

# Tidligt manifesterende parodontitis

## Ny klinisk og mikrobiologisk viden om *early-onset* parodontitis og *Actinobacillus actinomycesetemcomitans*

Dorte Haubek

Blandt marokkanske unge indvandrere i Danmark og unge marokkanere i Marokko er der fra dental plak isoleret en muteret stamme af slægten *Actinobacillus actinomycesetemcomitans* (*Aa*).

Karakteristisk for denne stamme er at den har mistet et DNA-stykke (en deletion på 530 basepar) i leukotoksin-genkomplekset. Denne ændring har medført at produktionen af leukotoksin er blevet forhøjet betydeligt. Leukotoksin er i stand til at dræbe humane immunforsvarsceller. Påvisning af *Aa* med deletionen er associeret med tilfælde af *early-onset* parodontitis (EOP).

Formålet med undersøgelserne var at undersøge hyppigheden af bærere af den muterede *Aa* i en marokkansk population, samt at undersøge associationen mellem den muterede *Aa* og EOP. Desuden var formålet at sammenligne graden af parodontal destruktion hos EOP-patienter med eller uden den pågældende mutant af *Aa*.

Undersøgelserne viste at 15% af 301 marokkanske børn og unge i alderen 14-19 år havde EOP. Tilstedeværelsen af *Aa* med deletionen var stærkt associeret med EOP. Den parodontale destruktion hos EOP-patienter koloniseret med *Aa* med deletionen var signifikant større end blandt patienter uden *Aa* med deletionen i dental plak.

Artiklen er baseret på arbejder som tidligere er publiceret i *Journal of Dental Research* 2001; 80: 1580-3 og *Journal of Clinical Periodontology* 2002; 29: 657-60.

I klinikken ses kun sjældent unge med større parodontale destruktions. Forekomsten af juvenil parodontitis anses da også fortsat for at være lav i Skandinavien. Flere studier fra 1980'erne angiver en prævalens på ca. 0,1% (1,2). Det har dog længe været kendt at prævalensen af juvenil parodontitis varierer afhængig af hvor i verden den enkelte undersøgelse er gennemført (3-7). Egentlige grunde hertil ud over forskelle i diagnostiske kriterier har ikke været beskrevet.

I enkelte storbyområder i Danmark, beboet af mange indvandrere, har tandlæger ligeledes observeret at der synes at være forskelle i forekomsten af parodontitis blandt unge fra forskellige dele af verden.

Den orale mikroorganisme *Actinobacillus actinomycesetemcomitans* (*Aa*), har i mange år haft tandlægers og forskeres interesse i relation til *early-onset* parodontitis (EOP). I 1994 beskrev en forskergruppe fra Philadelphia i USA en mutant af *Aa* for hvilken det var karakteristisk at den havde mistet et DNA-stykke (en deletion) på 530 basepar i reguleringsregionen for leukotoksin-genkomplekset (8). Leukotoksin er i stand til at dræbe humane immunforsvarsceller og er derfor en udfordring for vort immunforsvar. Det har længe været kendt at leukotoksinproduktionen varierer blandt forskellige isolater af *Aa* (9), men den egentlige molekylærbiologiske begrundelse herfor var ikke kendt. Forskergruppen fra Philadelphia fandt imidlertid at det var isolater med relativt høj leukotoksinproduktion der var karakteriseret ved den omtalte deletion på 530 basepar og fandt frem til at *Aa* med deletionen havde en 10-20 gange forhøjet leukotoksinproduktion i forhold til isolater uden deletionen (8).

En undersøgelse af den geografiske udbredelse af *Aa* karakteriseret ved deletionen på 530 basepar har vist at det primært er individer bosiddende i Afrika eller med afrikansk oprindelse der er bærere af *Aa*-mutanten (10).

Det er endvidere i flere studier vist at *Aa* med deletionen forekommer i dental plak fra patienter med EOP (11,12). Der har kun været beskrevet ganske få tilsyneladende raske bærere af *Aa* med deletionen (10,12,13).

