

KALP HASTASI ÇOCUKLARIN AĞIZLARINDA ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS, PORPHYROMONAS VE PİGMENTLİ PREVOTELLA CİNSİ BAKTERİLERİN VARLIĞI*

Şirin Bulut¹ Ali Şener¹ Erdem Şur¹ Gamze Aren² Oya Aktören³ Güven Külekçi⁴

Yayın kuruluna teslim tarihi : 25.05.1998

Yayına kabul tarihi : 15.08.1998

Özet

Ağız boşluğundaki bakterilerin kan dolaşımına katılarak endokardiyum ya da kalp kapaklarına yerleşmesi yaşamı tehdit eden infeksiyonlara yol açabilir. Son yıllarda önemli bir periodontopatojen olan Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.a) infektif endokardit etkenleri arasında sayılmaktadır. Bu çalışmada A.a. ve diğer önemli periodontopatojenlerden olan Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakteriler İ.Ü. Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kardiyoloji Bilim Dalına başvuran 4-8 yaşları arasında 30 kalp hastası çocuğun ağız florasında araştırılmıştır. Her çocuğun yanak ve dilinden eküviyonlarla alınan örnekler anaerob bakteriyolojik yöntemlerle incelenmiştir. A.a. yanak örneklerinden birisinden (% 3.3), Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakteriler yanak örneklerinin yedisinden (% 23.3) ve dil örneklerinin dokuzundan (% 30.0) izole edilmiştir. A.a. bir kız çocukta (% 3.3), Porphyromonas ve pigmentli Prevotella altısı kız ve dördü erkek toplam on çocukta (% 33.3) saptanmıştır. Kalp hastası çocukların diş ve ağız sağlığı yönünden periyodik olarak mutlaka kontrol edilmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas, pigmentli Prevotella cinsi bakteriler, kalp hastalığı

GİRİŞ

Konjenital ya da kazanılmış kalp defektlere bulunan çocuklar mortalite oranı halen yüksek bulunan infektif endokardit gelişimi açısından risk grubu oluşturlar (17).

THE PRESENCE OF ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS, PORPHYROMONAS AND PIGMENTED PREVOTELLA SPECIES IN THE MOUTH OF THE CHILDREN WITH CARDIAC DISEASE*

Abstract

Life threatening infections can be caused by the microorganisms in the oral cavity which have been introduced into the bloodstream and attached to the damaged endocardium or heart valves. A.a, an important periodontopathogen has been identified recently as a causative microorganism in the infective endocarditis.

In this study, A.a and the other important periodontopathogens, Porphyromonas and Pigmented Prevotella, were investigated in 30 children with heart defects aged 4-8 years who were attending to the Cardiology Section of the Department of the Child Health, İstanbul Medical Faculty. Samples were taken with swabs from the buccal mucosa and the tongue and examined by anaerobic bacteriological methods.

A.a was isolated in one of the buccal samples (3.3 %) while Porphyromonas and pigmented Prevotella species were isolated in seven of the buccal samples (23.3 %) and nine of the tongue (30 %) samples. A.a was detected in one girl (3.3 %), Porphyromonas and pigmented Prevotella in six girls and four boys (% 33.3). It is concluded that children with cardiac disease should be periodically controlled for tooth and oral health.

Key Words: Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas, pigmented Prevotella species, cardiac disease

İnfektif endokardit, eski adlarıyla subakut bakteriyel endokardit ya da bakteriyel endokardit mikroorganizmaların önceden zarar görmüş endokardiyum ya da kalp kapaklarına kolonizasyonu ile oluşur (14,17). Ağız diş kaynaklı infek-

1 İÜ Diş Hekimliği Fakültesi 3. sınıf öğrencileri

2 Doç Dr İÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

3 Prof Dr İÜ Diş Hekimliği Fakültesi Pedodonti Anabilim Dalı

4 Prof Dr İÜ Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı

* Türk Pedodonti Derneği 10. Bilimsel Kongresi 31 Ağustos - 6 Eylül 1997 Antalya'da ve İÜ Diş Hekimliği Fakültesi Öğrenci Araştırma Kulübü V. Bilimsel Toplantısı 8 Ekim 1997'de sunulmuştur.

tif endokardit görülme oranı %5-15 olarak bildirilmektedir (16,17).

İnfektif endokardite neden olan başlıca mikroorganizmalar, viridans streptokoklar, enterokoklar, Staphylococcus aureus, S. epidermidis, enterik Gram negatif çomaklar, pnömokoklar, difteroidler ile Haemophilus influenzae'dir (15). Son yıllarda mantarlar ve virüslerin izolasyonları nedeniyle bakteriyel endokardit yerine infektif endokardit olarak adlandırılması uygun görülmüştür (15). Ayrıca son yıllarda lokalize juvenil periodontitiste etken olan ve erişkin periodontitisli hastaların üçte birinde var olan Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.a) infektif endokardit etkenleri arasına katılmıştır. Şimdiye dek A.a ile ilgili 88 olgu bildirilmiştir ve bu olguların 26'sı diş tedavisi ya da diş infeksiyonları ile ilgilidir (4). İnfektif endokardite neden olan başlıca faktörlerden birisi bakteriyemidir. Diş hekimliğinde diş çekimi ya da dişeti kanamasına neden olabilecek herhangi bir işlemle bakteriyemi oluşabilir. Bakteriyeminin sağlıklı ağızlarda diş fırçalama ile de oluşabileceği bilinmektedir (17).

Bu çalışmanın amacı, kalp hastası çocukların ağız boşluğunda A.a ve diğer önemli periodontopatojenlerden Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakterilerin varlığını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma 4-8 yaşları arasında, 14'ü kız, 16'sı erkek toplam 30 kalp hastası çocuk üzerinde gerçekleştirildi. Çocuklar İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kardiyoloji Polikliniklerine başvuran son üç ayda sistemik antibiyotik kullanmamış olanlardan rastgele seçildiler.

Çocukların periodontal durumu sondalamada kanama ile değerlendirildi.

Bakteriyolojik örnekler her çocuğun yanak ve dilinden steril ekivüyonla on kez döndürülerek ve sıyrılarak alındı. Ekivüyon 2 ml RTF (Reduced Transport Fluid) içeren tüpe konuldu (21).

Örnekler İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Bilim Dalı Laboratuvarında incelendi. Örnek tüpleri vortex mikserde 60 saniye karıştırıldı. RTF içerisinde 10 katlı sulandırılmaları

yapıldı. A. actinomycetemcomitans için seçirici besiyeri olan TSBV (Triptik Soy Agar + %10 At serumu + % 75µg/ml Bacitracin + 5µg/ml Vancomycin) agar petrilere sulandırılmamış örnekten ve 10^1 , 10^{-2} sulandırımından 50µl miktarlarda ekildi. Porphyromonas ve Prevotella cinsi anaeroblar için seçirici olarak 40 µg/ml kanamisinli CDC anaerob kanlı agara ekildi. Porphyromonas, Prevotella ve A.actinomycetemcomitans sayılarını toplam bakteri sayısı ile karşılaştırmak için CDC anaerob kanlı agara (triptik soy agar + 5µg/lt maya özeti + 5µg/lt hemin + 0.1 µg/ml Vitamin K₁ ve %5 defibrine koyun kanı) 10^{-3} , 10^{-5} sulandırılmalarından 0.1 ml ekim yapıldı. Petriler anaerob sistemde (Gas Generation Kit Oxoid Ltd. Basingstoke Hamshire UK) inkübe edildi (12).

A.a. izolasyonu için 5 gün, Porphyromonas ve pigmentli Prevotella sayısı ve toplam anaerob bakteri sayısı için 7 gün 37 °C'de inkübe edildiler. TSBV agar üzerinde ufak yuvarlak, konveks, agara yapışık iç yapısı yıldız biçiminde olanlardan saf kültür alındı. Gram negatif, katalaz pozitif, kokobasil olup olmadığı kontrol edilerek A.a tanısı konuldu (18). Porphyromonas ve Prevotella için siyah ya da kahverengi pigmentli koloni sayısı örnek başına koloni oluşturma ünitesi (cfu) olarak kaydedildi ve siyah pigmentlilerin toplam bakteri sayısına oranı (%) hesaplandı. Fakültatif bakteri sayısı bir başka CDC anaerob agar petrisine ekim yapılarak %10 CO₂'li ortamda 37 °C'de 2 günlük inkübasyon ile değerlendirildi.

BULGULAR

A.a sadece bir kız çocuğunun yanak örneğinden izole edilmiştir (% 3.3). Aynı çocuktan yanak ve dil örneklerinden Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakteriler de izole edilmiştir. Yanak örneğinden izole edilen total bakteri sayısına göre A.a miktarı %0.6'dır. Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakteriler için bu oran yanakta % 18.1, dilde ise %0.8'dir (Tablo 1'de 8 nolu hasta).

Porphyromonas ve Prevotella cinsi bakteriler toplam 10 çocuktan izole edilmiştir (% 33.3). Yanak örneklerinde 1×10^4 - 6×10^6 cfu (median 3×10^5 cfu) sayıları elde edilmiştir. Bu sayı dil örneklerinde ise 1×10^4 - 1.2×10^7 cfu (Median 2×10^6 cfu) olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Porphyromonas ve Prevotella altı çocukta hem yanak hem dil, üç çocukta sadece dil, bir çocukta sadece yanak örneklerinden izole edilmiştir. Bu şekilde Porphyromonas ve pigmentli Prevotella cinsi bakteriler yedi çocukta yanaktan (% 23.3) ve dokuz çocukta dilden elde edilmiştir (%30).

30 kalp hastası çocuktan yedisinde sondalamada kanama olmuştur. Bu çocukların ikisi periodontopatojenlerin ürettiği çocuklardır (Tablo'1 de 4 ve 5 no.lu hastalar).

TARTIŞMA

Ağız florasında bulunan ve özel üreme gereksinimleri olan bakterileri infektif endokardit etkeni olarak saptamak güçtür. Son yıllarda geliştirilen PCR (Polimeraz Chain Reaction - Polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemiyle bu konudaki bilgilerde önemli değişiklikler beklenmektedir. Bilindiği gibi PCR yönteminde bakterilerin canlılığı gerekli değildir. Bakterilerin DNA'sının saptanması esasına dayalı bir yöntemdir.

A.a progresif periodontal hastalıklarda özellikle gençlerde lokalize juvenil periodontitis, Papillon - Lefèvre sendromu ve erişkinlerde hızlı ilerleyen periodontitiste başlıca sorumlu periodontopatojen olarak suçlanan fakültatif anaerob, Gram negatif kokobasil şeklinde bir bakteridir (19,20,22). Bu bakteri periodontal dokuları hastalıklı bireylerin yanısıra periodontal dokuları sağlıklı bireylerin supragingival ve subgingival diş plaklarında, dilde, damakta ve yanak mukozalarında da düşük sayılarda ve oranlarda izole edilmektedir (3,7).

A.a, kapnofilik olması, lökotoxin ve endotoksin yapması gibi önemli virulans faktörlerine sahip olması nedeniyle hızlı ilerleyen periodontal hastalıklarda etken mikroorganizma olarak suçlanır. Hem sağlıklı hem de periodontal hastalığı olan kişilerde görülmesi amfibiyoetik ve fırsatçı bir periodontal bakteri olarak nitelendirilmesine neden olmuştur (3,7). A.a ile erken başlayan periodontitis arasında anlamlı bir ilişki vardır (20).

A.a. infektif endokardit olgularına literatürde 1964' den başlayarak ve gittikçe artan sayıda rastlanmaktadır (4). Özellikle kalp kapağı hastalığı, periodontitis, çürük dişler ya da diş tedavisi geçirmiş hastalarla ilgili olgular bildirilmiştir

(4). Çocuklarla ilgili bir A.a. infektif endokardit olgusu "hızlı yıkıcı" periodontitisli 6 yaşında bir kız çocuğu ile ilişkilidir (4). A.a dişsiz bebeklerin ve protez taşıya bile dişsiz erişkinlerin ağızlarından saptanamamıştır (10,11). Bu durum A.a'nın ağıza yerleşebilmesi için dişeti oluğu ya da dişeti cebi gibi özel bir çevreye gereksinimi olduğunu göstermektedir (11). Aren ve arkadaşları sağlıklı süt dişi dizisine sahip olan 4-7 yaşları arasındaki 16 çocukta gerçekleştirdikleri bir çalışmada diş plağı örneklerinden %25'inde ve dil örneklerinin % 18.7 sinde A.a'nın izole edildiğini bildirmişlerdir (2).

Alaluusua ve Asikainen, benzer bir çalışmada diş plağı örneklerinin %13'ünde dil örneklerinin ise hepsinde A.a. izole edildiğini belirtmişlerdir (1).

Bu çalışmada A.a. salt bir çocuğun yanak örneğinden izole edilmiştir (% 3.3); dil örneklerinin hiçbirinde A.a. ürememiştir. A.a. izolasyonunun bu denli az olması son üç ayda antibiyotik kullanmadıkları bilgisinin doğruluğunun kuşkulu olduğunu düşündürmektedir.

Porphyromonas ve pigmentli Prevotella bakterileri daha önceleri Bacteriodes melaninogenicus olarak adlandırılan bakterilerdir. Siyah pigmentli, Gram negatif çomak şeklinde olan bu bakterilerin Porphyromonas cinsi Por.gingivalis, Por.endodontalis ve Por.asaccharolyticus türlerinden oluşur. Pigmentli Prevotella bakterileri Pre.intermedia, Pre.nigrescens, Pre.corporis, Pre.melaninogenica, Pre.denticola, Pre.loescheii, Pre.tanneriae türlerinden oluşur (7,9,12). Porphyromonas ve pigmentli Prevotella periodontal hastalıklar ve kök kanalı infeksiyonlarının anahtar patojenleridir (5,8,12). Frisken ve arkadaşları 5-7 yaşları arasında sağlıklı ağızlı 67 çocukta yaptıkları çalışmada bu bakterilerin hem plak hem diğer bölgeler olarak tükürük, dil ve tonsillerde varlığını göstermişlerdir (6). Frisken ve arkadaşları en sık olarak Prevotella intermedia izole etmişlerdir (6). Könönen ve arkadaşları ise ortalama. 3 aylık 30 dişsiz bebeğin ağızlarından %70 oranında Prevotella melaninogenica izole edildiğini bildirmişlerdir (11).

Sağlıklı ağız boşluğunda Por.gingivalis izole edilmemiştir (11,13). Por.gingivalis'in A.a. gibi ağız boşluğuna kolonizasyonu dişeti oluğu ya da cep gibi özel bir çevre gerektirir (11). Son taksonomik düzenlemeye göre Prevotella interme-

dia/Prevotella nigrescens periodontal olarak sağlıklı ve hastalıklı kişilerin ağız boşluğunda bulunur. Bu iki tür birbirinden rutin fenotipik yöntemlere göre ayırt edilemez. Pre.intermedia periodontal hastalıkla ilişkiliyken Pre.nigrescens hem periodontal olarak sağlıklı hem de hastalıklı ağızlardan saptanmıştır (13) . Mattö ve arkadaşları, bir bakteriyemi olgusunda Pre.nigrescens suşlarının saptandığını bildirmişlerdir (13).

Bu çalışmada 30 çocuğun 10'unun ağız boşluğunda Porphyromonas ve pigmentli Prevotella izole edilmiştir (%33.3). Bu bakteriler, iki yanak örneğinde (3 ve 8 nolu hastalar) total kültür edilebilir floranın %10'unun üzerinde bulunmuştur. 8 nolu hastanın yanak örneğinde %0,6 oranında da A.a. varlığı saptanmıştır. Ağız boşluğuna kolonizasyonun erken tanısı koruyucu önlemlerin başlatılması yönünden önemli olabilir.

Porphyromonas, pigmentli Prevotella ve A.a, ileride tedavisi güç olan periodontitis'e yol açmamaları için ilerlemeden kontrol altında tutulmalıdırlar.

SONUÇ

Kalp hastası çocuklarda periodontopatojen Porphyromonas , Prevotella ve A.a bakterilerinin normal yanak ve dil floralarında varlıklarının saptanması nedeniyle bu çocuklara ağız diş bakımının öğretilmesi ve düzenli kontrollerin yapılması gereklidir. Bu konuda pedodonti, çocuk kardiyoloji ve mikrobiyoloji bilim dallarının iş birliği içinde olması yararlı olacaktır.

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiştir.
Proje no : ÖR- 19 / 260696

KAYNAKLAR

1. Alaluusua S, Asikainen S. Detection and distribution of Actinobacillus actinomycetemcomitans in the primary dentition. *J Periodontol* 1988; 59 : 504-7.
2. Aren G, Aktören O, Külekçi G. Süt dişi dizisinde Actinobacillus, actinomycetemcomitans'ın varlığı. *İÜ Diş Hek Fak Derg* 1996; 30: 81-4.
3. Asikainen S, Alaluusua S, Saxen L. Recovery of Actinobacillus actinomycetemcomitans from teeth, tongue and saliva. *J Periodontol* 1991; 62: 203-6.
4. Barco C T. Prevention of infective endocarditis: A review of the medical and dental literature. *J Periodontol* 1991; 62: 510-523.
5. Dahlen GC. Black-pigmented Gram-negative anaerobes in periodontitis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1993; 6: 181-192.
6. Frisken KW, Tagg JR, Laws AJ, Orr MB. Suspected periodontopathic microorganisms and their oral habitats in young children. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 60.
7. Gmür R, Guggenheim B. Interdental supragingival plak - A natural habitat of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Bacteroides forsythus, Campylobacter rectus and Prevotella nigrescens. *J Dent Res* 1994; 73: 1421-8.
8. Haapasalo M. Black pigmented Gram negative anaerobes in endodontic infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1993; 6: 213-8.
9. Jousimies - Somer H. Recently described clinically important anaerobic bacteria: Taxonomic aspect and update, *Clin Infect Dis* 1997; 25(suppl 2): 78-87.
10. Könönen E, Asikainen S, Alaluusua S, Könönen M, Summanen P, Kaverio A, Jousimies Somer H. Are certain oral pathogenes part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6:119-22
11. Könönen E, Asikainen S, Jousimies - Somer H. The early colonization of Gram negative anaerobic bacteria in edentulous infants. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 28-31
12. Külekçi G, Efeoğlu A, Balkanlı O, Anđ Ö. Erişkin periodontitisli hastalarda siyah pigmentli anaeroplardan (Porphyromonas/Prevotella) ağız içi dağılımı. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 1993; 23: 15-20
13. Mattö J, Asikainen S, Vaisanen M,L, Rautio M, Saarela M, Summaen P, Finegold S, Jousimies - Somer H. Role of Porphyromonas gingivalis, Prevotella nigrescens in extraoral and some odontogenic infections. *Clin Infect Dis* 1997; 25 (suppl2):194-8
14. Nord CE, Heimdahl A. Cardiovascular infections: Bacterial endocarditis of oral origin pathogenesis and prophylaxis. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 494-6
15. Otomo-Corgel J. Periodontal treatment for medical compromised patients, "F.A.Corranza (ed). Clickman's Clinical Periodontology 7 .baskı" kitabında 1990, s. 562 , *WB Saunders Co , Philadelphia*
16. Pollard MA, Curzon MEJ. Dental health and salivary Streptococcus mutans levels in a group of children with heart defects. *Int J Paediatric Dent* 1992; 2:81-5
17. Scully C, Cawson RA. Medical Problems in Dentistry 2. Baskı 1987, s.60 , Wright, Bristol
18. Slots J. Selective media for isolation of Actinoba-

cillus actinomycetemcomitans. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 606-9

19. Slots J, Listgarten MA. Bacteroides gingivalis, Bacteroides intermedius and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 85-93

20. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: a

cross sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980; 29: 1013-20

21. Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol* 1972; 24: 638-44

22. Zambon J. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1985; 1: 20-1

Yazışma adresi:

*Prof Dr Güven Külekçi
İÜ Diş Hekimliği Fakültesi
Mikrobiyoloji Bilim Dalı
34390 Çapa-İstanbul*