

Parodontiidi esmase ravi efektiivsuse mikrobioloogiline hindamine ja patogeenide spekter

Krista Lõivukene¹, Ene-Renate Pähkla², Taive Koppel², Mare Saag², Paul Naaber¹ –

¹TÜ Kliinikumi ühendlabor, ²TÜ stomatoloogia kliinik

parodontiit, igemetasku mikrofloora, mikrobioloogiline diagnostika

Parodontiit on hammast ümbritsevate kudede krooniline haigus, mis võib olla põhjustatud erinevate patogeenide poolt. Parodontiidi esmane ravi on biokile mehaaniline eemaldamine ja juurepindade silestamine, millele lisandub vajadusel antibiootikumravi. Töös on uuritud mehaanilise ravi edukust (patogeenide elimineerimine), patsientide igemetasku patogeenide spektrit ja igemetasku kogu mikrofloora kasvutiheduse seost seal leiduvate erinevate patogeenide arvuga. Iga patsiendi parodontaalpatogeenide individuaalne kindlakstegemine on optimaalse antibiootikumravi valiku aluseks.

Parodontiit on krooniline infektsioosne hammast ümbritsevate kudede haigus, kus alveolaarluu hävinemine võib viia hamba/hammaste väljalangemiseni (1). Parodontiidi tõestatud tekitajateks on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia/nigrescens*'i grupp, *Peptostreptococcus micros* ja *Campylobacter rectus* (2, 3). On leitud, et patogeenide esinemine ja hulk on seotud ka patsiendi vanuse, elutingimuste ja geograafilise piirkonnaga (4–7). Erinevates populatsioonides ja geograafilistes piirkondades ei pruugi aga näiteks Euroopas levinud tõestatud patogeenid alati seostuda haigusega (8, 9). Samas on leitud seoseid mitmesuguste muude patogeenide (näiteks enterokokid, enterobakterid, anaeroobsed gramnegatiivsed pulkbakterid) ja parodontiidi esinemise vahel (7, 9). Samuti on oluline patogeenide ja normaalse mikrofloora suhe, kuna suuõõne tervetes paikmetes on eespool nimetatud mikroobe leitud harva ja väga väikestes hulkades (10).

Parodontiidi ravistrateegiaks on spetsiifiliste patogeenide allasurumine ja eemaldamine, kus põhiraviks on lokaalanesteesias mehaaniline biokile eemaldamine ning juurepindade silestamine üle kogu hammaskonna, vajadusel lisandub parodontaalkirurgia (11–13). Mehaaniline teraapia ei pruugi patogeene täielikult kõrvaldada, kuna mikroobidel on võime tungida igemekudedesse ja püsida instrumentidele kättesaamatutel

hambastruktuuridel (14). Seetõttu tagab mehaanilise ravi kombinatsioon antibiootikumidega parima tulemuse (14–16). Konkreetse antimikroobse raviskeemi valik sõltub otseselt domineeriva(te)st haigustekitaja(te)st ja nende antibiootikumitundlikkusest (17, 18). Kuna paradontiit on krooniline eluaegne haigus, ravitakse patsiente aastate jooksul korduvalt antibiootikumidega. Seetõttu ennetab haigustekitaja(te) õigeaegne diagnoosimine ja adekvaatne elimineerimine empiirilise ravi ebaõnnestumise ning resistentsete tüvede tekke.

Alates 2001. aastast on Tartu Ülikooli stomatoloogiakliiniku ja TÜ Kliinikumi ühendlabori koostöona komplekselt uuritud paradontiidi kliinilist pilti ning patogeenide esinemist esmase ravi järel. **Töö eesmärk** oligi nende tulemuste põhjal hinnata 1) mehaanilise ravi edukust vastavalt igemetasku mikrobioloogilisele leiule, s.t patogeenide esinemisele; 2) patsientide igemetasku tõestatud ja potentsiaalsete patogeenide spektrit ja 3) igemetasku kogu mikrofloora kasvutiheduse seost seal leiduvate erinevate patogeenide arvuga.

Patsiendid ja meetodid

Patsientide suuõõnt hinnati kliiniliselt ja igemetasku proovid koguti TÜ Kliinikumi stomatoloogia polikliinikus. Igemetaskute mikrofloora määrati rutiinse laboratoorse analüüsina 140 patsiendil (vanus 13 kuni 68 aastat), kel esines paradontiit ja igemetasku sügavus oli ≥ 4 mm mõõdetuna WHO paradontaalsondiga. Ükski patsientidest polnud viimase 3 kuu jooksul tarvitanud antibiootikume.

Igemetasku kaabe võeti 6 sügavamast paradontaaltaskust hambapinnalt steriilse Gracey 13/14 küretiga 2 ml anaeroobsesse laboris valmistatud VMGA (*Viability medium*, Göteborg, *anaerobically prepared and sterilized*) transportsöötmesse (19). Transportsöötimest tehti järjestikused lahjendused 2 ml Brucella puljongisse (BBL). Mikroobide kvantitatiivseks määramiseks külvati lahjendused (100 μ l) Brucella agarile (Oxoid) 1% menadiooni ja 5% hobuse verega (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) ning inkubeeriti anaeroobses keskkonnas (anaeroobne käsiboks, Sheldon Manufacturing inc.) 48–72 tundi. *A. actinomycetemcomitans*?i isoleerimiseks külvati lahjendused (10^{-3} , 10^{-4}) TSBV agarile (Tryptone Soya Agar batsitratsiini ja vankomütsiiniga, Oxoid) ja inkubeeriti mikroaeroobses (CO_2 10%) keskkonnas 72 tundi. Patogeenid samastati pesade

morfoloogia, Grami järgi värvumise, katalaasi, indooli ja oksüdaasi (Oxoid) testide, autofluorestsentsi ja diagnostiliste diskidega. Mikroobide kasvutihedust väljendati kümnendlogaritmina PMÜ (pesa moodustav ühik)/ml-s.

Patogeenide arvu ja mikrofloora kolonisatsioonitiheduse vahelise korrelatsiooni hindamiseks (Spearmani test) kasutati JandelSigmaStat 2,0 programmi.

Tulemused

Igemetasku patogeene ei sedastatud 33%-l eelnevalt ravitud patsiendil, samas isoleeriti ülejäänud 67%-l patsientidest 1–5 erinevat patogeeni. Patsientide koloniseeritus patogeenidega on esitatud tabelis 1.

Tabel 1 (artikli lõpus)

Ravitud patsientide igemetasku erinevate mikroobide kolonisatsioonitihedus varieerus 0-st kuni 8,4 log PMÜ/ml (mediaan 5,5 PMÜ/ml) ja oli positiivselt seotud isoleeritud patogeenide arvuga ($p < 0,001$) (vt jn 1), olles patogeenide esinemise võimalikuks indikaatoriks.

Joonis 1 (eraldi fail)

Igemetasku tõestatud patogeenidest domineerisid *P. intermedia/nigrescens*'i grupp ja *A. actinomycetemcomitans* vastavalt 37-l ja 36 patsiendil, *P. micros* esines 12-l, *P. gingivalis* 7-l, *B. forsythus* neljal ja *C. rectus* kahel patsiendil. Lisaks üldtunnustatud parodontiiditekitajatele leidsime patsientide igemetaskutest ka muid potentsiaalseid patogeene (vt jn 2).

Joonis 2 (eraldi fail)

Arutelu

Leidsime, et kahel kolmandikul patsientidest esines pärast esmast mehaanilist ravi ikkagi üks kuni viis erinevat patogeeni, kuigi kõige sagedasem oli infitseeritus ühe patogeense mikroobiga. Ühel kolmandikul patsientidest me patogeene ei leidnud – see näitab haiguse remissiooni. Kirjanduse andmetel väheneb esmase ravi järel mikroobide kolonisatsioonitihedus ja patogeenide hulk (11–13), kuid kuna osa mikroobe on võimelised tungima igemekoosse (18), ei pruugi mehaaniline ravi neid täielikult eemaldada. Seega võib valenegatiivsuse põhjus olla patogeenide väga väike hulk. Mikrobioloogilise analüüsi tulemust mõjutab nii materjali võtmine, transporditingimused

ja -aeg kui ka võimalused. Kuna tõelised periodontaalsed patogeendid on kas mikroaerofiilid või anaeroobid, sõltub mikroobide väljakasv eeskätt materjali võtmisest ja laborisse saatmise ajast (20), samuti anaeroobsetest transpordi ning kultiveerimise tingimustest (3).

Ravitud patsientide igemetasku kogu mikrofloora kolonisatsioonitihedus varieerus 0–8,4 log PMÜ/ml. Täiesti mikroobivabu proove oli vähe, vaid neli 140st. Keskmise igemetasku mikrofloora kolonisatsioonitihedus oli 5,5 log PMÜ/ml, mis vastab 3×10^5 PMÜ/ml. Selline kasvutihedus on tunduvalt väiksem ravimata igemetasku mikroobihulgast (10^{11} – 10^{12} PMÜ/ml) ja see oli ka eeldatav tulemus. Samas leidsime, et rohke igemetasku-mikrofloora korral esines rohkem erinevaid patogeenseid mikroobe. Kui tervetel inimestel osaleb residentmikrofloora suu ökotoobi kujunemisel ning kaitseb patogeenide eest (5), siis juba väljakujunenud parodontiidi ja sügavate igemetaskute olemasolul loob ka mittepatogeenide tihe kolonisatsioon eeldused anaeroobide kasvuks ning viitab patogeenide olemasolule.

Ravitud patsientide igemetasku materjal sisaldas kõiki tõelisi parodontaalpatogeene, millest sagedasemad olid *P. intermedia/nigrescens*'i grupp ja *A. actinomycetemcomitans*. Lisaks igemetasku nn tõestatud patogeenidele määrasime potentsiaalselt patogeenseid aeroobe ja anaeroobe. Ka kirjanduse andmetel jagatakse parodontaalsed mikroobid “punaseks”, “oranžiks”, “kollaseks” ja “roheliseks” liigikompleksiks, kus punasesse rühma kuuluvad kõige patogeensemad mikroobid ja rohelistesse normaalse mikrofloora esindajad (21). Võimalike haigustekitajate hulka kuuluvad peale eespool nimetatud igemetasku tõeliste patogeenide veel erinevad fusobakterid, bakteroidid, *prevotella*'d ja muud mikroobid. Erinevas rahvastikus võivad domineerida erinevad igemetasku patogeendid (6–9), kuid kuna meil oli tegemist ravitud haigetega, siis nende andmete põhjal pole võimalik Eesti patsientide mikrofloorat võrrelda teiste populatsioonide omaga. Samas oleks oluline teada just algseid mikroobikooslusi, et hinnata erinevate patogeenide resistentsust esmase ravi suhtes ning prognoosida antibiootikumravi vajalikkust ja ravimi(te) valikut. Leidsime, et ühe ja mitme patogeeni koloniseeritud patsientide hulk oli peaaegu võrdne (vastavalt 53 ja 48 juhtu) ning selline polümükröobne etioloogia nõuab juba kombineeritud antibakteriaalset ravi, mis mõjuks nii mikroaerofiilsetele kui ka anaeroobsetele bakteritele (18, 22). See

tingib vajaduse uurida iga parodontiidijuhtu individuaalselt, et tagada igale patsiendile optimaalne ravi.

Mehaaniline ravi elimineeris patogeeneid 33%-l patsientidest. 38%-l esines üks ja 29% patsientidest olid infitseeritud 2 või enama erineva igemetasku-patogeeni. Isoleeritud patogeeneide arv ühel patsiendil seostus otseselt igemetasku mikrofloora rohkusega. Seega on iga patsiendi parodontaalpatogeeneide kindlakstegemine adekvaatse diagnostika ja optimaalse antibiootikumravi valiku aluseks.