Hensigten med vore undersøgelser var at gennemføre en populationsbaseret undersøgelse af forekomsten af *Aa* med deletionen i et land hvor vi på basis af resultater fra tidligere studier forventede at finde en høj forekomst af denne *Aa*-mutant, samt at relatere de mikrobiologiske fund til skolebørnenes parodontale status. Desuden var hensigten at undersøge om der er forskel i den parodontale destruktion blandt EOP-patienter med og uden *Aa* karakteriseret ved deletionen på 530 basepar.

### Materiale og metoder

#### Studiepopulation

I studiet indgik 301 marokkanske børn og unge i alderen 14-

19 år fra otte af mere end 50 skoler i hovedstaden, Rabat. Skolerne blev tilfældigt udvalgt og var spredt over alle de tre administrative distrikter som byen er opdelt i. Klinisk undersøgelse og plakprøvetagning blev udført på skolerne (Fig. 1).

#### Klinisk undersøgelse

Efter indhentning af informeret samtykke og interview om rygning, diabetes mellitus og medicinindtag gennemgik deltagere en parodontal undersøgelse af hele tandsættet inkluderende måling af pouchedybde og fæstetab mesialt og distalt såvel oralt som bukkalt på alle permanente tænder. Alle målinger blev udført af den samme undersøger, som demonstrerede høj *intra-examiner* reliabilitet (Pearson korrelationskoefficient var 0,94, kappa for måling af fæstetab på 3 mm eller mere var 0,93).

Diagnosen EOP blev stillet hvis der i tandsættet var én eller flere tænder med fæstetab på  $\geq 3$  mm (14,15).

#### Mikrobiologisk procedure

Plakprøver blev taget fra to tandkødsломmer med pocher over 4 mm og/eller med fæstetab. De to prøver blev samlet i et prøveglas. Blandt samtlige prøver var 95% taget fra førstemolarer og incisiver.

Blandt de 301 plakprøver der blev taget, måtte 84 ekskluderes pga. af enten overvækst af 1-2 dominerende og hurtigt voksende mikroorganismer (eksempelvis gærsvampe) eller pga. manglende vækst af prøven (Tabel 1).

Fra de resterende prøver blev *Aa* identificeret baseret på typisk kolonimorfologi (stjernelignende struktur i midten af

Tabel 1. Fordelingen af 301 individer i relation til diagnose (raske eller *early-onset* parodontitis (EOP)) og påvisning i plakprøverne af *A. actinomycetemcomitans* (*Aa*) med og uden 530 basepar deletionen i promoter-regionen af leukotoksin-genkomplekset. Tallene i parenteserne er procenter.

Mikrobiologiske fund	N	Raske	EOP
Totalt antal plakprøver	301	256 (85,0)	45 (15,0)
Ekskluderede plakprøver	84	78 (92,9)	6 (7,1)
Undersøgte plakprøver	217	178 (82,0)	39 (18,0)
Ingen <i>Aa</i>	86	76 (88,4)	10 (11,6)
<i>Aa</i> uden 530 basepar deletion	112	98 (87,5)	14 (12,5)
<i>Aa</i> med 530 basepar deletion	15	4 (26,7)	11 (73,3)
Begge promoter typer af <i>Aa</i> samtidigt	4	0	4 (100)

kolonien) og positiv katalase-aktivitet, og dyrket på Slots selektive medium (16).

*Aa*-isolater blev analyseret for tilstedeværelse eller fravær af DNA-fragmentet med 530 basepar i promoter-regionen af leukotoksin-genkomplekset vha. polymerase *chain reaction* (PCR) som tidligere beskrevet (11).

#### Resultater

##### Forekomsten af *Aa* med deletionen og dens association med EOP

Blandt 301 marokkanske børn og unge havde 45 (15,0%) fæstetab  $\geq 3$  mm på én eller flere tænder.

