışmasına dayanmaktadır. Ahn ve arkadaşlarına (27) göre, MS prevalansı braketli maksiller kesici dişler üzerinde %50 iken mandibular kesiciler üzerinde %33,8 bulunmuştur.

Ölçü matrisinin inkübasyonundan sonra elde edilen sonuçlar, sabit apareyler kullanılarak yapılan ortodontik tedavilerin diş plağı toplanmasını ve MS seviyesini arttıracak yeni bölgeler oluşturduğunu göstermektedir. Ortendahl ve arkadaşlarının(28) çalışmasında GIC braketleri kullanıldığında CR braketleri kullanımına nazaran dişlerde daha düşük düzeyde MS tespit edilmiştir. Grönroos ve Alaluusua (29) (AP)-PCR ile incelenen S.mutans dağılımının dişlerin bölgelerine göre değişik tipler gösterdiğini bildirmişlerdir ki buda MS kolonilerinin sert dokuların belirgin bir takım bölgelerine seçici olarak kolonize olduğu anlamına gelmektedir. Bu dişlerin sert dokularında demineralizasyon ve remineralizasyon arasındaki dengeyi bozmakta ve sonuç olarak düzgün yüzey çürüklerinin göstergesi olan beyaz noktasal lezyonlar (lekeler) olarak görünmektedir.

Sağlıklı durumda dişler üzerindeki mikrobiyal hücre birikimi 1 ila 20 hücre kalınlığındadır ve en çok gram-pozitif kok formları içermektedir (30). Sabit apareyler lokal tutunmayı sağlayan ve MS'larının büyümesine imkan tanıyan yeni tutucu alanlar ve yüzeyler oluşturur. Bu tip apareyler aynı zamanda MS'ları gibi çürük yapıcı mikroorganizmaların proliferasyonunu arttırmaya yönelik ağız mikrobiyal ortamını da fiziksel olarak değiştirir (23,25). Forsberg ve arkadaşları (31) tükürükteki S.mutans seviyesini 34.ncü haftada en yüksek düzeyde tespit etmişlerdir. Plak örneklerinin de aynı zamanda en yüksek düzeyde bakteri içerdiği bulunmuştur (31). Bundan dolayıdır ki bizde ölçülerimizi 6 ay sonra tekrar ettik (T1).

Bantlama işleminden 3 ay sonra, bantlanmamış yüzeylerde S.mutans oranında yalnızca az miktarda çoğalma görülürken, tükürükteki ve bantlanmış dişler üzerinde tedavi öncesi seviyelerini oldukça aşmış olduğu tespit edilmiştir (24). Bu sonuç Abe (32) ve Nguyen ve arkadaşlarının (19) çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Diğer taraftan Ba-

ket surface and formation according to each teeth was not studied before. Determining the most important potential sides for demineralization as a result of MS accumulation is important.

Thus our study had been carried out on Palestinian orthodontic patients with fixed appliances, monitoring the MS levels using the imprint technique around 6 anterior brackets 6 months after treatment. The reason we chose maxillary 6 anterior teeth was the colonization of MS on the maxillary incisor brackets more than mandibular brackets, depending on the study of Ahn et al (27). According to their study, the prevalence of S.mutans was 50% on the maxillary incisor brackets and 33.8% on the mandibular incisor brackets.

After incubation of the sample that was obtained on the imprint matrix, the results proved that orthodontic treatment with fixed appliances created new sites that would most likely enhance dental plaque accumulation and increase MS levels. Lower percentage of MS in the sample from the teeth with GIC retained brackets than in the sample from the teeth with CR-retained brackets had been identified by Ortendahl et al (28). Grönroos and Alaluusua (29) reported that the distribution of arbitrarily primed (AP)-PCR types of S.mutans differed depending on tooth site, suggesting that MS clones may selectively colonize specific hard-tissue sites. This would result in unbalance between demineralization and remineralization of dental hard tissue which would lead to the formation of smooth surface caries that appear as white spot lesion.

Microbial cell accumulations in health are usually 1 to 20 cells thick, and are comprised mainly of gram-positive coccal forms (30). Fixed appliances lead to the creation of new retentive areas and surfaces, which favor the local adherence and growth of MS. Such appliances also physically alter the oral microbial environment, so that the proliferation of caries-associated microorganisms such as MS is enhanced (23,25). Forsberg et al. (31) found the highest levels of S.mutans in the saliva at the 34th week registration. The plaque samples also exhibited the highest number of bacteria at this point of time (31). Thus we



lenseifen ve Madonia (33) bizim çalışmamızın aksine bantlama işleminden hemen sonra MS seviyesinde artış tespit etmişlerdir. Çalışmalarında (33) bantlamadan 3 ay sonra, MS oranlarında bantlanmamış yüzeylerde ancak hafif bir artış gözlenirken, tükürükteki ve bantlanmış diş yüzeyleri üzerindeki tedavi öncesi değerlerini, çokça aştığı gösterilmiştir. Elde ettikleri bu sonuçlar Rosenbloom ve Tinanoff (23) ve Abe'nin (32) çalışmalarıyla uyumluluk göstermiştir.