Kirjandus

1. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997; 14:12–32.
2. Asikainen S, Alaluusua S. Bacteriology of dental infections. *Eur Heart J* 1993; 14:43–50.
3. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron D, Baron EJ, Wexler HM, Finegold SM. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*. 6th ed. Belmont, California: Star Publishing Company; 2002.
4. Hori R, Sato M, Kohno S, Hoshino E. Tongue microflora in edentulous geriatric denture-wearers. *Microb Ecol Health Dis* 1999;11:89–95.
5. Marsh PD. Role of oral microflora in health. *Microb Ecol Health Dis* 2000;12:130–7.
6. Craig RG, Boylan R, Yip J, Bamgboye P, Koutsoukos J, Mijares D, et al. Prevalence and risk indicators for destructive periodontal disease in 3 urban American minority populations. *J Clin Periodontol* 2001;28:524–35.
7. Papapanou PN, Teanpaisan R, Obiechina NS, Pithpornchaiyakul W, Pongpaisal S, Pisuthanakan S, et al. Periodontal microbiota and clinical periodontal status in a rural sample in Southern Thailand. *G. Eur J Oral Sci* 2002;5:345–52.
8. Dowsett SA, Kowolik MJ, Archila LA, Eckert GJ, LeBlanc DJ. Subgingival microbiota of indigenous Indians of Central America. *J Clin Periodontol* 2002; 29:159–67.
9. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalem WJ, Uzeda M. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol* 2002;73:360–9.
10. Asikainen S, Chen C. Oral ecology and person-to-person transmission of *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis*. *Periodontol 2000* 1999;20:65–81.
11. Berglundh T, Liljenberg B, Lindhe J. Some effects of periodontal therapy on local and systemic immunological parameters. *J Clin Periodontol* 1999;26:91–8.
12. Petersilka GJ, Ehmke B, Flemming TF. Antimicrobial effects of mechanical debridement. *Periodontol 2000* 2002;28:56–71.

13. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Som S, Thompson M, Torresyap O, Socransky SS. The effect of repeated professional supragingival plaque removal on the composition of the supra- and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2000;27:637–47.
14. Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 1990;17:479–93.
15. Goodson JM. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:142–68.
16. Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontitis. *Periodontol 2000* 1996;10:45–78.
17. Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 1998;25:354–62.
18. Slots J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodont Res* 2002;37:389–98.
19. Dahlen G, Pipattanagovit P, Rosling B, Möller AJR. A comparison between two transport media for saliva and subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8:375–82.
20. Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972;24:638–44.
21. Socransky SS, Smith C, Haffajee AD. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002;29:260–8.
22. Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Local antibiotic therapy guided by microbiological diagnosis. *J Clin Periodontol* 2002;29:743–9.

Summary

The spectrum of periodontal pathogens after the first-line treatment in patients with periodontitis in Southern Estonia

Periodontitis is a chronic infectious disease which leads to the destruction of the gingiva and alveolar bone until tooth loss. The evidence of bacterial specification in periodontitis

patients has led to periodontal instrumentation combined with systemic antibiotic treatment. The main objectives of the study were 1) to evaluate the efficacy of instrumentation according to the presence of pathogens, 2) to determine the spectrum of pathogens and 3) to compare the total degree of colonisation with the number of the pathogens.

Altogether 140 patients aged 13–68 years were studied. Samples from the periodontal pockets were placed in anaerobic transport vials; five-fold dilutions were made and seeded onto the Brucella and BVT5 agar plates. The pathogens were identified according to their colonial and cellular morphology, the potency disk pattern and the biochemical profiles.

After periodontal instrumentation no pathogens were isolated in 46 patients, 94 were colonised with 1–5 pathogenic species. Fifty-three patients harboured one pathogen, 27 harboured two, 12 three and two patients harboured 5 pathogens. The total load of colonisation varied from 0 to 8.4 CFU/mL (median 5.5 CFU/mL), being positively correlated with the number of isolated pathogens ($p < 0.001$). The *P. intermedia/nigrescens* group was present in 37, *A. actinomycetemcomitans* in 36 *P. micros* in 12, *P. gingivalis* in 7, *B. forsythus* in 4 and *C. rectus* in 2 patients. Higher colonisation with oral bacteria indicates presence of periodontal pathogens. Of these patients 33% remained pathogen-free, indicating the success of primary mechanical therapy. However, 67% of the patients were also colonised with one to five different pathogens. Therefore, for the successful diagnosis and therapy of periodontal diseases, individual microbiological examination of each patient is recommended.

krista.loivuke@kliinikum.ee

Tabel 1. Esmaselt ravitud patsientide igemetasku kolonisatsioonimustrid

Patogeenide arv	Patsientide hulk	
	arv	%
0	46	33
1	53	38
2	27	19
3	12	9
5	2	1

Jooniste allkirjad (joonised eraldi failis).

Joonis 1. Igemetasku mikrofloora kolonisatsioonitihedus ja isoleeritud patogeenide arv.

Joonis 2. Erinevate patogeenide esinemine ravitud patsientidel.