Blandt de 217 dyrkbare plakprøver var 19 (8,8%) positive for *Aa* med den karakteristiske deletion, og 198 (91,2%) var ikke-positive (Tabel 1). Blandt de 198 var 112 (56,6%) dog positive for andre klonal-typer af *Aa* uden den karakteristiske deletion på 530 basepar.

Femten individer (78,9%) som var positive for *Aa* med deletionen, havde EOP, og fire (21,1%) var raske. Blandt de 198 individer med enten *Aa* uden deletionen (56,6%) eller ingen dyrkbare *Aa* (43,4%), havde 24 (12,2%) EOP, og 174 (87,8%) var raske (Tabel 1).

En stærk association blev demonstreret mellem *Aa* karakteriseret ved deletionen og EOP (Mantel-Haenszels test; justeret OR = 29,4; 95% C.I.: 8,3-104,4;  $p < 0,0005$ ), hvorimod der ingen association blev fundet mellem *Aa* uden deletionen og EOP (Mantel-Haenszels test; justeret OR = 1,3; 95% C.I.: 0,5-2,9;  $p = 0,750$ ).



Fig. 1. Et eksempel på de forhold på skolerne hvorunder børnene og de unge blev undersøgt.

Fig. 1. An example of the conditions under which the children and the adolescents were examined.

Graden af parodontal destruktion hos EOP-patienter med og uden *Aa* karakteriseret ved en deletion på 530 basepar i leukotoksin-genkomplekset

I studiepopulationen var der 39 individer med dyrkbare plakprøver og EOP. Blandt disse var 15 bærere af *Aa* med deletionen, hvorimod der ikke kunne påvises *Aa* med deletionen hos de resterende 24 EOP-patienter.

Der var ingen statistisk signifikant forskel på alderen i de to grupper (gennemsnit hhv. 16,46 år (SD 1,22) og 16,47 år (SD 1,44)).

De 15 EOP-patienter (38,5%) som var positive for *Aa* med deletionen, havde signifikant flere tænder med fæstetab (gennemsnitlig 5,1 tænder) end de 24 EOP-patienter uden *Aa* med deletionen (gennemsnitlig 2,8 tænder) (Mann-Whitney U-test;  $U = 101,5$ ;  $p = 0,02$ ). Desuden var det gennemsnitlige fæstetab signifikant større hos patienter positive for *Aa* med deletionen på 530 basepar (4,32 mm) end hos EOP-patienter der ikke var positive for *Aa* med deletionen (3,36 mm) ( $p = 0,01$ ) (Tabel 2).

### Diskussion

Undersøgelserne har demonstreret at der er en høj forekomst af EOP i Marokko (15%), samt at *Aa* med deletionen er stærkt associeret med EOP, mens der ikke kunne påvises nogen statistisk signifikant association mellem EOP og andre klonal-typer af *Aa* uden den pågældende deletion. En mere detaljeret analyse af den parodontale destruktion blandt EOP-patienter med og uden *Aa* med deletionen viste at patienter med *Aa* med deletionen havde flere tænder med fæstetab, og at fæstetabet var større end hos patienter uden den omtalte *Aa*-mutant.

Tidligere undersøgelser har vist at det er muligt at isolere den omtalte *Aa*-mutant fra marokkanske, algierske, og ghanesiske indvandrere bosiddende i Danmark og andre europæiske lande (10). Endvidere er det i flere uafhængige studier

er beskrevet at mutanten synes at være relateret til tilfælde af EOP (10-13). Dette studium adskiller sig imidlertid fra de øvrige ved at være det første epidemiologiske studium der i en population korrelerer fund af klonal-typer af *Aa* og parodontal status.