Kaninler MS birikimi için esas diş olarak belirlenmiştir. Bu, altında hasta tarafından temizlenmesi zor birikim alanı oluşturan, kanin braketlerinin çengelinin mevcudiyetinden kaynaklanabilir. Çengelsiz braketlerin kullanımı, olası bakteriyel birikimi azaltıp hastaların bu bölgeleri daha etkili temizleyebilmesini de sağlayabilir. Çengeller gerekirse daha sonradan da oluşturulabilir. Santral ve lateral dişlerin kesici kenar alanları bakterilerin çoğalması için en uygunsuz bölge olarak tespit edildi. Bu nedenle braketlerin kesici kenara daha yakın yerleştirilmesi gerekmektedir (Tablo 3).

Çalışmamızda, kuron boynuna denk gelen üçte birlik kısım bakterilerin büyümesi için en uygun bölge olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç MS'lerinin tercihen kontakt alanları altında kolonize olduğunu bulan Babaahmady ve arkadaşlarının çalışmasıyla benzerlik göstermektedir (1). Abe (32) ise örneklerini dört gruba bölmüştür. Ortodontik tedavi görmeyenler (kontrol grubu), braket çevresinde çürüğü olmayanlar (grup A) ve braket çevresinde çürüğü olmayanlar (grup B ve C). Braketlerin etrafında çürük bulunmayanlar kontrol grubu ile yaklaşık aynı düzeyde mikroorganizmaya sahip bulunmuşlardır. Bu çalışma bizim çalışmamızla bu bağlamda zıtlık göstermektedir.

Chang ve arkadaşları(26) ortodontik olarak oluşan çürüklerin önlenmesi için alınması gereken ilave tedbirlerin önemi üzerinde durmuşlardır. Ortodontik tedavi sırasında deminerilasyonu inhibe edip remineralizasyonu tetikleyecek florid içerikli dentifrice ile birlikte günlük diş fırçalamaya florid içerikli ağız gargarası ile günlük ağız çalkalama ilave edilmiştir (34). Buna ilaveden Aksoy ve arkadaşlarının (35) tavsiye ettiği gibi mastic sakızı çiğnenmesi ortodontik tedavi sırasında plak ve çürük önlenmesinde faydalı bir yardımcı

repeated our impression 6 mounts later (T1).

After 3 months of extensive banding, S.mutans proportions surpassed pretreatment levels in saliva and on banded teeth, whereas unbanded surfaces only showed a slight increase (24). This was similar with Abe's (32) and Nguyen et al.'s (19) study results. On the other hand Balenseifen and Madonia (33) had detected an increase in MS levels after banding in contrast to our study. In their study (33) also after 3 months of extensive banding, the S.mutans proportions surpassed pretreatment levels in saliva and on banded teeth, whereas unbanded surfaces only showed a slight increase similar with the results of Rosenbloom and Tinanoff (23) and Abe (33).

The main tooth for SM accumulation in our study was the canines. This could be due to the canine hook which creates places beneath; where was difficult to be cleaned by the patient. The use of brackets with no hooks may decrease the possibility of bacterial accumulation, and might increase the efficacy of cleaning by the patient. The hooks can be constructed when needed. The incisal areas of the centrals and laterals were the least favorable site for bacterial outgrowth, in high risk patients. That's why the brackets should be placed more incisally (Table 3).

The cervical third was the most suitable site for bacterial over growth in our study which shows parallelism with the study of Babaahmady et al (1). They found that MS appeared to preferentially colonize below the contact area. Abe (32) divided his samples into four groups. Those having no orthodontic treatment (control group), those having no caries around the bracket (group A) and those having caries around the bracket (groups B and C). Those having no caries around the bracket had almost same level of microorganisms with control group. This study shows controversy with our study.

Chang et al. (26) highlights the importance of extra preventive measures against orthodontic related decay. The combination of daily brushing with a fluoridated dentifrice, coupled with daily rinsing with a fluoride mouth rinse, could provide complete protection for the orthodontic patients by inhibiting demineralization and promoting remineralization



ajan olarak gönül rahatlığı ile kullanılabilir.

Ortendahl ve arkadaşları (29) da yüksek risk altındaki hastaları belirledikten sonra özel bir uygulamada bulunulması gerekliliğini bildirmişlerdir. Steinberg ve arkadaşları (36) ve Zyskind ve arkadaşlarının (37) uygulamalarında olduğu gibi ortama florid salan sement kullanımı endike olabilir. Dogan ve arkadaşları (38,39) da ortodontik tedavi gören hastalarda çeşitli ağız çalkalama solusyonları kullanımının kısa zamanda yada 5 günlük rutin uygulamada tükürük içerisindeki MS seviyesini azaltmada etkinliğinin varlığını böylece düz yüzey çürüklerinin gelişiminde rol oynayan bakterilerin ortadan kaldırılması ile çürük yapıcı komponentlerden birinin ortadan kaldırılmış olacağını savunmuşlardır.

SONUÇLAR

Sabit apareylerin yapıştırılması ile uygulanan ortodontik tedavi diş yüzeyi üzerindeki MS düzeyini anlamlı şekilde arttırmakta dolayısı ile mine dekalsifikasyonunun ve çürük lezyonlarının oluşumu olasılığını arttırmaktadır.

Kaninler çengellerinden dolayı en yüksek mine demineralizasyon riski taşımaktadırlar.

Bu çalışmanın sonuçlarının ortodontik tedavi öncesi ve ortodontik tedavi sırasından yüksek risk altında olan hastaların saptanması ve sınıflandırılması için yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz.

Yüksek risk altında olan hastalara, dişlere ve de bakterilerin en çok toplandıkları bölgelere özel muamele edilmesi gerekmektedir. Bunlar daha dikkatli tedavi edilmeli ve daha sık çürük kontrol takibi altında bulunmalıdır.

TEŞEKKÜR

Prof. Dr. A. Vardimon, Prof. Dr. M. Rosenberg, Prof. Dr. R. Barness ve Dr. M. Davidovitch'e fikrin çıkarılması ve çalışmanın yürütülmesi sırasındaki yardımlarından, desteklerinden ve katkılarından dolayı teşekkürü borç biliriz.

on (34). In addition to normal oral hygiene procedures the use of mastic gum as Aksoy et al. (35) suggested might be useful adjunct in prevention plaque and caries formation during orthodontic treatment as well.

Ortendahl et al. (29) also suggested that after classifying high risk patients, a special regimen should to be used. Such as cements that release fluoride might be indicated like Steinberg et al. (36) and Zyskind et al.(37) applied. Dogan et al. (38,39) also suggested several mouth rinsing solutions during treatment because of reduction effect in salivary MS levels in orthodontically treated patients both in the short term and after regular treatment time of 5 days so as to eradicate bacterial component of smooth surface caries development.

CONCLUSIONS

Bonding a fixed orthodontic appliance will significantly increase MS levels on tooth surface hence increase the possibility for enamel decalcification and caries lesions formation.

The canines have the highest chance for enamel demineralization possibly due to the presence of canine hook.

The results of this study can help in screening and classifying the high-risk individuals among orthodontic patients before and during orthodontic treatment.

A special concern must be shown to the high-risk patients, the high-risk teeth and the most favorable sites for bacterial accumulation. They should be treated more carefully and should be under a more frequent regimen of caries control.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Prof. Dr. A. Vardimon, Prof. Dr. M. Rosenberg, Prof. Dr. R. Barness and Dr. M. Davidovitch for their help, support and advice to carry out this study.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Babaahmady KG, Challacombe SJ, Marsh PD, Newman HN. Ecological study of Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus and Lactobacillus spp. at subsites from approximal dental plaque from children. Caries Res 1998; 32: 51-8.
2. Sezgin-Bolg I B, Çelenk S, Erol-Ayna B, Atakul F. Associations of dental caries with salivary mutans streptococci/lactobacilli and plaque pH in 7-9 years old children in rural of Diyarbakır-Turkey. Türkiye Klinikleri J Dental Sci 2004; 10:69-73



