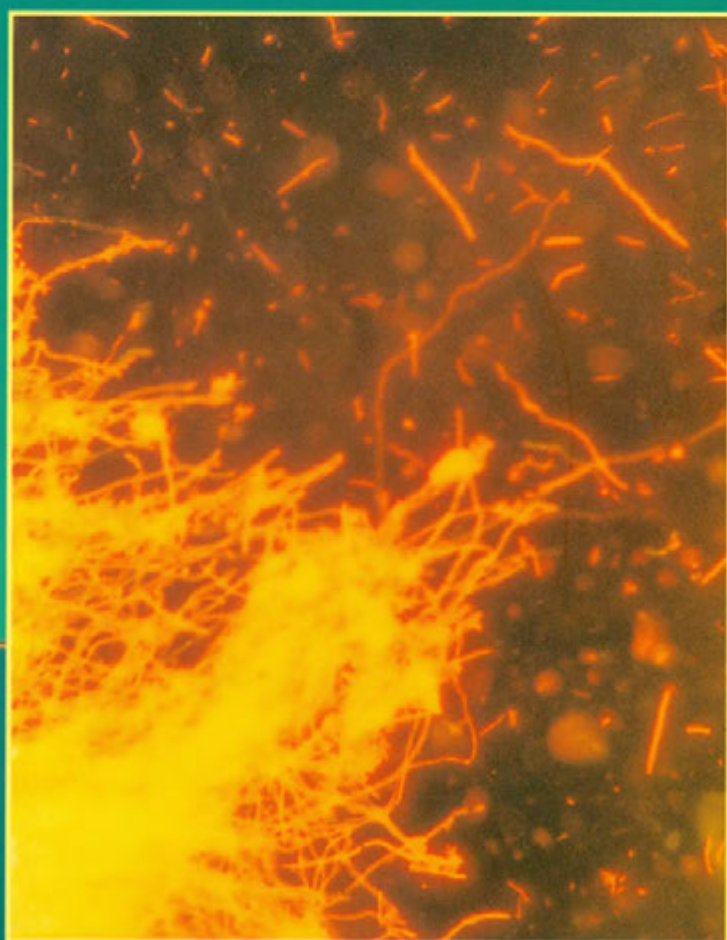


# ORALNA BAKTERIOLOGIJA

Ana Zlata Dragaš



# ORALNA BAKTERIOLOGIJA

Ana Zlata Dragaš



Ljubljana 1996

prof. dr. sci. Ana Zlata Dragaš, dr. med.

### **ORALNA BAKTERIOLOGIJA**

Poglavje Imunologija ustne votline je napisal doc. dr. sci. Alojz Ihan, dr. med.

Pri poglavju Odvzem kužnin za mikrobiološko preiskavo v stomatologiji je sodelovala asis. mag. sci. Katja Seme, dr. med.

Delo sta strokovno pregledala

doc. dr. sci. Dušan Grošelj, dr. stom.

prof. dr. sci. Stanko Banič, dr. med.

Jezikovni pregled je opravila Cvetana Tavzes, prof.

Slike: Bogdan Tratnik in asis. mag. sci. Katja Seme, dr. med.

Rokopis pripravila: Mihaela Oberdank – Hrastar

Po mnenju Ministrstva za šolstvo in šport št. 415-93/96 z dne 29. 4. 1996 šteje knjiga med proizvode, za katere se plačuje 5-odstotni davek od prometa proizvodov.

---

CIP – Kataložni zapis o publikaciji  
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

616.31:579.61(075.8)

DRAGAŠ, Ana Zlata

Oralna bakteriologija / Ana Zlata Dragaš, [slike Bogdan Tratnik in Katja Seme]. – 1. izd. – Ljubljana : DZS, 1996

ISBN 86-341-1882-7

62138368

## Predgovor

Izobraževalno in raziskovalno delo na ožjem področju mikrobiologije, ki obsega znanje, potrebno za spoznavanje povzročiteljev zobnih in ustnih bolezni, me je pritegnilo in navdušilo za oralno mikrobiologijo. Skušala sem poglobiti teoretično in praktično znanje o mikroorganizmih, ki so udeleženi pri okvarah zob in obzobnih tkiv, da bi lahko čim bolj natančno predajala znanje študentom stomatologije na poti k spoznavanju kliničnih sprememb v ustih. Teoretično znanje me je vodilo tudi v raziskovalno delo in sodelovanje z oddelkoma za zobne bolezni ter ustne bolezni in parodontopatije stomatološke klinike medicinske fakultete, kar mi je omogočilo razvijanje oralne mikrobiologije v praksi.

Vsem stomatologom, študentom stomatologije in laboratorijskim tehnikom,  
ki so mi na tej poti pomagali, iskrena hvala.

Ob 10-letnici pedagoških in laboratorijskih izkušenj sem v pričujočem gradivu strnila samo delec znanja iz oralne mikrobiologije, ki ga potrebujejo študenti stomatologije pa tudi mikrobiologi. Menim, da je s tem zapolnjena vrzel v slovenskem mikrobiološkem slovstvu.

Ana Zlata Dragaš

Ljubljana, julij 1996



# VSEBINA

<b>Normalna mikrobna flora</b> .....	7
Človekova normalna flora na koži in sluznicah .....	7
Mikroorganizmi v ustih pri zdravem človeku .....	10
Razvoj in razporeditev normalne flore v ustih .....	11
Dejavniki, ki delujejo na prisotnost bakterij v ustih .....	13
<b>Imunska dogajanja v ustni votlini</b> .....	17
Splošno o imunosti .....	17
Imunski sistem sluznic .....	20
Preobčutljivostne reakcije .....	24
<b>Značilnosti bakterij, ki povzročajo zobno gnilobo</b> .....	33
Zobna gniloba .....	33
Katere bakterije sodelujejo pri zobni gnilobi? .....	35
Po Gramu pozitivne okrogle bakterije .....	37
Anaerobni in mikroaerofilni grampozitivni bacili .....	45
Anaerobni gramnegativni koki in bacili .....	52
<b>Bakterije, ki sodelujejo pri boleznih obzobnih tkiv (parodontalne bolezni)</b> .....	55
Bakterije, ki kolonizirajo parodontalne žepe in sodelujejo pri parodontalnih vnetjih .....	55
Anaerobne gramnegativne parodontopatogene bakterije .....	58
Mikroaerofilne gramnegativne bakterije .....	69
<b>Infekcije zobne pulpe in periapikalnega tkiva</b> .....	81
<b>Splošne infekcije zaradi ustnih bakterij</b> .....	87
Bakteriemija, sepsa in endokarditis .....	87
Drugi zapleti zaradi ustne flore .....	89
<b>Odvzem kužnin za mikrobiološko preiskavo v stomatologiji</b> .....	91
Odvzem kužnin za mikrobiološko preiskavo pri boleznih zob in obzobnih tkiv .....	91
Različne možnosti dokazovanja bakterij, ki povzročajo vnetja zob in obzobnih tkiv .....	93



## NORMALNA MIKROBNA FLORA

Mikroorganizmi so prisotni v človekovem okolju, v tleh, v vodah, na živalih, na rastlinah, naseljujejo pa tudi človekovo kožo in sluznice. V čistem zraku mikroorganizmov ni ali jih je zelo malo, ker odmrejo zaradi izsušitve, delovanja ultravijoličnih žarkov in ozona.

Mikroorganizmi, zlasti bakterije, imajo biološki pomen in skrbijo za ravnotežje med mrtvo in živo snovjo. V toplih vlažnih predelih je mikroorganizmov več kot v mrzlih in suhih. Večina mikroorganizmov človeku ni škodljivih, mnogi so koristni, sodelujejo pri oksidaciji in fermentaciji različnih snovi in tekočin ali imajo varovalno vlogo, kot to velja za bakterije na človekovi koži in sluznicah.

Sestava normalne flore je odvisna od zdravstvenega in imunskega stanja gostitelja.

Mikroorganizmi, ki naseljujejo kožo in sluznice, so v različnem medsebojnem odnosu. Simbionti imajo obojestransko korist, na primer *Lactobacillus arabinosus*, ki daje folno kislino, in *Enterococcus faecalis*, ki daje fenilalanin. Komenzali rastejo skupaj, ena vrsta ima korist, druga pa nima škode. *Haemophilus influenzae* raste ob stafilokoku, od katerega dobiva rastni faktor V (hemin). Tretja oblika sožitja je antibioza ali antagonizem. Kislina, ki jo tvorijo laktobacili iz ogljikovih hidratov, znižuje pH in zavira rast proteolitičnih bakterij. *Escherichia coli* izloča bakteriocine, ki zavirajo rast drugih bakterij.

Normalna flora preprečuje naselitev drugih mikroorganizmov, tvori za gostitelja koristne presnovne pridelke in vzpodbuja gostiteljev imunski sestav za odpornost proti patogenim mikroorganizmom.

### Človekova normalna flora na koži in sluznicah

Mikroorganizmi se naselijo na koži in na sluznicah nekaj ur po rojstvu, saj se novorojenček sreča z mikrobno floro iz roditeljske matere, iz ust matere in negovalke ter tudi z mikroorganizmi z rok in iz okolja (voda, hrana, predmeti).

Na koži in laseh najdemo pri odraslem človeku množico mikroorganizmov. Gre predvsem za grampozitivne koke in bacile. Prevladujejo glede koagulaze negativni stafilokoki, zlasti *Staphylococcus epider-*



*midis* (manj številni so *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. saprophyticus*, *S. warneri*, *S. cohnii*), korinebakterije in propionibakterije. Občasno najdemo v majhnih količinah *Micrococcus luteus*, acidorezistentne bakterije, *Acinetobacter calcoaceticus*,  $\alpha$ -hemolitične streptokoke, bacile iz rodu *Bacillus*, glive rodov *Candida*, *Pityrosporon*, *Trichophyton* in *Epidermophyton*.

Temperatura kože je ugodna za rast bakterij (32–34 °C), pH 5,2–5,8 pa deluje protibakterijsko. Tudi lojnice, ki izločajo lipidne snovi, ki se razgradijo v maščobne kisline, omogočajo protibakterijsko delovanje. V okolici znojnic, kjer se izloča znoj s hranili iz aminokislin, ogljikovih hidratov in vitaminov, so razmere za rast bakterij in gliv zelo ugodne. Najmanj bakterij je na trupu in nadlahteh, več na obrazu in vratu, največ pa na čelu in pod pazduho ( $10^2$ – $10^6$ /cm<sup>2</sup> kože).

V požiralniku najdemo med obroki malo bakterij, več jih je v toku jemanja hrane in pijač. Želodec z nizkim pH in normalno gibljivostjo ni primeren za razmnoževanje mikroorganizmov. Če tam so, jih je med obroki manj kot  $10^3$ /g. Največkrat so prisotni  $\alpha$ -streptokoki, laktobacili in kandida. Med jedjo je mikroorganizmov lahko do  $10^5$ /g želodčne vsebine.

V dvanajstniku je pH 5–6; protimikrobno delujejo tudi pankreatični encimi, žolč in lizocim. V dvanajstniku in zgornjem delu tankega črevesa je malo mikroorganizmov ( $10^2$ – $10^4$ /g). Prevladujejo bakterije rodov *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Streptococcus* in družine *Enterobacteriaceae*.

V spodnjem delu tankega črevesa se naseljujejo bakterije v količini  $10^5$  do  $10^{11}$ /g vsebine, predvsem anaerobi, ešerihije in enterokoki, bifidobakterije ter laktobacili.

V debelem črevesu je bakterij veliko ( $10^{11}$ – $10^{12}$ /g). Prevladujejo anaerobne bakterije rodov *Bacteroides* (*Bacteroides thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. fragilis*) *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*. Manj so zastopani rodovi *Lactobacillus*, *Clostridium* ter vrste *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus sp.* in druge. Odnos enterobakterij in anaerobnih bakterij je 1 : 1000. V fecesu je vsaj 450 vrst mikroorganizmov.

Bakterije najdemo tudi na nosni sluznici, kjer prebivajo glede koagulaze negativni stafilokoki in korinebakterije, nehemolitični in  $\alpha$ -hemolitični streptokoki ter *Staphylococcus aureus*, lahko pa tudi *Propionibacterium acnes* in *granulosum*.

Včasih se tam naselijo *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus haemolyticus* A, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria sp.* in respiratorni virusi.

V zunanjem sluhovodu živijo iste bakterije kot na koži; srednje uho, larinks, trahea in paranazalni sinusi so brez mikroorganizmov.

V ustih in žrelu prevladujejo  $\alpha$ - in nehemolitični streptokoki, v nosnožrelnem prostoru pa tudi stafilokoki, korinebakterije in najserije, pnevmokok, hemofilus influence in moraksela.

Na očesni sluznici je malo bakterij, ker jo izpirajo solze, ki vsebujejo lizocim. Stalno lahko dokažemo glede koagulaze negativne stafilokoke, nehemolitične streptokoke, korinebakterije in najserije.

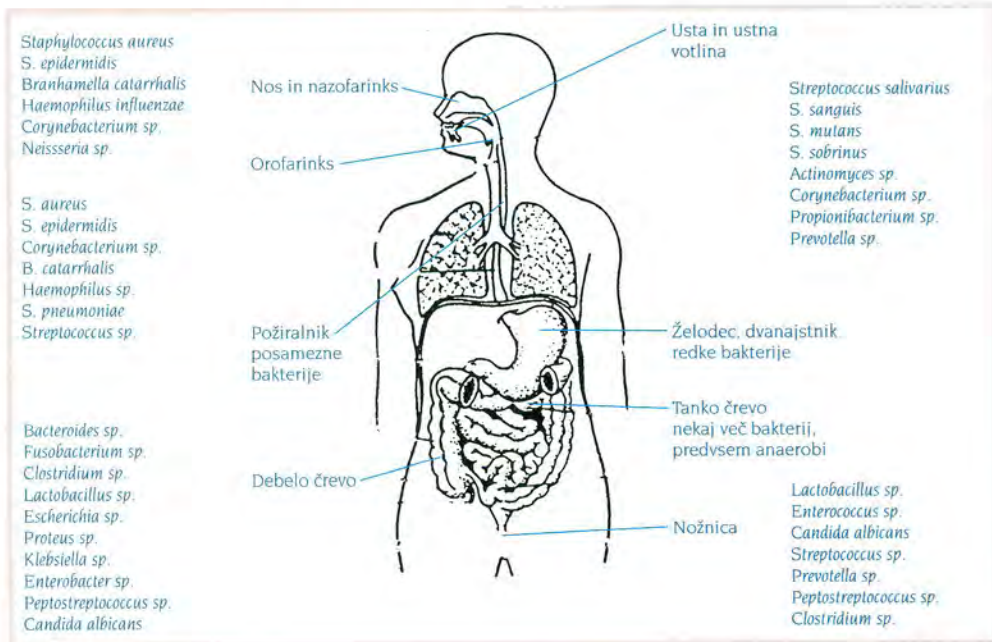
V mokrilih in sečilih ni mikroorganizmov, razen na izhodu iz sečnice in na zunanjem spolovilu moškega, kjer prebivajo korinebakterije, stafilokoki, nehemolitični streptokoki, enterokoki in mikobakterije (*Mycobacterium smegmatis*).

Začetna mikroflora vagine deklice 12–24 ur po rojstvu so glede koagulaze negativni stafilokoki, enterokoki in korinebakterije, kasneje se pojavijo tudi gramnegativne bakterije.

V puberteti se odlaga v celicah glikogen, ki omogoča rast laktobacilom, pa tudi kvasovkam. Prisotne so še enterobakterije, anaerobne bakterije, treponeme, mikoplazme, streptokoki, korinebakterije, stafilokoki, tudi *Staphylococcus aureus*. Odnos anaerobnih bakterij proti ostalim je 10 : 1.

Cervikalni kanal in rodila so pri zdravih ženskah brez mikroorganizmov.

Vsa tkiva, trebušna, peritonealna in perikardialna votlina, kri in likvor so pri zdravih ljudeh brez mikroorganizmov.



Shema 1: Področja normalne bakterijske flore pri človeku

## Mikroorganizmi v ustih pri zdravem človeku

V ustih je vsaj 300 vrst mikroorganizmov, ki so tu stalno naseljeni (stalna flora). Nekateri mikroorganizmi so značilni predvsem za ustno votlino kot so na primer *Corynebacterium matruchotii*, *Actinomyces naeslundii*, *Rothia dentocariosa*, *Leptotrichia buccalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* in *Streptococcus salivarius*. Druge, že prej omenjene bakterije, najdemo razen v ustih tudi na koži, v dihalih, v nožnici in drugod.

Stalno floro predstavljajo mikroorganizmi, ki so stalno na kakem področju (zobna površina, jezik) in so v stabilnem odnosu z gostiteljem. Z mikrobiološkimi, imunološkimi in molekularno biološkimi tehnikami te mikroorganizme lahko vedno na tem istem področju dokažemo.

Tabela 1: Bakterije, ki jih normalno najdemo v ustih

Po Gramu pozitivne	Po Gramu negativne
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Neisseria sp.</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Veillonella sp.</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Haemophilus sp.</i>
<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Porphyromonas sp.</i>
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	<i>Prevotella sp.</i>
<i>Actinomyces sp.</i>	<i>Fusobacterium sp.</i>
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Capnocytophaga sp.</i>
<i>Bacterionema sp.</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Eikenella corrodens</i>
<i>Propionibacterium propionicum</i>	<i>Campylobacter sp.</i>
<i>Bifidobacterium sp.</i>	<i>Selenomonas sp.</i>
<i>Eubacterium sp.</i>	<i>Treponema sp.</i>
<i>Micrococcus sp.</i>	<i>Leptotrichia sp.</i>

S hrano, vodo in dotikom vstopajo v usta mikroorganizmi, ki se tam zadržijo le začasno ali prehodno (začasna ali prehodna flora), največ nekaj minut ali ur, dokler jih antagonisti v ustih z zaviralnimi mehanizmi ne uničijo. Veliko mikroorganizmov požremo s slino in jih praviloma uničijo že kisli želodčni sok in črevesni encimi.

Včasih se srečamo s pojmom nadomestna flora. Gre največkrat za pojav, ko bakterije ali glive, ki so v ustih v količini manj kot 1 %, zasejejo skoraj vsa področja zaradi uničenja antagonistov normalne flore. To se dogaja pri bolnikih, ki prejemajo zaradi kake osnovne bolez-

ni velike količine širokospektralnih antibiotikov in imunosupresivnih zdravil. Največkrat se naselijo *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ali glive rodu *Candida*.

## Razvoj in razporeditev normalne flore v ustih

Ustna votlina otroka je ob porodu sterilna. Novorojenček dobi mikrobno floro pri prehodu skozi porodni kanal od matere, nato pa z mlekom, slino, vodo in hrano. Zato 4–12 ur po rojstvu v ustih srečamo že bakterije *E. coli*, *S. epidermidis*, *Candida sp.*, *Neisseria sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Lactobacillus sp.* in *Streptococcus salivarius*. *Streptococcus salivarius* prevladuje pri novorojenčku že 18 ur po rojstvu. Prvo leto življenja najdemo v ustih pretežno streptokoke, zlasti *salivarius*, manj številčni pa so *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria sp.* in *Veillonella sp.* Ob izrastu prvih zob se naselita na trdih površinah *Streptococcus sanguis* in *Streptococcus mutans*, manj *Actinomyces sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Rothia dentocariosa* in *Capnocytophaga sp.*, medtem ko je striktnih anaerobov malo, ker ni globokih parodontalnih žepov, ki predstavljajo zastojno mesto za subgingivalno floro.

V zdravih ustih otrok do pubertete najdemo *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* in *Streptococcus mutans*, *Actinomyces sp.*, *Peptostreptococcus sp.* ter nekaj bakterij *Lactobacillus sp.*, *Leptotrichia buccalis* in zelo malo bakterij *Porphyromonas sp.* in *Prevotella sp.*

Pri odraščanju, ko zrastejo stalni zobje in se poglobijo gingivalni sulkusi, se začnejo pojavljati tudi anaerobne bakterijske vrste, ki jih kasneje najdemo pri odraslih osebah, vendar tudi pri teh, v zdravih ustih, le v količini, ki je manjša kot 1 % od celokupnega števila mikroorganizmov. Gre za anaerobne koke, treponeme, fuzobakterije, porfiromonade, prevotele, kampilobakte.

V seniumu, pri brezzobih ustih, ni razmer za anaerobno rast bakterij, zato ustna flora postane podobna dojenčkovi, razen če ni protetične rehabilitacije z implantati, ko je ponovno možen nastanek t. i. periimplantitisa. *Streptococcus mutans* in *sanguis* se izgubita, pojavita pa se spet, če oseba nosi zobno protezo.

Čeprav na ustni sluznici, v slini, na zobeh prevladujejo ustni streptokoki, pa ne smemo pozabiti, da se začasno v ustih zadržujejo zelo različne mikrobne vrste, tudi patogene. Te se zadržujejo zlasti na nebnicah, nebnihih lokih in v nosnožrelnem prostoru. To so *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, adenovirusi, virus Epstein-Barr in drugi.



Slika 1: Zdrava dlesen in zdravi zobje

V ustih najdemo tudi oportunistične praživali *Entamoeba gingivalis* in *Trichomonas tenax*, ki se zelo namnožijo pri slabi ustni higieni, sicer pa so redko opazne.

Usta niso področje, kjer bi ustna flora bila razporejena enakomerno, pač pa imamo različna področja naselitve (kolonizacija), kjer živijo ponavadi le določene bakterije, ker imajo prav tam za razvoj ugodne pogoje. Taka različna področja so slina, ustnice, obrazna sluznica,

Tabela 2: Razporeditev nekaterih bakterij v zdravih ustih na posameznih površinah

Bakterija	Dlesenski žep	Zob	Jezik	Obrazna sluznica	Slina
<i>S. salivarius</i>	☆☆	☆☆	★★★★	★★	★★★★
<i>S. sanguis</i>	★★	★★★	★	★★	★★
<i>S. mutans</i>	☆	0-★★★★	<☆☆	<☆☆	<☆☆
<i>Actinomyces sp.</i>	★★★	★★★	★★	☆	★★
<i>Lactobacillus sp.</i>	☆☆	☆☆	☆☆	☆☆	☆☆
<i>Porphyromonas sp.</i>					
<i>Prevotella sp.</i>	★	☆☆	<☆☆	<☆☆	<☆☆
<i>Treponema sp.</i>	☆☆	<☆☆	☆	☆	☆

>☆ = ni dokazano, <☆☆ = 0-1%, ☆☆☆ < 1%, ★ = 1-10%, ★★ = 10-30%, ★★★ = 30-50%, ★★★★ ≥ 50%

trdo nebo, jezik, mehko nebo, zobne površine, subgingivalni prostor (tabela 2). Celo zobne površine lahko razdelimo na gladke, bukalno in lingvalno, aproksimalne – mezialno in distalno ter na vdolbine in žlebiče okluzijskih površin (slika 1).

Posebej zanimivo je področje dlesni z dlesenskimi žepi. Na vseh teh področjih sestava bakterij ni popolnoma enaka.

Na jeziku najbolj pogosto najdemo bakterijo *Streptococcus salivarius* ter *Stomatococcus mucilaginosus*. Tudi v slini pri zdravih ustih je najpogostejši *Streptococcus salivarius*. Zobne površine naseljujejo pretežno streptokoki, zlasti *sanguis* in *aktinomicete*. V paradontalnih žepih pa so razen fakultativnih in anaerobnih streptokokov še bakterije iz rodov *Veillonella*, *Porphyromonas* in *Prevotella* ter *Treponema*, ki jih je na zdravi dlesni in v dlesenskih sulkusih (normalen žlebič) zelo malo.

## Dejavniki, ki delujejo na prisotnost bakterij v ustih

### Anaerobni pogoji

Večina bakterij v ustih so anaerobi ali fakultativni anaerobi, ker je tu primerno okolje za njihovo rast in razmnoževanje. Oksidoredukcijski potencial je nizek. Medtem ko je ob rasti aerobnih bakterij vsaj +100 mV, je pri anaerobnih razmerah –100 do –200 mV ali še manj.

Kisik, za katerega so anaerobne bakterije občutljive, uniči celice tako, da deluje v dvojnih vezeh v lipidih, jih oksidira v celični membrani in okvari celično celovitost.

Kisik se veže s sulfhidrilnimi skupinami encimov, tvori disulfidno vez in inaktivira delovanje encima ter uniči metabolično pot, ki jo omogoča encim. Molekularni kisik se veže tudi z reduciranimi flavoproteini tako, da tvori superoksidni radikal, ki uničuje lipide in encime žive celice.

Fakultativni anaerobi imajo encim superoksid – dizmutazo, ki razgradi superoksidni radikal ( $O_2^- + O_2^- + 2H = H_2O_2 + O_2$ ), pa tudi citokromni sistem za presnovo kisika. Po delovanju superoksid – dizmutaze nastali vodikov peroksid razgradi katalaza v  $H_2O$  in  $O_2$ . Striktni anaerobi nimajo teh encimov, medtem ko jih imajo zahtevni anaerobi malo. Taki so zlasti oportunistični sevi, ki se skušajo prilagoditi manj ugodnim razmeram za razmnoževanje.

Anaerobi naseljujejo ustno sluznico. Če pa hočejo vstopiti skozi epitel v človekovo tkivo, jih tam uniči visoki tlak kisika v tkivih. Zato se zadržujejo normalno na sluznicah, kjer imajo tudi dovolj hranil. Pravzaprav se zdi nenavadno, da je veliko anaerobov v ustih (tabela 3), kjer

stalno prihaja zrak. Vendar del tega kisika porabijo za presnovo fakultativni anaerobi in tako pripravijo okoliščine za rast obligatnih anaerobov. Anaerobi pa tudi prebivajo v bolj zavarovanih predelih, kot so parodontalni žepi in tonzilarne kriptе.

Tabela 3: Anaerobne bakterije v ustih

Grampozitivni bacili	Grampozitivni koki
<i>Actinomyces sp.</i>	<i>Peptostreptococcus sp.</i>
<i>Arachnia sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>
<i>Bifidobacterium sp.</i>	
<i>Eubacterium sp.</i>	Gramnegativni koki
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Veillonella sp.</i>
<i>Propionibacterium sp.</i>	
Gramnegativni bacili	Spirohete
<i>Bacteroides sp.</i>	<i>Treponema sp.</i>
<i>Bilophila sp.</i>	
<i>Campylobacter sp.</i>	
<i>Fusobacterium sp.</i>	
<i>Leptotrichia sp.</i>	
<i>Porphyromonas sp.</i>	
<i>Prevotella sp.</i>	
<i>Selenomonas sp.</i>	

### Prilepljanje na površine in zlepljanje bakterij med seboj

*Streptococcus salivarius* ima afiniteto za mehke površine in se prileplja na epitelij jezika in bukalne sluznice, podobno tudi *Veillonella sp.*, medtem ko se *S. sanguis* in *S. mutans* prilepljata na trde površine zoba. Isto velja za *Actinomyces naeslundii*, *A. odontolyticus* in *A. viscosus*. Pomembno je, da se tudi bakterije med seboj povezujejo in zlepljajo ter na površinah tvorijo agregate. Na te povezave vplivajo simbiotski odnosi posameznih bakterijskih vrst v ustni votlini.

### Slina

Slina je proizvod parotidnih, sublingvalnih in submandibularnih žlez in je dobro gojišče za bakterije. Sestavljena je iz mešanice izločkov žlez slinavk, iz snovi, ki pridejo v usta, levkocitov, epiteljskih celic, mikroorganizmov in njihovih izločkov. Vsebuje 95,5 % vode in 0,5 % trdnih sno-

vi, ki so v 50 % sestavljene iz anorganskih sestavin – kloridi, bikarbonati, fosfati, kalcij, natrij, kalij, minimalni elementi, ogljikov dioksid, kisik in dušik ter 50 % iz organskih snovi – beljakovine, aminokisljine, protitelesa (prevladuje sekretorni IgA), hormoni, encimi, predvsem amilaza, holesterol, urea, amonijak, vitamini, lizocim, laktoferin, mucin in mukopolisaharidi. Vsebina mineralov in ionska moč vplivata na mikroorganizme z osmotskim tlakom, uravnavanjem pH, električnim potencialom in pospeševanjem ali zaviranjem encimskih sistemov. Mucin daje slini viskoznost, mukopolisaharidi pa posredujejo receptorje za prilepljanje bakterij na površine v ustih. Sestava sline in hitrost njenega pretoka vplivata na količino mikroorganizmov v ustih. Tok sline je večji pri budnem stanju kot spanju, lastnosti sline pa so podnevi in ponoči tudi različne. Slina s splahovanjem sluznice in zob odstranjuje mikroorganizme in preprečuje prilepljanje. Število in vrste mikroorganizmov v slini so odraz normalne ali spremenjene mikrobnе flore na ustni sluznici, na zobeh in obzobnih tkivih.

## Drugi vplivi

Na ustno floro vpliva na primer sprememba prehrane. Povečano uživanje prečiščenih ogljikovih hidratov spodbuja rast acidogene bakterijske flore, kamor prištevamo ustne streptokoke in laktobacile.

Število mikroorganizmov v ustih se poveča ob slabi ustni higieni, zmanjša pa se ob rednem in pravilnem čiščenju zob.

Na ustno floro vpliva tudi sanacija zob, fiziološko stanje gostitelja, posegi v ustni votlini, kot je ekstrakcija zob, zdravljenje z antibiotiki in imunosupresivnimi zdravili in spremembe v imunskem odzivu.

## Literatura

Banič S. Repetitorij mikrobiologije za stomatologe. Ljubljana, Medicinska fakulteta, 1981; 4–10.

Banič S. Repetitorij mikrobiologije za študente stomatologije. Ljubljana, Medicinska fakulteta, 1981; 243–246.

Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and functions. *Br Dent J* 1992; 172: 305–12.

Hardie JM, Bowden GH. The normal microbial flora of the mouth. V: *The normal microbial flora of man*. Skinner FA, Carr JG eds. London–New York: Academic Press, 1974; 47–83.

Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Review of Medical Microbiology. East Norwalk: Appleton & Lange, 1995; pogl 11: 167–171.

Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Review of Medical Microbiology. East Norwalk: Appleton&Lange, 1995; pogl 11: 168–169.



Lidbeck A, Nord CE. Lactobacilli and the normal human anaerobic microflora. *Clin Inf Dis* 1993; 16 (Suppl 4): S 181–7.

Likar M. Mikrobiologija in imunologija, II del. Ljubljana, Medicinska fakulteta, 1986; 14–15.

Mitvedt T. Ecosystems: development, functions and consequences of disturbances, with special reference to the oral cavity. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 474–8.

Rosen S, Memory EL. Oral Microflora. V: Willet NP, White RR, Rosen S (eds). *Essential dental microbiology*. 1st ed. East Norwalk: Appleton&Lange, 1991; 319–339.

Russel C. A Review. Bacteria in the human mouth. *J Appl Bact.* 1978; 44: 163–81.

The normal microbial flora of man. Skinner FA, Carr JG eds, London–New York, Academic Press, 1974.

## IMUNSKA DOGAJANJA V USTNI VOTLINI

(A. Ihan)

Usta predstavljajo vrata za vstop številnih mikrobov naprej v prebavila in dihala. Normalno infekcijo ustne votline preprečuje ustna sluznica in njeni čistilni mehanizmi (slina, luščenje ustnega epitelija), ki odplavljajo mikrobe globlje v prebavila. Pri obrambi ustne votline pred mikrobi sodelujejo tudi številni imunski mehanizmi. Med njimi je zlasti pomembno izločanje molekul IgA, ki preprečujejo prodiranje mikrobov v sluznico in obenem pospešujejo njihovo uničevanje.

### Splošno o imunosti

Imunski sistem je kompleksno receptorsko tkivo, katerega naloga je prepoznavati in odstranjevati tuje molekule, ki vdrejo v organizem. Notranje okolje organizma ločujejo od zunanosti pregrade (koža, sluznice), ki učinkovito preprečijo pasivno vdiranje tujih molekul. Nekateri mikrobi so razvili načine, da kljub pregradam vdirajo v organizem. Ker mikrobi s svojim parazitiranjem škodujejo organizmu, je poglobitveni smisel imunskega sistema, da pri prepoznavanju tujih molekul prepozna tudi tiste, ki so sestavni deli mikrobov. Po prepoznavi se sprožijo imunske reakcije, ki imajo namen poškodovati in odstraniti tujek. Kadar gre za mikrobo, imunski efektorski mehanizmi obenem, ko napadejo prepoznane mikrobne molekule, poškodujejo in odstranijo tudi nosilce teh molekul – mikrobo. Zato so se imunski efektorski mehanizmi izoblikovali tako, da ob prepoznavi tujih molekul delujejo protibakterijsko, protivirusno in protiparazitsko.

#### Kako imunski sistem prepoznava tuje molekule?

Limfociti so specializirane imunske celice, katerih naloga je prepoznavati tuje molekule in ob prepoznavi ustrezno ukrepati. Za prepoznavanje tujih molekul imajo limfociti posebne receptorje, t.j. receptorje za antigen (z izrazom antigen označimo vsako molekulo, ki jo imunski sistem prepozna kot tujek). Vsak limfocit ima samo eno vr-

sto receptorjev za antigen, ki navadno prepoznajo samo eno vrsto molekul. Ker je v naravi veliko različnih vrst molekul, mora biti v telesu veliko različnih vrst limfocitov, od katerih vsak reagira le na »svojo« vrsto molekul. Ocenjujejo, da ima človek nekaj deset milijonov medsebojno različnih limfocitov. Zaradi take raznolikosti lahko na katero koli tujo molekulo, ki pride v organizem, reagira vsaj nekaj vrst limfocitov.

Prednost obstoja tako velikega števila vrst različnih limfocitov je v tem, da se vsaka posamezna vrsta limfocitov odziva zelo natančno, specializirano samo na točno določeno vrsto tujih molekul. Pravimo, da je reakcija zelo specifična. Ker je pri tako specifični prepoznavi tujka verjetnost pomote majhna, lahko prepoznavi sledi zelo močen in agresiven imunski odziv, ki tujek uniči in ga odstrani iz telesa. Če bi bila prepoznavna tujka bolj približna, bi limfociti manj zanesljivo razločevali med organizmu lastnimi molekulami in med tujki; zato imunski odziv ne bi smel biti tako učinkovit, kot v resnici je, kajti pomote (reakcije proti lastnim celicam) bi bile pogoste in ne bi smele prehudo škodovati organizmu.

Slabost obstoja ogromnega števila vrst različnih limfocitov pa je v tem, da na posamezni tujek, ki pride v telo, reagira zelo malo imunskih celic. V telo na primer vdre nekaj milijonov bakterij, v telesu pa je le nekaj deset ali sto imunskih celic, ki lahko na tovrstne bakterije reagirajo. Ker nekaj deset imunskih celic ne more uničiti nekaj sto milijonov bakterij, se tiste vrste limfocitov, ki prepoznajo bakterije, začnejo v prvi stopnji imunskega odziva naglo razmnoževati. Iz nekaj deset ali sto limfocitov v nekaj tednih nastanejo milijoni istovrstnih limfocitov, ki so nato zmožni obraniti telo pred mikrobi.

### **Kako imunski sistem odstranjuje tuje molekule iz organizma?**

Potem ko imunske celice s svojimi receptorji prepoznajo tujek, se aktivirajo imunski mehanizmi, ki skušajo tujek uničiti in odstraniti. Za poglobitna izvršna (efektorska) imunska mehanizma imamo protitelesni imunski odziv in dejavnost citotoksičnih limfocitov.

Protitelesa so vodotopne molekule, ki jih izločajo plazmatke. Plazmatke so imunske celice, ki dozoriijo iz limfocitov B, kadar slednji pridejo v stik s tujkom. Vsaka plazmatka izloča eno samo vrsto protiteles, ki se zelo specifično veže na »svojo« antigensko (tujo) molekulo. Čeprav obstaja mnogo vrst med seboj različnih protiteles, pa jih glede na osnovne biokemijske in funkcijske lastnosti lahko razvrstimo na pet razredov: ločimo protitelesa razreda A (IgA), G (IgG), M (IgM), E (IgE) in D (IgD). IgA izločajo pretežno plazmatke v sluznicah, IgG in

IgM pa se izločajo pretežno v kri. IgG- in IgM-protitelesa ob vezavi na tujek sprožijo imunsko vnetno reakcijo, ki tujek uniči in pospeši njegovo odstranitev iz telesa. Nasprotno IgA-protitelesa ob vezavi na tujek ne sprožijo vnetja, ampak le omogočijo transport tujka iz telesa.

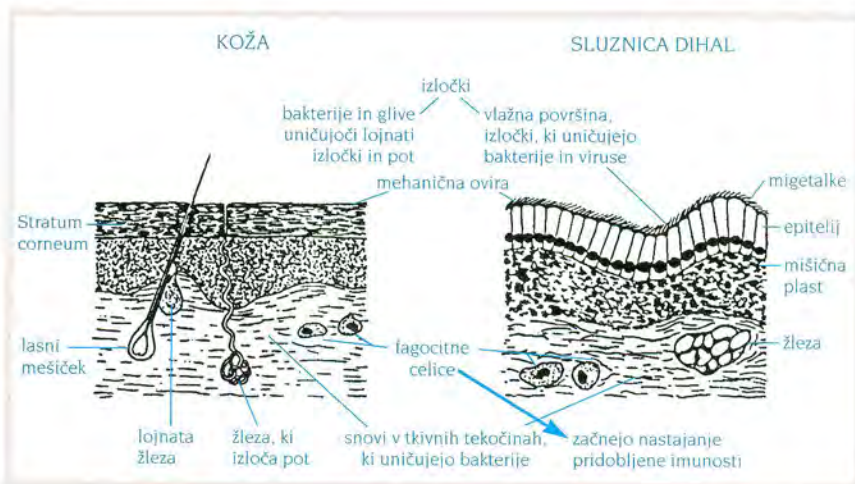
Poleg protiteles tvorijo izvršni (eferentni) del imunskega sistema tudi fagocitne in citotoksične celice. Fagocitne celice (nevtrofilci, monociti, tkivni makrofagi) požirajo in uničujejo delce, kadar jih prepoznajo kot tuje zaradi njihovih fizikalnih lastnosti (velikost, površinska napetost, električni membranski potencial), ki se bistveno razlikujejo od fizikalnih lastnosti normalnih celic. Fagocitne celice požirajo in uničujejo tudi delce, na katere so vezana IgG- ali IgM-protitelesa. S tem dopolnijo funkcijo protiteles, ker učinkovito uničijo vse delce, ki jih protitelesa prepoznajo kot tujke. Citotoksične celice se razlikujejo od fagocitnih po tem, da tujih delcev ne požirajo ampak v njihovo neposredno bližino izločajo citotoksična zrna. Citotoksična zrna so »izstrelki«, ki vsebujejo številne encime in toksične snovi, s katerimi uničijo napadene tujke (bakterije, parazite, z virusi okužene lastne celice). Poglavitne citotoksične celice so citotoksični limfociti T, ki prepoznajo tujek z receptorjem za antigen limfocitov T. Poleg njih so pomembne še naravne celice ubijalke, ki ubijajo zlasti z virusi okužene lastne celice in tumorske celice.

Poleg naštetih je potrebno omeniti še podvrsto limfocitov T, ki jih imenujemo celice T pomagalke. Te celice ne opravljajo nobene izvršne funkcije (ne morejo napadati tujkov), vendar so kljub temu osrednje celice imunskega odziva. Celice T pomagalke prepoznava tujke in glede na vrsto tujkov, njihovo lokalizacijo v organizmu, njihovo množino in nekatere druge okoliščine izločajo različne tkivne hormone – citokine, ki uravnavajo imunski odziv izvršnih imunskih celic (limfocitov B, citotoksičnih limfocitov T, celic NK, fagocitnih celic). Verjetno se na ravni celic T pomagalke odloči, kakšna vrsta imunskega odziva bo sledila imunski prepoznavi določenega tujka. Prepoznavi tujka namreč lahko sledijo zelo različne imunske reakcije, ki imajo različne posledice za tujek in za tkivo, v katerem imunska reakcija poteka: imunski sistem se proti tujku navidezno sploh ne odziva, ampak dopušča njegovo prisotnost v organizmu (tolerančna reakcija), lahko pa sproži zavrnitveno imunsko reakcijo proti tujku. Zavrnitvena imunska reakcija je lahko zelo raznolika: lahko gre predvsem za aktivacijo celic, citotoksične imunosti (citotoksičnih limfocitov T, celic NK), lahko pa predvsem za aktivacijo protitelesne imunosti (limfocitov B). Pri protitelesni imunosti so možni različni odzivi: izločanje protiteles razreda G in M omogoča učinkovito, a razmeroma agresivno uničevanje in odstranjevanje tujkov; protitelesa razreda A odstranjujejo tujke manj učinkovito, a zato tudi manj agresivno, protitelesa razreda E se veže-

jo na mastocite in v prisotnosti tujka sprožijo izločanje histamina in drugih mediatorjev, ki močno delujejo na žilje in gladko mišičje. Ker je torej vrsta imunskega odziva pretežno odvisna od celic T pomagalk, jih imamo za osrednje uravnalne celice imunskega odziva.

## Imunski sistem sluznic

Sluznice (dihal, prebavil, sečil, spolovil, oči, ušes) so s stališča obrambe pred mikrobi posebej občutljivi deli organizma. V nasprotju s kožo sluznice, zlasti prebavil in dihal, omogočajo živahno izmenjavo snovi med organizmom in okoljem. Temu ustrezna je njihova zgradba – notranjost organizma (krvne žile) loči od zunanosti marsikje samo ena plast epiteljskih celic.



Shema 2: Zgradba sluznice v primerjavi s kožo

Zato so sluznice vstopno mesto za vdor mikrobov v telo. Razumljivo je, da so zato v sluznicah »strateško«  
razporejene številne obrambne celice, ki učinkovito preprečujejo razsoj tujkov po telesu.

Poudariti velja, da imajo imunske celice v sluznicah bolj zapleteno nalogo kot imunske celice drugod po telesu. Imunske celice v krvi in tkivih prepoznajo tujek in ga nato skušajo uničiti in odstraniti. V ta namen imunske celice sprožijo kaskade celičnih reakcij, ki jih klinično označujemo kot imunsko povzročeno vnetje. V sluznicah bi bila običajna imunska vnetna reakcija na tujek škodljiva, kajti sluznice so mesta intenzivne izmenjave molekul z zunanostjo. Na in deloma

v sluznice prihaja veliko število različnih tujih molekul (molekule v hrani, vdihanem zraku). Če bi imunski sistem sluznic na vse tuje molekule reagiral z imunsko vnetno reakcijo, bi bile sluznice nenehno vnete in ne bi mogle opravljati svojih funkcij. Zato velja, da se imunske celice sluznic drugače odzivajo na tujke kot imunske celice drugod po telesu. Na splošno velja, da imunski sistem sluznic odstranjuje tujke, ne da bi ob tem sprožil vnetno reakcijo. Obenem imunske celice v sluznicah zavirajo imunske reakcije proti tujkom, ki vstopajo v telo skozi sluznice. Tako se na tuje snovi, ki pridejo v telo skozi sluznice (hrana, vdihan pelod, prah itd.), ne razvije imunski odziv. Pojav imenujemo sluznična toleranca, njene motnje pa lahko povzročijo razvoj bolezni. Iz opisanega je očitno, da se imunski sistem sluznic v marsičem razlikuje od imunskega sistema v ostalih tkivih. V skladu s tem lahko govorimo celo o dveh različnih imunskih sistemih. Pri tem velja omeniti, da je število imunskih celic, ki so specializirane za obrambo sluznic, precej večje od števila vseh preostalih imunskih celic – s tega stališča ima imunski sistem sluznic pravzaprav osrednjo vlogo pri obrambi pred mikrobi.

Čeprav je pglavitna naloga imunskega sistema sluznic obramba sluznic pred vdiranjem mikrobov, velja omeniti, da imajo sluznice še mnogo drugih neimunskih mehanizmov obrambe pred mikrobi. Normalna bakterijska flora sluznic onemogoča rast patogenih mikrobov, usmerjen tok sluzi (ki ga poganja peristaltika in ciliarna funkcija) odplavlja mikrobe in zmanjšuje možnost kolonizacije, snovi kot HCl v želodcu ali žolčne soli v črevesju tvorijo neugodne razmere za rast patogenih mikrobov, protimikrobno delujejo še številni drugi izločki sluznic (laktoferin, laktoperoksidaza, lizocim). Za optimalno protimikrobno obrambo sluznic je potrebno delovanje neimunskih in imunskih obrambnih dejavnikov. Antibiotična terapija lahko uniči normalno bakterijsko floro, zato sluznice okužijo patogeni mikrobi kljub temu, da imunski sistem sluznic deluje normalno. Po drugi strani bolniki z imunskimi pomanjkljivostmi (AIDS, limfomi, levkemije) obolevajo za pogostimi infekcijami sluznic, čeprav neimunski obrambni mehanizmi sluznic delujejo normalno.

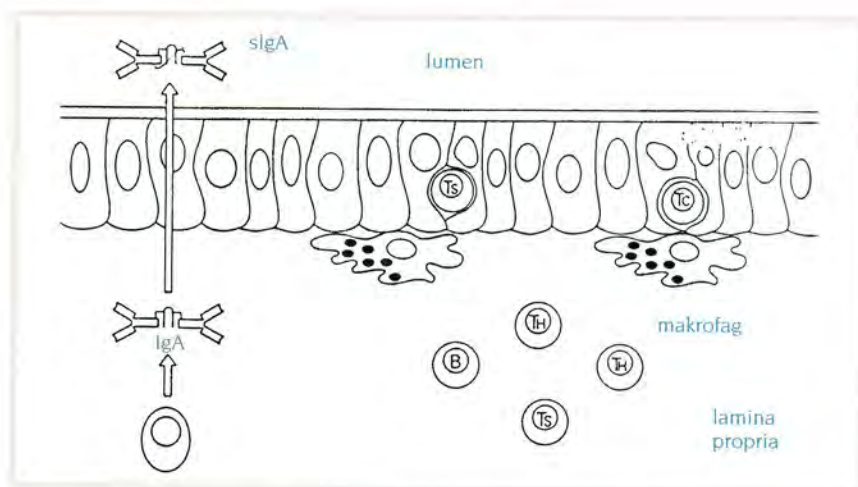
## Imunske celice sluznic

Več kot polovica imunskih celic, ki jih ima človek, je v sluznicah. Samo sluznice človeških prebavil vsebujejo npr. toliko imunskih celic kot človeška vranica. Imunske celice sluznic so deloma organizirane v sluznične limfatične folikle, deloma pa so posamično razporejene v lamini proprii vseh sluznic. Folikli so dobro organizirani skupki imunskih celic – zlasti limfocitov, in predstavljajo sprejemni (aferentni) del

imunskega sistema sluznic – prestrezajo tuje molekule, v njih se aktivirajo in razmnožujejo imunske celice. Aktivirane in razmnožene celice nato iz foliklov potujejo v lamino propio sluznic. Tam kot posamične celice tvorijo izvršni (eferentni) del imunskega sistema sluznic. To so limfociti B in plazmatke, ki izločajo protitelesa, poleg tega pa makrofagi, citotoksični limfociti T in celice NK, ki z izločanjem citotoksičnih zrn uničujejo mikrobo.

## Imunoglobulini A

Najopaznejša posebnost imunskega sistema sluznic je tvorba protiteles razreda A (IgA). IgA izločajo plazmatke v plasti sluznice lamina propria.



Shema 3: Tvorba imunoglobulina A

Količinsko so IgA najpomembnejša protitelesa v telesu, kajti zaradi že omenjene obsežnosti imunskega sistema sluznic jih nastaja več kot vseh drugih razredov protiteles (IgG, IgM, IgE, IgD) skupaj.

Glavna funkcionalna razlika med IgA in drugimi protitelesi, ki prevladujejo v krvi (IgG, IgM), je v tem, da IgG in IgM aktivirajo vnetne dejavnike (proteine komplekta, fagocitne celice), IgA pa nasprotno deluje celo protivnetno. Poglavitna funkcija IgA je, da veže tuje molekule, ki so prodrle v sluznico, po vezavi pa jih s pomočjo epitelijskih celic prenese nazaj na površino sluznic. Tuje molekule na površini sluznic, na katere je vezan IgA, v sluznice ne morejo prodrati. Nekaj IgA prehaja tudi v kri; v krvi IgA veže tuje molekule in omogoča njihov prenos v jetrne celice in naprej v žolč. Vse dejavnosti IgA torej služijo te-

mu, da tuje molekule, ki pridejo v telo prek sluznic, IgA brez povzročanja vnetja prenese nazaj na površino sluznic, tiste molekule, ki pa vseeno prodrejo do krvnega obtoka, IgA prav tako brez povzročanja vnetja transportirajo skozi jetra v žolč. S tem je poskrbljeno, da se imunski sistem ne odziva z vnetno reakcijo na tuje molekule, ki pridejo v telo s hrano in z vdihanim zrakom. Napačno delovanje teh mehanizmov lahko povzroči različne bolezni (alergije na hrano, astma, avtoimunske bolezni).

### **Posebnosti imunskega sistema sluznic v ustni votlini**

Glavna okoliščina, po kateri se razlikuje imunost ustne votline od imunosti ostalega dela prebavil, je prisotnost zobovja. Stičišče med zobmi in sluznico zapolnjuje pripojni epitelij, ki je mnogo bolj propusten za makromolekule kot zunanji dlesnin epitelij. Skozi pripojni epitelij lahko prehajajo serumski proteini (tudi protitelesa) iz krvi na ustno sluznico. Obenem pa je skozi pripojni epitelij olajšano prodirajo mikrobne molekule in tudi mikrobi.

Ker je ustna votlina med najbolj izpostavljenimi predeli za vdor mikrobov v organizem, je njena sluznica preprejena z organiziranimi skupki (folikli) limfocitov. Zlasti številni so skupki limfocitov ob izvodilih malih žlez slinavk. Verjetno so male žleze slinavke zelo pomembne za imunske mehanizme ustne votline, kajti v njihova izvodila prihajajo številni mikrobi, ki jih skupki imunskih celic ob izvodilih prepoznavajo in proti njim pobudijo ustrezno imunsko reakcijo. Na pomen malih žlez slinavk za imunske mehanizme ustne votline lahko sklepamo tudi iz dejstva, da prispevajo le desetino k volumnu izločene sline, obenem pa prispevajo več kot četrtno k skupni količini IgA v slini.

IgA v slini verjetno predstavlja najpomembnejšo imunsko obrambo proti mikrobnim infekcijam v ustni votlini. Z vezavo na mikrobov ovi- ra njihovo prodiranje v sluznico. Poleg tega molekule IgA povežejo mikrobov v večje skupke, ki jih nato fagocitirajo fagocitne celice. Poleg imunskih mehanizmov pa so za preprečevanje infekcij v ustni votlini zelo pomembni še mehanizmi, ki omogočajo nenehno čiščenje ustne votline in odplavljanje mikrobov v želodec, kjer ti večinoma propadejo zaradi kislosti želodčnega soka. Med poglobitve »čistilne« mehanizme štejemo neprestano luščenje ustnega epitelija (obenem z adheriranimi mikrobi), spiranje ust s slino in uživanje »čistilne« hrane (surovo sadje, zelenjava), v naši civilizaciji pa verjetno niso zanemarljivi tudi vplivi nefiziološkega čiščenja (ščetkanje, spiranje, čiščenje z nitko, prhanje).



## Preobčutljivostne reakcije

Imunska reakcija na koncu navadno sproži vnetni proces, ki ima namen odstraniti tujek (antigen) iz telesa. Vnetje poleg koristi, ki jo prinaša, tudi zmoti delovanje vnetega tkiva, okvara je navadno odvisna od obsežnosti in trajanja vnetja. Kadar imunske pojave razvrščamo na bolj ali manj škodljive, s tem navadno opisujemo škodo, ki jo imunsko pogojeno vnetje povzroči v telesu. Po drugi strani je pomembno presoditi tudi korist, ki jo imunski odziv prinese organizmu.

Človek lahko npr. teden dni kašlja in kiha zaradi virusne infekcije, vnetje je zanj lahko sicer zelo nadležno, vendar bo v tem času njegov imunski sistem premagal virusne povzročitelje in mu prinesel odpornost proti ponovitvam enake bolezni. Po drugi strani lahko človek prav tako kiha in kašlja zato, ker se njegov imunski sistem bori proti vdihanemu cvetnemu prahu. Čeprav je lahko vnetje v obeh primerih podobno, imamo povsem upravičeno imunsko reakcijo proti virusom za koristno, ker je nujno potrebna (brez nje bi se virus razširil in pokončal bolnika), imunsko reakcijo proti cvetnemu prahu pa za škodljivo (alergijsko), ker sodimo, da bi bilo bolje, če je ne bi bilo.

O preobčutljivosti torej govorimo, kadar imunska reakcija ni smiselna in zgolj škoduje organizmu. Ker pri preobčutljivosti navadno ne gre za borbo proti mikrobnim povzročiteljem bolezni, je škoda, ki jo vnetje povzroči tkivu, skoraj izključno posledica imunske reakcije, ne pa delovanja bakterijskih toksinov in metabolitov, virusov in ostalih škodljivosti. Zato je bilo mogoče s preučevanjem preobčutljivostnih reakcij opredeliti posamezne vrste imunskih vnetnih reakcij glede na to, kakšni imunski mehanizmi sprožijo vnetje in kakšno škodo ob tem povzročijo tkivu. Poudariti velja, da enake imunske reakcije potekajo tako pri »škodljivih« kot pri »koristnih« imunskih odzivih, vendar je tip vnetja pri slednjih manj razviden, kajti na vnetje ne vpliva le imunska reakcija, ampak tudi delovanje mikrobnih povzročiteljev bolezni na tkivo.

### Glavni tipi preobčutljivostnih reakcij

Reakcije tipa I (alergije, ki jih povzroča IgE)

Bazofilci so glavne efektorske celice pri razvoju vnetja tipa I. Bazofilci imajo v citoplazmi številna zrna (vakuole), ki vsebujejo biološko aktivne snovi. Ob določenih dražljajih se bazofilci degranulirajo, t.j. v procesu eksocitoze izločajo vsebino zrn v okolico. Mediatorje, ki se ob tem iz zrn sprostitjo v okolico, imenujemo primarne mediatorje, klinično

se manifestira njihov učinek 5–30 min po stiku z alergenom, po 60 min pa učinek pojema. Obenem sproži degranulacija v bazofilcih tudi novo sintezo in novo sproščanje mediatorjev. Ti zaradi časa, potrebne za svojo sintezo, začnejo učinkovati kasneje in jih imenujemo sekundarni mediatorji; njihov učinek postane opazen v 2 urah po stiku z alergenom, traja pa lahko 2–3 dni.

Primarni mediatorji so v zrnih bazofilcev. Mednje štejemo histamin, ki povzroča kontrakcijo gladkih mišic v dihalnih poteh, poveča permeabilnost žilja, poveča sekrecijo nosnih, bronhialnih in želodčnih žlez. Kemotaktični faktor za eozinofilce koncentrira eozinofilce, kemotaktični faktor za nevtrofilce pa nevtrofilce na mestu degranulacije bazofilcev. Zrna vsebujejo še heparin, proteaze in nekatere manj določene proteinske mediatorje.

Sekundarni mediatorji se ob degranulaciji bazofilcev sintetizirajo zaradi aktivacije lipolitčnih encimov (fosfolipaza A2, fosfolipaza C, diacilglicerolna lipaza), ki cepijo membranske fosfolipide bazofilcev. Produkti cepljenja lipidov so biološko močno učinkovite snovi. Levkotrieni močno povečajo permeabilnost žilja, krčijo gladko mišičje v dihalnih poteh, stimulirajo bronhialno sekrecijo, delujejo kemotaktično za nevtrofilce, eozinofilce in monocite. Podoben učinek na žilje in dihalne poti ima tudi prostaglandin D2 in PAF (platelet activating factor).

Degranulacija (eksocitoza) bazofilcev je aktiven proces, pri katerem kontraktilni deli celičnega skeleta (aktin, miozin) prenašajo zrna do celične površine, kjer se ta zlijejo s celično membrano in izločijo vsebino v okolico. Pri tem je za aktivacijo miozina potrebna njegova fosforilacija, ki jo katalizira protein – kinaza C. Med aktivatorji protein – kinaze C je najbolj znan diacilglicerol, ki nastaja ob receptorski aktivaciji fosfolipaze C. Ob degranulaciji bazofilcev se prehodno močno poveča znotrajcelična koncentracija cAMP. cAMP aktivira protein – kinaza A, ta pa inhibira degranulacijo. Prehoden dvig koncentracije cAMP ob aktivaciji bazofilcev je negativna povratna zanka, ki zaustavi sproženo degranulacijo. Zato snovi, ki povečajo koncentracijo cAMP v bazofilcih (adrenalin), preprečujejo njihovo degranulacijo in tudi tako zavirajo razvoj preobčutljivostne reakcije tipa I.

Klinični učinki reakcije I. tipa so odvisni od lokacije in obsežnosti degranulacije bazofilcev – pri obsežni degranulaciji so ne glede na mesto vnosa antigena prizadeti številni organski sistemi – govorimo o sistemski reakciji. Manj obsežna degranulacija ima navadno učinke, ki so omejeni na mesto vnosa antigena v telo – prizadet je navadno le en organ in njegova funkcija (koža, dihala, črevo) – govorimo o lokalni reakciji.

### *Sistemska anafilaksija*

Pri ljudeh se sistemska anafilaktična reakcija pojavi po vnosu alergenov (proteinov, hormonov, encimov, zdravil, polisaharidov) v telo, pri čemer je teža obolenja odvisna zlasti od stopnje senzibilizacije na alergen, t.j. od količine specifičnih IgE na mastocitih. Tudi količina vnesenega alergena vpliva na težo obolenja, vendar je treba upoštevati, da včasih (pri močni senzibilizaciji) že zelo majhna količina alergena (tudi tako majhna, ki se uporablja za kožno testiranje na alergije) zadošča za nastanek najtežjih oblik anafilaksije. V nekaj minutah po stiku z alergenom se začne srbenje in kožni izpuščaji, kmalu zatem se zaradi kontrakcije bronhiolov začne silovit kašelj in dušenje, zaradi edema glasilk tudi hripavost. Sledi bruhanje, trebušni krči, driska, zaradi padca krvnega tlaka lahko pacient preide v šokovno stanje in tudi umre.

### *Lokalna anafilaksija*

Izraz »lokalna anafilaksija« navadno nadomeščamo z izrazom »atopična alergija«. »Atopija« pomeni dedno nagnjenost za razvoj lokalne anafilaktične reakcije po vnosu alergenov v telo. Okoli 10% populacije prizadevajo lokalne alergične reakcije, ki nastanejo zaradi različnih vdihanih (pelodi, živalske dlake, hišni prah itd.) ali zaužitih (ribe, jagode, jajca itd.) alergenov. Glede na lokalizacijo atopične reakcije se po vnosu alergena razvijejo nekatere bolezni: urtikarija in angioedem (koža), alergični rinitis (nosna sluznica), astma (bronhioli), enterokolitis (črevesna sluznica) itd.