Forekomsten af EOP blandt unge marokkanere i hovedstaden Rabat må anses for at være bemærkelsesværdig høj, hvilket harmonerer med tidligere studier udført i Marokko, der også har fundet en høj prævalens (mellem 6,4 og 9,4%) (17-18). Diagnostiske kriterier er naturligvis meget afgørende for prævalensestimaterne, og det bør her tilføjes at der under diagnosen EOP i dette studium også er medtaget individer med såkaldt *incidental early-onset* parodontitis, hvilket forklarer dette studiums noget højere forekomst af EOP (15%). Såfremt *Baers* kriterier (14) udelukkende havde været anvendt, ville forekomsten af EOP i denne undersøgelse have været 8%, hvilket svarer til niveauet for de marokkanske undersøgelser.

Alle deltagere i undersøgelsen gennemgik et interview, hvor spørgsmål om diabetes mellitus og rygevaner indgik. Imidlertid var der kun én diabetiker og ni rygere i den undersøgte population, hvorfor betydningen af disse faktorer ikke kunne vurderes.

*Aa*-arten består af mange forskellige klonal-typer, og i almindelighed kan *Aa* betragtes som en del af vor normalflora. Ny viden på både det molekylærbiologiske og det kliniske niveau om *Aa* karakteriseret ved en deletion på 530 basepar bidrager til evidens for at denne klon af *Aa* kan betragtes som en traditionel patogen bakterie.

Longitudinelle studier af klinisk-mikrobiologisk karakter er nødvendige for at øge vor viden om sygdomsprogression i en population med endemisk tilstedeværelse af *Aa* karakteriseret ved en deletion på 530 basepar og forøget leukotoksinproduktion.

Tabel 2. Antal tænder med fæstetab  $\geq 3$  mm per individ og fæstetab i mm per afficeret tand hos individer med *A. actinomycetemcomitans* (*Aa*) med og uden 530 basepar deletionen.

Mikrobiologiske fund	Antal af patienter	Antal tænder med fæstetab $\geq 3$ mm		Fæstetab (mm)	
		Middelværdi (SD)	Median (1. og 3. kvartil)	Middelværdi (SD)	Median (1. og 3. kvartil)
Plakprøver positive for <i>Aa</i> med deletionen	15	5,1 (4,1)	4,0 (2,0 og 8,0)	4,3 (1,2)	4,0 (3,3 og 5,4)
Plakprøver negative for <i>Aa</i> med deletionen	24	2,8 (3,3)	1,0 (1,0 og 4,0)	3,4 (0,8)	3,0 (3,0 og 3,3)

## Konklusion

Forekomsten af EOP i Marokko og formodentlig i de omgivende nordvestafrikanske lande er høj. En særlig klon af *Aa* karakteriseret ved en deletion på 530 basepar i leukotoksin-genoperonet kan betragtes som en risikofaktor for udvikling af EOP i en modtagelig vært. Derimod er der på basis af denne undersøgelse intet grundlag for at ændre vort overordnede syn på *Aa* som værende en opportunistisk patogen, idet mange andre klonaliteter af *Aa* fortsat kan betragtes som en del af vor normalflora.

På basis af akkumulerende viden om denne særlige klon af *Aa* med deletionen og dens tilstedeværelse hos EOP-patienter kan anvendelse af antibiotika i forbindelse med konventionel parodontal behandling være indiceret.

## English summary

*Early-onset periodontitis. New clinical and microbiological knowledge of early-onset periodontitis and Actinobacillus actinomycetemcomitans*  
A clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*Aa*) with increased leukotoxin production and characterized by a 530 basepair deletion in the leukotoxin gene operon is considered an important infectious agent in early-onset periodontitis (EOP). The clone has been isolated from multiple EOP-patients living geographically widespread, but for the vast majority with an African origin. Based on studies of 301 Moroccan schoolchildren aged 14-19 years and living in the capital city of Rabat we conclude after clinical examination and detection of *Aa* from plaque sampled that 15% of the participants had EOP, and that *Aa* characterized by the 530 basepair deletion has a strong association with EOP (adj. OR = 29.4; 95% C.I.: 8.3-104.4;  $p < 0.0005$ ). There was no statistical significant association between *Aa* without the deletion and EOP (adj. OR = 1.3; 95% C.I.: 0.5-2.9;  $p = 0.750$ ). Further, it was demonstrated that EOP-patients culture-positive for *Aa* with the 530 basepair deletion have significantly increased periodontal destruction compared to EOP-patients without the deletion.