3. Gibbon RJ. Studies of the predominant cultivable microbiota of the dental plaque. *Arch Oral Biol* 1964;9:365-370.
4. Türkkahraman H, Sayın Ö, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Önal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle Orthod* 2005;75:227-232.
5. Sinclair MP, Berry CW, Bennett CL, Israelson H. Changes in gingival and gingival flora with bonding and banding. *Angle Orthod* 1987;57:271-278.
6. Chatterjee R, Kleinberg I. Effect of orthodontic band placement on the chemical composition of human incisor tooth plaque. *Arch Oral Biol* 1979;24:97-100.
7. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances. *J Periodontol* 1996;67:78-85.
8. Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. *Orthod Craniofac Res* 2007;10:187-195.
9. Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. *Int J Dent Hyg* 2008;6:129-136.
10. N'Dobo-Epoy P, Gnagne-Agnerou Koffi ND, Sess ED, Guinan JC, Bakayoko Ly R. Comparison of the clinical detection and the biological detection of dental caries. *Odontostomatol Trop* 2001;24:5-8.
11. Boue D, Armau E, Tiraby G. A bacteriological study of rampant caries in children. *J Dent Res* 1987;66:23-28.
12. Edman DC, Keene HJ, Shklair IL, Hoeman KC. Dental floss for implantation and sampling of *Streptococcus mutans* from approximal surfaces of human teeth. *Arch Oral Biol* 1975;20:145-148.
13. Nyvad B, Kilian M. Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. *Caries Res* 1990;24:267-72.
14. Alaluusua S, Savolainen J, Tuompo H, Grönroos L. Slide-scoring method for estimation of *Streptococcus mutans* levels in saliva. *Scand J Dent Res* 1984;92:127-33.
15. Gold O, Jordan HV, van Houte J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 1973;18:1357-1364.
16. Svanberg M, Krasse B. Comparative recovery of *Streptococcus mutans* on two selective media. *Caries Res* 1990;24:36-38.
17. Van Palenstein Helderman WH, Ijsseldijk M, Huis in 't Veld JH. A selective medium for the two major subgroups of the bacterium *Streptococcus mutans* isolated from human dental plaque and saliva. *Arch Oral Biol* 1983;28:599-603.
18. Tanzer JM, Börjesson A-C, Laskowski L, Kurasz AB, Testa M. Glucose-sucrose-potassium tellurite-bacitracin agar, an alternative to mitis salivarius-bacitracin agar for enumeration of *Streptococcus mutans*. *J Clin Microbiol* 1984;20:653-659.
19. Nguyen C, Ranjitkar S, Kaidonis JA, Townsend GC. A qualitative assessment of non-carious cervical lesions in extracted human teeth. *Aust Dent J* 2008;53:46-51.
20. Lundstrom F, Krasse B. Caries incidence in orthodontic patients with high levels of *Streptococcus mutans*. *Eur J Orthod* 1987;9:117-121.
21. Kipioti A, Gusberti FA, Lang NP. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. *J Clin Periodontol* 1987;14:326-33.
22. Ulukapı H, Koray F, Efes B. Monitoring the caries risk of orthodontic patients. *Quintessence Int* 1997;28: 27-29.
23. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100: 35-37.
24. Scheie AA, Arneberg P, Krogstad O. Effect of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res* 1984;92:211-217.
25. Jordan C, LeBlanc DJ. Influences of orthodontic appliances on oral populations of *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17:65-71.
26. Chang HS, Walsh LJ, Freer TJ. Enamel demineralization during orthodontic treatment. Etiology and prevention. *Aust Dent J* 1997;42-45.
27. Ahn SJ, Lim BS, Lee SJ. Prevalence of cariogenic streptococci on incisor brackets detected by polymerase chain reaction. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131:736-741.
28. Ortendahl T, Thilander B, Svanberg M. *Streptococcus mutans* and incipient caries adjacent to glass ionomer cement or resin-based composite in orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1997;112:271-274.
29. Gmroos L, Alaluusua S. Site-specific oral colonization of *Streptococcus mutans* detected by arbitrarily primed PCR fingerprinting. *Caries Res* 2000;34: 474-480.
30. Socransky SS, Manganiello AD, Propas D, Oram V, vanHoute J. Bacteriological studies of developing supragingival plaque. *J Periodont Res* 1977;12:90-106.
31. Forsberg CM, Brattström V, Malmberg E, Erik C. Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli*. *Eur J Orthod* 1991;13:416-20.
32. Abe M. Microflora around the bracket by direct bonding system. *Nichidai Koko Kagaku* 1990;16:429-440.
33. Balenseifen JW, Madonia JV. Study of dental plaque in orthodontic patients. *J Dent Res* 1970;49:320-324.
34. O'Reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;92:33-40.
35. Aksoy A, Duran N, Toroglu S, Köksal F. Short-term effect of mastic gum on salivary concentrations of cariogenic bacteria in orthodontic patients. *Angle Orthod* 2007;77:124-128.
36. Steinberg D, Friedman M. Dental drug-delivery devices: local and sustained-release applications. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1999;16:425-459.
37. Zyskind D, Steinberg D, Stabholtz A, Friedman M, Sella MN. The effect of sustained release application of chlorhexidine on salivary levels of *Streptococcus mutans* in partial denture wearers. *J Oral Rehab* 1990;17:61-66.
38. Dogan AA, Adiloglu AK, Önal S, Çetin ES, Polat E, Uskun E, Köksal F. Short-term relative antibacterial effect of octenidine dihydrochloride on the oral microflora in orthodontically treated patients. *Int J Infect Dis* 2008; In Press
39. Dogan AA, Çetin ES, Hüseyin I, Adiloglu MA. Five days relative antibacterial effect of octenidine dihydrochloride on oral microflora in orthodontically treated patients. *Angle Orthod* 2009; In Press