

Populationsgenetiske og epidemiologiske aspekter af *Actinobacillus actinomycescomitans* med særligt henblik på betydningen af leukotoksinet

Afhandlingen belyser forhold vedrørende bakterien *Actinobacillus actinomycescomitans*, hvis primære tilholdssted er mundhulen. Bakterien er associeret med især juvenil parodontitis

Dorte Haubek

Ph.d.-afhandlingen udgår fra Afdeling for Oral Biologi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet.

Baggrund og formål

Juvenil parodontitis er en sygdom i parodontiet, karakteriseret ved hurtigt fremadskridende fæstetab omkring tænder i det permanente tandsæt hos i øvrigt sunde, unge individer. Tilstanden ses sjældent, men den optræder muligvis med varierende forekomst i forskellige etniske grupper. Bakterien *Actinobacillus actinomycescomitans* har i mange år været mistænkt for at spille en rolle i forbindelse med juvenil parodontitis.

De i afhandlingen beskrevne undersøgelser havde til formål at belyse om der findes en association mellem forekomsten af specifikke evolutionære linier af *A. actinomycescomitans* og den parodontale tilstand. Ydermere havde undersøgelserne til formål – på basis af den populationsgenetiske struktur af *A. actinomycescomitans* – at belyse om potentielle forskelle i sygdomsassociation kan forklares med bl.a. forskelle i leukotoksingetype.

Variation inden for en bakterieart

Anvendelse af molekylærbiologiske teknikker inden for mikrobiologien har ført til erkendelse af at diversiteten i plakfloraen rækker langt videre end til speciesniveau. Således findes der inden for den enkelte bakterieart stor fænotypisk og genotypisk variation – et forhold der også gør sig gældende for *A. actinomycescomitans*. Det har derfor vist sig at være nyttigt at se på bakterier som »individer« (kloner) og ikke kun som arter.

Ydermere har det vist sig at være umuligt at generalisere om bakterieartens virulens, idet nogle kloner inden for en given bakterieart tilsyneladende har større succes end andre, hvad angår evnen til at kolonisere, vokse og sprede sig, og som følge deraf er mere sygdomsfremkaldende. Inden for de enkelte bakteriearter er der gennem måske millioner af års udvikling opstået variation, dels pga. mutationer, dels hos nogle bakterier tillige ved genetisk udveksling inden for arten eller eventuelt med andre arter.

Populationsgenetiske analyser

Populationsgenetiske analyser er hyppigt anvendte til anskueliggørelse af variationer inden for en bakterieart. Analyserne foretages ved at kortlægge variationen inden for et antal udvalgte fænotypiske og/eller genotypiske træk hos en repræsentativ kollektion af bakterier, eksempelvis indsamlet fra patienter og raske individer. Vha. computerbaseret beregning arrangeres bakterierne således at de isolater der ligner hinanden mest, vil blive placeret tættest på hinanden i et såkaldt udviklingstræ.

Foruden anskueliggørelsen af variationen inden for en art kan undersøgelser af denne type ved kombination med kliniske data ofte også identificere enkelte kloner eller subpopulationer af en art som er ansvarlig for en given infektionssygdom.

Populationsgenetisk analyse baseret på multilocus-enzymelektroforese af en kollektion af *A. actinomycescomitans* isoleret fra finske parodontitis-patienter (juvenil og voksen parodontitis) samt raske bærere viste imidlertid ingen association mellem bestemte kloner eller subpopulationer af *A. actinomycescomitans* og parodontitis. På basis af omtalte undersøgelser blev det konkluderet at *A. actinomycescomitans*

må betragtes som et opportunistisk patogen i forbindelse med parodontitis i den undersøgte population.

Leukotoksinet – en virulensfaktor

Mange virulensfaktorer hos *A. actinomycetemcomitans* er beskrevet. Leukotoksinet er den virulensfaktor der har tildraget sig størst interesse. Leukotoksinet er i stand til at dræbe immunforsvarsceller med svækkelse af værtens immunforsvar til følge. Allerede i 1980'erne blev det klart at leukotoksiciteten varierer hos forskellige *A. actinomycetemcomitans*-isolater. I starten af 1990'erne beskrev en forskergruppe i Philadelphia, USA, forekomsten af et *A. actinomycetemcomitans*-isolat som producerer 10-20 gange mere leukotoksin end andre *A. actinomycetemcomitans*-isolater, hos et afroamerikansk barn med lokaliseret juvenil parodontitis. Vha. dna-sekvensanalyser er det efterfølgende blevet kortlagt at det er en 530 basepar-deletion i promoterregionen af det operon der styrer leukotoksinproduktionen, der formodentlig har ført til den forhøjede leukotoksinproduktion. Selve leukotoksin-genkomplekset forudgås af et startsignal der initierer aflæsningen af selve leukotoksingenet. Som følge af at der i startregionen hos *A. actinomycetemcomitans*-isolater med forhøjet leukotoksinproduktion er sket en mutation, hvorved 530 basepar er gået tabt, er et andet og stærkere startsignal kommet så tæt på leukotoksingenet at det nu også initierer aflæsningen af leukotoksingenet.

Konklusioner

En kollektion af *A. actinomycetemcomitans*-isolater indsamlet fra nordeuropæiske individer blev undersøgt for forekomst af denne særlige type, karakteriseret ved 530 basepar-deletionen, blandt *A. actinomycetemcomitans*-isolater. Blandt disse isolater var det ikke muligt at påvise forekomst af bakteriestammer med omtalte deletion. Ligeledes undersøgte vi kollektionen af bakterier indsamlet blandt individer fra Finland og heller ikke denne kollektion indeholdt isolater karakteriseret ved 530 basepar-deletionen.

Det kan konkluderes at den højtoksiske type af *A. actinomycetemcomitans* ikke kan påvises ved undersøgelser af flere hundrede *A. actinomycetemcomitans*-isolater fra patienter med juvenil eller voksen parodontitis, fra patienter med andre *A. actinomycetemcomitans*-relaterede sygdomme eller fra parodontalt raske individer med oprindelse i Nordeuropa.

En ny undersøgelse af *A. actinomycetemcomitans* hos bl.a. immigranternes bosiddende i Sverige og Danmark, men med oprindelse i Nordvestafrika, har imidlertid vist at denne højtoksiske *A. actinomycetemcomitans* kan findes hos børn med juvenil parodontitis med oprindelse i Afrika.

Blandt 326 *A. actinomycetemcomitans*-isolater analyseret for

leukotoksingenpromotertype og serotype viste 38 *A. actinomycetemcomitans* serotype b-isolater sig at være karakteriseret ved den omtalte 530 basepar-deletion.

Der er ført bevis for at isolater, karakteriseret ved 530 basepar-deletionen i leukotoksingenets promoterregion, udgør en klon. På basis af en nærmere undersøgelse af patienterne hvorfra omtalte klon kan isoleres, har det vist sig at 36 af 38 isolater er isoleret fra patienter med juvenil parodontitis; de resterende to er isoleret i familier med juvenil parodontitis. I mindst 12 af 28 familier hvorfra klonen er isoleret, har flere (2-4) familiemedlemmer juvenil parodontitis. Yderligere har nærmere analyse af den geografiske udbredelse af den omtalte klon vist at individer som bærer klonen, har en tilknytning til den afrikanske befolkning.

På basis af undersøgelserne beskrevet i afhandlingen forstås det at juvenil parodontitis repræsenterer to forskellige typer af sygdom med hver sin ætiologi og epidemiologi: én type som findes verden over, i hvilken en bred vifte af *A. actinomycetemcomitans*-kloner spiller en rolle som opportunistisk patogen; og en anden type som primært findes blandt unge med afrikansk oprindelse, i hvilken en særlig klon af *A. actinomycetemcomitans*, serotype b, karakteriseret ved en 530 basepar-deletion medvirker som en eksogen patogen mikroorganisme.

Denne erkendelse har konsekvenser for valget af behandlingsmetode, idet brugen af antibiotika eventuelt kan motiveres i sidstnævnte situation, men næppe i førstnævnte situation.

Haubek D. Populationgenetic and epidemiologic aspects of the oral microorganism, Actinobacillus actinomycetemcomitans with special reference to the leukotoxin (ph.d.-afhandling). Aarhus Universitet; 1997.

Afhandlingen, der omfatter 103 sider og fire originalarbejder, kan rekvireres hos forfatteren. Adresse: Afdeling for Samfundsodontologi og Pæodonti, Odontologisk Institut, Vennelyst Boulevard, 8000 Århus C.

Afhandlingen blev forsvaret på Tandlægeskolen, Aarhus Universitet, den 17. august 1998. Medlemmer af bedømmelsesudvalget var: professor, odont.dr. *Stig Edwardsson*, Malmö, seniorforsker *Dominique A. Caugant*, Oslo, lektor, lic.odont. *Vibeke Bælum*, Århus, og professor, dr.odont. *Mogens Kilian*, Århus.

Forfatter

Dorte Haubek, adjunkt, tandlæge, ph.d.

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