## Litteratur

1. Hoover JN, Ellegaard B, Attström R. Periodontal status of 14-16-year-old Danish schoolchildren. *Scand J Dent Res* 1989; 89: 175-9.
2. Saxén L. Juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1980; 7: 1-19.
3. Saxby MS. Juvenile periodontitis: an epidemiological study in the west Midlands of the United Kingdom. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 594-8.
4. Harley AF, Floyd PD. Prevalence of juvenile periodontitis in schoolchildren in Lagos, Nigeria. *Community Dent Oral Epidemiol* 1988; 16: 299-301.
5. Melvin WL, Sandifer JB, Gray JL. The prevalence and sex ratio of juvenile periodontitis in a young racially mixed population. *J Periodontol* 1991; 62: 330-4.

6. López NJ, Rios V, Pareja MA, Fernández O. Prevalence of juvenile periodontitis in Chile. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 529-33.
7. Tinoco EMB, Beldi ML, Loureiro CA, Lana M, Campedelli F, Tinoco NMB, et al. Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur J Oral Sci* 1997; 105: 9-14.
8. Brogan JM, Lally ET, Poulsen K, Kilian M, Demuth DR. Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: Analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. *Infect Immun* 1994; 2: 501-8.
9. Baehni PC, Tsai C-C, McArthur WP, Hammond BF, Shenker BJ, Taichman NS. Leukotoxic activity in different strains of the bacterium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from juvenile periodontitis in man. *Arch Oral Biol* 1981; 26: 671-6.
10. Haubek D, DiRienzo JM, Tinoco EMB, Westergaard J, López NJ, Chung CP, et al. Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3037-42.
11. Haubek D, Poulsen K, Westergaard J, Dahlén G, Kilian M. Highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1576-8.
12. Zambon JJ, Haraszthy VI, Hariharan G, Lally ET, Demuth DR. The microbiology of early-onset periodontitis: association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67: 282-90.
13. Macheleidt A, Müller H-P, Eger T, Putzker M, Fuhrmann A, Zöller L. Absence of an especially toxic clone among isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* recovered from army recruits. *Clin Oral Invest* 1999; 3: 161-7.
14. Baer PN. The case for periodontosis as a clinical entity. *J Periodontol* 1971; 42: 516-9.
15. Löe H, Brown LJ. Early onset periodontitis in the United States of America. *J Periodontol* 1991; 62: 608-16.
16. Slots J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 606-9.
17. Ennibi O, Benrachadi L, Hamdani S, Benzarti N. Prévalence des parodontites juveniles localisées au CCTD de Rabat. *Chir Dent Fr* 1997; 830: 19-24.
18. Elalloussi M, Rahali Y, Bouziane A, Bennaza D, El Mouadden M, Ameziane R, et al. The localized aggressive periodontitis (LAP) in Morocco (abstract, IAPD-SFOP, 2001).
19. Haubek D, Ennibi O-K, Poulsen K, Poulsen S, Benzarti N, Kilian M. Early-onset periodontitis in Morocco is associated with the highly leukotoxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Dent Res* 2001; 80: 1580-3.
20. Haubek D, Ennibi O-K, Abdellaoui L, Benzarti N, Poulsen S. Attachment loss in Moroccan early-onset periodontitis patients and infection with the JP2-type of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 657-60.

## Forfatter

Dorte Haubek, lektor, tandlæge, ph.d.

Afdeling for Samfundsodontologi og Pæodonti, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet