دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال هجدهم، شماره ۲، صفحه ۳۱۳ - ۳۰۴ (خرداد و تیر ۱۳۹۴)

ISMJ 2015; 18(2): 304-313

ارزیابی کلینیکی و پاراکلینیکی بیماران تحت درمان ارتودنسی ثابت

سمیرا بهمنی [۱*]، ناصر هرزندی [۱]، نور امیرمظفری [۲]، صادق پوراحمدی [۳]،
هادی درویش‌پور کاخکی [۴]، سیامک یعقوبی [۵]، ندا ساجدی‌نژاد [۶]

[۱] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
[۲] گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
[۳] گروه پروتزهای دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
[۴] گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۵] گروه پریودنتولوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۶] گروه پریودنتولوژی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

(دریافت مقاله: ۹۲/۵/۲۲- پذیرش مقاله: ۹۲/۹/۳۰)

چکیده

زمینه: پلاک‌های باکتریایی، مهم‌ترین عوامل اتیولوژیکی عفونت‌های لثه‌ای (پریودنتال) می‌باشند. ورود دستگاه ارتودنسی (براکت، بند و سیم) به حفره دهانی تجمع میکروارگانیسم‌ها و توسعه بیوفیلم‌ها را تسهیل نموده و بیماری‌های پریودنتال مهم‌ترین مشکلات پزشکان و این دسته از بیماران می‌باشند. شناخت عوامل اتیولوژیکی جهت انجام اقدامات پیشگیرانه و درمان این ضایعات، حائز اهمیت است و مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کلینیکی و میکروبی عفونت‌های لثه‌ای بیماران تحت درمان ارتودنسی ثابت صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: با مراجعه به سه کلینیک دندانپزشکی استان البرز، ۶۵ بیمار تحت درمان ارتودنسی ثابت انتخاب شدند و در ماه سوم و دوازدهم درمان پس از ارزیابی پارامترهای کلینیکی شامل شاخص لثه‌ای، خونریزی لثه و عمق پاکت، نمونه‌گیری میکروبی از پلاک‌های زیر لثه‌ای بیماران صورت پذیرفت. استخراج DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت انجام و شناسایی همزمان *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* و *Porphyromans gingivalis* توسط تکنیک Multiplex PCR بر اساس ژن ۱۶S rRNA صورت گرفت.

یافته‌ها: بررسی‌های مولکولی عدم حضور *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* را نشان داد و تغییرات گذرای فراوانی *Porphyromans gingivalis* در نمونه پلاک‌های زیرلثه‌ای بیماران را تائید نمود (در ماه سوم درمان) ۰/۴۱±۲۰/۱ درصد و (در ماه ۱۲ درمان) ۰/۱۶±۲/۷ درصد، (P=۰/۰۲)، همچنین ارزیابی‌های کلینیکی بروز تظاهرات ژنژیویت با درجه متوسط و ثبات این ضایعه التهابی را تا انتهای درمان در این بیماران ثابت کرد.

نتیجه‌گیری: پژوهش حاضر عدم تأثیر *Porphyromans gingivalis* و *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* را در افزایش ژنژیویت مزمن در بیماران تحت درمان ارتودنسی ثابت، اثبات نمود و نشان داد این درمان طولانی مدت بیماران را مستعد پریودنتیت نمی‌نماید.

واژگان کلیدی: مالتیپلکس پی‌سی‌آر، اگریگیتی باکتر اکتینومایستم کومیتانس، پورفیرومنس جینجیوالیس، ژنژیویت، دستگاه ارتودنسی

* استان البرز، شهرستان کرج، گروه میکروب‌شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

E-mail :samirabahmani29@yahoo.com

مقدمه

پلاک‌های باکتریایی، مهم‌ترین عوامل اتیولوژیکی عفونت‌های لثه‌ای (پریودنتال) و پوسیدگی دندان‌ها می‌باشند. بیماری‌های مذکور شایع‌ترین اختلالات دهان و دندان و مهم‌ترین عوامل از دست‌رفتن دندان‌ها شناخته شده‌اند (۱ و ۲).

بروز بیماری‌های پریودنتال و پوسیدگی دندان با برهم خوردن تعادل اکولوژیکی دهان مرتبط است (۴-۱). مطالعات به روشنی اثبات کرده است که به دنبال انجام ارتودنسی و ورود اپلیانس‌های آن (براکت، بند و سیم) به حفره دهانی تعادل اکولوژیکی دهان برهم می‌خورد (۷-۳)، زیرا که این اپلیانس‌ها با ایجاد سطوح و فضاهای اضافی تجمع میکروارگانیسم‌ها و توسعه بیوفیلم‌ها را تسهیل نموده و شرایط مناسبی برای پیشرفت این ضایعات ایجاد می‌نمایند (۴، ۱۱-۸). همین امر سبب شده تا عفونت‌های لثه‌ای و پوسیدگی دندان مهم‌ترین مشکلات پزشکان و این دسته از بیماران باشند (۸، ۱۳-۱۰).

شواهد زیادی باکتری‌های خاص و محدودی را در تشکیل پلاک‌های ایجاد کننده این بیماری‌ها معرفی نموده است (۱، ۲، ۸، ۹، ۱۲، ۱۴ و ۱۵).

امروزه تحقیق در زمینه تغییرات کمّی و کیفی پریودنتوپاتوژن‌ها در پلاک‌های زیرلثه‌ای ناشی از دستگاه ارتودنسی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۶). هم ارزی مطالعات میکروبی با ارزیابی شاخص‌های پریودنتال چون پلاک و جینجیوال ایندکس، عمق پروبینگ پاکت و خونریزی لثه‌ای، تغییرات مهمّی که در ترکیب باکتری‌های افراد تحت درمان به وقوع می‌پیوندد را آشکار نمود (۱۶)، این در حالی است که تا به حال دائمی یا گذرا بودن تغییرات کلینیکی وضعیت پریودنتال بیماران به روشنی مشخص نشده است (۱۳). چندین مطالعه کلینیکی و میکروبی افزایش شکل‌گیری پاکت پریودنتال و تغییر میکروفلور زیرلثه‌ای را در اثر بند ارتودنسی اثبات نمود در حالی‌که این شرایط همانند وضعیت پلاک‌های بیماری‌های پریودنتال با افزایش باکتری‌های *Porphyromans gingivalis*، *Tannerella forsythia* و *Treponema denticola* بوده است (۲۰-۱۷). میکروارگانیسم‌های ویژه‌ای با بیماری‌های پریودنتال مرتبط‌اند (۱۴). *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* و *Porphyromans gingivalis* مهم‌ترین شاخص‌های پیش‌بینی بیماری‌های پریودنتال می‌باشند (۱، ۲، ۲۱ و ۲۲).

باکتری *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* با بیماری پریودنتیت مهاجم موضعی مرتبط است و *Porphyromans gingivalis* نیز با توانایی تولید فاکتورهای ویرولانس زیاد چون کلاژناز، همولیزین، پروتئاز، اندوتوکسین و اسیدهای چرب، از مهم‌ترین عوامل اتیولوژیکی زخم‌ها و عفونت‌های پریودنتال و پریودنتیت مزمن محسوب می‌شود (۱، ۲ و ۲۳).

از آنجا که بروز ژنژیویت و بزرگ شدن لثه به کرات در بیماران تحت درمان ارتودنسی مشاهده شده است (۴) و در شرایطی که اغلب بیماری‌های پریودنشیوم با عارضه ژنژیویت آغاز می‌گردند، همچنین حرکت دندان‌ها و افزایش فعالیت استئوکلاست‌ها در طول درمان ارتودنسی (۴)، شکل‌گیری فرضیه جدیدی بر اساس مستعد شدن بیماران تحت درمان ارتودنسی به بیماری خطرناک پریودنتیت را تقویت نمود و از آنجا که شناخت عوامل اتیولوژیکی جهت انجام اقدامات پیشگیرانه و درمان جهت رفع پیشروی این ضایعات در بیماران ارتودنسی، حائز اهمیت است؛ سبب گردید مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کلینیکی شاخص‌های پریودنتال به همراه تعیین فراوانی پریودنتوپاتوژن‌های اصلی در نمونه پلاک‌های

زیرلثه‌ای بیماران ارتودنسی به روش Multiplex PCR انجام گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصیفی- تحلیلی از نوع مقطعی، ۶۵ بیمار از مراجعه کنندگان به بخش ارتودنسی ۳ کلینیک تخصصی دندانپزشکی شهرستان کرج در استان البرز بر اساس معیارهای زیر انتخاب گردیدند: ۱) وضعیت سلامت پریودنتال در پیش از شروع درمان ارتودنسی ۲) قرار گرفتن دستگاه ارتودنسی ثابت حداقل در یک فک بیماران ۳) حضور تظاهرات کلینیکی ژنژیویت در هنگام نمونه‌گیری میکروبی ۴) عدم استعمال دخانیات ۵) عدم مصرف آنتی‌بیوتیک در ۳ ماه پیش از نمونه‌گیری ۶) عدم ابتلاء به بیماری‌های سیستمیک.

پس از ارائه شرح کاملی از مطالعه به بیماران و والدین برخی از آن‌ها (افراد زیر ۱۸ سال) تمامی بیماران رضایت کتبی خود را جهت انجام معاینات کلینیکی و نمونه‌گیری میکروبی اعلام داشتند. پس از نصب دستگاه ارتودنسی ثابت در دهان بیماران، آموزش رعایت بهداشت ویژه درمان ارتودنسی به آنان داده شد. در طی این مطالعه بیماران در دو زمان در طول درمان یکساله خود مورد ارزیابی کلینیکی و میکروبی قرارگرفتند؛ مرحله اول ۳ ماه پس از شروع درمان و قرارگرفتن براکت‌ها و بندها در حفره دهان و مرحله دوم در ماه دوازدهم درمان یک هفته پیش از برداشتن دستگاه ارتودنسی ثابت از حفره دهانی بود.

در مطالعه حاضر دندان‌های خلفی فک بالا و پایین به‌عنوان دندان‌های شاخص در نظر گرفته شدند، زیرا تحقیقات نشان دادند رعایت بهداشت دندان‌های مولر نسبت به اینسایزرها، کانین‌ها و پره مولرها مشکل‌تر است. علاوه بر آن به دنبال ارتودنسی حلقه‌های از پیش ساخته‌ای به نام بند که فاقد تطابق کامل با این دندان‌ها هستند به دور آن‌ها نصب شد و مطالعات نشان داده است که بندها مکان‌های مناسبی جهت گسترش پلاک‌های باکتریایی ایجاد می‌نمایند (۱۴ و ۱۷). بنابراین طبق دلایل مذکور دندان‌های خلفی نسبت به دندان‌های پیشین بهترین مکان برای بررسی اثر وسایل ارتودنسی بر وضعیت میکروبی و پریودنتال بیماران پیش‌بینی شدند و در مطالعه حاضر مورد ارزیابی میکروبی و کلینیکی قرارگرفتند.

معاینات کلینیکی بیماران توسط یک معاینه‌گر که آموزش لازم جهت تشخیص وضعیت پریودنتال بیماران را دیده بود، با به‌کارگیری آینه و پروب پریودنتال (Williams,USA) انجام پذیرفت. در طی این مطالعه وضعیت پریودنتال بیماران با ارزیابی ۳ پارامتر کلینیکی ایندکس لثه‌ای (GI: gingival index)، میانگین پروبینگ (PD: probing depth) و شاخص خونریزی لثه‌ای (BOP: bleeding on probing) در نواحی مزیال، مدیال و دیستال سطوح بوکال- لینگوال یا پالاتال دندان‌های شاخص تعیین گردید. BOP به‌عنوان یک شاخص قابل اطمینان در تشخیص ابتلاء لثه به ژنژیویت در نظر گرفته شد و ژنژیویت از طریق حرکت ملایم پروب در شیار لثه‌ی دندان‌های شاخص و مشاهده خونریزی تعیین گردید. GI به منظور ارزیابی شدت ژنژیویت به کار رفت و برمبنای امتیازبندی از ۰ تا ۳ در نظر گرفته شد، عدد صفر نشانگر لثه سالم از نظر کلینیکی، عدد ۱ التهاب خفیف، عدد ۲ التهاب متوسط و عدد ۳ التهاب شدید را نشان می‌داد. PD معرف عمق پاکت بود و توسط قرارگرفتن پروب پریودنتال در شیار لثه دندان‌های شاخص ارزیابی شد (۱ و ۲).

وضعیت پریودنتال بیماران به شرح زیر طبقه‌بندی گردید:

الف) وضعیت سالم پریودنتال: عدم خونریزی لثه و پاکت پریودنتال (PD≤۴mm).

ب) ژنژیویت: حضور خونریزی لثه و عدم شکل‌گیری پاکت پریودنتال (PD≤۴mm)

ج) پریودنتیت: حضور BOP و شکل‌گیری پاکت پریودنتال (PD>۴mm) (۹).

بعد از ارزیابی کلینیکی بیماران، نمونه‌گیری میکروبی از پلاک‌های زیرلثه‌ای در نواحی بوکال – لینگوال یا پالاتال دندان‌های شاخص به شرح زیر صورت پذیرفت: به‌وسیله قرار دادن ۲ تا ۳ رول پنبه استریل به دور دندان‌های شاخص، ناحیه نمونه‌گیری از دیگر بخش‌های حفره دهان جدا شده؛ پس از خشک کردن دندان‌ها چندین کن کاغذی (Endodontic point ISO 40) درون شیار لثه‌ای دندان‌های شاخص فروبرده شدند و به‌مدت ۶۰ ثانیه نگه داشته شدند (شکل ۱)؛ فوراً کن‌های کاغذی به میکروتیوب‌های انتقالی حاوی ۱ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر سالین با غلظت ۱ برابر منتقل گردیدند و با رعایت زنجیره سرد، میکروتیوب‌ها به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج منتقل گردیدند و تا بررسی‌های مولکولی در فریزر ۲۰°C- نگهداری شدند.



شکل ۱: فرآیند نمونه‌گیری از پلاک‌های زیرلثه‌ای

استخراج DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت DNPTM (CinnaGene Co, Iran) صورت پذیرفت. بررسی‌های مولکولی جهت شناسایی همزمان دو پریودنتوپاتوژن *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* و *Porphyromans gingivalis* در نمونه‌های تهیه شده با به کارگیری تکنیک Multiplex PCR بر اساس ژن ۱۶S rRNA انجام گرفت (۲۱ و ۲۲). پس از تهیه مخلوط اصلی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر (مراجعه به جداول ۱ و ۲)،

جدول ۱) توالی پرایمرها

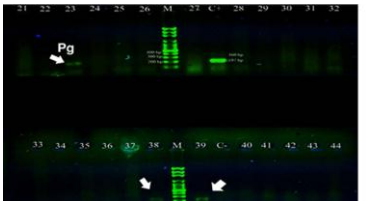
Pg-specific forward primer(*Pg*F)	5´- TGT AGA TGA CTG ATG GTG AAA ACC-3´
Aa-specific forward primer(*Aa*F)	5´- ATT GGG GTT TAG CCC TGG TG-3´
Conserved reverse primer(C11R)	5´-ACG TCA TCC CCA CCT TCC TC-3´

جدول ۲) غلظت‌ها و حجم‌های واکنش‌گرها جهت تهیه مخلوط اصلی

واکنش‌گرها	غلظت	حجم
محلول بافرPCR (با غلظت ۱۰ برابر)	۱ برابر	۲/۵میکرولیتر
چهار باز سازنده DNA (۱۰ میلی‌مولار)	۰/۵ میلی مولار	۱/۲۵میکرولیتر
یون کلرید منیزیم (۲۵میلی‌مولار)	۲ میلی‌مولار	۲ میکرولیتر
پرایمرهای فوروارد (غلظت ۱۰ میکرومولار برای هر پرایمر)	۰/۲۵میکرومولار	۰/۶۲میکرولیتر
پرایمر معکوس (غلظت ۱۰ میکرومولار)	۰/۵میکرومولار	۱/۲۵میکرولیتر
آنزیم تگ پلیمراز با شروع داغ	۲/۵ واحد	۰/۵ میکرولیتر
آب مقطر	_____	۶/۲۶میکرولیتر
DNAالگو	_____	۱۰میکرولیتر

برای انجام فرآیند Multiplex PCR نمونه‌ها، دستگاه ترموسایکلر (applied biosystem thermal cycler Veriti 96well, USA,) طبق پروفایل حرارتی اشاره شده در جدول ۳ در ۳۷ سیکل تنظیم گردید. در پایان، محصولات حاصل به‌روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۲ درصد مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۲). پس از ثبت تمامی اطلاعات کلینیکی و میکروبی بیماران در اوراق مخصوص آنان، جهت بررسی ارتباط بین شاخص‌های پریودنتال و شاخص‌های میکروبی با مدت زمان درمان، داده‌های حاصله وارد نرم‌افزار آماری SPSS (USA، Il، Chicago،SPSS Inc) ویرایش ۱۶ شد و از آزمون آماری تی (t-test

2tailed) و مربع کای (Chi square test) استفاده گردید و P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.



شکل ۲) الکتروفورز محصولات Multiplex PCR

جدول ۳) پروفایل حرارتی دستگاه ترموسایکلر

مراحل چرخه‌ی Multiplex PCR	مدت زمان مراحل	دمای مراحل
Initial Denaturation	۵ دقیقه	۹۵°C
Denaturation	۴۰ ثانیه	۹۵°C
Annealing	۵۰ ثانیه	۵۹°C
Extension	۹۰ ثانیه	۷۲°C
Final Extension	۱۰ دقیقه	۷۲°C
Initial Denaturation	۵ دقیقه	۹۵°C
Denaturation	۴۰ ثانیه	۹۵°C
Annealing	۵۰ ثانیه	۵۹°C

یافته‌ها

۶۵ بیمار شامل ۵۰ زن و ۱۶ مرد با میانگین سنی ۴±۲۱/۹ در این مطالعه شرکت کردند. ارزیابی مولکولی دو پریودنتوپاتوژن اصلی در مطالعه حاضر نتایج جالبی را به همراه داشت، در هیچ یک از نمونه‌های بررسی شده باند ۳۶۰bp باکتری *A. actinomycetemcomitans* شناسایی نشد؛ در صورتی که حضور و افزایش غیر معمول *Porphyromans gingivalis* با فراوانی ۰/۴۱±۲۰/۱ درصد در ماه سوم درمان (T۳) مشاهده گردید؛ زیرا که این باکتری اصلاً در شرایط سلامتی پریودنتال و ضایعات ژنژیویت یافت نمی‌شود (۲۵). با مقایسه این فراوانی با فراوانی ۰/۱۶±۲/۷ درصد باکتری نام برده در ماه دوازدهم درمان (T۱۲)، آنالیزهای آماری کاهش معنادار این باکتری را در انتهای درمان ارتودنسی نشان دادند (P=۰/۰۲)(جدول ۴).

جدول ۴) تغییر پارامترهای پریودنتال در طول درمان ارتودنسی

پارامترها	۳ ماه پس از درمان(T۳)	ماه دوازدهم درمان (T۱۲)	P value T۳/T۱۲
شاخص لثه‌ای* (میانگین±انحراف معیار)*	۱/۸۹±۰/۶۶	۲/۱۱±۰/۳۲	۰/۰۹
میانگین عمق پروبینگ** (میانگین±انحراف معیار)	۱/۶۵±۰/۶۷	۲±۰/۵۷	۰/۰۳
شاخص خونریزی لثه‌ای*** (٪)±انحراف معیار	۷۴±۰/۴۵	۹۷/۲۲±۰/۱۶	۰/۰۰۳
پورفیرومنس جینجیوالیس ٪±انحراف معیار	۲۰/۱±۰/۴۱	۲/۷±۰/۱۶	۰/۰۲

*GI(gingival index), **PD(probing depth), ***BOP(bleeding on probing), *Standard Deviation(SD), Mean, P<0.05.

ارزیابی درصد فراوانی شاخص خونریزی لثه (BOP) بیماران در زمان‌های T۳ و T۱۲ به‌ترتیب ۷۴±۰/۴۵ و ۹۷/۲۲±۰/۱۶ گزارش شد و آنالیزهای آماری افزایش معنادار این شاخص کلینیکی را به‌دنبال درمان ارتودنسی نشان دادند (P= ۰/۰۰۳) (جدول ۴).

میانگین شاخص لثه‌ای (GI) در دو زمان مورد بررسی به‌ترتیب ۱/۸۹±۰/۶۶ و ۲/۱۱±۰/۳۲ گزارش گردید و بررسی‌های آماری این افزایش را معنی‌دار نشان نداد (P=۰/۰۹) (جدول ۴). مطالعه حاضر بروز تظاهرات ژنژیویت با درجه متوسط در لثه دندان‌های شاخص را به‌دنبال نصب بند ارتودنسی از همان ابتدای درمان و ثبات این ضایعه التهابی را در بیماران تا انتهای درمان به وضوح نشان داد.

میانگین عمق پروب (PD) در زمان‌های T۳ و T۱۲ به‌ترتیب ۱/۶۵±۰/۶۷ و ۲±۰/۵۷ میلی‌متر گزارش شد و مقایسه این شاخص افزایش معنادار PD را نشان داد (P=۰/۰۳)(جدول ۴)، البته باید بیان نمود در مطالعه حاضر پاکت پریودنتال (PD>۴ میلی‌متر) در هیچ یک از بیماران مشاهده نگردید. نتایج حاصل از مطالعه حاضر تغییر وضعیت پریودنتال بیماران پس از ورود

اپلیانس بندمولر ارتودنسی را نشان داد و باید بیان نمود که ژنژیویت ناشی از پلاک‌های زیر لثه‌ای در نواحی بندمولر به‌صورت مزمن باقی مانده و برخلاف فرضیه مطالعه حاضر به ضایعه شدیدتر پریودنتیت پیشروی نکرد.

بحث

مطالعه حاضر به مقایسه تغییرات دو پریودنتوپاتوژن اصلی *Porphyromans gingivalis* و *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* در پلاک‌های زیر لثه‌ای بیماران تحت درمان ارتودنسی ثابت، پرداخت، زیرا که دانسته‌های ما در مورد اثر براکت و بند روی باکتری‌های زیر لثه‌ای بسیار محدود است (۱۴). ما تمایل داشتیم در این مطالعه میکروارگانیسم‌های مهمی که با التهاب و بیماری‌های پریودنتال بسیار مرتبطاند را در ضایعات ناشی از درمان ارتودنسی ارزیابی کنیم.

تعداد کل بیماران شرکت کننده در مطالعه حاضر ۶۵ نفر بود که از نظر سن قابل مقایسه بودند و در دو زمان مورد ارزیابی قرار گرفتند؛ اگرچه تعداد نمونه‌های بررسی شده کم بود، امّا نتایج آماری معنی‌داری در این مطالعه به‌دست آمد.

بر اساس پژوهش‌های انجام شده دوران ابتدایی قرارگرفتن اپلیانس‌های ارتودنسی مهم‌ترین زمان تغییرات اکوسیستم دهانی می‌باشند (۱۰، ۱۱ و ۱۳) و بیشترین تغییرات پارامترهای میکروبی و پریودنتال در ۳ ماه ابتدایی درمان بوقوع می‌پیوندد (۱۰ و ۱۱)، به همین دلیل در طی مطالعه حاضر بیماران در ماه سوم درمان بررسی شدند. از طرفی ارزیابی وضعیت پریودنتال و میکروبی بیماران در انتهای درمان اثر طولانی مدت وسیله بند را آشکار می‌نمود.

حساسیت و ویژگی مناسب تکنیک Multiplex PCR برای شناسایی پاتوژنهای بی‌هوازی گرم منفی نسبت به روش کشت و DNA پروب (۱۴، ۲۱ و ۲۲) سبب به‌کارگیری این تکنیک در مطالعه حاضر شد.

نتایج میکروبی مطالعه حاضر *Porphyromans gingivalis* را رایج‌تر از *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* در پلاک‌های زیرلثه‌ای بیماران در دوران ابتدایی درمان ارتودنسی نشان داد. فراوانی *Porphyromans gingivalis* در نمونه پلاک‌های زیرلثه‌ای بیماران بررسی شده با فراوانی‌های اعلام شده این پریودنتوپاتوژن در مطالعات سرنوچووا (Cernochova) و همکاران (۴)، لی (Lee) و همکاران (۸)، لیو (Liu) و همکاران (۲۳) و دلمینگ (Delming) و همکاران (۲۴) بسیار نزدیک بود؛ هرچند مطالعه دلمینگ اثر اپلیانس‌های لینگوالی را ارزیابی نمود ولی نتایجی شبیه به نتایج مطالعه حاضر را اعلام داشت. کاهش معنادار این باکتری در انتهای درمان یکساله مطابق نتایج گزارش شده توسط مطالعه ریستیک (Ristic) و همکاران (۱۶) بود.

ما برقراری تعادل اکولوژیکی جدید در حفره دهانی به دنبال طولانی شدن درمان را مسبب کاهش دور از انتظار *Porphyromans gingivalis* در این بیماران دانستیم. مطالعه حاضر همانند بررسی کاردوسو- سیلوا (Cardoso-Silva) و همکاران (۱۲)، *A.actinomycetemcomitans* را در هیچ‌یک از نمونه‌های بیماران بررسی شده، شناسایی نکرد. با توجه به اینکه وضعیت پریودنتال بیماران به واسطه ۳ شاخص BOP، GI و PD در پیش از شروع درمان ارتودنسی ارزیابی شده بود و ۶۵ بیمار شرکت کننده در مطالعه حاضر در شرایط سلامت پریودنتال به سر

می‌بردند، نتایج ارزیابی BOP پس از ۳ ماه از قرارگرفتن اپلیانس‌های ارتودنسی همانند نتایج مطالعه آموزکوئیتو نارانجو (Amezquita Naranjo) و همکاران (۹) بروز خونریزی و التهاب را از همان ابتدای درمان نشان داد.

ما افزایش خونریزی لثه و ثبات ضایعه التهابی ایجاد شده با درجه متوسط را تا انتهای درمان، دلیل افزایش معنادار PD دانستیم و تغییرات گذرای *Porphyromans gingivalis* و عدم حضور *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* در نمونه‌های بررسی شده را دلایل عدم شکل‌گیری پاکت پریودنتال و بروز پریودنتیت اعلام داشتیم؛ زیرا که این میکروارگانیسم‌ها مهم‌ترین عوامل اتیولوژیکی بروز پریودنتیت شناخته شده‌اند (۱، ۲، ۲۱ و ۲۲). و عدم فعالیت و درگیری آن‌ها با سیستم ایمنی میزبانان سبب عدم پیشرفت ضایعه التهابی می‌گردد.

نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر با مطالعه ون گاستل (Van Gastel) و همکاران در بلژیک (۱۰ و ۱۱) منطبق بود؛ هرچند که ون گاستل علاوه بر مکان‌های بنددار، وضعیت پریودنتال دندان‌های براکت‌دار را نیز بررسی نمود؛ یکی از مهم‌ترین نتایج اعلام شده توسط تیم ون گاستل عدم تفاوت تغییرات پریودنشیوم در دو ناحیه براکت‌دار و بنددار بود، با مقایسه نتایج مطالعه حاضر که تنها وضعیت پریودنتال دندان‌های مولر احاطه شده با بند ارتودنسی را مورد ارزیابی قرار داد با مطالعه ون گاستل می‌توان بیان نمود که بروز آسیب‌های شدید پریودنتال در نواحی بنددار نسبت به براکت‌دار تقریباً نادرست است، اما جهت ارائه نظر قطعی در این زمینه، مطالعات بیشتری لازم است.

از آنجا که تغییرات وضعیت پریودنتال افراد کاملاً به تغییرات کمّی و کیفی میکروارگانیسم‌های پلاک‌ها وابسته است. هم‌ارزی بررسی‌های کلینیکی و میکروبی در این مطالعه امکان بررسی همه جانبه‌ای را فراهم نمود، البته عدم امکان بررسی مولکولی پریودنتوپاتوژن‌های دیگر دخیل در ایجاد ضایعات پریودنتال را می‌توان از محدودیت‌های این تحقیق اعلام داشت. پژوهش حاضر عدم ارتباط دو پریودنتوپاتوژن *Porphyromans gingivalis* و *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* را در افزایش تظاهرات بالینی چون ژنژیویت مزمن در بیماران تحت درمان ارتودنسی اثبات نمود، هر چند ورود بند ارتودنسی با برهم‌زدن اکوسیستم دهان بیماران، تغییرات گذرای *porphyromans gingivalis* و فراوانی بالای این باکتری در ماه‌های ابتدایی درمان را سبب گردید؛ به هرحال حضور طولانی مدت این وسایل در دهان، شرایطی را جهت گسترش پلاک‌های مناسب رشد این باکتری فراهم ننمود و همین امر مانع بروز تغییرات کلینیکی پریودنتیت گشت. ما حضور و افزایش فراوانی پریودنتوپاتوژن‌های دیگر را در ایجاد این ضایعات، دخیل می‌دانیم.

مطالعه حاضر عدم تأثیر دو پریودنتوپاتوژن مذکور را در افزایش ژنژیویت مزمن در بیماران تحت درمان ارتودنسی اثبات نمود و نشان داد که قرار گرفتن اپلیانس‌های ارتودنسی ثابت در این درمان طولانی مدت، آسیب شدیدی به بافت‌های عمقی پریودنتال وارد نمی‌سازد و بیماران را مستعد پریودنتیت نمی‌نماید، با این وجود جهت کسب نتایج قطعی در این زمینه، مطالعات بیشتری لازم است.

سپاس و قدردانی

با تشکر از مدیریت و پرسنل محترم کلینیک دندانپزشکی حصارک، فردیس و قائم (عج) که در اجرای این مطالعه همکاری بسیاری نمودند. با تشکر

از دکتر فرزین اصلانی (متخصص ارتودنسی و ناهنجاری‌های دندانی– فکی)، دکتر علیرضا باهنر (اپیدمیولوژیست)، و تمامی اساتید و پرسنل محترم بخش پریودنتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و در نهایت تشکر فراوان از تکنسین آزمایشگاه مولکولی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج جناب آقای امیر بختیاری که در این تحقیق همکاری بسیاری نمودند و از کلیه بیماران تحت درمان ارتودنسی به خاطر همکاری در اجرای این تحقیق صمیمانه تشکر می‌نماییم.

References:

1.Quirynen M, Teughels W, Kinder Haake S, et al. Clinical Periodontology. In: Carranza FA, Newman MG, Carranza s, editors. Microbiology of periodontal diseases.10th ed. Philadelphia: Sanders LI rntr, 2002, 134-275.
2.Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal Infections. In: Lindeh J, Lang PL, Karring L, editors. Clinical periodontology and implant dentistry. 5th ed. UK: Blackwell, 2009. 207-49.
3.Topaloglu-AK A, Ertugrul F, Eden E, et al. Effect of orthodontics appliances on oral microbiota-6 month follow-up. J Clin Pediatr Dent 2011; 35: 433-6.
4.Cernochova P, Augustin P, Fassmann A, et al. Occurrence of periodontal pathogens in patients treated with fixed orthodontic appliances. Scr Med (Brno) 2008; 81:85-96.
5.Wennstrom JL. Mucogingival considerations in orthodontic treatment. Semin Orthod 1996; 2: 46-54.
6.Bollen AM, Cunha-Cruz J, Bakko DW, et al. The effects of orthodontic therapy on periodontal health: a systematic review of controlled evidence. J Am Dent Assoc 2008; 139: 413-22.
7.Ogaard B. Prevalence of white spot lesions in 19-year-olds: a study on untreated and orthodontically treated persons 5 years after treatment .Am J Orthod Dentofacial Orthop 1989; 96: 423–7.
8.Lee SM, Yoo SY, Kim H, et al. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival dental plaques from gingivitis lesions in korean orthodontic patients. J Microbiol 2005; 43: 260-5.
9.Naranjo AA, Triviño ML, Jaramillo A, et al. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2006; 130: 275.e17-e22.
10.Van Gastel J, Teughels W, Quirynen M, et al. Longitudinal changes in gingival crevicular fluid after placement of fixed orthodontic appliances. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011; 139: 735-44.
11.Van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, et al. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal parameters after removal of fixed orthodontic appliances. Eur J Orthod 2011; 33: 15–21.
12.Cardoso-silva C, Barberia E, Ramos AJ, et al. Microbiological analysis of gingivitis in pediatric patients under orthodontic treatment. Eur J pediatr dent 2011; 12: 210-4.
13.Kim SH, Choi DS, Jang I, et al. Microbiological changes in subgingival plaque before and during the early period of orthodonthic treatment. Angle Orthod 2011 ; 82: 254-60.
14.Choi DS, Cha BK, Jost-Brinkmann PG, et al. Microbiologic changes in subgingival plaque after removal of fixed orthodontic appliances. Angle Orthod 2009; 79: 1149-55.
15.Faghri J, Moghim SH, Abed AM, et al. Prevalence of *Porphyromans gingivalis* and *Bacteroides forsythus* in chronic periodontitis by multiplex PCR. Pakistan J Biol Sci 2007; 10: 4123-7.
16.Ristic M, Svabic MV, Sasic M, et al. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. Orthod Craniofacial Res 2007; 10: 187-95.
17.Bue AM, Blandino G, Milazzo I, et al. Microbiological and clinical periodontal effects of fixed orthodontic appliances in pediatric patients. New Microbiol 2008; 31: 299-302.
18.Huser MC, Baehni PC , Lang R. Effect of orthodontic bands on microbiological and clinical parameters. Am J Orthod Dentofacial Orthop1990; 97: 213-8.
19.Blandino G, Lo Bue AM, Milazzo I, et al. Comparison of systemic flurithromycin

therapy and clinical producers in the treatment of periodontal diseases. J Chemother 2004; 16: 151-5.
20.D Erocele S, Piccolomini R, Capaldo G, et al. Effectiveness of ultrasonic instruments in the therapy of severe periodontitis: a comparative microbiological assessment with curettes. New Microbiol 2006; 29: 101-10.
21.Tran SD, Rudney JD. Multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA Gene primers for simultaneous detection of Actinobacillus actinomycetemcomitans and *Porphyromans gingivalis*. J Clin Microbiol 1996; 34: 2674-8.
22.Tran SD, Rudney JD. Improved multiplex PCR using conserved and species-specific 16S rRNA Gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus* and *Porphyromans gingivalis*. J Clin Microbiol 1999; 37:3504-8.
23.Liu H, Sun J, Dong Y, et al. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromons gingivalis* during orthodontic treatment. Angle Orthod 2011; 81: 609-15.
24.Demling A, Demling C, Schwestka-Polly R, et al. Influence of lingual orthodontic therapy on microbial parameters and periodontal status in adults. Eur J Orthod 2009; cjp064.
25.Doungudomdacha S, Rawlinson A, Douglas CWI. Enumeration of *Porphyromanas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque sample by a quantitative-competitive PCR method. J Med Microbiol 2000; 49: 861-74.

ISMJ 2015; 18(2): 304-313

Original Article

Clinical and Para-Clinical Evaluation of Patients Treated with Fixed Orthodontic Appliances

S. Bahmani [1*], N. Harzandi [1], N. Amirmozafari [2], S. Pourahmadi [3], H. Darvishpour Kakhki [4] .S. yaghobi [5], N. Sajedi nejad [6]

[1] Department of Microbiology, College of Basic Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Alborz, Iran
[2] Department of Microbiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Department of Prosthodontics, Dental School, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
[4] Department of Orthodontics, Dental School, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Department of Periodontics, Dental School, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6] Department of Periodontics, Dental School, Zanjan University of Medical Scienses, Zanjan, Iran

(Received 13 Aug, 2013 Accepted 21 Dec, 2013)

Abstract

Background: Bacterial plaques are the important etiologic factors of gingival (periodontal) diseases. It is well established that orthodontic appliances (bracket, band and arch wire) playing an important role in growth of these plaques, therefor periodontal diseases the main problems of orthodontists and these patients. Recognition of etiologic factors of these diseases is important for prophylaxis and cure performances, and the aim of present study was evaluation of clinical and microbial of gingival infections in patients treated with fixed orthodontic appliances.

Materials and Methods : By refer to the orthodontic department of three dentistry clinics of Karaj city, 65 patients under fixed orthodontic treatment were selected and at third and twelfth month of treatment, after clinical parameters evaluation such as gingival index, bleeding on probing and probing depth, microbiological sampling was performed from subgingival plaques of these patients. Whole genomic DNA of the samples was extracted using a kit, and a 16S rRNA gene segment-based multiplex PCR method was used to simultaneous detection of *Aggrigatibacter actinomycetemcomtans* and *Porphyromans gingivalis*.

Results: Molecular evaluation of this study showed that *Aggrigatibacter actinomycetemcomtans* was not present in tested samples, although transient changes in *Porphyromans gingivalis* frequency was reported (%20.1±0.41 (T3) and %2.7±0.16 (T12) P=0.02) , also clinical evaluation revealed appearance of signs of moderate gingivitis and stability of the inflammatory lesion until termination of treatment in these patients.

Conclusion: Present study showed that was no meaningful relationship between *Porphyromans gingivalis* and *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans* to increase of chronic gingivitis in treated patients with fixed orthodontic appliances, and this long term therapy did not to prepare patients into periodontitis.

Key words: Multiplex PCR, *Aggrigatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromans gingivalis*, gingivitis, orthodontic appliances.

***Address for correspondence*: Samira Bahmani.Department of Microbiology, Islamic Azad University, Karaj Branch, Alborz, Iran. E-mail: samirabahmani29@yahoo.com