### Reakcije tipa 2 (citotoksičnost, ki jo povzročata IgG in IgM)

Reakcije tipa 2 povzročajo protitelesa, ki se vežejo na normalne (avtoprotitelesa) ali spremenjene molekule (adsorbirana zdravila, virusni delci) na površinah lastnih celic organizma. Specifična vezava protiteles na lastne celice povzroči njihovo uničenje. Glede na obseg uničenja, pa seveda na pomen in lokalizacijo uničenih celic, se razvijejo posamezne bolezni; če gre za uničenje eritrocitov, se razvije anemija, poškodbe ledvičnih glomerulov povzročajo ledvično odpoved, uničenje kožnih keratinocitov povzroči nastanek pemfigusa. Mehanizmi uničevanja celic po vezavi protiteles nanje so si večinoma podobni. Vezava protiteles (IgG in IgM) na celice aktivira komplementni sistem. Aktivirani proteini komplementa na celični membrani tvorijo proteinski kompleks, ki okvari membrano in povzroči celični propad. Obenem postanejo napadene celice občutljive za fagocitozo (opsonizira-

ne), kar jih še bolj uničuje. Poleg tega so številne vrste obrambnih celic (monociti, nevtrofilci, eozinofilci, celice NK) zmožne, ne glede na aktivacijo komplemента, ubijati celice, na katere so specifično vezana protitelesa – govorimo o ADCC ubijanju (Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity).

Osnovno dogajanje, ki povzroči nastanek preobčutljivostne reakcije tipa 2, je nastajanje protiteles, ki se specifično vežejo na organizmu lastne celice ali necelične strukture (npr. bazalne membrane v koži, glomerulih itd.). V nekaterih primerih taka protitelesa nastajajo v sklopu avtoimunskih bolezni. Pri avtoimunskih boleznih so moteni mehanizmi tolerance, ki normalno skrbijo, da imunski sistem usmerja imunski odziv proti tujim, ne pa proti lastnim molekulam. V organizmu lahko npr. nastajajo protitelesa proti ščitničnim žleznim celicam in jih uničujejo. Bolezensko okvarjena ščitnica ne more izločiti dovolj ščitničnih hormonov, njihovo pomanjkanje povzroči značilno bolezensko sliko hipotireoze. V drugih primerih nastajajo protitelesa proti žleznim celicam trebušne slinavke. Zaradi uničenja žleznih celic trebušna slinavka ne izdeluje dovolj hormona insulina, posledica je sladkorna bolezen.

V nekaterih primerih pa protitelesa, ki povzročijo preobčutljivost tipa 2, niso »prava« avtoprotitelesa. Primer je fetalna eritroblastoza, pri kateri tvori Rh negativna nosečnica po stiku z Rh pozitivno krvjo protitelesa proti Rh molekulam. Protitelesa prehajajo skozi placento v kri Rh pozitivnega plodu in se vežejo na Rh molekule na površinah plodovih eritrocitov. Vezava materinih protiteles na plodove eritrocite povzroči njihovo uničenje, posledica je hudo pomanjkanje eritrocitov (anemija) pri plodu. Čeprav gre pri fetalni eritroblastozi torej za preobčutljivostno reakcijo tipa 2 proti eritrocitom, protitelesa proti plodovim eritrocitom niso avtoprotitelesa. Gre za povsem normalen imunski odziv Rh negativne matere po stiku z Rh pozitivno krvjo; bolezen je kriva le okoliščina, da ima Rh negativna mati Rh pozitivnega otroka, druga okoliščina pri tem pa je dejstvo, da lahko materina IgG – protitelesa prehajajo skozi placento v plod. Tudi ta lastnost materinih protiteles je normalna in koristna, ker je na ta način zagotovljena protitelesna obramba plodu v času, ko ta še nima razvitega lastnega imunskega odziva. Le v primeru Rh neskladnosti matere in plodu prost prehod protiteles skozi placento pripomore k razvoju plodove bolezni. Podoben primer je tudi transfuzijska reakcija, ki nastane po transfuziji neskladne krvi.

Tudi vnos nekaterih zdravil v telo lahko povzroči nastanek preobčutljivosti tipa 2. Imunski sistem se včasih odziva na penicilin s tvorbo protiteles IgG in IgM proti penicilinu. Hkrati pa imajo penicilinske molekule veliko afiniteto vezave na eritrocite. Zato se protiteles-

sa proti penicilinu vežejo na penicilinske molekule, ki so na površini eritrocitov. Vežava protiteles na površine eritrocitov pa po že omenjenih mehanizmih uniči eritrocite, posledica je njihovo pomanjkanje (anemija). Tudi v tem primeru je anemija posledica preobčutljivosti tipa 2, vendar protitelesa, ki jo povzročajo, niso avtoprotitelesa. Bolezen nastane, če oseba tvori protitelesa IgG ali IgM proti penicilinu – to je razmeroma redka, ne pa nenormalna imunska reakcija po stiku s penicilinom. Druga okoliščina, ki botruje boleznim, pa je afiniteta penicilina za vezavo na eritrocite.

Na podoben način kot penicilin tudi mnoga druga zdravila povzročajo preobčutljivost tipa 2. Skupno vsem reakcijam je, da nastajajo protitelesa proti molekulam zdravila, vrsta nastalega obolenja pa je odvisna od tega, na katere celice in tkiva se zdravilo veže. Zdravilo proti malariji kinidin se na primer veže na trombocite, zato nastanek protiteles proti kinidinu uniči trombocite, posledica je nagnjenost h krvavitvam (trombocitopenična purpura).

### Reakcije tipa 3 (ki jih povzročajo imunski kompleksi)

V tip 3 uvrščamo preobčutljivostne reakcije, ki nastanejo zaradi kopičenja imunskih kompleksov (kompleksov antigen-protitelo). Nakopičeni imunski kompleksi aktivirajo nekatere vnetne mediatorje, zlasti proteine iz skupine sistema komplementa. Klinične posledice vnetja so odvisne od mesta kopičenja imunskih kompleksov. Kompleksi, ki nastajajo v krvi, povzročijo vnetne poškodbe krvnih žil (vaskulitis) in tkiv, ki filtrirajo kri – pri tem so zlasti ogroženi ledvični glomeruli.

Poudariti velja, da je nastajanje imunskih kompleksov vsakdanji pojav v zdravem organizmu, katerega imunski sistem se normalno odziva na tuje molekule, ki vdirajo v telo iz okolja. Imunske komplekse fagocitirajo fagocitne mononuklearne celice (zlasti nevtrofilci in monociti) in jih odstranjujejo iz krvnega obtoka. Zapleti nastanejo navadno pri preveliki tvorbi imunskih kompleksov, ki jih fagocitne celice ne zmorejo odstraniti. To se dogaja, kadar se v telesu pojavi velika količina tujih molekul – antigenov. Največkrat gre za bakterijske, virusne, parazitske ali glivične infekcije, pri katerih vdoru mikrobov sledi protitelesni odziv, nastali imunski kompleksi pa se kopičijo in na mestih kopičenja povzročajo vnetja. Včasih pa velike količine antigenov pridejo v telo hoteno, z injiciranjem – zlasti zdravila (kinidin, penicilin, zaščitni serumi), včasih pa tudi druge snovi (heroin). Poleg eksogenih antigenov, ki povzročijo imunske komplekse, lahko pri nekaterih boleznih protitelesa nastajajo proti lastnim tkivom, celicam, proteinom in razumljivo je, da lahko pri tem nastaja veliko imunskih kompleksov, ki jih fagocitne celice ne zmorejo odstraniti. To so

zlasti avtoimunske bolezni in tumorji. Pri avtoimunskih boleznih imunski sistem »napačno« reagira proti lastnim molekulam, pri tumorjih pa spremenjeni, mutirani tumorski proteini delujejo kot antigeni za imunsko reakcijo.

Tabela 4: Nekateri antigeni, ki povzročajo bolezni zaradi kopičenja imunskih kompleksov

	Antigen	Klinična slika
<b>Eksogeni</b>		
1. mikrobní antigeni		
Bakterije:	Streptococcus sp.	Glomerulonefritis, endokarditis
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	artritis
	<i>Treponema pallidum</i>	glomerulonefritis
Virusi:	Hepatitis B	poliarteritis nodosa
	Citomegalovirus	poliarteritis nodosa
Paraziti	<i>Plasmodium sp.</i>	glomerulonefritis
	<i>Shistosoma sp.</i>	glomerulonefritis
2. Zdravila in kemikalije		
Penicilin		hemolitična anemija
Kinidin		hemolitična anemija
Serum		serumska bolezen
Heroin		glomerulonefritis
<b>Endogeni</b>		
Nuklearni antigeni		Sistemski lupus eritematosus
Imunoglobulini		revmatoidni artritis
Tumorski antigeni		glomerulonefritis

Imunski kompleksi se kopičijo, kadar zaradi vdora velikih količin antigena v telo kompleksi nastajajo v pretirano velikih količinah, ki jih fagocitne celice ne zmorejo odstraniti iz obtoka. Mogoče je tudi, da kopičenje kompleksov ne nastane zaradi pretirane tvorbe, ampak zaradi pomanjkljivega odstranjevanja. To se zgodi pri okvarjeni zmožnosti fagocitnih celic, vendar so taki primeri razmeroma redki v primerjavi z obolenji, pri katerih se kompleksi kopičijo zaradi povečane tvorbe. Razen količine imunskih kompleksov, ki nastanejo v krvi, je za klinične posledice njihovega kopičenja odločilno, v katerih tkivih in

organih se kopičijo ter povzročajo vnetje. Razmeroma malo je znane- ga o lastnostih imunskih kompleksov, ki vplivajo na njihovo odlaga- nje v posameznih tkivih. Verjetno je pomembna velikost nastalih kom- pleksov. Zelo veliki kompleksi nastajajo v razmerah, ko koncentraci- ja protiteles močno presega koncentracijo antigena. Velike komplek- se fagocitne celice hitro odstranijo iz krvi. Srednje veliki in mali imun- ski kompleksi nastajajo v razmerah, v katerih koncentracija antigena rahlo presega koncentracijo protiteles. Take komplekse fagocitne ce- lice manj uspešno fagocitirajo, zaradi svoje majhnosti pa se lažje fil- trirajo skozi žilni endotelij in se odlagajo v tkivih. Razen velikosti vpli- vajo na mesto odlaganja imunskih kompleksov še številne druge last- nosti, med njimi so pomembni električni naboj imunskih komplek- sov, valenca in afiniteta antigena za posamezna tkiva, avidnost pro- titeles v kompleksih. Kompleksi se najpogosteje odlagajo v ledvičnih glomerulih, sklepih, koži, srcu, seroznih površinah in malih krvnih žilah.

Najbolj dramatična klinična slika zaradi odlaganja imunskih kom- pleksov nastane v primerih, ko vbrizgamo velike količine antigena v or- ganizem, ki je proti antigenu že razvil močen IgG ali IgM protitelesni odziv. Primer je akutna serumska bolezen, ki je v preteklosti pogosto nastajala po vbrizganju konjskega antitetanusnega seruma v človeka, že predhodno senzibiliziranega s konjskim serumom. Posledica je sko- raj takojšen nastanek velike količine imunskih kompleksov, ki se od- lagajo na žilnih stenah, tam povzročajo aktivacijo komplemента, nevtrofilno infiltracijo žilnih sten, agregacijo trombocitov in tvorbo mi- krotrombov, vse to povzroči akutni nekrotizirajoči vaskulitis. Odlaga- nje kompleksov posebno prizadene funkcijo ledvic (glomerulonefrit- is), srca (endokarditis) in sklepov. Bolj pogoste pa so bolezni, pri kate- rih je organizem dalj časa izpostavljen vdiranju manjše količine anti- gena v krvni obtok. Stanje imenujemo kronična serumska bolezen, po- sledica pa je odlaganje kompleksov v žilju tkiv (sklepi, glomeruli, pod- kožno maščevje). Znaki akutnega vnetja so manj opazni, zaradi kronič- nosti vnetja pa lahko pride do nepopravljivih poškodb posameznih tkiv in organov. Kronična serumska bolezen spremlja zlasti nekatere bo- lezni avtoimunskega izvora, pri katerih je imunski sistem kronično izpo- stavljen določeni količini avtoantigenskih molekul – npr. sistemski lu- pus eritematosus, revmatoidni artritis, membranski glomerulonefritis.

#### Reakcije tipa 4 (ki jih povzročajo limfociti T)

Kot reakcije tipa 4 obravnavamo tiste, ki jih začenjajo senzibilizirani limfociti T. Ta reakcija je pravzaprav osnovna reakcija kakršnega koli specifičnega imunskega odgovora, ki se vedno začne s tem, da celi- ca T – pomagalka z antigenskim receptorjem prepozna antigen, nato

pa s svojimi izločki (limfokini) usmeri ostale imunske celice (limfocite B, citotoksične limfocite T) v specifično imunsko reakcijo. Ob prvem stiku z antigenom limfociti T prepoznavajo antigene, če jih predhodno fagocitirajo specializirane antigen predstavitvene celice (tkivni makrofagi) – APC. Ob kasnejšem stiku z antigenom lahko limfocitom T antigene predstavljajo tudi druge celice (limfociti B, endotelijske celice), zato je aktivacija limfocitov, ki so že bili v stiku z antigenom, lažja od aktivacije limfocitov T ob prvem stiku z antigenom. Aktivirana celica T – pomagalka s svojimi izločki – limfokini med drugim omogoči aktivacijo citotoksičnih limfocitov T. Citotoksični limfociti T vsebujejo citotoksične granule, katerih vsebino izločajo proti celicam, ki na površinah izražajo antigenske molekule. Vsebino citotoksičnih granulov predstavljajo različni toksini (perforin, TNF, encimi), ki uničijo napadeno celico. Tako citotoksične celice uničujejo zlasti z virusi in drugimi znotrajceličnimi paraziti okužene celice, verjetno pa tudi tumorske celice.

Reakcija 4. tipa se začne z aktivacijo limfocitov T ob prepoznavi antigena v tkivu. Aktivacija povroči izločanje limfokinov (interlevkini-2 = IL-2, interferon = IFN, tumor nekrotizirajoči faktor = TNF), ki privabijo vnetne celice (nevtrofilce, monocite) in jih aktivirajo. Izločki limfocitov in ostalih vnetnih celic povečajo permeabilnost žilja, povzročijo nabiranje fibrina ob žilju in v tkivu, aktivacija koagulacijskih mehanizmov povzroči induracijo tkiva. Vnetna poškodba tkiva je odvisna od intenzivnosti reakcije; močna reakcija lahko povzroči tudi odmrtnje (nekrozo) vnetega tkiva.

Tabela 5: Preobčutljivostne reakcije

Tip reakcije	Osnovni mehanizmi	Dogajanje v tkivu	Tipične bolezni
I – alergični	IgE se vežejo na mastocite, ki ob stiku z alergenom izločajo mediatorje (histamin, ECF, leukotrieni, PAF...)	vazodilatacija krčenje gladkih mišic povečana žlezna sekrecija	astma anafilaktični šok
II – citotoksični	IgG ali IgM se vežejo na antigene na celicah, ob tem se aktivirajo proteini kompleksa, pospeši se fagocitoza	uničenje (nekroza) celic, ki antigene izražajo ali jih imajo adherirane na površini	fetalna eritroblastoz avtoimune hemolit. anemije, Goodpasturjev sindrom
III – imunski kompleksi	nastajanje velikih količin imunskih kompleksov, ki se odlagajo na stenah žil, ob tem se aktivira komplement	poškodbe žil (vaskulitis)	SLE glomerulonefritis nodozni eritem
IV – celična preobčutljivost	ob stiku z antigenom limfociti T izločajo limfokine in s tem sprožijo imunsko pogojeno vnetje v tkivu	vnetna reakcija, infiltracija tkiva z limfociti, nevtrofilci	kontaktni dermatitis zavrnitev presadka tuberkulinska reakcija



Ker je reakcija tipa 4 pravzaprav temeljna reakcija celičnega imunskega odziva, govorimo o preobčutljivosti tipa 4 le takrat, ko presodimo, da reakcija organizmu bolj škoduje zaradi vnetne okvare tkiva, kot pa mu prinaša koristi zaradi imunske obrambe proti antigenu.

Vsi štirje opisani tipi imunskih reakcij so del normalnega imunskega dogajanja pri zdravem človeku. IgE-molekule (reakcija tipa 1) so zlasti koristne pri parazitnih infekcijah. Ob vdoru parazita v tkivo IgE aktivirajo bazofilce, izločki bazofilcev pa privabijo eozinofilce, ki zelo učinkovito uničujejo parazite. Kadar nastaja IgE odziv proti neškodljivim antigenom (cvetni prah, zdravila), tak imunski odziv organizmu zgolj škoduje in lahko govorimo o preobčutljivosti. Protitelesa razreda G in M zagotavljajo zlasti obrambo proti zunajceličnim bakterijam in le, kadar pride do napake pri tolerančnih mehanizmih, nastajajo tudi protitelesa proti lastnim telesnim celicam (avtoimunost); to privede do razvoja preobčutljivosti tipa 2. Imunski kompleksi so normalen produkt protitelesne obrambe, bolezen zaradi imunskih kompleksov (preobčutljivost tipa 3) nastane le, kadar zaradi velike količine antigena nastaja preveč imunskih kompleksov, ali pa so okvarjeni mehanizmi, ki skrbijo za odstranjevanje imunskih kompleksov iz organizma (fagocitne celice). Tudi aktivacija limfocitov T je osnovna reakcija imunskega sistema, ki zagotavlja aktivacijo in koordinacijo obrambe proti mikrobom. Le kadar je aktivnost limfocitov T usmerjena proti neškodljivim antigenom (npr. zdravila), vnetje, ki ga sprožijo aktivirani limfociti T organizmu bolj škoduje kot koristi, zato govorimo o preobčutljivosti (tip 4).

### **Literatura**

- Heimdahl A, Nord CE. Oral infections in immunocompromised patients. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 501–3.
- Immunology of oral diseases. Roitt IM, Lehner T, eds, 2nd, Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1983.
- McGhee JR, Michalek SM. Immunobiology of dental caries: Microbial aspects and local immunity. *Annu Rev Microbiol* 1981; 35: 595–638.
- Ranney RR. Immunologic mechanisms of pathogenesis in periodontal diseases: an assessment. *J Periodont Res* 1991; 26: 243–254.
- Seymour GJ. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 421–426.
- Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patient categories. *J. Clin. Periodontol* 1991; 18: 411–420.
- Willet NP, White RR, Rosen S. *Essential dental microbiology*. 1 st ed. East Norwalk: Appleton & Lange, 1991; 85–133.

## ZNAČILNOSTI BAKTERIJ, KI POVZROČAJO ZOBNO GNILOBO

Anthony van Leeuwenhoek je 1683 prvi opisal mikroskopske oblike ustnih bakterij. Čeprav je vzdrževal ustno higieno, je opazil množico bakterij v ustih in okoli zob. Šele leta 1880 je skušal Miller osamiti bakterije iz ust pri pioreji. V poskusu je tudi izpostavil ekstrahirani zob bakterijam iz sline v prisotnosti ogljikovih hidratov ter tako ugotovil, da pride do demineralizacije zoba. Zaključil je, da so povzročitelji zobne gnilobe bakterije in njihovi izločki pri presnovi ogljikovih hidratov. Ugotovil je tudi, da zaradi bakterij nastajajo zobne obloge. Tako je postavil nespecifično hipotezo zobnih oblog.

Orland (1950) je dajal ogljikove hidrate kot hrano podganam, vendar so dobile zobno gnilobo le, če je dodal ustne bakterije. Keyes (1960) je hrčke z zdravimi zobmi dal v isto kletko s hrčki, ki so imeli zobno gnilobo. Zaradi tesnega stika med njimi je prišlo do prenosa bakterij in zobne gnilobe tudi pri zdravih hrčkih.

Kasneje so na osnovi Kochovih postulatov iskali specifično bakterijo, ki bi bila povzročiteljica kariesa. Šele po letu 1963 so ugotovili, da gre za oportunistično infekcijo z bakterijami, ki jih je nekaj že v normalni ustni flori. Zaradi spremenjenih okoliščin (slaba ustna higiena, neprimerna prehrana, zmanjšan imunski odziv in drugo) pa pride do količinskih sprememb in povečanja števila bakterij, ki se prilepljajo na zob v številnih plasteh in so sposobne tvoriti debele polisaharidne zobne obloge.

### Zobna gniloba

Zobna gniloba je endogena bakterijska bolezen, ki ne povzroča smrti, spremeni pa ali popolnoma uniči kalcificirane dele zob. Sodelujejo oportunistične bakterije normalne ustne flore, ki se namnožijo tako, da pride do količinske spremembe odnosov. Bolezen je kronična in je potrebno dolgo časa, da postane klinično opazna. Pri nastanku zobne gnilobe sodeluje gostitelj (človek), mikroorganizmi (ustne bakterije) in substrat (sladkor-saharoza). Zaradi sodelovanja

vseh treh dejavnikov pride do demineralizacije sklenine in zobovine ali dentina. Izgubljene minerale nadomesti rahlo vezana voda.

Zobna obloga je homogena bakterijska masa, ki povzroči bolezen, če se bakterije namnožijo v taki količini, da se organizem več ne more braniti. Gre torej za endogeno kronično bakterijsko bolezen zaradi zlepljenih plasti ustnih bakterij in njihovih izločkov, zunajceličnih polisaharidov, ki skupaj ustvarijo biofilm na zobni površini.

Kariogene bakterije imajo v fakultativno anaerobni presnovi sposobnost tvorbe kislin, največkrat mlečne. Kislina znižuje pH na 5,5–4,0, kar še pospešuje razmnoževanje bakterij, ki so tolerantne za nizek pH, npr. ustni streptokoki in laktobacili. Vse skupaj pa omogoča izstopanje kalcija in demineralizacijo sklenine in dentina ter tako okvaro zobne površine, ki pri zdravih osebah uspešno varuje zob pred vdorom bakterij (slika 2).



Slika 2: *Kariozna okvara molarnega zoba*

Gre za stalno tekmovanje kariogenih bakterij za naselitev na zobnih površinah, ki jo preprečuje odstranjevanje teh bakterij z zobnih površin s spiranjem s slino ter z mehaničnim odstranjevanjem, s čiščenjem zob z zobno krtačko in zobno nitko ter spiranjem s pitno vodo in zobno prho. Razvite zobne obloge slina in voda ne moreta odstraniti, pač pa je potrebno mehanično čiščenje.

Značilne kariogene lastnosti ustnih bakterij so torej sposobnost tvoriti kisline, toleranca kisline in nizkega pH in tvorjenje netopnih polisaharidov. Večina bakterij v supragingivalni oblogi dobiva energijo

z razgradnjo sladkorjev. Če gre za hrano, kjer je tak polimer moka, kruh, krompir, je potrebno, da ga bakterije z amilazo (bakterijsko ali iz sline) razgradijo v osnovne sestavine. Disaharidi in monosaharidi se šele prenašajo v celico skozi citoplazemsko membrano in so lahko substrat za glikolizo, največkrat anaerobno fermentacijo do mlečne kisline. Če uživamo čiste sladkorje, kot je saharoza, je ta proces hitrejši in možnost za fermentacijo do mlečne kisline veliko ugodnejša. Ustni streptokoki so homofermentativni in je mlečna kislina glavni končni pridelek bakterijske presnove.

Ustni streptokoki iz sladkorjev izgrajujejo z encimi glukozil-transferazo (GTF) in fruktozil-transferazo (FTF) polisaharidne polimere – glukani (dekstran) in fruktan (levan). Glukani so osnova za zlepljanje bakterij v zobni oblogi. Razlikujemo vodotopni in nevodotopni glukani ali mutan, ki ga tvori *Streptococcus mutans*. V vodi netopnega glukana ne more razgraditi niti dekstranaza niti ustne bakterije. Raztopiti ga ne morejo niti lastne celice, ki so ga izgradile. V vodi topni glukani – dekstran pa lahko razgradijo dekstranaza in ustne bakterije.

Plast bakterij, ki se nabere na zobu, ki je zdrav in higiensko vzdrževan, je debela približno 20 bakterijskih celic. V njem prevladujejo streptokoki, predvsem *Streptococcus sanguis* in *S. mitis*, ter aktinomycete. V majhni količini najdemo tudi gramnegativne anaerobne koke (*Veillonella*) in korinebakterijam podobne grampozitivne paličaste bakterije kot je *Rothia dentocariosa*. Za to sestavljeno mikrobno skupnost na zobni površini v matrici polimerov bakterijskega ali slinskega izvora uporabljamo izraz (splošni) zobna obloga.

Normalna plast bakterij na zobu ni vidna s prostim očesom. Če je ne odstranujemo vsak dan, se razvije debela plast od ene desetine do več desetih  $\mu\text{m}$ . V zobni oblogi je tudi zelo veliko število bakterijskih celic ( $10^9$ – $10^{10}$ /g).

## Katere bakterije sodelujejo pri zobni gnilobi?

Najpogostejše bakterije, ki sodelujejo pri razvoju zobne gnilobe, so streptokoki (slika 3).

Tem se pridružijo laktobacili in aktinomycete. Bakterije se redko adsorbirajo na čisto sklenino, ker jo v nekaj sekundah po čiščenju zob že prevlečejo salivarni glikoproteini. Koki se adsorbirajo že dve uri po čiščenju zob. Po 24 urah je že 95 % streptokokov od celotne gojene mikroflora supragingivalne zobne obloge.

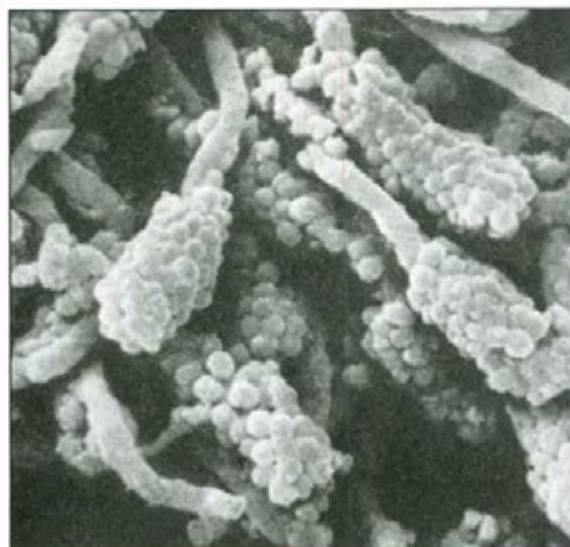
Mlada zobna obloga je sestavljena iz streptokokov, v začetku *Streptococcus sanguis*, kasneje *Streptococcus mutans*, nekaj grampozitivnih



Slika 3: Mikroskopski videz streptokokov, obarvanih po Gramu

bacilov (*Actinomyces sp.*), redkih gramnegativnih kokov (*Veillonella sp.*) in nitastih bakterij (*Leptotrichia buccalis*).

V mladi zobni oblogi še prevladujejo streptokoki, kasneje je več nitastih oblik, ki se v stari oblogi namnožijo. Ker imajo streptokoki in aktinomicete sposobnost medsebojnega zlepljanja, nastanejo povezave streptokokov in aktinomicet, ki imajo oblike koruznega storža.



Slika 4: Zobna obloga iz aktinomicet in streptokokov v obliki koruznega storža (corn-cob)

Streptokoki in aktinomicete izkoriščajo kisik in zmanjšujejo potencial redoks, kar v kronični fazi bolezni omogoča razmnoževanje gramnegativnih anaerobnih kokov (*Veillonella sp.*) in tudi bacilov (*Porphyromonas sp.*, *Prevotella sp.*).

## Po Gramu pozitivne okrogle bakterije

### Streptokoki



Slika 5: Kultura bakterije *S. pyogenes* na krvnem agarju

Streptokoki so fakultativno anaerobne grampozitivne bakterije v verižicah, ki jih po Bergeyevi klasifikaciji uvrščamo v družino *Streptococcaceae*, kamor spadajo kot rod *Streptococcus*. K piogenim streptokokom prištevamo *Streptococcus pyogenes* ali  $\beta$ -hemolitični streptokok serološke skupine A (slika 5), *Streptococcus equi* (skupina C), *Streptococcus dysgalactiae* (skupina C in G).

Posebej se uvršča *Streptococcus agalactiae* (skupina B), ki ga ne prištevajo k piogenim streptokokom.

Med ustne streptokoke štejemo *Streptococcus salivarius* in *Streptococcus mutans*, ki so jih nekateri imenovali tudi *Streptococcus paraviridans*, ker ne povzročajo vedno  $\alpha$ -hemolize.

Drugi ustni streptokoki so vključeni v skupino *Streptococcus oralis*, ki zajema bakterije *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*, *S. crista*, *S. mitis* ter *S. anginosus* (*milleri*). Tej skupni je najbližji *Streptococcus pneumoniae*. Z DNK-RNK hibridizacijo je uspelo dokazati, da ima *S. oralis* drugačno celično steno od ostalih streptokokov. Njegova celična stena vsebuje namreč ribitol in holin, kar je podobno kot pri *S. pneumoniae*.

Na osnovi fenotipskih lastnosti je ustne streptokoke še vedno težko identificirati, čeprav so genotipsko dokazljivi kot posebne vrste (tabela 6).

Tabela 6: Klasifikacija najpomembnejših streptokokov v ustih

Piogeni streptokoki	<i>S. pyogenes</i> (skupina A, A-različica)	
	<i>S. equi</i> subsp. <i>equi</i> (skupina C)	
	<i>S. equi</i> subsp. <i>zooepidermicus</i> (skupina C)	
	<i>S. dysgalactiae</i> (skupina C, G, L)	
	<i>S. canis</i> (skupina C)	
	<i>S. iniae</i>	
Ustni streptokoki	<i>S. salivarius</i>	
	<i>S. sanguis</i>	
	<i>S. gordonii</i>	
	<i>S. crista</i>	
	<i>S. oralis</i>	
	<i>S. pneumoniae</i> ( <i>S. mitis</i> )	<i>S. oralis</i> – skupina
	<i>S. anginosus</i>	
	<i>S. constellatus</i>	
	<i>S. intermedius</i>	
	<i>S. mutans</i>	
	<i>S. rattus</i>	
	<i>S. cricetus</i>	<i>S. mutans</i> – skupina
	<i>S. sobrinus</i>	
	<i>S. ferus</i>	
	<i>S. macacae</i>	

**Ustni streptokoki** so torej po Gramu pozitivni koki v verižicah, negibljivi, nesporogeni, glede presnove fakultativni anaerobi. Za rast in pridobivanje energije izkoriščajo ogljikove hidrate, predvsem saharozo, oziroma glukozo in laktozo, iz katerih tvorijo mlečno kislino. Predstavljajo najštevilnejšo skupino bakterij v ustih. Uvrščali so jih pod skupno ime viridans (zeleneči) zaradi  $\alpha$ -hemolize, ki jo sproži večina predstavnikov. Znani predstavniki ustnih streptokokov so *S. salivarius*,

*S. mitis*, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. gordonii*. Identificirajo jih največ na osnovi morfoloških in fizioloških lastnosti ter ugotavljanja biotipa (tabela 6). V ta namen se zdaj uporabljajo komercialni pripravki za polavtomatsko ali avtomatsko identifikacijo.

Za hitro identifikacijo uporabljajo tudi agar *mitis-salivarius*, ki razen osnovnih hranljivih sestavin vsebuje tripsko modrilo, kristalnovijolično in telurit ter 5 % saharoze. Streptokoki, ki izkoriščajo saharozo, rastejo na tem agarju v sluznih kolonijah modre barve.

Ustni streptokoki prevladujejo v normalni ustni flori in predstavljajo vsaj 80 % od vseh obstoječih bakterijskih vrst, ki jih najdemo v zdravi ustni votlini.

Tabela 7: Fiziološke lastnosti ustnih streptokokov

Vrsta	hemoliza	laktoza	manit	sorbit	inulin	arginin	eskulin	acetoin
<i>S sanguis</i>	$\alpha$	+	-	r	+	+	r	-
<i>S gordonii</i>	$\alpha$	+	-	-	+	+	+	-
<i>S crista</i>	$\alpha$	r	-	-	-	r	-	-
<i>S oralis</i>	$\alpha$	+	-	-	-	-	-	-
<i>S mitis</i>	$\alpha$	r	-	-	r	r	-	-
<i>S salivarius</i>	$\gamma, \alpha, \beta$	r	-	-	r	-	+	r
<i>S intermedius</i>	$\alpha, \gamma$	+	-	-	-	+	r	+
<i>S mutans</i>	$\alpha, \gamma, \beta$	+	+	+	+	-	+	+
<i>S sobrinus</i>	$\alpha, \gamma$	+	+	r	-	-	r	+

+ = izkorišča, - = ne izkorišča, r = različno  $\alpha$  = alfa hemoliza,  $\beta$  = beta hemoliza,  $\gamma$  = brez hemolize

#### *Streptococcus mutans*



Slika 6: Kolonije bakterije *S. mutans* na krvnem agarju



Če je v zobni oblogi  $10^{11}$ /g streptokokov, predstavlja *S. mutans* 30–60 % od te količine. *S. mutans* izkorišča saharozo in raste hitreje kot druge bakterije v ustih (*S. sanguis*, *S. mitis*, *Actinomyces sp.*). Za rast in presnovo izkorišča ogljikove hidrate in tvori veliko količino kislin, predvsem mlečne (pH 5,5–4,0). Streptokoki *mutans* izkoriščajo ogljikove hidrate kot vir energije, prebitek pa shranjujejo v glikogenskih zrnih v citoplazmi.

Ime *mutans* je dal temu streptokoku Clark (1920), ker se je bakterija mikroskopsko spreminjala iz koka v bacilarno obliko.

Streptokoki skupine *mutans* so tudi v zdravih ustih, vendar v količini, manjši kot 1 %. Streptokoki *mutans* so fakultativno anaerobni grampozitivni koki v verižicah, ki fermentirajo manitol in sorbitol, rastejo ob prisotnosti bacitracina in sulfadimidina. Na tekočem gojišču s saharozo vidimo makroskopsko sluzno maso iz polisaharida glukana. Kolonije *mutansa*, ki so značilno sluzne, lepo vidimo na agarju s 5 % saharozo (slika 7).



Slika 7: Značilne kolonije bakterije *S. mutans* na saharoznem agarju

Naravno prebivališče streptokokov skupine *mutans* je ustna votlina človeka in nekaterih živali. Glavna ekološka niša so površine zob z zobnimi oblogami. Tudi če naneseemo *mutans* na ustno sluznico, se ne naseli. Pač pa ga lahko naneseemo na drug zob, če ga drgnemo z zobno nitko, ki vsebuje *S. mutans*, več dni zaporedoma. Najpogosteje se naseli v skritih jamicah in v fisurah žvečnih površin zoba ter v bližini roba dlesni, kjer se tudi zobna gniloba največkrat začne. V okolju zoba se širi počasi in le per continuitatem. Pri visoki stopnji zobne gnilobe ga lahko dokažemo v slini v količini več kot  $5 \times 10^3$ /cm<sup>3</sup>. Ne le z zob-

no nitko, tudi z zobozdravniškim svedrom prenesemo *S. mutans* z bolnega na zdravi zob.

Bakterije *S. mutans* izkoriščajo vse ogljikove hidrate, ki so v človekovi hrani. Nekateri sevi izkoriščajo tudi manitol in sorbitol. Večina saharoze se prenese v celico preko fosfotransferaznega sistema, ki saharozo fosforilira v fosfoenolpiruvat. Pri vstopu v celico to molekulo cepi encim invertaza. Nato se glukoza vklopi v glikolizno presnovno pot. Kot homofermentativna bakterija *S. mutans* tvori v presnovi pretežno mlečno kislino, izjemoma formiat, acetat ali etanol. Prebitek sladkorja shrani v znotrajcelični glikogen.

Na osnovi fizioloških, antigenskih in genetskih lastnosti so razdelili *S. mutans* v *subspecies mutans, sobrinus, rattus, ferus, cricetus in macacae*. Pri človeku se pojavlja *S. mutans* in *S. sobrinus* (slika 8).



Slika 8: Kolonije bakterije *S. sobrinus* na krvnem agarju

*S. mutans* delimo na osnovi izkoriščanja sorbita, rafinoze in eskulina v VII biotipov (tabela 8)

Tabela 8: Biotipi bakterije *Streptococcus mutans*

Snov	Biotipi						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
sorbit	+	+	+	+	-	-	-
rafinoza	+	+	-	-	+	-	-
eskulin	+	-	+	-	+	+	-

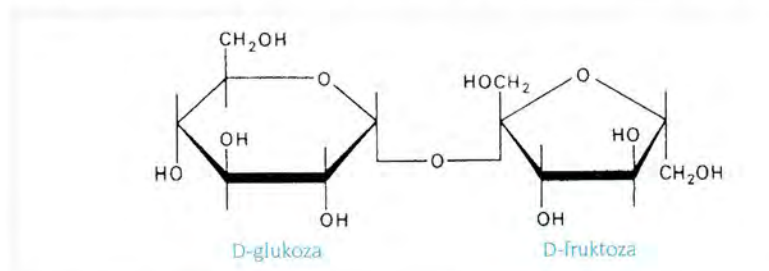
+ = izkorišča; - = ne izkorišča

Na osnovi antigenske zgradbe so določili več serotipov: a, b, c, d, e, f, g, h, od katerih je tip c napogostejši pri zobni gnilobi (68%) in predstavlja 90% vseh izolatov. Serotipe c, e, f imenujejo *S. mutans*, serotipe d, g, h pa *S. sobrinus*.

*S. mutans* izloča encima glukozil- in fruktozil-transferazo (tabela 9 in shema 5) ter tvori polisaharidne polimere, ki so namenjeni za pripljanje na zob, pa tudi kot vir hrane in energije.

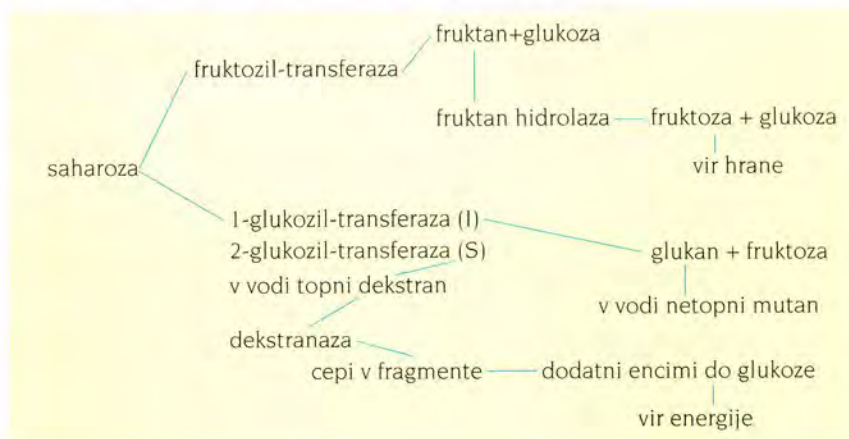
Primerjali so sposobnost adsorpcije bakterije *S. mutans* in *S. sobrinus* na hidroksiapatitne kroglice z eksperimentalnimi oblogami, nastalimi s slino, ki je vsebovala glukozil-transferazo in s slino, ki ni vsebovala glukozil-transferaze. *S. mutans* se je adsorbiral v večjem številu na hidroksiapatit obdelan s samo slino. Obloge na hidroksiapatitu, ki so jih tvorile visokomolekularne frakcije mucina submandibularne sline, so pospeševale adsorpcijo *S. mutans*, ne pa *S. sobrinus*, čeprav sta obe vrsti imeli na celico vezano glukozil-transferazo.

Menijo, da se *S. mutans* lahko prilepi na zob z adhezini, ki se vežejo s sestavinami mucina iz sline, *S. sobrinus* pa se veže na zob pre-



Shema 4: Zgradba saharoze

Tabela 9: Encimatska razgradnja glukoze (*S. mutans*)



ko topnega glukana (dekstrana), ki ga sintetizira glukozil-transferaza S (soluble). Iz topnega pa glukozil-transferaza I (insoluble) sintetizira netopni glukan (mutan). *S. mutans* se tako prileplja na zob tudi brez saharoze, *S. sobrinus* pa za to potrebuje saharozo.

Površinski beljakovinski antigen *S. mutans* (I/II) je zelo pomemben pri prilepljanju mutansa za zob.

Glukozil-transferaza-I tvori  $\alpha$ -1,3, glukan, glukozil-transferaza-S pa  $\alpha$ -1,6 glukan, ki se strukturno razlikujeta.

#### *Streptococcus sanguis*



Slika 9: Kolonije bakterije *S. sanguis* na krvnem agarju

Je ustni streptokok, ki se prvi naseli v zgodnji fazi tvorbe zobne obloge. Gre navadno za  $\alpha$ -hemolitične streptokoke (slika 9), ki hidrolizirajo eskulin in arginin, ne izkoriščajo pa manitola in sorbitola. *S. sanguis* sintetizira encima glukozil- in fruktozil-transferazo ter vodotopni in nevodotopni glukan. Na površini ima fimbrije, ki tudi sodelujejo pri vezanju za zobno površino. Izloča IgA proteazo, ki razkraja imunoglobuline IgA1. Lahko povzroča endokarditis. Je najpogostejša bakterija, osamljena pri infektivnem subakutnem endokarditisu, ker se lahko prileplja za trombom podobne trombocitno fibrinske vegetacije na srčnem endoteliju.

#### *Streptococcus gordonii*

Prebiva v ustih na orofaringealni sluznici in v supragingivalni oblogi ter je povezan z zobno gnilobo. Prej so ga prištevali k bakteriji *S. sanguis*. Izloča zunajcelični glukan in se povezuje z ostalimi bakterijami v zobni oblogi.

Pri ljudeh zelo pogosto povzroča endokarditis. Ima sposobnost prilepljanja na glikoproteinske receptorje v slini, na laminin in fibronektin.

Zanj je značilna 145 kDa beljakovina celične stene, ki vsebuje kolagenu podobno determinanto. Menijo, da ta sodeluje pri vezanju na okvarjene srčne zaklopke.

#### *Streptococcus crista*

Bakterija *Streptococcus crista* omenjajo kot ustni streptokok skupine viridans, ki bi bil pogosteje povezan s tvorbo v obliki storža, to pa so do sedaj povezovali z bakterijo *S. sanguis* in z aktinomicetami. Ugotovili so, da je osrednji del, na katerega se vežejo ti koki lahko tudi *Corynebacterium matruchotii* in *Fusobacterium nucleatum*.

#### *Streptococcus salivarius*

Prebiva v ustni votlini, na sluznici, na jeziku, v slini, kjer ga je največ. Tudi lahko povzroči endokarditis. Ne prileplja se na trdna zobna tkiva. Na krvnem agarju ponavadi ne dela hemolize.

Kolonije na agarju *mitis salivarius* so videti kot gumijeve kapljice zaradi tvorjenja levana iz saharoze. *S. salivarius* namreč izloča encim fruktozil-transferazo, ki razcepi visokoenergetsko glikozidno vez med glukozo in fruktozo v saharozi ter del tako sproščene fruktoze poveže v polimer levan (fruktan).

Vrsta *S. salivarius* je sestavljena iz dveh predstavnikov: *S. salivarius* in *S. vestibularis*.

### **Skupina *Streptococcus milleri***

Te streptokoke najdemo v normalni ustni flori človeka. Včasih povzročajo gnojne infekcije v ustih in drugod. Na osnovi fizioloških in genetskih lastnosti razlikujemo 3 vrste: *S. anginosus*, *S. constellatus* in *S. intermedius*. Na površini imajo skupinske ogljikohidratne antigene, ki jih po Lancefieldovi uvrščamo v skupine: A, C, F, G, L ali T. Posedujejo tudi tipne ogljikohidratne antigene, kar je za skupino *S. milleri* značilno in jih razlikuje od skupine »viridans« ustnih streptokokov. *S. anginosus*, *S. constellatus* in *S. intermedius* imajo a, b, c, d, e, f, g, h, j, k antigene. *S. anginosus* ima največkrat A, C, F in G skupinske ter a, c, f, k tipne antigene.

### **Rod *Enterococcus***

Enterokoki so grampozitivni koki v kratkih verižicah in parih, kokobacilarne oblike, fakultativno anaerobni. Optimalno rastejo pri 35 °C, toda razmnožujejo se tudi pri 10 in 65 °C. Rastejo v bujonu s 6,5 % NaCl

in hidrolizirajo eskulin. So homofermentativni in iz glukoze tvorijo mlečno kislino. Poznamo več vrst enterokokov. Pri človeku osamimo najpogosteje *E. faecalis* in *E. faecium*, ki sta lahko prisotna v majhni količini na sluznicah ust in prebavil pri zdravih osebah; pri vstopu v tkiva, sterilne votline ali kri nastanejo različna vnetja kot so okužbe sečil, sepsa, abscesi, endokarditis.



Slika 10: Kolonije bakterije *Enterococcus faecalis* na krvnem agarju

### Anaerobni grampozitivni koki

Peptostreptococcus je edini rod, ki vključuje tudi večino prejšnjih vrst iz rodu Peptococcus in povzroča klinične infekcije. Gre za grampozitivne nesporogene koke, ki se pojavljajo v parih, tetradah, skupinah ali verižicah. Živijo na sluznicah ljudi, tudi na gingivi. Osamimo jih iz parodontalnih žepov, pa tudi pri infekcijah vratu in glave, sinusitisu, možganskih abscesih. Najbolj znani so *P. magnus*, *P. asaccharolyticus*, *P. anaerobius*, *P. prevotii* in *P. micros*. Pri parodontitisu se največkrat pojavljata *P. anaerobius* in *P. micros*. *P. micros* razkraja glutation. Ima peptidazno delovanje za vse vrste peptidnih vezi.

## Anaerobni in mikroaerofilni grampozitivni bacili

### Rod *Actinomyces*

Aktinomicete so grampozitivni, nitasti, razvejeni bacili (slika 11) s fermentativno presnovo in anaerobno ali mikroaerofilno rastjo. Pepti-

doglikan je mureinskega tipa, tj. sestavljen iz n-acetilglukozamina in mureinske kisline; vsebuje alanin, lizin, ornitin in glutaminsko kislino ter glukozo, galaktozo, ramnozo in manozo. Lipide sestavljajo enostavne nasičene in nenasičene maščobne kisline.



Slika 11: *Actinomyces* sp., mikroskopski preparat, obarvan po Gramu

Aktinomicete so oportunistične bakterije, ki prebivajo na sluznicah ljudi in živali. (tabela 10)

Tabela 10: Nekatere vrste aktinomicet, ki so jih našli pri ljudeh in živalih

Pri ljudeh	Pri živalih	Pri ljudeh in živalih
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Actinomyces bovis</i>	<i>Actinomyces viscosus</i>
<i>Actinomyces israelii</i>		
<i>Actinomyces naeslundii</i>		
<i>Actinomyces odontolyticus</i>		

Najdemo jih v ustni votlini in v slini zdravih ljudi, pa tudi v zobnih oblogah in v parodontalnih žepih. *Actinomyces naeslundii* (slika 12) naseljuje predvsem kripte nebnic in področja, kjer se je razvil zobni kamen. Je fakultativni anaerob difterimorfne oblike, ki tvori v tekočih gojiščih kosmičaste usedline. Pojavlja se pri kariogenih spremembah na zobeh, pa tudi pri parodontalnih boleznih.



Slika 12: Kolonije bakterije *Actinomyces naeslundii* na anaerobnem krvnem agarju

*Actinomyces odontolyticus* se tudi normalno pojavlja v ustni votlini. Če je udeležen pri zobni gnilobi, povzroča globoke poškodbe trdnih zobnih tkiv. Na krvnem agarju tvori  $\alpha$ -hemolizo, podobno kot nekateri streptokoki.

*Actinomyces viscosus* se lahko naseli v zdravih ustih ali pa v zobnem kamnu in v zobni oblogi. Prilepi se na salivarno oblogo na zobeh s fimbrijami tipa I (slika 13).



Slika 13: Kolonije bakterije *Actinomyces viscosus* na anaerobnem krvnem agarju

*Actinomyces israelii* živi na ustni sluznici in v nebnicah. Povzroča aktinomikozo, cervikofacialno, torakalno ali abdominalno. Gre za kronično granulomatozno bolezen. Granulomi se gnojijo in fistulirajo. Gnojni izloček vsebuje belorumena zrnca – granule.



### Rod *Lactobacillus*

Laktobacili so nesporogeni po Gramu pozitivni bacili (slika 14), fakultativno anaerobni ali aerobni; najdemo jih na površini jezika, na trdem nebu, drugod v ustni votlini, tudi v zobnem kamnu in zobnih oblogah. Nimajo afinitete za zobne površine in jih je tam na zdravih zobeh manj kot 0,01 %. Če se razvije zobna gniloba, se naselijo v 0–85 % skupne količine bakterij. Njihova naselitev je drugotna, ker pa lahko tvorijo kisline, še dodatno znižujejo pH. V slini jih najdemo v količini 0–10<sup>5</sup>/cm<sup>3</sup>.

Laktobacili prebivajo tudi v nožnici in v prebavilih. Fermentirajo ogljikove hidrate, vendar so heterofermentativni. Tvorijo več očetne kisline, etanola in CO<sub>2</sub> kot pa mlečne kisline. Za osamitev iz zobnih oblog so potrebna selektivna gojišča. Na določanju števila laktobacilov temelji Snyderjev test zobne gnilobe: zvečanje ali zmanjšanje števila laktobacilov v slini kaže na karies ali zmanjšanje kariesa, posredno pa tudi na način prehrane pacienta.

Laktobacili zavirajo rast stafilokokov, psevdomonasa, salmonel, ešerihij in drugih bakterij, kar je pomembno za ravnotežje bakterij na zdravi sluznici. Najpogostejše vrste laktobacilov, osamljenih iz ust, so: *L. acidophilus*, *L. casei* in *L. fermentum*.



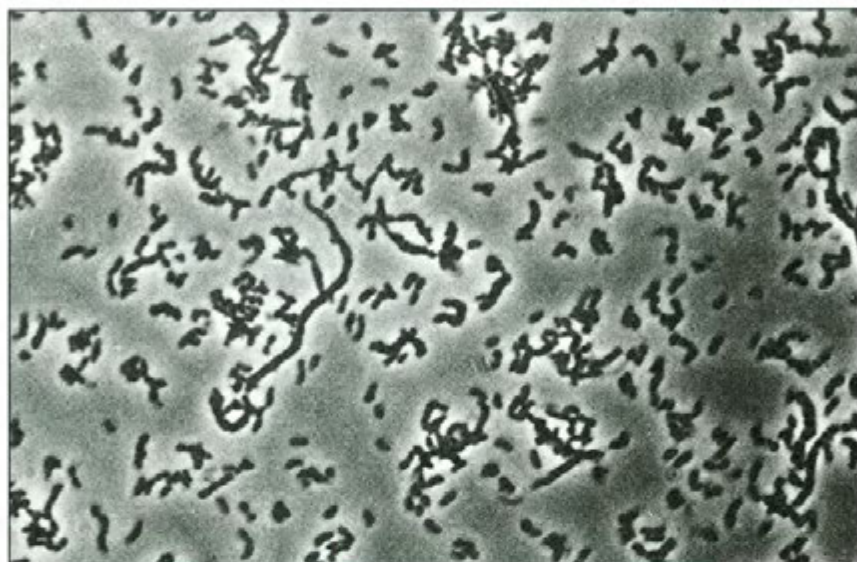
Slika 14: *Lactobacillus* sp. – mikroskopski videz – razmaz, obarvan po Gramu

### Rod *Propionibacterium*

*Arachnia propionica* ali *Propionibacterium propionicum* so grampozitivne, kolinebakterijam podobne, razvejane bakterije, negibljive, fakultativno anaerobne ali aerobne. Pri presnovi tvorijo CO<sub>2</sub>, očetno in propion-

sko kislino. Na agarju so kolonije videti kot molarji ali krušne drobtine. Živi normalno v ustni votlini. Najdemo jo v zobnih oblogah. Povzroča endogene oportunistične infekcije v ustih ter splošne infekcije z bakteriemijo in oddaljenimi abscesi.

*Propionibacterium acnes* so grampozitivne, negibljive, korineformne bakterije, ki fermentirajo očetno in propionsko kislino in tvorijo na agar-



Slika 15: Mikroskopski videz bakterije *A. propionica*

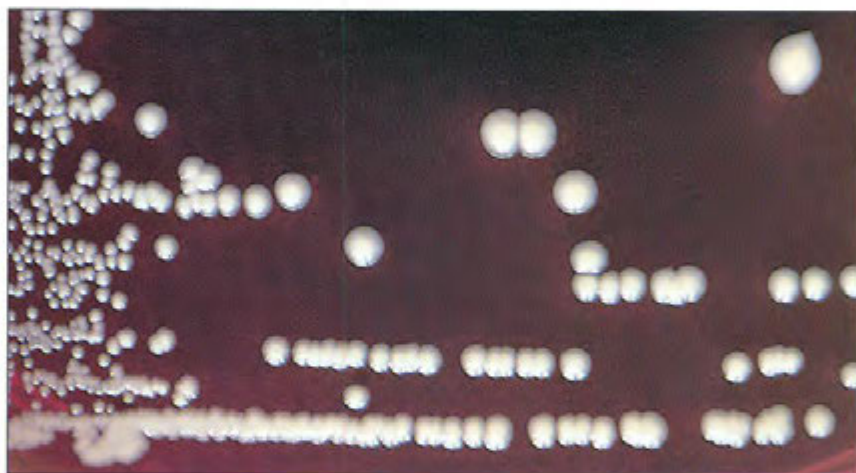


Slika 16: Kolonije bakterije *Propionibacterium acnes* na anaerobnem agarju

ju bele (slika 16) ali rumeno oranžne kolonije. So aerotolerantne do anaerobne. Imajo katalazo, ribonukleazo, nevraminidazo, hialuronidazo, lecitinazo in lipazo. Najdemo jih na koži, v aknah, na ranah, v abscesih mehkega tkiva. Pogosto kontaminira anaerobne kulture, ker pride s kože, zlasti čela oseb, ki precepljajo kulture.

### ***Corynebacterium (Bacterionema) matruchotii***

Gre za pleomorfne, anaerobne do aerotolerantne paličaste bakterije z značilno obliko biča. Vidimo debelejšo paličko, ki se nadaljuje v filament. Kolonije so gladke (slika 17) ali hrapave. Najdemo jo v mehki zobni oblogi in zobnem kamnu.



Slika 17: Kolonije bakterije *Corynebacterium matruchotii* na krvnem agarju

### **Bakterije rodu *Eubacterium***

Gre za paličaste, obligatno anaerobne, negibljive, nesporogene, grampozitivne kratke bacile, ki se pojavljajo posamič, v parih ali v verižicah. Kolonije so drobne, prozorne, konveksne, okrogle in šele v 14 dneh dosežejo velikost 1 mm.

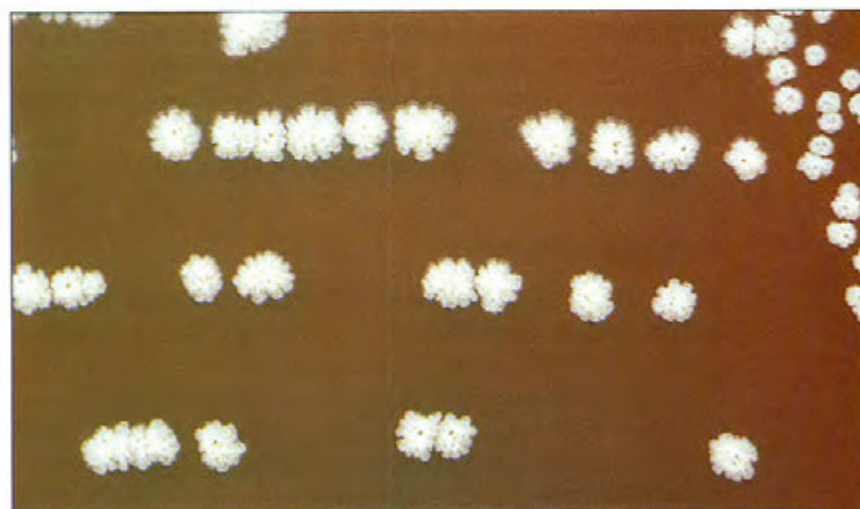
V parodontalnih žepih so našli predvsem *Eubacterium saphenus*, ki je nefermentativen in je v večini biokemičnih testov, ki jih uporabljamo pri identifikaciji, inaktiven.

### ***Rothia dentocariosa***

Mikroskopsko vidimo kokoidne, difteroidne in filamentozne grampozitivne bakterije (slika 18), ki tvorijo na agarju rumenkaste gladke ali poz-



Slika 18: Mikroskopski videz bakterije *R. dentocariosa*



Slika 19: Kolonije bakterije *R. dentocariosa* po 48 urah aerobne rasti na krvnem agarju

neje hrapave kolonije, podobne drobtinam (slika 19). So fakultativno anaerobne bakterije, oportunistične. Najdemo jih normalno v ustih in slini. Osamili so jih tudi iz supragingivalnih oblog, pa tudi iz subgingivalnih pri parodontalni bolezni. Znani so tudi primeri endokarditisa in možganskega abscesa.

## Anaerobni gramnegativni koki in bacili

### Rod *Veillonella*

Sem sodijo gramnegativni anaerobni diplokokki, morfološko podobni najserijam. Najdemo jih v zobni oblogi, ker lahko izkoriščajo kislino za svojo presnovo in so pravzaprav protikariogeni.

Zanimivo je, da ne fermentirajo sladkorjev niti glukoze, izkoriščajo nitrat, rastejo dobro anaerobno, če je prisoten laktat, fumarat, piruvat ali maleat. Imajo namreč metilmalonil koencim A-dekarboksilazo, ki katalizira pomembno reakcijo v fermentaciji laktata. Ne prilepljajo se za zobne površine, pa tudi ne za sluznico, pač pa na ustne bakterije, ki kolonizirajo eno od teh površin. Razmnoževanje jim omogočajo streptokoki in aktinomicete s stvarjanjem mlečne kisline.

Te bakterije živijo na zdravi ustni sluznici človeka in živali. Največ jih je v slini in na jeziku (*Veillonella atypica* in *dispar*). V zobnih oblogah se pojavlja *Veillonella parvula*. Neposredna patogenost za zobe in zobno tkivo ni dokazana. Razmnožijo se zaradi spremenjenih ekoloških razmer. Razen na streptokoke in aktinomicete se lahko prilepljajo tudi na fuzobakterije. Zlepljanje nastane na osnovi povezave med lektinu podobno beljakovino na eni bakterijski vrsti (*Veillonella*) in ogljikohidratnim receptorjem na drugi bakterijski vrsti.

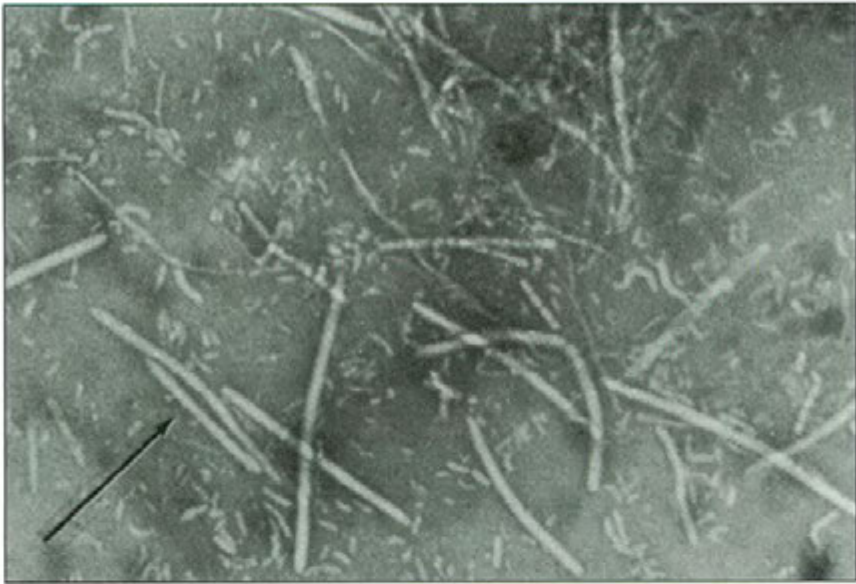
Njihova prisotnost v zobni oblogi je dobro znamenje, ker zmanjšujejo kislost mlečne kisline. Izjemoma povzročajo tudi bolezni, kot so endokarditis, sinuzitis, pelvične in abdominalne infekcije in drugo.

### Rod *Leptotrichia*

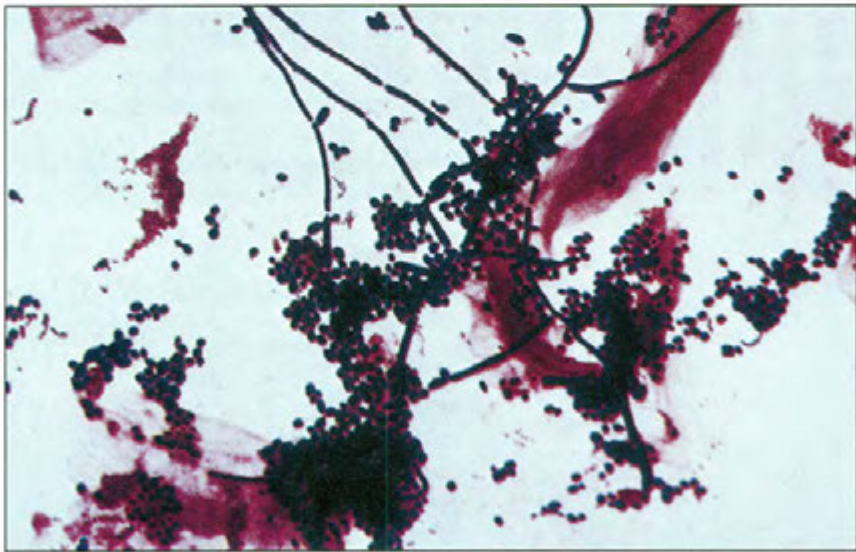
Vrsta *Leptotrichia buccalis* prebiva v ustni votlini človeka, na ustni sluznici, na jeziku, pa tudi v zobnih oblogah. Gre za gramnegativne vretenaste ali nitaste (slika 20), dolge bakterije (5–15  $\mu\text{m}$ ), ki rastejo anaerobno ali mikroaerofilno. So saharolitične in tvorijo iz saharoze pri fermentaciji mlečno kislino ter tako znižujejo pH na 5. Na krvnem agarju rastejo po 2 dneh v gladkih, svetlečih kolonijah, ki imajo nitast rob in so podobne glavi meduze ali so pozneje videti kot človeški možgani. V celični steni imajo lipopolisaharid, ki je podoben endotoksinu.

### Glive rodu *Candida*

*Candida* sp., največkrat vrsta *albicans* (slika 21), je del normalne flore ust, kjer je je majhen odstotek. Pri nekaterih boleznih ali pri zmanjšanem imunskem odzivu bolnikov se njihovo število poveča. Ustna kandidoza je pogosta pri hiposalivaciji, sladkorni bolezni, daljšem zdrav-



Slika 20: Mikroskopski videz nitaste oblike *Leptotrichia* sp. v temnem polju



Slika 21: *Candida albicans* – blastospore in hife mikroskopski razmaz, obarvan po Gramu

ljenju z antibiotiki in imunosupresivnimi zdravili, pa tudi pri neprimer-  
ni ustni higieni. Ugotovili so, da se pogosto zlepljajo kandidate in ak-  
tinomicete preko vezalne beljakovine na kvasovki ter kandidate in oli-  
gosaharidi na bakterijski površini.

### **Literatura**

- Banič S. Repetitorij mikrobiologije za študente stomatologije. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1981; 246–254.
- Christersson LA, Zambon JJ, Genco RJ. Dental bacterial plaques. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 441–6.
- Frandsen EVG, Pedrazzoli V, Kilian M. Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. *Oral Microbiol Immunol* 1991; 6: 129–33.
- Gilbert JV, Plaut AG, Wright A. Analysis of the Immunoglobulin A Protease Gene of *Streptococcus sanguis*. *Inf Immun* 1991; 59: 7–17.
- Hanad N, Yamashita Y, Shibata Y, Sato S, Katayama T, Takehara T, Inoue M. Cloning of a *Streptococcus sobrinus* gtf gene that encodes a glucosyltransferase which produces a high-molecular-weight water soluble glucan. *Inf Immun* 1991; 59: 3434–8.
- Kolenbrander P, Andersen RN, Moore LVH. Intrageneric coaggregation among strains of human oral bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56: 3890–94.
- Lamont JR, Rosan B. Adherence of mutans streptococci to other oral bacteria. *Inf Immun* 1990; 58: 1738–43.
- McCabe MM, Alberts M, Stein J. Monoclonal antibodies to the extracellular glucosyltransferases from *Streptococcus sobrinus* 6715. *Inf Immun* 1987; 55: 1900–5.
- Ota F, Kiso M, Akiyama Y, Satomi Y, Yasuoka M, Fukui K. Serological typing of reference strains and clinical isolates of streptococcus mutans by agglutination reactions and / or radioimmunoassay. *Zbl Bakt* 1987; A 265: 330–9.
- Schleifer KH, Kilpper-Baelz. Molecular and Chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. *System Appl Microbiol* 1987; 10: 1–19.
- Yeung MK. Conservation of an *Actinomyces viscosus* T14V Type 1 fimbrial subunit homologue among divergent groups of *Actinomyces* sp.

## BAKTERIJE, KI SODELUJEJO PRI BOLEZNIH OBZOBNIH TKIV (parodontalne bolezni)

Parodontalne bolezni so vnetja obzobnih tkiv, ki so jih poznali že v predzgodovinskem času. Gre za kronična, počasi napredujoča vnetja, ki se najprej kažejo kot začetni gingivitis – vnet je obrobni del dlesni ob zobu, ki preide v kronični gingivitis z vnetjem dlesni zaradi dolgotrajnih zobnih oblog in zobnega kamna v predelu gingivalnega sulkusa. Proces lahko napreduje v apikalni smeri. Razvije se kronični parodontitis, ki zajema poleg dlesni še periodoncij, cement in kost pri pacientih vseh starostnih obdobjih odraslih oseb.

Postopoma se izgubi kostna podpora zoba in nastanejo lahko tudi globoki gnojni alveolarni žepi. Da propadejo vsi zobje traja včasih 20 ali več let. Težke okvare obzobnih tkiv nastanejo pri progresivnem parodontitisu med 20. in 30. letom starosti.

Lokalizirani ali generalizirani juvenilni parodontitis ni povezan z zobno gnilobo. Prizadene alveolarno kost pri sekalcih in kočnikih z vertikalno resorpcijo kostnega nastavka ter se pojavlja pri otrocih (10 let) z določeno dedno osnovo.

### Bakterije, ki kolonizirajo parodontalne žepe in sodelujejo pri parodontalnih vnetjih

Za kolonizacijo subgingivalnih področij mora biti bakterija sposobna adherence za rapoložljive površine zobne korenine. Tam se mora razmnoževati in zaščititi od drugih bakterij, ki se lahko naselijo tudi na istem prostoru. Upirati se mora imunskim mehanizmom človeka-gostitelja.

Ugotovili so, da imajo parodontopatogene bakterije različne adhezine, s katerimi se vežejo na posamezne celice. *Porphyromonas gingivalis* se na primer s fimbrijami veže za epitelne celice, s 40 KDa beljakovino za eritrocite, prileplja pa se tudi za laminin, fibronektin in kolagen. Pomembno vlogo ima medsebojno zlepljanje ali koagregacija parodontalnih bakterij, ki nastane na primer med bakterijama *Porphyromonas gingivalis* in *Fusobacterium nucleatum*.



Tabela 11: Stopenjski razvoj okvare zob in obzobnih tkiv

Stopnja okvare	Povzročitelji
Zobne obloge	Streptokoki ( <i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. sobrinus</i> ) Anaerobni streptokoki
Zobne obloge in zobna gniloba	Streptokoki ( <i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. sobrinus</i> ) Anaerobni streptokoki Laktobacili <i>Actinomyces ondolyticus</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>A. naeslundii</i>
Zobna gniloba in zobne razjede	Laktobacili <i>Actinomyces ondolyticus</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>A. naeslundii</i> <i>Rothia dentocariosa</i> <i>Bacterionema matruchtii</i> <i>Propionibacterium propionicum</i> <i>Eubacterium sp.</i> <i>Propionibacterium sp.</i>
Obzobna tkiva: gingiva, cement periodontalni ligament	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Eikenella corrodens</i> <i>Capnocytophaga sp.</i> <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
Obzobna tkiva vključno z alveolarno kostjo	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Eikenella corrodens</i> <i>Capnocytophaga sp.</i> <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> <i>Campylobacter sp.</i> <i>Selenomonas sp.</i> <i>Treponema pectinovorum</i> <i>Treponema denticola</i>

Področje gingivalnega sulkusa ima sicer dovolj vlage in nekaterih hranil za razmnoževanje bakterij, čeprav pogosto manjka vitamin K in hemin ter druge snovi pomembne za rast zahtevnih bakterij. Tudi nekateri drugi dejavniki preprečujejo rast mnogim bakterijam; to so: nekoliko nižja temperatura 35 °C ali manj, pH 7,0–8,5 ter izjemne variacije v oksidoredukcijskem potencialu od –300 do +310 mV. Zato v zdravem tkivu najdemo le redke anaerobne bakterije. Medsebojna presnovna podpora posameznih bakterijski vrst omogoča njihovo skupno razmnoževanje v subgingivalni flori.

Proti imunskim mehanizmom gostitelja izločajo bakterije v parodontalnih žepih različne virulencne faktorje, kot so: IgA- in IgG-proteaze (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*), kapsula, ki zavira fagocitozo (*P. gingivalis*), levkotoksin (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*), ki deluje levko- in limfotoksično, sposobnost invazije v epitelijske celice ter drugi. Pri razkrajanju tkiv sodelujejo encimi, kot so kolagenaza (*P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*), proteaze (*P. gingivalis*, *P. intermedia*), fosfolipaza A (*P. gingivalis* in *P. intermedia*) in drugi (tabela 12).

Tabela 12: Pregled nekaterih virulencnih dejavnikov parodontopatogenih bakterij

Endotoksin	Fibrinolizin
Polisaharidna kapsula	Fosfataza
Fimbrilin	Katalaza
Beljakovine zunanje membrane	Superoksid dizmutaza
Kolagenaza	Levkotoksin
Proteaza IgA, IgG	Inhibicija kemotakse
Hialuronidaza	Citotoksin
Fosfolipaza	

Bakterijski antigeni, zlasti lipopolisaharid celične stene, zavirajo rast epitelijskih celic, fibroblastov in endotelnih celic ter vplivajo na makrofage in monocite, da sproščajo citokine kot sta Il-1, TNF in drugi. Seveda pa je sposobnost izražanja virulence bakterij odvisna od imunskega stanja v gostiteljevem subgingivalnem področju ter od splošne imunske sposobnosti gostitelja.

Dokazali so, da so akutne zgodnje oblike parodontitisa pri mladih ljudeh genetičnega izvora in se možnost za nastanek bolezni družinsko podeduje. Menijo, da je kvaliteta polimorfonuklearnih levkocitov in mononuklearnih fagocitov zelo pomembna pri odpornosti proti parodontalni bolezni. Levkociti pri takih bolnikih kažejo pomanjkljivosti v adherenci, kemotaksi in baktericidni sposobnosti. Pogosto je tudi pri bolnikih s povečano količino bakterij *A. actinomycetemcomitans* znižano razmerje CD4+/CD8+ limfocitov T lokalno v tkivu in tudi v periferni krvi. Ugotovili so, da *A. actinomycetemcomitans* izloča imunosupresivni faktor, ki aktivira humane citotoksične celice. Menijo tudi, da naj bi vsaj *P. gingivalis* in *A. actinomycetemcomitans* izločala superantigene, ki verjetno neposredno vplivajo na povečano število celic T v bolezensko spremenjenem parodonciju. Zaradi velikega števila od predstavitvenih celic neodvisnih, aktiviranih limfocitov T naj bi prišlo do naglega izločanja velikih količin citokinov ter zaradi neusklajenega delovanja med posameznimi citokini do okvar v normalni imunoregulaciji.

Tudi bolniki, ki imajo okvarjeno delovanje fagocitov zaradi kake osnovne bolezni (nevtropenija, agranulocitoza, AIDS), kažejo pogostejše nagnjenje k parodontalnim boleznim.

Parodontalno vnetje je oportunistična bolezen, pri kateri so nekatere parodontopatogene bakterije skoraj patognomonične. Če pri gingivitisu prevladujejo bakterije supragingivalne obloge, posebej aktinomicete, pa je pri parodontitisu v ospredju *Porphyromonas gingivalis* ter *Prevotella intermedia* in pozneje treponeme. Pri refraktarnem parodontitisu se pojavlja tudi *Bacteroides forsythus* in *Campylobacter rectus*. Za akutni juvenilni progresivni parodontitis je značilna povečana količina bakterij *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, pa tudi *Capnocytophaga sp.* Pri akutnem nekrotičnem gingivostomatitisu je gotovo mnogo fuzobakterij in treponem ter bakterij *Prevotella intermedia*.

Tabela 13: Pregled najpogostejših bakterij pri parodontalnih vnetjih

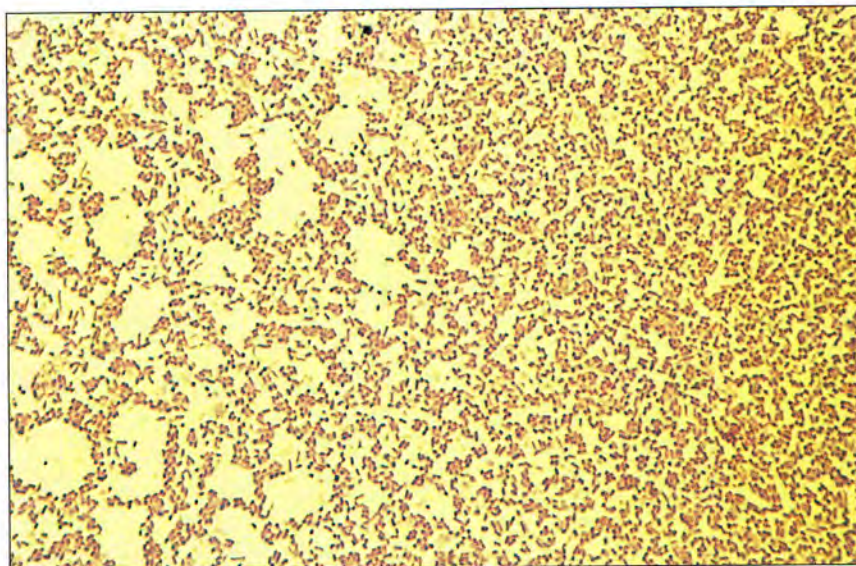
Kronični parodontitis pri odraslih <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium sp.</i> , <i>Eubacterium sp.</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>T. pectinovorum</i> , <i>Eikenella corrodens</i>
Progresivni parodontitis pri odraslih <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
Refraktarni parodontitis pri odraslih <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium sp.</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Bacteroides forsythus</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
Progresivni juvenilni parodontitis <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Capnocytophaga sp.</i>
Akutni nekrotični gingivostomatitis <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Fusobacterium sp.</i> , <i>Treponema sp.</i>

## Anaerobne gramnegativne parodontopatogene bakterije

Anaerobne gramnegativne nesporogene bakterije so del normalne flore v ustih. Naseljujejo obzobne žepe, kjer se zelo razmnožijo zaradi za njihovo rast ugodnih razmer, ki nastanejo, ker bakterije zob-

ne obloge izkoristijo prisoten kisik in se zniža oksido-redukcijski potencial. Nekatere vrste izkoriščajo sladkorje za presnovo – so saharolitične, druge pa te sposobnosti nimajo (asaharolitične).

Mnoge anaerobne vrste so sposobne tvoriti melaninu podoben rjav pigment, ki jih značilno razlikuje med seboj in od drugih podobnih bakterij. Za zdaj razlikujemo tri rodove teh bakterij: asaharolitični pigmentirani rod *Porphyromonas*, saharolitični pigmentirani in nepigmentirani rod *Prevotella* ter asaharolitični nepigmentirani rod *Bacteroides* (slika 22). Fiziološke lastnosti rodov *Porphyromonas* in *Prevotella* so prikazani v tabeli 14.



Slika 22: Mikroskopska slika bakterij rodu *Bacteroides* v razmazu, obarvanem po Gramu (Iz zbirke Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo)

V taksonomiji rodu *Bacteroides* je prišlo do precejšnjih sprememb, saj ta rod sedaj vključuje vrste, ki so jih opisovali kot *Bacteroides fragilis*. Vrste *Bacteroides* naseljujejo predvsem prebavila ljudi in živali, so saharolitične in hidrolizirajo celo vrsto polisaharidov kot so ksilani, glukani, pektin, galaktomanani, arabinogalaktani, mukopolisaharidi, mucin, tudi škrob, sekretorni glikoproteini. Imajo glukoza-6-dehidrogenazo in 6-fosfoglukonat dehidrogenazo, kar govori za presnovno pot preko pentoznega fosfata. Izločajo peptidaze in pridobivajo dušik iz aminokislin z dekarboksilacijo in deaminacijo.

Rodove, ki jih najdemo v ustni votlini, imenujemo *Porphyromonas* in *Prevotella* (prej *Bacteroides*). Za rast potrebujejo vitamin K1 in hemin ter anaerobno okolje. Bakterije rodu *Prevotella* so saharolitične in zni-

Tabela 14: Fiziološke lastnosti rodov *Porphyromonas* in *Prevotella*

Vrsta	Indol	lipaza	katalaza	glukoza	celbioza	laktoza	sah	eskulin	$\alpha$ -glukozidaza	$\alpha$ -galaktozidaza	$\beta$ -galaktozidaza
PA	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
PG	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PE	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PI	+	+	-	+	-	-	±	-	+	-	-
PD	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
PL	-	v	-	+	+	+	+	+	+	+	+
PM	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
PN	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-

PA = *Porphyromonas asaccharolyticus*; PG = *Porphyromonas gingivalis*; PE = *Porphyromonas endodontalis*; PI = *Prevotella intermedia*; PD = *Prevotella denticola*; PL = *Prevotella loeschei*; PM = *Prevotella melaninogenica*; PN = *Prevotella nigrescens*

žujejo pH na 4,5–5,5, rodu *Porphyromonas* pa asaharolitične. Imajo zunajcelične encime dekstranazo, glikozidaze in aminoglikanaze. Nima 6-fosfat-dehidrogenaze in 6-fosfoglukonat-dehidrogenaze. Izločajo peptidaze, saj so glavni vir ogljika in dušika ter energije aminokislina iz dlesenske tekočine in gostiteljevih glikoproteinov.

S parodontitisom so povezane še anaerobne bakterije drugih rodov, zlasti *Fusobacterium sp.*, *Campylobacter rectus* in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (tabela 15).

Tabela 15: Bakterijske vrste povezane z aktivnim parodontitisom

<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Selenomonas sputigena</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>Eubacterium timidum</i>
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Bacteroides forsythus</i>
<i>Fusobacterium alocis</i>	<i>Eubacterium brachy</i>

### Bakterije rodu *Porphyromonas*

Sem sodijo pigmentirani, nesaharolitični, gramnegativni, nesporogeni, obligatno anaerobni drobni bacili in kokobacili, ki so pri rasti v bu-

jonu tudi daljši. Prebivajo normalno v ustni votlini. Ob spremenjenih razmerah lahko povzročajo oportunistične infekcije, ki se kažejo kot parodontalna bolezen – odrasli ali juvenilni parodontitis, refraktarni parodontitis in parodontalni absces.

Kolonije na krvnem agarju so drobne, svetleče, konveksne, gladke ali hrapave, 1–2 mm premera, ki temnije od roba proti sredini praviloma po 4–8 dneh (slika 23).



Slika 23: *Porphyromonas gingivalis* na anaerobnem krvnem agarju – začetno nastajanje melaninu podobnega pigmenta

Zaradi tvorjenja protohema ter majhnih količin protoporfirina lahko počrni vsa kolonija. Včasih se razvije pigment šele po 21 dneh, izjemoma ga ni. Optimalna rast je pri 37 °C.

*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) je po Gramu negativni, nesporogeni, negibljivi, temno pigmentirani (slika 24), asaharolitični kokobacil, ki pri parodontalni boleznini prevladuje v parodontalnih žepih. Pri zdravih osebah ga redko dokažemo ali pa jih je v dlesenskem sulku su le malo. Menijo, da njegova odstranitev iz ust pomeni izboljšanje parodontalne boleznini.

Kolonizacija subgingivalnega področja je začetek infekcije parodontalnih tkiv. *P. gingivalis* se veže na tkivo gostitelja in na že obstoječo mikrobo floro.

Kolonizacijo s *P. gingivalis* spodbuja tudi *S. sanguis*, ki ga najdemo na zobnih površinah. *P. gingivalis* se namreč ne naseljuje na čistih zobnih površinah, pač pa na obloženih z zobno oblogo predvsem s streptokoki *sanguis*, *gordonii* in aktinomicetami. Gre za medsebojno vezanje površin beljakovina-beljakovina ali beljakovina-polisaharid. S fimbrijami se prileplja tudi na bakterije *Actinomyces viscosus* in *A. naeslundii* ter *Streptococcus mitis*, s polisaharidnimi receptorji pa na bakte-



Slika 24: Temnopigmentirane kolonije *P. gingivalis*

rije *F. nucleatum* in *Treponema denticola*. Slina in serum delujeta zaviralno na zlepljanje bakterij *T. denticola* in *Streptococcus crista* ter *Treponema denticola* in *P. gingivalis*, ne pa na *Treponema denticola* in *Bacteroides forsythus*. Uspešna kolonizacija je torej odvisna od različnih interakcij med bakterijami in med bakterijami ter dejavniki v slini in dlesenski tekočini.

*P. gingivalis* ima celo vrsto virulenčnih dejavnikov: lipopolisaharid gramnegativne celične stene, kapsulo, fimbrije, hemaglutinin, hemolizin, kolagenazo, hialuronidazo, nukleazo, fibrinolizin, membransko proteazo, cisteinsko proteazo, faktor, ki aktivira fibroblaste, citotoksični faktor za sluznični epitelij.

Kapsula in endotoksin sodelujeta pri tvorbi abscesov, kar so dokazali na poskusnih živalih. Polisaharidna kapsula omogoča večjo odpornost proti fagocitozi in baktericidnem delovanju seruma.

LPS (endotoksin) bakterije *P. gingivalis* vzpodbuja monocite in makrofage, da izločajo  $\text{TNF-}\alpha$ , interlevkin- $1\beta$  in prostoglandin E2, ki sodelujejo pri vnetju, okvarah dlesenskega tkiva, ligamenta in alveolarne kosti. LPS *P. gingivalis* spodbuja tudi fibroblaste, da izločajo prostaglandin E2 in IL- $1\beta$ . Prostaglandin E2 je lokalni posrednik vnetja, ki povzroča razširitev kapilar, povečano permeabilnost in edem. IL-1 pa povečuje adhezivnost endotela za nevtrofilce, monocite in limfocite ter fibroblaste. Tako se poveča možnost za lokalno razkrajanje tkiva in alveolarne kosti. Ugotovili so tudi, da LPS neposredno in posredno preko IL-1 stimulira izločanje IL-6 iz fibroblastov.

Ugotovili so, da je beljakovina 53 kDa v zunanji membrani *P. gingivalis* (-AgI, ki jo kodira pgagI kromosomni gen) specifični označevalec za infekcijo *P. gingivalis*, ker proti njej pacienti tvorijo IgG protitelesa. Serumska protitelesa IgG se tvorijo tudi proti kapsularnim antigenom, lipopolisaharidu, fimbrijam in tripsinu podobni proteazi.

*P. gingivalis* izloča več znotraj- in zunajceličnih proteaz, ki imajo vlogo pri prehrani bakterije, ki ni saharolitična, pač pa za svojo presnovo izkorišča aminokislino. Za rast potrebni protohem pridobiva iz eritrocitov. Intaktno molekulo hem prenese v svojo celico ter znotraj celice cepi železo iz porfirinskega prstana.

Proteaze razkrajajo IgA in IgG protitelesa ter različne beljakovine v plazmi, ki sodelujejo pri strjevanju krvi in delovanju komplementa. S takim delovanjem zavirajo imunski odziv gostitelja in delujejo lokalno imunosupresivno. Posebej so preučevali cisteinsko proteazo, ki so jo poimenovali gingivain-1 in je podobna tripsinu. Področje njenega delovanja je okvarjanje bazalne membrane, ne pa neposredno epiteljskih celic samih. Najdemo jo tudi v zunajceličnih vezikulah. Tripsinu podobna proteaza se obnaša tudi in vivo kot virulenčni dejavnik in omogoča tvorbo flegmonoznega abscesa na mišjem modelu. Cisteinsko proteazno aktivnost (63 kDa) kodira tpr gen. Ta kodira proteazo, ki razkrajajo želatino. Tripsinu podobne proteaze se imenujejo zato, ker hidrolizirajo sintetične substrate, ki jih uporabljajo za dokazovanje pankreatičnega tripsina. Čeprav je več tipov teh proteaz, vse hidrolizirajo N $\alpha$ -benzoi-DL-arginin p-nitroanilid (BaNA).

Pri prilepljanju *P. gingivalis* na celice in tkiva sodelujejo fimbrije, fibrilarni adhezini, kapsula, lipopolisaharid in zunajcelične vezikule, pa tudi kolagenaza (94 kDa beljakovina, ki je bakterijski adhezin in encim, ki razkrajajo medcelično vezivo) ter hemaglutinin. Vsi ti dejavniki sodelujejo pri vezanju *P. gingivalis* na mehka tkiva, na epiteljske celice, na fibrinogen, na prevleko, ki jo naredi na zobu slina in na grampozitivne in gramnegativne ustne bakterije.

Fimbrije vsebujejo 43 kDa polipeptid fibrilin, ki ga kodirajo kromosomni geni. Omogočajo vezanje na epiteljske celice in na s slino oblepljene zobne površine. Spodbujajo makrofage ter povzročajo izražanje gena za tvorbo interleukina-1- $\alpha$  in - $\beta$ . IL-1 je pomemben kot lokalni regulacijski dejavnik pri resorpciji kosti.

Uničenje in resorpcija kosti nastaneta zaradi neposrednega delovanja bakterijskih sestavin in izločkov in zaradi posrednega delovanja vnetnih makrofagov. Količina IL-1 $\beta$  je povečana v gingivalnem tkivu pri parodontitisu odraslih, ne pa v zdravi dlesni.

Iz vezikul zunanje membrane *P. gingivalis* so osamili tudi 24 kDa beljakovino – faktor, ki aktivira fibroblaste in deluje imunomodulatorno pri razkrajanju tkiva in resorpciji alveolarne kosti.



Posamezne lastnosti, pomembne za virulenco bakterije, kodirajo posebni geni npr. za hemaglutinine geni hag A, hag B, hag C, ki kodirajo beljakovine – hemaglutinine Hag A, HagB in HagC. Fimbrije niso neposredno povezane s hemaglutinacijo pač pa preko beljakovine zunanje membrane OM HA-Ag-2, ki je amorfna masa, prisotna v zunajceličnih izrastkih. Menijo, da sta HagB in C beljakovini identični med seboj in s HA Ag-2 hemaglutininskim adhezinom. Hemaglutinini se predvidoma vežejo na arginilni del beljakovin v eritrocitni membrani.

Pomemben dejavnik v patogenosti *P. gingivalis* je njegova sposobnost, da pridobiva hranila predvsem hemin iz gostiteljevih beljakovin, ki vežejo železo.

Sposobnost *P. gingivalis*, da prodira v tkiva, kar mu omogočajo številni virulenci dejavniki, je izredno pomemben sestavni del njegovega delovanja pri parodontalni bolezni.

Čeprav so identificirali tri različne serotipe a, b, c in tri hemaglutinacijske gene, hem A, hem B in hem C, je za epidemiološke raziskave potrebna še natančnejša tipizacija. Primerna je metoda restriktivne analize DNK z elektroforezo v utripajočem električnem polju. Za razlikovanje virulentnih od nevirulentnih sevov ter za klonalno analizo se je kot hitrejša in enostavnejša pokazala verižna reakcija s polimerazo z izbiro naključnih primerjev.

*Porphyromonas endodontalis* ima podobne lastnosti. Je asaharolitičen in tvori melaninu podoben endopigment. Je gramnegativen, obligatno anaeroben, nesporogen, negibljiv bacil ali kokobacil, ki je v bujonski kulturi izrazito droben. Na krvnem agarju tvori drobne, konveksne svetleče kolonije, ki po 7–14 dneh postanejo temnorjave do črne. Pigment je protohem, vsebuje tudi protoporfirin. Kolonije močno adherirajo na krvni agar. Optimalna temperatura za rast je 37 °C. Pri fermentativni presnovi nastajata maslena in očetna kislino. Hidrolizira želatino, sicer pa je slabo proteolitičen.

Za razliko od bakterije *P. gingivalis* ne tvori N-acetil- $\alpha$ -glukozaminidaze in tripsina. Najdemo ga pretežno pri vnetjih zobne pulpe.

*Porphyromonas asaccharolyticus* je tudi obligatno anaerobni, nesporogeni, negibljivi gramnegativni bacil ali kokobacil, asaharolitičen, pigmentiran. V bujonu so bacili nekoliko daljši. Na krvnem agarju tvori drobne, gladke, svetleče kolonije, ki z roba črnijo v 6–10 dneh. Zaradi tvorbe protohema lahko počrni cela kolonija. Pri presnovi nastaneta predvsem maslena in očetna kislina. Je slabo proteolitičen, čeprav hidrolizira želatino. Tvori indol in  $\alpha$ -fukozidazo, ne pa N-acetil- $\beta$ -glukozaminidaze in tripsina. Prebiva praviloma v ustni votlini podgan.

## Rod *Prevotella*

Bakterijo *Prevotella sp.* so našli pri ustnih in neustnih okužbah. Našli so jo v slini in na jeziku bolnih in zdravih oseb. *Prevotella intermedia* so gramnegativni, negibljivi, nesporogeni, saharolitični, pigmentirani anaerobni bacili. Njihovo naravno področje kolonizacije je gingivalni sulkus, od koder se širijo drugam. Osamili so jih iz globokih parodontalnih žepov napredujočega parodontitisa ter pri akutnem ulceroznem gingivitisu, pa tudi iz periapikalnih vnetij in iz parodontalnih abscesov.

Bakterije *Prevotella* se vežejo na fibronektin, fibrinogen, laminin in kolagen. Imajo dobro razvite fimbrije, ki so beljakovinski antigeni s sposobnostjo hemaglutinacije eritrocitov različnih živalskih vrst. Menijo, da je morda tak hemaglutinin udeležen pri subgingivalni kolonizaciji.

Izločajo virulenčne dejavnike proteazo, lecitinazo, kolagenazo, fosfolipazo in zunajcelični polisaharid. Sevi, ki izločajo polisaharid, lahko povzročajo abscese. Pri vnetju sodeluje tudi lipopolisaharid celične stene. Gre za genotipsko in fenotipsko heterogeno vrsto. Z monoklonskimi protitelesi so ugotovili 3 serološko različne serotipe, A, B in C. Najpogostejša sta v ustni votlini tip A in C. Bakterija je manj virulentna kot *P. gingivalis*, vendar izloča proteaze, ki razkrajajo imunoglobuline, zlasti IgG. Proteaze so v zunanji membrani bakterijske celice.

V dlesenski tekočini najdemo vse tri vrste imunoglobulinov. *P. intermedia* izkorišča tu beljakovine, peptide in aminokislino kot vir ogljika in dušika.

Bakterijo *Prevotella nigrescens* so našli na zdravi gingivi, v gingivalni tekočini pri zdravih osebah ter v endodontskem področju, redko pa tudi iz parodontalnih žepov in pri parodontalnih abscesih. S slino se prenaša iz ustne votline matere na otroka.

*Prevotella loeschei* prav tako kot že omejeni dve bakteriji potrebuje za rast hem iz hemoglobina. Da bi ga pridobila, lizira eritrocite. Izloča tudi proteaze ter ima vsaj dve vrsti adhezinov za prilepljanje na celice in druge ustne bakterije.

Ostali bolj znani vrsti sta še *P. melaninogenica* in *P. denticola*, za kateri za zdaj menijo, da prebivata v ustih pri zdravih osebah in nimata vloge pri parodontopatijah.

### Skupina *Prevotella oralis*

Sem prištevamo saharolitične nepigmentirane anaerobne gramnegativne bacile, kamor sodijo *Prevotella oralis*, *P. veroralis*, *P. buccalis* in *P. oulorum*. Ker pigmentirane kolonije pri bakterijah rodov *Porphyromonas* in

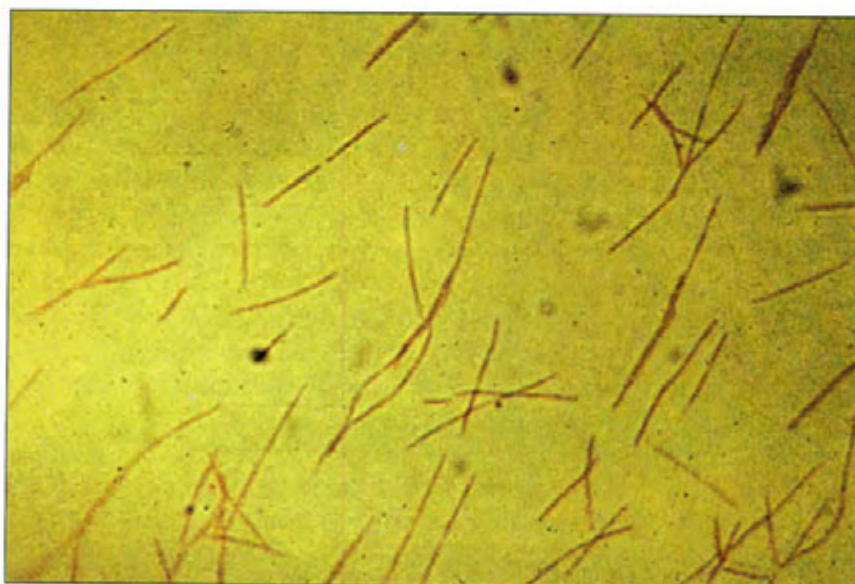
*Prevotella* nastanejo po 2 do 21 dneh, je razlikovanje od bakterije *P. oralis* včasih težavno. Pigmentirane kolonije bakterij *Prevotella* in *Porphyromonas sp.* pod ultravijolično svetlobo fluorescirajo rožnato, oranžno ali opečno rdeče.

Bakterije *P. oralis* povzročajo vnetja v področju periapiksa. Osami-li so jih pri nekrotičnih vnetjih v koreninskih kanalih.

### Rod *Mitsuokella*

To so gramnegativni bacili ali kokobacili, nepigmentirani, saharolitični, nesporogeni, negibljivi, fermentirajo pentoze. *Mitsuokella dentalis* je občutljiva na 20-odstotni žolč, za razliko od bakterije *M. multiacida*, ki je nanj odporna. Na krvnem agarju tvori značilne kolonije v obliki kapljice vode.

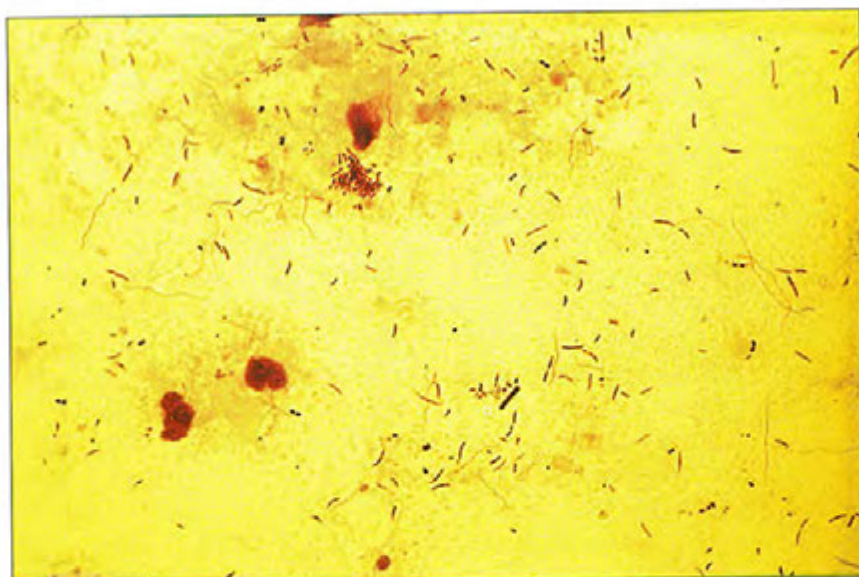
### Rod *Fusobacterium*



Slika 25: Mikroskopski videz bakterije *Fusobacterium nucleatum*

Sem sodijo gramnegativni vretenasti, nesporogeni, negibljivi, obligatno anaerobni bacili, ki jih najdemo v subgingivalni mikroflori in gingivalnem sulkusu tudi pri zdravih osebah, pa tudi na sluzicah prebavil in rodil. Na krvnem agarju rastejo v obliki hrapavih in gladkih kolonij po 2–3 dneh inkubacije pri 37 °C. Njihovo število je povečano pri akutnem ulceroznem in nekrotizirajočem gingivitisu (slika 26) ter de-

struktivnem parodontitisu. Pri presnovi izkoriščajo pretežno peptide za pridobitev energije in za izgradnjo celičnih sestavin. Esencialne aminokisljine, ki jih potrebujejo za razmnoževanje, so serin, histidin in lizin ter glicin. Zlasti to velja za bakterijo *Fusobacterium nucleatum*.



Slika 26: *Fuzobakterije* in *spirohete* na ustni sluznici (Iz zbirke Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo)

Bakterijo *Fusobacterium nucleatum subspecies nucleatum* najdemo v nizkem odstotku v supragingivalnih oblogah pa tudi subgingivalni mikroflori pri zdravih osebah, ker prenaša tudi nižji pH (pH 5). Pogosto ga osamijo pri pulpalnih vnetjih in pri marginalnem in apikalnem parodontitisu. *Fusobacterium nucleatum* so osamili tudi pri anaerobni bakteriemiji, meningitisu, iz abscesov, iz ran, pri abdominalnih in ginekoloških infekcijah.

Bakterija ima sposobnost prilepljanja na eritrocite, epitelne celice, fibroblaste, polimorfonukleare in limfocite. Prileplja se na limfocite in jih aktivira v gingivalnem sulkusu. Ima imunosupresivno delovanje na limfocite T. Ima sposobnost hemaglutinacije človeških in živalskih eritrocitov.

Menijo, da je *F. subspecies nucleatum* povezan z boleznijo, *F. subspecies polymorphum* in *F. fusiforme* pa z zdravim subgingivalnim področjem. Razlikujejo še *subspecies F. vincentii*, ki pa je po lastnostih identična z bakterijo *F. nucleatum*.

*F. nucleatum* je sestavljena iz številnih vrst in podvrst, ki so značilno povezane z lokalizacijo vnetnega procesa, bodisi, da gre za genet-

sko skupino, ki povzroča ustne bolezni, ali pa za drugo gensko skupino, ki se pojavlja v zunajustnih žariščih.

Iz subgingivalne mikroflore pri bolnikih z gingivitisom in parodontitisom so osamili fuzobakterije z imeni *Fusobacterium alocis*, *Fusobacterium sulci* in *Fusobacterium periodonticum*. Zelo virulentna bakterija je *Fusobacterium necrophorum*, ki povzroča faringotonzilitis in peritonzilarni absces. *Fusobacterium necrophorum subspecies necrophorum* tvori lipazo in hemaglutinin. Uvrstili so ga v biotip A. *Fusobacterium necrophorum subspecies funduliforme* so imenovali biotip B, ker ne tvori lipaze in nima hemaglutinina.

Posamezne vrste ali podvrste fuzobakterij se med seboj razlikujejo po sestavi beljakovin in lipidov. V zunanji membrani imajo porine, beljakovine, ki tvorijo kanale, prepustne za tekočine, podobno kot je pri drugih gramnegativnih bakterijah (40 KDa protein F OM-A).

Sodobne metode na osnovi določanja profilov maščobnih kislin ali genske restriksijske analize rRNK ter določanje morfotipov v povezavi z alocimsko elektroforezo so uporabne za natančnejšo tipizacijo teh bakterij v epidemiološke in taksonomske namene.

Fuzobakterije so največkrat povezane z drugimi parodontopatogeni, kot je *P. gingivalis*, *P. intermedia* in *A. actinomycetemcomitans*. Ugotovili so, da je simbioza z bakterijo *P. gingivalis* povezana z izkoriščanjem peptidov in aminokislin. *P. gingivalis* ima namreč endopeptidazo, ki lahko cepi peptide iz gostiteljevih beljakovin.

### ***Bacteroides forsythus***

*Bacteroides forsythus* je obligatno anaerobni, vretenasti gramnegativni bacil, ki ga povezujejo s parodontitisom, ker so ga osamili iz globokih parodontalnih žepov skupaj z bakterijo *Campylobacter rectus* in *Fusobacterium nucleatum*.

Na krvnem agarju tvori zelo drobne kolonije, ki kažejo v bližini bakterij *S. aureus* ali *F. nucleatum* satelitni fenomen. Je nepigmentiran in nesaharolitičen, ne tvori katalaze, indola in je glede oksidaze negativen. Hidrolizira eskulin in želatino.

Zanimivo je, da je v svoji presnovi odvisen od zunanega vira N-acetilmuraminske kisline. Zato se veže z bakterijami, ki lahko tvorijo to sestavino celične stene.

Naravno prebivališče bakterije *B. forsythus* je zobna obloga, kjer je veliko beljakovin in peptidov, ki izhajajo iz sline, seruma in obilne bakterijske flore. Za rast potrebuje peptide. Za izkoriščanje peptidov ima peptidaze. Tvori tripsinu podoben encim ter sialidazo.

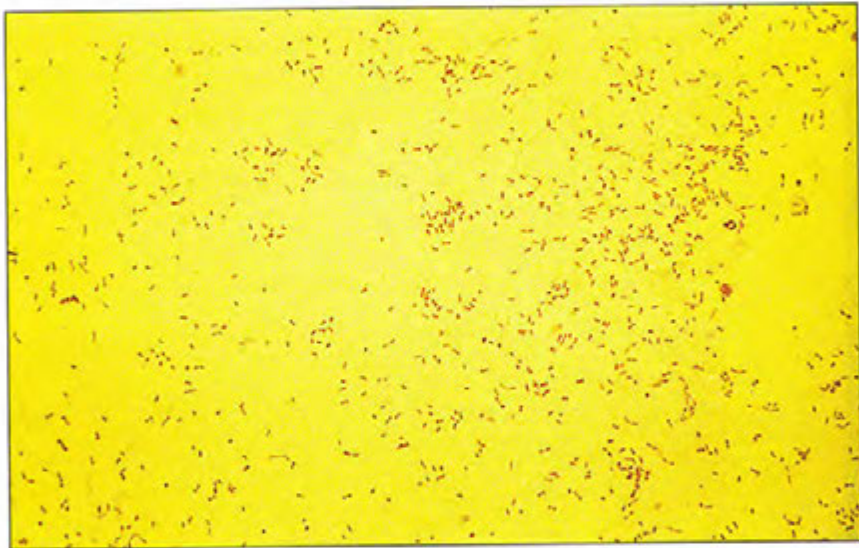
Le na osnovi fizioloških lastnosti ga večkrat težko ločimo od drugih vretenastih bacilov v ustih. Specifičen je hibridizacijski test DNK.

## Mikroaerofilne gramnegativne bakterije

### Rod *Actinobacillus*

V ta rod uvrščamo drobne gramnegativne kokobacile ali kratke bacile, ki jih najdemo pretežno pri domačih živalih, zlasti govedu, in so podobni pasteurelam. Največkrat so se prenesli na človeka pri živalskem ugrizu.

Hibridizacijske študije DNK-DNK in raziskave antigenov kažejo, da se *Actinobacillus actinomyetemcomitans* precej razlikuje od navedenih bakterij rodu *Actinobacillus*. Menijo, da bi ga bilo potrebno premestiti v rod *Haemophilus* kot *Haemophilus actinomyetemcomitans*. Dokazali so značilno beljakovino 29 kDa zunanje ovojnice, ki je enaka ali zelo sorodna pri različnih vrstah hemofilusov.



Slika 27: Mikroskopski videz bakterije *A. actinomyetemcomitans* v preparatu, obarvanem po Gramu

Najdemo ga pri progresivnih parodontitisih, predvsem pri lokaliziranem ali generaliziranem juvenilnem parodontitisu, kjer je glavna bakterija. Lahko povzroči tudi endokarditis, urinarne infekcije, možganske abscese, osteomielitis.

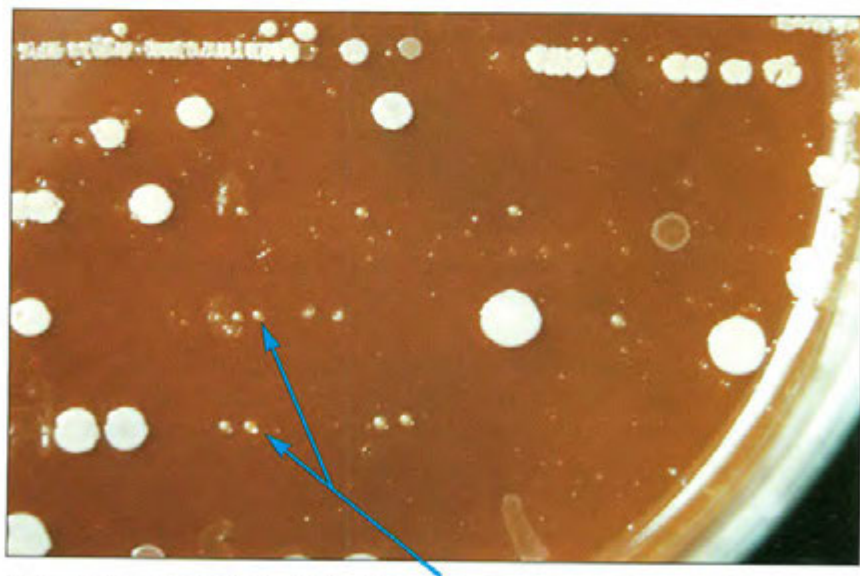
To so drobni, fermentativni, negibljivi kokobacili ali bacili (slika 27), ki rastejo počasi. Za rast potrebujejo povečano količino CO<sub>2</sub> in s krvjo obogateno gojišče (slika 29), kjer tvorijo značilne majhne, nekoliko hrapave zvezdaste kolonije (slika 28). Tekoče gojišče ostane, bistro z drobnimi zrcni ob steni.



Slika 28: Značilna oblika kolonije bakterije *A. actinomycetemcomitans* (fotografija Alenka Štorman)

Taksonomsko in biokemično je *A. actinomycetemcomitans* zelo podoben bacilu *Haemophilus aphrophilus*, ki ga ni pri parodontalnih okužbah. Oba izkoriščata nitrat. *A. actinomycetemcomitans* pa se od bacila *Haemophilus aphrophilus* razlikuje, ker ne fermentira laktoze. Bakteriji imata tudi različne beljakovine zunanje membrane.

Na osnovi različne fermentacije dekstrina, maltoze, manita in ksiloze lahko določimo vsaj 10 biotipov bakterije *A. actinomycetemcomitans*, kar pripomore k osnovnemu epidemiološkemu sledenju.



Slika 29: Drobne kolonije bakterije *A. actinomycetemcomitans* na krvnem agarju

Ugotovili so, da lahko *A. actinomycetemcomitans* razdelimo na osnovi polisaharidnih antigenov v več serotipov (a, b, c, d, e). Isti serotip se lahko dolga leta zadržuje pri enem bolniku, včasih tudi dva različna serotipa. Isti klon lahko torej v ustih prebiva več let. Najpogostejši serotip, ki se pojavlja pri parodontalnih bolezh, je b in je sestavljen v glavnem iz ramnoze in fukoze. Pri zdravih osebah pa je najpogostejši serotip c.

Biotipizacija in serotipizacija nista dovolj občutljivi metodi, zato v epidemiološke namene določamo tudi genotipe na osnovi analize DNK z restrikcijskimi endonukleazami. Še boljše je, če uporabimo za analizo bakterije *A. actinomycetemcomitans* določeno področje genoma (med 16S in 23S ribosomnimi geni), ki ga pomnožimo v verižni reakciji s polimerazo in nato za nadaljnjo tipizacijo uporabimo metodo določanja poliformnosti restrikcijskih fragmentov (restriction fragment length polymorphism-RFLP).

Imunodominantni antigeni so sestavljeni iz serotipsko specifičnih ogljikovih hidratov, zlasti manana, in so del bakterijske zunanje ovojnice. V serumu bolnikov z akutnim juvenilnim parodontitisom so dokazali povečan titer opsoničnih protiteles IgG ter protiteles IgG proti citotoksinu levkocidinu ter protiteles proti lipopolisaharidu in beljakovinom zunanje ovojnice.

Površina bakterij je hidrofobna in ima fimbrije, kar pospešuje prilepljanje na ustni epitelij in na hidroksiapatit. Slina zmanjšuje hidrofobnost bakterije *A. actinomycetemcomitans*. Menijo, da pride morda do encimskega razkrajanja hidrofobnih epitopov ali pa hidrofilne sestavine iz sline obložijo bakterijsko površino in preprečijo vezanje.

Bakterije *A. actinomycetemcomitans* so tudi neposredno invazivne za epitelij v ustih. Izločajo levkotoksin, ki lizira polimorfonuklearne levkocite in makrofage. Poizkusi kažejo, da imajo tudi imunosupresivno delovanje na limfocite v periferni krvi.

V patogenezi bolezn sodelujeta tudi endotoksin, ki pospešuje resorpcijo kosti in polisaharidna kapsula, ki se neposredno veže na imunoglobulinske receptorje na površini limfocitov B in povzroča tvorbo predvsem imunoglobulinov M, v omejeni količini pa IgA in IgG. Lipopolisaharid bakterije *A. actinomycetemcomitans* stimulira makrofage, da tvorijo interleukin-1 in TNF- $\alpha$  ter tudi mRNK, ki kodira IL-1- $\alpha$  in  $\beta$  ter TNF- $\alpha$ , ki sodelujejo v resorpciji kosti. Aktivirani makrofagi vplivajo na sproščanje kalcija iz devitalizirane kosti in razkrajajo vezivo. Interleukin  $\beta$  vpliva na T-limfocite, da sproščajo limfotoksin, ki je citokin z vplivom na resorpcijo kosti. *A. actinomycetemcomitans* izloča kolagenazo in dejavnike, ki zavirajo fibroblaste. Ima sposobnost, da se izogne fagocitozi, ker izloča snovi, ki vežejo receptor Fc. Pri odstranjevanju bakterij iz tkiv imajo pomembno vlogo komplement, protitelesa in fa-



gociti. Pri tem sodelujejo receptorji Fc in C3b na fagocitih. Če te receptorje vežejo bakterije, pride do zaviranja delovanja fagocitov in kompleksa in s tem preprečevanje baktericidnega delovanja.

### Rod *Capnocytophaga*

Usta in žrelo predstavljata naravno prebivališče bakterij rodu *Capnocytophaga* (slika 30). Včasih jih najdemo tudi drugod v prebavilih, pa tudi v nožnici. Sodelujejo pri patogenezi parodontalnih bolezni; povzročajo oportunistične infekcije pri osebah z zmanjšanim imunskim odzivom, včasih tudi omejene ali splošne infekcije pri bolnikih z normalnim imunskim odzivom, ki pa so največkrat tudi oralnega izvora.



Slika 30: Kolonije *Capnocytophaga* sp. na krvnem agarju

Opisujejo tri species: *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga ochracea* in *Capnocytophaga sputigena*. So mikroaerofilni gramnegativni vitki ali nitasti bacili, ki so lahko ob konceh zoženi, vretenasti. Ne izdelujejo spor.

Za rast potrebujejo povečano količino  $\text{CO}_2$ . *Capnocytophaga gingivalis* fermentira glukozo, maltozo in saharozo, ne pa manita, ksiloze in laktoze, tudi ne izkorišča želatine in škroba. Končni pridelek je sukcinat in acetat. Imajo značilno drseče gibanje na 2-odstotnem agarju z dodatkom seruma, kjer po 2–4 dneh vidimo ploščate, šireče se kolonije s prstastimi izrastki ob robu. Obrobni del kolonije je izrazitejši od sredine. Kolonije imajo lahko rožnat ali rumenkast pigment. Včasih jih težko razlikujemo od bakterij *Fusobacterium nucleatum*, za katere

je značilno, da tvorijo indol. Bakterije rodu *Capnocytophaga* nimajo katalaze in so negativne glede oksidaze in ne tvorijo indola.

Pri patogenezi sodeluje termostabilna beljakovina, ki povzroča spremembe v morfologiji nevtrofilcev in zavira kemotakso. Vse tri species vsebujejo endotoksin in polisaharide.

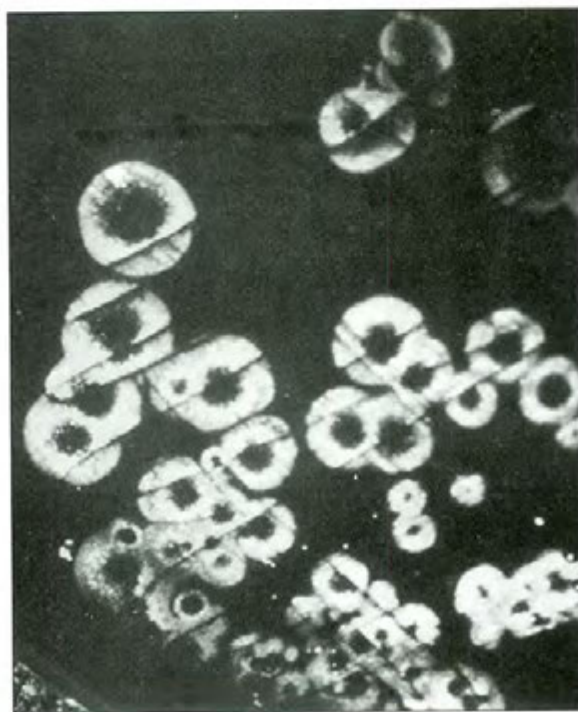
Izločajo proteazo Ig A1, tripsinu podobne encime in aminopeptidaze.

*C. gingivalis* se prileplja na cement zobne korenine pa tudi na aktinomicete v zobnih oblogah. Nima fimbrij. Adhezini so v zunanji membrani in njihove molekule so neenakomerno razporejene po bakterijski površini. Gre za polipeptid 140 KDa.

*C. sputigena* izloča faktor, ki zavira delovanje fibroblastov. Osamili so jih pri omejenem predpubertetnem ali juvenilnem parodontitisu ter pri ulceracijah v ustni votlini bolnikov z zmanjšanim imunskim odzivom, zlasti pri hematoloških boleznih. Lahko povzročajo splošne bolezni kot sepso, endokarditis, pljučni absces, empiem, osteomielitis, peritonitis in druge. Največkrat so sestavni del polimikrobnih infekcij.

### ***Eikenella corrodens***

Gre za negibljivo gramnegativno bakterijo, ki pa lahko drsi na agarju. Je fakultativno anaerobna, vendar boljše uspeva ob dodatku CO<sub>2</sub>. *E. cor-*



Slika 31: Značilne kolonije *E. corrodens* na krvnem agarju

rodens ne izkorišča sladkorjev, pač pa lizin in ornitin ter je glede oksidaze pozitivna. Za rast potrebuje hemin. Na agarju po 5–7 dneh tvori značilne drobne ploščate, rumenkaste kolonije z bistrim centrom in širečim robom, ki pogosto vraščajo v podlago. Ima značilni endotoksin, ki sodeluje pri patogenezi bolezni.

*E. corrodens* je del normalne ustne flore, vendar lahko povzroča oportunistične infekcije zlasti v povezavi z anaerobnimi bakterijami. Našli so jo tudi pri parodontalnih boleznih in jo povezujejo z okvarami alveolarne kosti. Osamili so jo pri okužbah zgornjih dihal, pri bakteriemiji in sepsi, endokarditisu in možganskem abscesu. Največkrat povzroča bolezni pri osebah z zmanjšanim imunskim odzivom.

### Rod *Campylobacter*

Kampilobaktri so paličaste, ukrivljene, z dvema ali več zavoji, mikroaerofilne nesporogene, gibljive bakterije, z enim bičkom ali dvema bipolarno. Presnova je respiratorna. V starih kulturah se pojavljajo tudi kokoidne oblike.

*Campylobacter* (stari naziv *Wollinella*) *rectus* in *Campylobacter curvus* (slika 32) sta ukrivljeni paličasti gramnegativni anaerobni bakteriji, ki razkrajata agar. Bakterijo *Campylobacter rectus* najdemo pogosto pri napredujočem destruktivnem parodontitisu skupaj z bakterijami *P. gin-*



Slika 32: Mikroskopski videz bakterije *Campylobacter* sp. v preparatu, obarvanem po Gramu (Iz zbirke Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo)

*givalis*, *P. intermedia* in *F. nucleatum*. Je asaharolitična, gibljiva, paličasta bakterija z enim polarnim bičkom in s tipično zgradbo gramnegativne bakterije. Za rast potrebuje formiat in fumarat. Bakterijo *C. rectus* so našli pogosto pri parodontitisu bolnikov z zmanjšanim imunskim odzivom, kot so diabetiki in bolniki z AIDSom.

Lipopolisaharid (endotoksin) povzroča sproščanje imunomodulatorjev, ki razkrajajo tkivo. Spodbuja monocite, da izločajo v velikih količinah prostaglandin E2 in IL-1. *Campylobacter rectus* izloča tudi citotoksin. To je beljakovina 104 KDa, ki deluje levkotoksično.

### ***Centipeda periodontii***

To so precej veliki gibljivi anaerobni gramnegativni bacili, nesporogeni, ukrivljeni ali spiralni. Flageli izhajajo iz obeh strani celice v svežnjih, kar jim daje videz stonoge. Pri fermentaciji tvorijo acetat in propionat, nekateri sevi tudi laktat in sukcinat. Po ostalih lastnostih je podoben bakterijam rodu *Selenomonas*. Osamili so jih iz subgingivalne mikroflore pri kroničnem in juvenilnem parodontitisu, ne pa pri zdravih osebah; niso jih našli niti na zdravi gingivi oseb s parodontitisom. Značilni gramnegativni lipopolisaharid (endotoksin) povezujejo s patogenostjo pri parodontalnih boleznih.

### **Rod *Selenomonas***

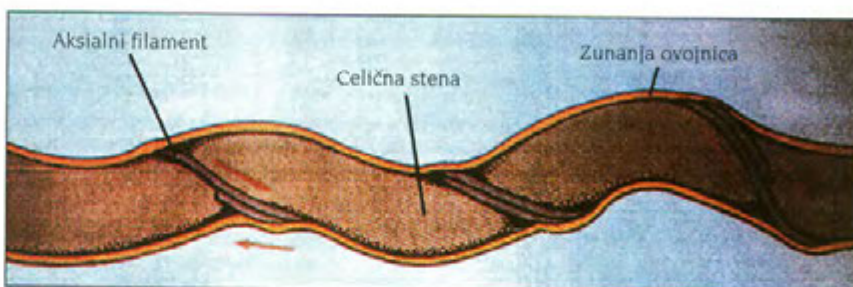
Bakterije rodu *Selenomonas* so gramnegativni, nesporogeni, obligatno anaerobni, ukrivljeni bacili, gibljivi, s šopkom flagel na konkavni strani, ki živijo v ustni votlini. Pojavljajo se posamično, v parih. Kolonije na anaerobnem krvnem agarju so po 2 dneh drobne, prozorne ali bele, rahlo konveksne, velikost do 0,5 mm. So saharolitični ter tvorijo propionsko in očetno kislino. Ne potrebujejo vitamina K I niti hemina. Žolč zavira rast. Sevi na temperaturah, nižjih od 30 °C in višjih od 45 °C ne rastejo. *Selenomonas sputigena*, *S. noxia* in *S. flueggei* so povezane s parodontalno boleznijo. Osamili so jih iz ostržkov zob in subgingivalne mikroflore, čeprav jih v gingivalnem sulkusu najdemo tudi pri normalnem zdravstvenem stanju. Njihovo število je pri parodontalni bolezni povečano.

S sekvenčno analizo 16S ribosomne RNK so ugotovili ozko sorodnost bakterij rodu *Selenomonas* z bakterijo *Centipeda periodontii*.

### **Rod *Treponema***

Ustne spirohete so povezane z destruktivnim parodontitisom in so invazivne za gingivalno tkivo. Značilne so spiralno (slika 33) zavite z ena-

komernimi zavoji, tanke  $0,5\ \mu\text{m}$ , dolge  $15\text{--}30\ \mu\text{m}$ . Celična stena je po sestavi podobna celični steni gramnegativnih bakterij. Endoflagele izhajajo iz obeh polov in ovijajo bakterijo v periplazmatskem prostoru (aksialni filament) pod zunanjo ovojnico, kar jim daje značilno gibanje. Treponeme imajo namreč večplastno zunanjo ovojnico, ki z zunanje strani obkroža protoplazmatski cilindar skupaj s citoplazmatsko membrano in celično steno.



Slika 33: Shematska zgradba treponem

Spirohete povzročajo akutni nekrotizirajoči ulcerozni gingivitis, okvare pri omejenem juvenilnem parodontitisu in pri napredujočem parodontitisu odraslih (tabela 16).

Tabela 16: Odstotek spirohet pri parodontalni bolezni

zdrava gingiva	gingivitis	parodontitis
0,2–4,0%	2–30%	21–35%

Anaerobne spirohete – treponeme so dokazali v subgingivalni mikroflori (slika 34, slika 35) pri vnetnih spremembah, predvsem v globokih parodontalnih žepih, v zdravem tkivu pa jih ni ali ji je tako malo, da so nedokazljive. Treponeme prodirajo skozi epitelij sluznice v spodaj ležeče vezivo.

Tabela 17. Taksonomske značilnosti ustnih spirohet

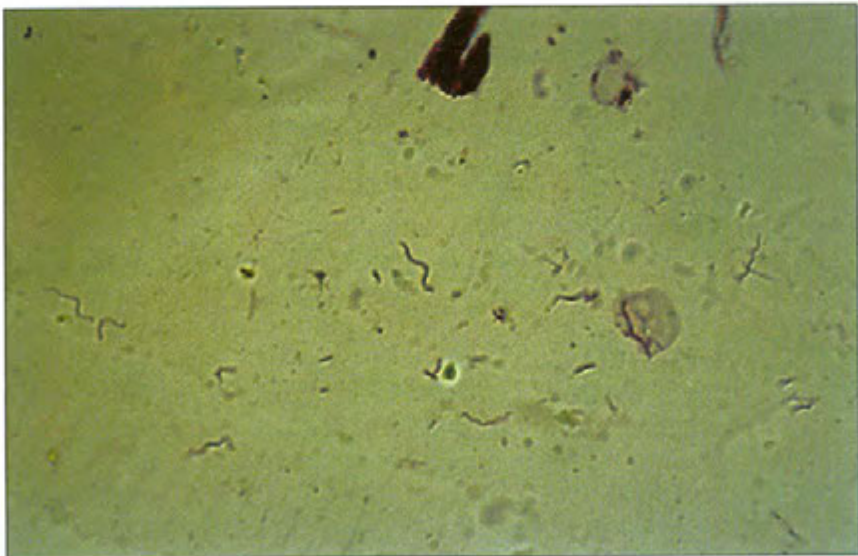
Vrsta	velikost	aksialne fibrile	% G+C	Fermentacija ogljikohidratov
<i>T. denticola</i>	male	2–4–2,5–10–5	37–38	–
<i>T. vincentii</i>	srednje	5–10–5	44	–
<i>T. socranskii</i>	male	1–2–1	51	+
<i>T. pectinovorum</i>	male	1–2–1	?	–
<i>T. macrodentium</i>	male	1–2–1	?	+



Slika 34: Spirohete v subgingivalni mikroflori – temno polje

Največkrat omenjajo vrste *Treponema denticola*, *Treponema pectinovorum*, *Treponema socranskii*, *Treponema vincentii* (tabela 17).

*Treponema denticola* spada v male ali v srednje velike ustne spirohete, ki jih najpogosteje od ustnih spirohet osamimo v povečani količini iz subgingivalne mikroflore pri globokem parodontitisu. Lahko se



Slika 35: Spirohete v subgingivalni mikroflori – razmaz, obarvan po Gramu

prilepi na hidroksiapatit, na epitelijske celice, fibroblaste ter glikoproteine, fibronektin in laminin. Na epitelij deluje citotoksično. Izloča proteolitične encime, ki razkrajajo fibronektin, laminin in kolagen. Tripsinu podobne proteaze (T1-T6) delujejo neposredno destruktivno na parodontalno tkivo in posredno preko tkivnih proteaz ter s spodbujanjem posrednikov vnetja. *T. denticola* izloča tudi fosfolipazo in povzroča hemolizo eritrocitov. Zavira razmnoževanje fibroblastov in endotelijskih celic ter preprečuje aktivacijo limfocitov ter degranulacijo nevtrofilcev. V zunanji ovojnici so glikopeptidi, ki verjetno sodelujejo pri prilepljanju treponeme na humani epitelij. Dokazali so, da je za prilepljanje *T. denticola* na eukariotske celice odgovorna beljakovina 56–58 kDa zunanje ovojnice, proti kateri lahko dokažemo protitelesa pri bolnikih z akutnim ulceronekrotičnim gingivitisom in omejenim juvenilnim parodontitisom.

*Treponema denticola* se lahko pojavlja v 4 različnih morfoloških oblikah: kot spirala, v prepleteni obliki kot kita, v prepleteni obliki, ki je podobna batu, ali v obliki kroglic. Oblike, ki odstopajo od normalne spirale, so povezane s spremenjenim razporedom flagelov, ki niso več povezane v aksialni cilindar.

Kot vir energije izkorišča aminokislino, ne pa ogljikovih hidratov. Prebiva v ustni votlini v gingivalnem sulkusu.

*Treponema pectinovorum* je obligatno anaerobna, gibljiva, spiralna bakterija, ki ima 2 periplazmatska bička, ki izhajata iz polov in se ovijata okoli celice ter se v centralnem delu prekrivata. Celice so 7–15  $\mu\text{m}$  dolge in 0,3  $\mu\text{m}$  tanke, spiralno zavite, z ravnimi zašiljenimi konicami. Gibljejo se kot treponeme okoli svoje osi, prepogibajo se ali plazijo kot kača. Lahko tvorijo tudi kokoidne oblike.

Bele, prozorne kolonije, ki vraščajo v agar, se pojavijo po 4–5 dneh. Za rast potrebuje pektin, poligalakturonsko kislino, galakturonsko in glukuronsko kislino ter maščobne kisline, ne potrebuje pa seruma. Optimalna temperatura za rast je 37 °C. Glavni presnovek je očetna in mravljinčna kislina.

Prebiva v človekovi ustni votlini. Število se zveča predvsem pri juvenilnem parodontitisu in pri napredovali obliki parodontitisa.

*Treponema socranskii* je obligatno anaerobna gibljiva spiralna bakterija z enim periplazmatskim flagelom, ki izhaja iz vsakega konca celice. Dolga je 6–15  $\mu\text{m}$ , tenka 0,18  $\mu\text{m}$ . Ima zašiljene konice ter eno ali obe konici zaviti v obliki kaveljčka. Giblje se tako, da se vrtili okoli svoje osi, lahko pa se prepogiba ali premika kot kača. Včasih tvori kokoidna telesca. Po 7–10 dneh inkubacije se razvijejo bakterijske kolonije na specifičnem gojišču, ki se razraščajo v agar. Kolonije so belkaste, prozorne, z nekoliko gostejšim osrednjim delom. Za rast potrebuje ogljikove hidrate in kratkoverižne maščobne kisline, ne pa seruma.

Glavni produkti fermentacije so očetna, mlečna in sukcinčna kislina. Optimalna temperatura je 37 °C. Na temperaturah nižjih od 25 °C in višjih od 42 °C ne raste. Poznamo 3 podvrste: *T. socranskii subsp. socranskii*, *T. socranskii subsp. buccale* in *T. socranskii subsp. paredis*.

Našli so jo v gingivalnem sulkusu in parodontalnih žepih pacientov s parodontalno boleznijo, pa tudi pri zdravih osebah.

*Treponema vincentii* je anaerobna spiroheta s plitvimi in nepravilnimi zavoji. Ima 4–6 periplazmatskih flagelov, ki izhajajo iz vsakega pola. Zelo hitro se giblje. Kolonije, ki se pojavijo v agarju po 14 dneh, so videti kot rahla zamotnitev. Fermentira aminokislino in za rast potrebuje serum. Prebiva v človekovi ustni votlini.

## Literatura

- Braham PH, Moncla BJ. Rapid presumptive identification and further characterisation of *Bacteroides forsythus*, J Clin Microbiol 1992; 30: 649–54.
- Chan ECS, Siboo R, Keng T, Psarra N, Hurley R, Cheng SL, Iugovaz I. *Treponema denticola* (ex Brumpt 1925) sp. nov., nom. rev., and identification of new spirochete isolates from periodontal pockets. Int J Syst Bact 1993; 43: 196–203.
- Cheng SL, Siboo R, Cheen Quee T, Johnson JL, Mayberry WR, Chan ECS. Comparative study of six random oral spirochetes isolates. J Periodont Res 1985; 20: 602–612.
- Cobb CM, Helber JT, Hirschberg R. Scanning electron microscopy of *Eikenella corrodens* colony morphology variants. J Periodontol Res 1994; 29: 410–417.
- Cutler CW, Kalmar RJ, Arnold RR. Antibody dependent alternate pathway of complement activation in opsonophagocytosis of *Porphyromonas gingivalis*. Inf Immun 1991; 59: 2105–2109.
- Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. J Clin Periodontol 1988; 15: 316–23.
- Frandsen EVG, Reinholdt J, Kilian M. Immunoglobulin A1 (IgA1) proteases from *Prevotella* (*Bacteroides*) and *Capnocytophaga* species in relation to periodontal diseases. J Periodont Res 1991; 26: 297–299.
- Gharbia SE, Haapasalo M, Shah Hn, Kotiranta A, Lounatmaa K, Pearce MA, Devie DA. Characterisation of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolated from periodontic and endodontic infections. J Periodontol 1994; 65: 56–61.
- Haffajee AD, Socransky SS, Smith C, Dibart S. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. J Periodont Res 1991; 26: 293–96.
- Myamoto M, Noji S, Kokeguchi S, Kato K, Kurihara H, Murayama Y, Taniguchi Sh. Molecular cloning and sequence analysis of antigen gen *tdpA* of *Treponema denticola*, Infect Immun 1991; 59: 1941–1947.
- Preus HR, Zambon JJ, Dunford RG, Genco RJ. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with established adult periodontitis. J Periodontol 1994; 65: 2–7.
- Rosen G, Naor R, Kuntner Sh, Sela MN. Characterization of fibrinolytic activities of *Treponema denticola*. Inf Immun 1994; 62: 1749–1754.



Shah HN, Collis MD. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bact* 1988; 38: 128–131.

Slots J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 351–382.

Smibert RM, Burmeister JA. *Treponema pectinovorum* sp. nov. isolated from humans with periodontitis. *Int J Syst Bact* 1983; 33: 852–6.

Sorsa T, Ingman T, Suomalainen K, Haapsalo M, Konntinen YT, Lindy O, Saari H, Uitto VJ. Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Inf Immun* 1992; 60: 4491–5.

Steenbergen TJM, Bosch-Tijhof CJ, van Winkelhoff AJ, Gmuier R, de Graaf J. Comparison of six typing methods for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2769–2774.

Van Winkelhoff, de Graaf J. Microbiology in the management of destructive periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 406–10.

## INFEKCIJE ZOBNE PULPE IN PERIPIKALNEGA TKIVA

**S**klenina in zobovina (dentin) varujeta zobno pulpo kot trdna fizikalna pregrada pred škodljivimi raztopinami in pred hitrimi temperaturnimi spremembami. V zdravi zobni pulpi in v periapikalnem tkivu normalno ni mikroorganizmov. Vitalno tkivo dentina je odporno proti bakterijski okužbi, tako da v pulpi ni bakterij vse do poznega stadija zobne gnilobe. Šele spremembe v dentinskih tubulih zaradi demineralizacije dentina omogočajo razvoj mikroorganizmov v dentinu in vdor skozi tubule v zobno pulpo.

Najpogostejša je torej kontaminacija zobne pulpe z bakterijami, ki se širijo skozi sklenino in zobovino iz karioznih sprememb. Druge možnosti vstopa so še: vstop bakterij in njihovih izločkov v zobno pulpo skozi odprtine, ki so povezane s parodontalnimi žepi (pulpoperiodontalne komunikacije ali povezave), vstop pri operativnih posegih na zobu ali pri poškodbah ter vdor s krvjo pri bakteriemiji in sepsi.

Prisotnost bakterij, njihovih antigenov in izločkov povzroči v pulpi nekrozo. Toksični izločki bakterij lahko prodirajo v pulpo še pred vstopom bakterij. Fagociti ne morejo migrirati skozi tubule, zato lahko toksini bakterij učinkujejo, še preden so bile bakterije fagocitirane. Mikroorganizmi, ki povzročajo vnetja zobne pulpe, so največkrat nizko virulentni, vendar imajo različne virulenčne faktorje, kot so endotoksin, teihoična kislina, peptidoglikan, kolagenaza, fibrinolizin, proteaze, hialuronidaza, ki sodelujejo pri uničevanju tkiva pulpe. Toksični za pulpo pa so tudi njihovi produkti presnove kot so amonijak, žveplovodik, organske kisline in toksični amini.

V zdravi pulpi in periapikalnem tkivu je malo limfocitov in protiteles. Posledica prisotnosti bakterijskih antigenov v pulpi je stvarjanje protiteles IgM, IgA, IgG, IgE ter povečane količine sestavine C3 komplementa.

Pravočasna oskrba karioznega zoba in vnete pulpe omogoča odstranitev bakterij in vrnitev pulpe v prvotno stanje brez bakterij. Če ne ukrepamo, pride do nepovratne nekroze s širjenjem vnetja v periapikalno tkivo.

Začetek vnetja zobne pulpe je lahko akuten, z bolečinami na toplotne spremembe, na dotik in perkusijo, ki se spremenijo v stalno

bolečino, posebej v ležečem položaju. Pri akutnih vnetjih prevladujejo v gnoju polimorfonukleari različnih starosti, vezivo, fibroblasti in fibrinske niti. Začetek vnetja je pogosto primarno kroničen, v zobni pulpi pa prevladujejo limfociti in plazmatke.

Ko zobna pulpa še ni razgaljena, ko ima zaprto pulpno komoro in je zob vitalen, prodirajo pri napredovanju kariesa skozi zobovino predvsem ustni streptokoki kot najstalnejši povzročitelji gnilobe dentina ter laktobacili, aktinomicete in kožni stafilokoki, korinebakterije in enterokok.

V nekrotični pulpi nevitalnega zoba se pojavljajo anaerobi, ki predstavljajo 60 % vseh bakterij, zlasti skupina *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella oralis*, *Fusobacterium sp.*, *Eubacterium sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, pa tudi fakultativni anaerobi kot so *Enterococcus sp.*, *Staphylococcus sp.* ter enterobakterije in *Candida sp.* Kot posledica globokih okvar parodontalnega tkiva, prodrejo tudi bakterije iz parodontalnih žepov, vključno z bakterijo *Campylobacter sp.* in *Treponema sp.*

Skupno število živih mikroorganizmov v vneti zobni pulpi je  $10^6$  do  $10^8$  cfu/g. Več kot dve tretjini je anaerobnih bakterij.

Če se vnetje iz koreninskih kanalov širi v periapikalno tkivo, nastane descendentni pulpitis oz. akutno ali kronično periapikalno vnetje, ki je lahko omejeno kot akutni ali kronični lokalizirani apikalni parodontitis (slika 36), ali pa se pojavi absces s fistulacijo navzven (skozi periost in sluznico – gingivo, periodoncij ali koreninski kanal) ali navznoter. Te oblike vnetja se razvijejo kot posledica zaščite gosti-



Slika 36: Apikalni parodontitis

teljevega organizma. Mikrobní antigeni in njihovi toksini povzročijo okvare celic in razkroj tkiv ter nekrozo. Kot reakcija na te spremembe se vezivo razraste in omeji področje vnetja. V imunskem odzivu sodelujejo dejavniki humoralne in celične imunosti skupaj z reakcijami takojšnje in pozne preobčutljivosti. V periapikalnem granulomu so limfociti, plazmatke, monociti, granulociti, mastociti ter imunoglobulini IgG, IgM, IgA in IgE (tabela 18). Limfociti T so številnejši kot limfociti B. Senzibilizirani limfociti T se odzivajo na bakterijske antigene s sproščanjem limfokinov, ki s svoje strani omogočajo okvare tkiv. Protitelesa, ki jih tvorijo senzibilizirani limfociti B omogočajo v sodelavi s komplementom lizo bakterij. Lahko pride do tvorbe imunskih kompleksov in neposredne preobčutljivostne reakcije. Ob reakciji antigenov z IgE na mastocitih se sproščajo histamin in druge aktivne snovi. Nastane alergija na bakterije, njihove izločke in denaturirano lastno tkivo.

Pri periapikalnih infekcijah se najpogosteje pojavljajo fakultativno anaerobni (viridans in oralis) in anaerobni streptokoki (*Peptostrep-*

Tabela 18: Sestavine imunskega odziva v pulpalnem in periapikalnem tkivu

	IgG	IgE	IgA	IgM	Komplement	Limfociti T	Limfociti B
Zdrava pulpa	-	-	-	-	-	-	-
Vnetá pulpa	+++	++	++	+	++	+	+++
Periapikalno vnetje	+++	++	-	+	+++	+++	+

Tabela 19: Mikroorganizmi, osamljeni iz koreninskih kanalov pri vneti zobni pulpi

<i>Streptococcus viridans</i> skupina	<i>Porphyromonas endodontalis</i>
<i>Streptococcus oralis</i> skupina	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Enterococcus</i> sp.	<i>Peptostreptococcus</i> sp.
<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Propionibacterium</i> sp.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Eubacterium</i> sp.
<i>Proteus</i> sp.	<i>Actinomyces</i> sp.
<i>Escherichia coli</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Fusobacterium</i> sp.
<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Selenomonas</i> sp.
<i>Capnocytophaga</i> sp.	

*tococcus*), enterokoki, propionibakterije, *Veillonella* in stafilokoki, korinebakterije, pa tudi *Escherichia coli*, *Candida sp.* in različne anaerobne bakterije (tabela 19).

Bakterije, ki povzročajo pulpitis, težko določimo, ker ne moremo vedno pravilno odvzeti materiala za bakteriološko preiskavo, pa tudi ne vemo, kdaj se je bolezen začela. Največkrat dokažemo vsaj 6 bakterijskih vrst. Zelo pogosto ugotovimo prisotnost enterokokov ter gramnegativnih kokov in anaerobnih bacilov.

Če nepravilno zdravimo ali sploh ne zdravimo pulpalne in periapikalne bolezni, se bakterijsko vnetje širi v mehka in trda tkiva. Nastanejo submandibularni ali sublingvalni, submaksilarni ali parafaringealni abscesi, gnojni maksilarni sinusitis ter abscesi in celulitis glave in vratu. Posledično se lahko razvije osteomielitis spodnje čeljusti in gnojni meningitis ter možganski absces (tabela 20).

Tabela 20: Zapleti zaradi vnetja zobne pulpe

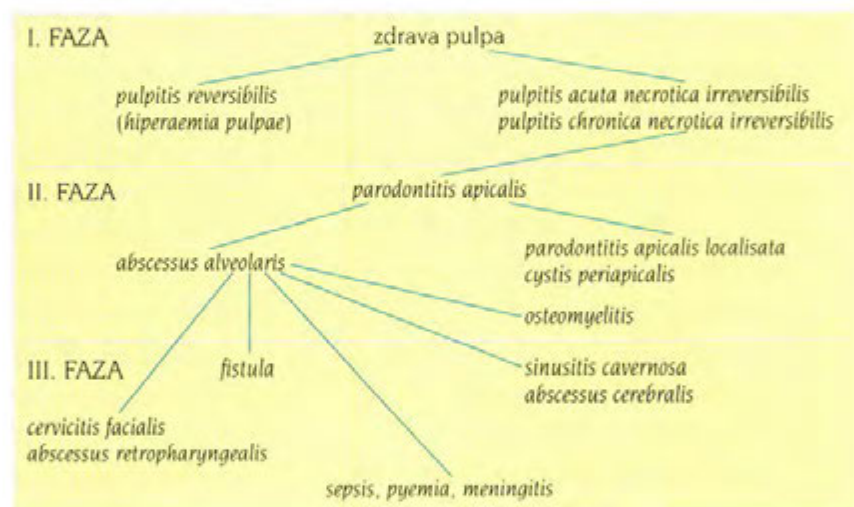


Tabela 21: Bakterije, ki se pojavljajo pri periapikalnih in orofacialnih infekcijah

<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Enterococcus sp.</i>
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	<i>Fusobacterium sp.</i>
<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>
<i>Propionibacterium sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i>
<i>Veillonella sp.</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	<i>Corynebacterium sp.</i>
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Actinomyces sp.</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	

Mikroorganizmi, ki povzročijo te težke bolezni, so lahko isti, kot jih najdemo pri pulpitisu, tj., gre za mešano aerobno anaerobno infekcijo. Pri abscesih glave in vratu sodelujeta še *Staphylococcus aureus* in *Streptococcus pyogenes* (tabela 21).

### **Literatura**

Aderhold L. Bacteriology of dentogenous pyogenic infections. *Oral Surg* 1981; 52: 587–90.

Iwu C, MacFrlane TW, Mac Kenzie D et al. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 502–5.

Jousimies-Somer H, Savolainen S, Maekitie A, Ylikoski J. Bacteriological findings in peritonsillar abscesses in young adults. *Clin Inf Dis* 1993; 16 (Suppl 4): 292–8.

Von Schmidt H, Voelkel R. Vergleichende Untersuchungen an experimentellen Granulom und periapikalen Zahngranulomen. *Zahn-Mund-Kieferheilk* 1987; 75: 566–571.



## SPLOŠNE INFEKCIJE ZARADI USTNIH BAKTERIJ

### Bakteriemija, sepsa in endokarditis

Zobne površine in obzobna tkiva so edinstveno področje, ki je obilno naseljeno z bakterijami, ki se lahko širijo v kri. Človeški organizem s svojim imunskim sistemom in mehanizmi naravne in pridobljene imunosti majhno število bakterij, ki vstopajo v kri, uspešno uniči, tako da je prehodna bakteriemija popolnoma neopazna. Prehodna bakteriemija nastane pri vsakem posegu, kjer pride do tudi neznatne zakrvavitve. Tako že čiščenje zob s krtačko in zobno nitko, prhanje z ustno prho pri parodontitisu, ali močno žvečenje, zlasti trdih snovi, jemanje odtisov, natikanje matric v konzervativnem zobozdravstvu, ali preverjanje mostovnih konstrukcij povzroči prehodno bakteriemijo. Enako vplivajo invazivnejši posegi kot so endoskopija, intubacija, posegi na mukoperiostu, luščenje in glajenje korenin, ekstrakcija zob, periapikalna kiretaža, lokalna anestezija, različni kirurški posegi. Za razvoj bakteriemije je pomembna lokalna infekcija – kariozni zobje, dlesenski in parodontalni žepi in vneta zobna pulpa s širjenjem v periapikalno tkivo, kjer gre za povečanje skupnega števila bakterij in večinoma tudi za vsebinsko spremembo prisotnih bakterijskih morfotipov. Prehodna bakteriemija traja kakih 10 minut. V tem času bakterije namreč lahko dokažemo v krvi, če odvzamemo kri za hemokulturo (tabela 22).

Tabela 22: Bakterije, ki so jih osamili iz krvi pri dentogeni bakteriemiji

<i>S. epidermidis</i>	<i>Porphyromonas sp.</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Prevotella sp.</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Veillonella sp.</i>
<i>S. sanguis</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>
<i>S. salivarius</i>	<i>Propionibacterium sp.</i>
<i>Enterococcus sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i>
<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Haemophilus sp.</i>
<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Actinomyces sp.</i>
<i>Capnocytophaga sp.</i>	



Bakteriemija lahko nastane tudi pri brez zobnih osebah, največkrat pri pacientih s protezami. Zaradi nepravilno oblikovanih protez pride do draženja trdega neba ali premične sluznice in do dekubitusov in/ali ulceracij, ki so *locus minoris resistentiae* za vstop bakterij v kri. Pri starejših pacientih ne gre vedno za možnost razvoja bakteriemije, pač pa za nastanek fungemije zaradi prisotnosti protetične kandidoze in ulceracije.

Vir bakterij za splošno infekcijo so tudi apikalni parodontitis in periapikalni in drugi odontogeni abscesi in celulitisi v ustih in na obrazu. Že pred več kot 100 leti so menili, da so zobje vir splošne infekcije, kot je bakteriemija, sepsa, endokarditis, pa tudi piemia z oddaljenimi abscesi in osteomielitisom. Tako so postavili teorijo fokalne infekcije, kjer gre za vnetje v enem žarišču ali fokusu, od koder se bakterije širijo v obliki razsevkov v druga tkiva. Tako je po letu 1920 skoraj 20 do 30 let prevladovalo mnenje, da so žarišča bolezni v zobeh in tonzilah, kar je privedlo do masovne ekstrakcije zob in tonzilektomij.

Zdaj vnetja zob in obzobnih tkiv ugotovimo čimprej in zdravimo, da bi odstranili bakterije, potencialne povzročiteljice teh bolezni.

Številne oralne bakteriemije in fungemije so prehodne in neškodljive za paciente. Pri rizičnih bolnikih (tabela 23) pa so lako nevarne ali celo usodne, ker nastala bakteriemija ali fungemija povzroči endokarditis (tabela 24).

Tabela 23: Rizični faktorji za razvoj endokarditisa in drugih vnetij

Revmatična bolezen	Žilni presadki in vstavki
Prirojene okvare srca	Umetne kolčne proteze
Defekti septuma	Srčni vzpodbujevalniki
Mitralna insuficienca	Drugi vsadki in vstavki
Aortna stenoza	Predhodni endokarditis
Umetne zaklopke	

Pri rizičnih bolnikih se bakterije ali kandida prilepijo na endokard na okvarjenih delih, na okvarjenih ali umetnih zaklopkah. Tu je tok krvi počasnejši, kar omogoča naselitev (kolonizacijo) bakterij, zlasti ustnih streptokokov na fibrinske trombe, ki se odlagajo na okvarjenih srčnih zaklopkah. Adherenco bakterij iz krvi za okvarjene srčne zaklopke spodbuja tudi fibronektin, ki je prisoten na in v trombotičnih spremembah srčnih zaklopk.

Najpogostejši povzročitelj subakutnega bakterijskega endokarditisa, ki ga povzročajo bakterije normalne ustne flore, je *S. sanguis*, ki se prileplja z glukonom. S tvorjenjem proteaz okvarja kolagen in mi-

šično tkivo. Druge manj pogoste bakterije so: *Lactobacillus sp.*, *Rothia dentocariosa* in *Eikenella corrodens* ter *Enterococcus sp.*

Smrtnost bolnikov zaradi endokarditisa je visoka (ca. 30%) kljub temu, da so na voljo antibiotiki. Največkrat je vzrok za neuspešno zdravljenje pozna diagnoza. Tudi bakterijski glikokaliks preprečuje dostop antibiotika do bakterijske celice.

Tabela 24: Povzročitelji infektivnih endokarditisov

Akutni endokarditis – posledica bakteriemije

*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, izjemno: gramnegativne bakterije

Subakutni endokarditis – povzročajo ga bakterije normalne flore, ki pridejo v kri, na že okvarjene zaklopke

*Streptococcus sanguis*, *Enterococcus sp.*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. epidermidis*

Ustne bakterije se lahko med bakteriemijo naselijo na kolčnih protezah, kjer povzročijo vnetja in abscese. Taka vnetja se težko zdravijo, zato pogosto privedejo do invalidnosti.

Pri rizičnih bolnikih je zelo pomembna oralna higiena. Pred vsakim invazivnim posegom v ustni votlini, damo pol ure pred posegom profilaktično eno dozo antibiotika (npr. amoksicilin 3 g). Nekateri avtorji priporočajo spiranje ust in gingivalnih žepov z antiseptiki neposredno pred posegom (npr. 1-odstotna vodna raztopina povidoniodida ali 0,12-odstotni klorheksidin diglukonat).

## Drugi zapleti zaradi ustne flore

**A**spiracija dentalnega materiala in bakterijske flore v pljuča pri zobozdravniškem delu v ustih ali pri drugih invazivnih posegih lahko pripelje do pljučnega abscesa. Največkrat gre za težke mešane anaerobne infekcije z bakterijami *Porphyromonas sp.*, *Prevotella sp.*, *Actinomyces sp.* in *Eikenella corrodens*.

Kot zaplet pri delu s pacientom nastanejo tudi človeški ugrizi v prst, roko, lice zobozdravnika ali asistentke. Največkrat gre za mešane anaerobne in fakultativno anaerobne infekcije, kjer sodelujejo *Porphyromonas sp.*, *Prevotella sp.*, *Bacteroides sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Propionibacterium sp.*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, in druge bakterije. Zato razen natančne kirurške oskrbe rane priporočajo profilaktič-

no dozo antibiotika, največkrat  $\beta$ -laktamskega, potem ko smo odvzeli kužnino za mikrobiološko preiskavo. Menijo, da je treba ugriz v roko obravnavati kot resno poškodbo.

### **Literatura**

Broeren SA, Peel MM. Endocarditis caused by *Rothia dentocariosa*. *J Clin Pathol* 1984; 37: 1298–1300.

Chowdhury MNH, Al-Nozha M, Husain IS, Akhtar J. Endocarditis due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Infect* 1985; 10: 158–162.

Davies AJ, James PA, Hawkey PM. *Lactobacillus* endocarditis. *J Infect* 1986; 12: 169–74.

Fekete T. Controversies in the prevention of infective endocarditis related to dental procedures. *Dent Clin North Am.* 1990; 34: 79–90.

Pomeroy C, Shanholtzer CJ, Peterson LR. *Selenomonas* bacteremia – Case report and review of the literature. *J Infect* 1987; 15: 237–242.

Syrjaenen J: Vascular diseases and oral infections. *J Clin Periodont* 1990; 17: 497–500.

## ODVZEM KUŽNIN ZA MIKROBIOLOŠKO PREISKAVO V STOMATOLOGIJI

(A. Z. Dragaš, K. Seme)

**Z**a odvzem in prenos kužnin v stomatologiji veljajo splošna pravila, veljavna pri odvzemu, prenosu in obdelavi kužnin bolnikov.

Pred jemanjem in po jemanju kužnin priporočajo umivanje rok. Posodice za odvzem morajo biti sterilne in se morajo dobro zapirati (najbolje na navoj). Zunanost pri odvzemu zaščitimo tako, da posodico za čas odvzema zavijemo v papirno brisačo, da bi preprečili onesnaženje od zunaj. Če uporabljamo prenosno gojišče, mora biti ogreto vsaj na 26 °C, bolje na 35 °C. Posodica za kužnino mora biti natančno označena, da ne pride do zamenjave kužnin. Po odvzemu lahko posodico s kužnino zatalimo v polietilensko folijo. Izpolnjeno napotnico z osnovnimi podatki o bolezni in isto oznako kužnine priložimo posebej.

Posodice s kužninami zložimo v primerno posodo (termos) ali postavimo v namensko torbo za prenos kužnin ter takoj odnesemo v mikrobiološki laboratorij. Še posebej to velja za materiale sub- in supragingivalnih oblog, kjer želimo osamiti na ohladitev in kisik občutljive anaerobne in mikroaerofilne bakterije, povzročiteljice bolezni zob in obzobnih tkiv. Najbolje je, da od odvzema kužnine do prenosa v laboratorij poteče največ 10 do 30 min. Materiale v tekočem prenosnem gojišču za anaerobe prenašamo v termos posodi (pri 35 °C).

### Odvzem kužnin za mikrobiološko preiskavo pri boleznih zob in obzobnih tkiv

**N**ačin odvzema kužnine je v stomatologiji odvisen od vrste bolezenske spremembe. Uporabljamo odbrisek (bris), ostržek (skalpel, sonda, zobna nitka, papirni šilci), odtis, aspirat, punktacijo. Izpirek ust in slino aspiriramo v sterilno stekleničko. Sline preiskujemo brez stimulacije ali po stimulaciji. Izločanje slin stimuliramo tako, da pacient žveči sterilni košček parafina ali sterilni gumijevi trak 1 minuto, narkar vse skupaj izpljune v primerno posodo, nato slino aspiriramo.

Tabela 25: Vrste kužnin in načini odvzemov za mikrobiološko preiskavo

Vrsta kužnine	Način odvzema	Način prenosa
Slina	bris, aspirat	sterilna posodica
Supragingivalna zobna obloga	ostržek s kireto, zobno nitko abrazivnim trakom	sterilna posodica ogreto transportno gojišče
Subgingivalna mikroflora	ostržek s kireto, s papirnimi šilci	sterilna posodica ogreto transportno gojišče
Zobna pulpa, koreninski kanali	papirni šilci, kanalske igle	sterilna posodica ogreto transportno gojišče
Apikalno, periapikalno tkivo	aspiracija, kiretaža, apikalna sekcija in drenaža ekstrakcija zoba kostni troakar intrakanalna kanila	sterilna posodica ogreto transportno gojišče
Absces	aspirat, punktat	sterilna posodica

Slino brez stimulacije ali z njo kultiviramo tako, da jo zasejemo v reducirano prenosno gojišče, odnesemo v laboratorij, dobro premešamo na mešalcu 30 sekund in v razredčinah do  $10^{-6}$  zasejemo na diferencialna gojišča v količinah po  $0,1 \text{ cm}^3$  ali  $0,2 \text{ cm}^3$ .

Zob izoliramo z bombažnimi svaljki, supragingivalno oblogo ostržemo s kireto in odložimo v ogreto prenosno gojišče za nadaljnjo obdelavo.

Subgingivalno mikrofloro odvezamo šele, ko smo odstranili supragingivalno oblogo. Področje osušimo s sterilnim bombažnim brisom in s sterilnim zobotrebcom ali inštrumentom čim bolj natančno odstranimo supragingivalno oblogo. Vzorec nato odvezamo blizu roba dlesni iz dlesenskega sulkusa ali paradontalnega žepa tako, da s paradontalno kireto (Morse 00 scaler) postržemo iz globine proti robu dlesni. Namesto kirete priporočajo tudi odvzem s sterilnimi papirnimi šilci, ki jih pustimo vložene v sulkus ali v žep vsaj 10 sekund.

Vzorec iz dlesenske brazde ali paradontalnega žepa prenesemo ob mešanju (da sprostimo čim več mikroflora) v ogreto anaerobno transportno gojišče. Za kvantitativno preiskavo ga čimprej odnesemo v mikrobiološki laboratorij.

Vzorec zobne pulpe oziroma vsebine koreninskih kanalov odvezamo tako, da bolnik najprej spere usta s sterilno destilirano vodo. Zob nato očistimo s profilaktično pasto (1 in pol minute) ter nanj postavimo gumijasto zaščitno opno (rubberdam, kofferdam). Vse površine zoba nato premažemo z aseptično raztopino (2-odstotna jodova

tinktura, vodna raztopina povidoniodida z 1 % prostega joda), ki naj deluje 3 min. Odpremo koreninski kanal in speremo s sterilno destilirano vodo. Kanal posušimo s papirnatimi šilci in šele nato sežemo vanj z iglo in aspiriramo vsebino ali pa uporabimo sterilni papirni šilec. Vsebino koreninskega kanala odložimo v primerno gojišče in takoj odnesemo v mikrobiološki laboratorij. Včasih je ta postopek zelo težaven, ker je kanalov več ali pa potekajo tudi nepravilno položeni. Če ne postopamo, kot je navedeno, kultiviramo okolje, ne pa vsebine kanala. Kultivacija vsebine koreninskega kanala omogoča klinično presojo zdravljenja, ki dovede do bakteriološko negativnega rezultata.

Ker se pogosto namnožijo odporne bakterije, kot je *Enterococcus sp.* ali gliva *Candida albicans*, je vsaj pri neuspešnem zdravljenju mikrobiološka preiskava nujna.

Če gre za patološke procese, kjer sumimo, da gre za določenega povzročitelja pri infekcijskih boleznih in drugih vnetjih v ustih, se ravnamo po pravilih splošne medicine. Iščemo bakterije, *S. pyogenes*, *Mycobacterium tbc*, *C. albicans* in druge na način, ki je splošno veljaven za osamitev posameznih vrst patogenih bakterij ali drugih povzročiteljev bolezni.

Pri preiskavi supra- in subgingivalnih oblog ter zobne pulpe praviloma kužnino odložimo v prenosno gojišče, ki v času prenosa ohranja mikroaerofilne in anaerobne bakterije. Takoj izvedemo mikroskopsko preiskavo kužnine v temnem polju ali z barvanjem (po Gramu, z akridin oranžnim, po Giemsi).

Po kvantitativni mikroskopski oceni take kužnine se odločamo za druge preiskave- kvantitativne kultivacijske ali molekularno biološke za dokaz posameznih patogenih mikroorganizmov.

V stomatologiji je najpomembnejši kvantitativni odnos bakterij in drugih mikroorganizmov. Vse kariogene in parodontopatogene bakterije so, tudi če jih je manj, s katerokoli preiskavno metodo včasih dokazljive, vendar se oportunistični patogeni, udeleženi pri bolezni zob in obzobnih tkiv nenormalno namnožijo in številčno v razmerjih do bakterij v zdravih ustih značilno izstopajo. Zato je potrebno vse preiskavne mikrobiološke metode narediti v kvantitativni in odstotni različici.

## Različne možnosti dokazovanja bakterij, ki povzročajo vnetja zob in obzobnih tkiv

Za mikrobiološko preiskavo supragingivalnih in subgingivalnih oblog in zobne pulpe je več možnosti.

Tabela 26: Različne možnosti dokazovanja kariogenih in parodontopatogenih bakterij

Vrsta preiskave	Katere bakterije iščemo
Neposredna preiskava, viseča kaplja, razmaz (Temno polje, fazni kontrast, barvanje)	Prevladujoče morfotipe v supragingivalnih oblogah, subgingivalni mikroflori, pulpi in abscesu
Kvantitativna kultivacija: aerobna, anaerobna, CO <sub>2</sub>	Prevladujoče povzročitelje pri vseh bolezenskih spremembah
Ploščice z agarjem – metoda dip slide	Zvečano število <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> sp.
Encimski test-BANA	<i>P. gingivalis</i> , <i>T. denticola</i>
Protitelesa proti značilnim antigenom: Elisa, Indirektna IF, Pretočna citometrija	<i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>P. gingivalis</i>
Direktna imunofluorescenca	<i>S. mutans</i> , <i>P. gingivalis</i>
Hibridizacija DNK, DNK PCR	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>B. forsythus</i> , <i>T. denticola</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i>

Najhitrejša je neposredna mikroskopska preiskava kužnine v prenosnem gojišču, ki jo izvedemo tako, da kapljico suspenzije, v kateri so bakterije, prenesemo na predmetnico, prekrijemo s krovnim stekelcem in opazujemo v temnem polju. Štejemo posamezne morfoti-



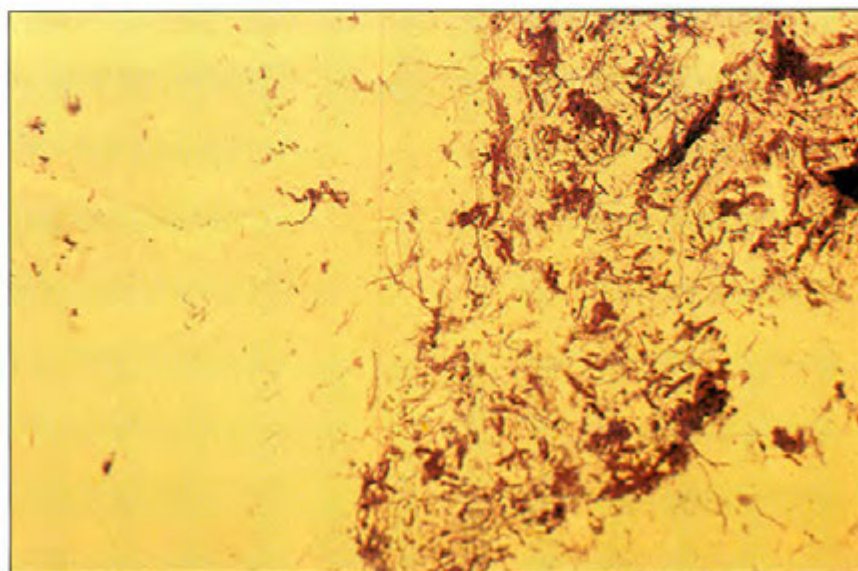
Slika 37: Koki in bacili v subgingivalni mikroflori

pe, koke, gibljive in negibljive bacile, nitaste in vretenaste bacile, spirohete in vnetne celice v več vidnih poljih do skupnega števila prešteti bakterij 100 ali 200 (slika 37).

Izračunamo razmerje zastopanosti morfortipov v odstotkih glede na preiskano število vseh morfortipov.

Tabela 27: Razmerje morfortipov bakterij v odstotkih pri različnih stanjih obzobnih tkiv – mikroskopska preiskava v temnem polju

Vrste morfortipov	Zastopanost morfortipov v odstotkih		
	Zdravi	Gingivitis	Parodontitis
male spirohete	2,1	13,1	31,9
srednje spirohete	0,0	2,9	8,4
velike spirohete	0,0	0,8	1,7
mali gibljivi bacili	0,5	0,9	6,6
veliki gibljivi bacili	0,4	2,2	2,9
ukravljeni gibljivi bacili	0,7	5,1	15,9
nitasti bacili	3,6	3,5	1,7
fuziformni bacili	6,9	17,1	9,0
mali negibljivi bacili	17,9	37,9	13,1
koki	66,2	14,5	3,9
druge negibljive bakterije	1,7	2,0	4,9



Slika 38: Mikroskopska preiskava subgingivalne obloge iz parodontalnega žepa (barvanje po Gramu): koki, bacili, spiralne bakterije



Nekoliko dlje traja preiskava, če naredimo razmaz, ki ga obarvamo po Gramu (slika 38) ali z drugimi barvili.

Prednost prvega načina je opazovanje živih bakterij, pri drugem načinu pa jasneje vidimo posamezne morfotipe in jih tudi lahko razvrščamo v grampozitivne in gramnegativne. Če želimo ugotavljati gibljivost, je potrebno posebno barvanje, kar poveča zamudnost postopka.

Mikroskopsko vidimo ponavadi več vrst bakterij, kot jih lahko kultiviramo, ker bi za kultivacijo rabili zelo veliko različnih gojišč za dokaz raznih bakterijskih vrst.

Metoda preiskave v temnem polju (slika 40) je hitra in poceni. Rezultati so v primerni korelaciji s patološkim procesom. Pri zdravi dlesni (slika 39) vidimo v dlesenskem sulkusu prevladujočo kokoidno floro.



Slika 39: Zdrava dlesen – mikroskopska preiskava v temnem polju (malo bakterij, predvsem koki)



Slika 40: Mikroskopska preiskava subgingivalne mikroflore pri parodontitisu – temno polje

Pri subgingivalni mikroflori iz parodontalnega žepa (slika 41) vidimo gramnegativne paličaste, pri večjih okvarah pa tudi gibljive, ukrivljene in spiralne morfolitipe.



Slika 41: Subgingivalna mikroflora iz parodontalnega žepa

Za natančni študij bakterij v stomatološki materialih ter za določanje občutljivosti na kemoterapevtike uporabljamo kvantitativno kultivacijo kužnin. Natančna kvantitativna ocena je možna tako, da vzorec merimo ali tehtamo in rezultat izražamo v številu bakterij na  $\text{cm}^3$  ali gram. Ugotavljamo skupno število bakterij in prevladujoče kariogene ter parodontopatogene bakterije v številčnem in odstotnem razmerju.

Uporabljamo bakteriološka gojišča, ki so namenjena osamitvi fakultativnih anaerobov, mikroaerofilnih in anaerobnih bakterij ter vsaj dve atmosferi: s povečano količino  $\text{CO}_2$  (10%) in za anaerobno gojitev z izsesavanjem zraka in nadomeščanjem z 80%  $\text{N}_2$ , 10%  $\text{CO}_2$  in 10%  $\text{H}_2$  (anaerobna atmosfera) ali 10%  $\text{CO}_2$  in 90%  $\text{H}_2$  (Gas-Pak, Oxoid).

Za osamitev odontopatogenih bakterij uporabljamo krvni agar, agar *mitis salivarius* in čokoladni agar. Za osamitev najpogostejših parodontopatogenih bakterij pa anaerobni krvni agar z dodatkom hemina in vitamina K (z antibiotiki in brez antibiotikov), ter še druga zapletena selektivna gojišča, za osamitev aktinomicet, laktobacilov in spirohet.

Večina teh bakterij je zahtevnih za rast, zato potrebujejo 2–21 dni za osamitev, odvisno od vrste bakterije. Kljub temu predstavljajo kultivacijske metode standardne tehnike, s katerimi primerjamo vse os-



Slika 42: Posoda za anaerobno gojitev (Oxoid)

tale metode, ki so danes v uporabi, kot so molekularno biološke, ker so le te hitrejše, primerno občutljive in specifične.

Enostavnejše diagnostične metode so tudi take, ki so prirejene v obliki gojišč, nanesenih na ploščico, ki jo oblijemo s slino (metoda dip slide), da bi po inkubaciji 2–4 dni ugotovili, kolikšno število streptokokov mutans ali laktobacilov je v  $\text{cm}^3$  sline (slika 40). Ta metoda omogoča relativno hitro epidemiološko sliko razširjenosti kariesa v dolo-



Slika 43: *Lactobacillus*, *S. mutans* dip slide kit (Dentocult® SM in LB – Orion Diagnostika)

čeni skupini otrok ali odraslih. Temelji na predpostavki, da se pri zobni gnilobi streptokoki skupine mutans in laktobacili zaradi prebitka na zobeh kopičijo tudi v slini in so tako posreden dokaz karioznih zob v ustih. Te metode so orientacijske in uporabne v praksi. Za natančno raziskovalno delo je potrebno uporabljati klasični način kultivacije bakterij.

Znani so imunski testi, encimsko-immunski test in test indirektna imunofluorescence, ki temeljijo na dokazovanju protiteles proti značilnim bakterijskim antigenom (*P. gingivalis*, *A. actinomycetem comitans*), ki jih dokazujemo v dlesenski tekočini, parodontalnem žepu ali serumu. Največkrat dokazujejo zvečano količino IgG-protiteles. Uveljavlja se tudi metoda pretočne citometrije.

V parodontologiji se uveljavljajo tudi hitri encimski testi, ki temeljijo na hidrolizi sintetičnega tripsinskega substrata N-benzoil-DL-arginin-p-naftilamida (BANA), pod vplivom encimov bakterij *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* in *Bacteroides forsythus*, kar se izraža kot sprememba barve ob dodatku Evansovega modrila. Barvo zaznamo optično ali fotometrično. V tem slednjem primeru je preiskava tudi kvantitativna.

## Testi za dokaz bakterijskih antigenov

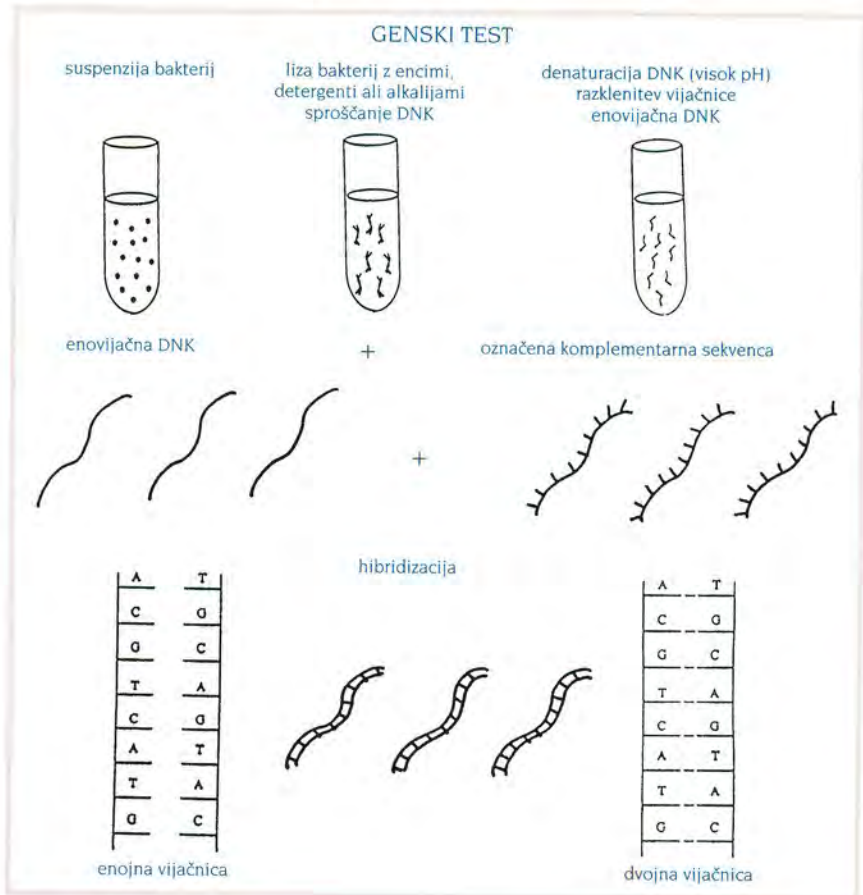
Dokaj specifične in občutljive so metode indirektna imunofluorescence za odontopatogene ali parodontopatogene bakterije, za katere so reagenti prirejeni tako, da so praviloma protikunčja protitelesa vezana s fluorokromom, kar omogoča neposredno opazovanje števila teh bakterij v subgingivalni mikroflori vendar v imunofluorescenčnem mikroskopu. Menijo, da so poliklonska protitelesa večkrat križno reaktivna in dobimo lahko lažno pozitivne reakcije. Pri uporabi monoklonskih protiteles pa kaže, da se pojavljajo lažno negativni rezultati.

Opisujejo ugotavljanje parodontopatogenih bakterij (*P. gingivalis* in *T. denticola*) z metodo dot blot (slot immunoblotting). Subgingivalno mikrofloro so suspendirali v puferirani fiziološki raztopini, in jo nanesli na najlonsko membrano. Po inkubaciji s specifičnim kunčjim imunskim serumom in z alkalno fosfatazo označenimi protikunčjimi protitelesi, so z dodatkom primerne encima spremenili barve, če so bile iskane bakterije prisotne. Metoda je videti hitra in specifična.

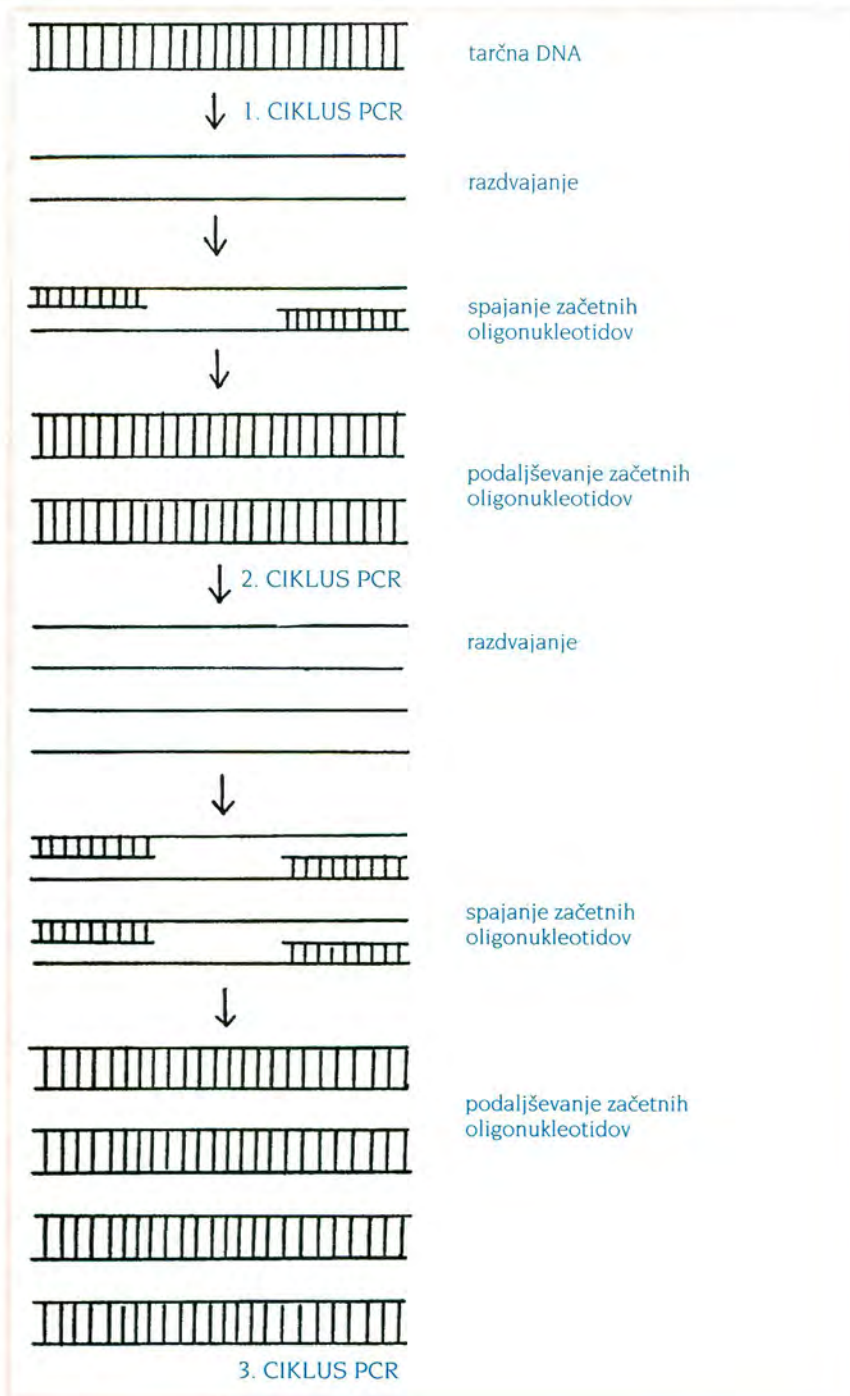
Specifični, hitri in občutljivi so genski testi na osnovi hibridizacije nukleinskih kislin, ki odkrivajo specifične sekvence nukleinskih kislin, značilnih za določeno bakterijo.

Bakterijsko DNK sprostim iz celice in nato največkrat z zvišanjem temperature (95 °C) omogočimo razklenitev dvojne vijačnice na posamezno enovijačno verigo nukleinske kisline. Tako obdelanemu vzorcu dodamo radioaktivno ali neradioaktivno označeno vijačnico,

ki je komplementarna najbolj značilnemu odseku genoma določene bakterije in jo imenujemo sonda, proba ali lovka. Pri postopnem zniževanju temperature se komplementarne vijačnice (tudi bakterijska in sonda) spet združijo, kar imenujemo hibridizacija. Rezultate hibridizacijskih testov opazujemo na filmu občutljivem na sevanje, kadar uporabljamo radioaktivno označene sonde ali neposredno na membrani, kjer je potekala hibridizacija kot barvne madeže ali lise, kadar uporabljamo neradioaktivno označene sonde. Reakcija se lahko izvaja v epruveti ali na najlonski membrani (shema 5). Z njo lahko potrdimo identiteto zelene bakterije ali pa njeno prisotnost neposredno v kužnini. Metoda je lahko kvantitativna in odkriva  $10^3$  ali več bakterij v vzorcu. Seveda pa z njo lahko dokažemo prisotnost tudi že mrtvih bakterij. Hibridizacijski testi DNK so na voljo predvsem za *A. actinomycetemcomitans*, za *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. denticola*.



Shema 5: Prikaz poteka genskega testa



Shema 6: Shema verižne reakcije s polimerazo (M. Poljak)

V zadnjem času se v parodontologiji uveljavlja hitra metoda diagnostike parodontogenih bakterij na osnovi pomnoževanja nukleinskih kislin (DNK in RNK) z verižno metodo polimeraze (shema 6).

V epidemiološke namene, kjer želimo ugotoviti povezanost ali različnost bakterijskih sevov v ustih pri različnih ljudeh in njihovo kroženje v populaciji, pa so razen že dolgo znanih načinov (biotipizacija, serotipizacija) vse bolj uporabljajo molekularno biološke metode tipizacije kot so restrikcijska analiza kromosomne DNK z endonukleazami, analiza kromosomske DNK z elektroforezo v utripajočem električnem polju (pulsed field electrophoresis-PFGE) in analiza po Southernu (Southern blot), kjer restrikcijske fragmente DNK, ki smo jih dobili z elektroforezo, v gelu prenesemo na nitrocelulozno ali najlonsko membrano ter specifične sekvence dokažemo s hibridizacijo z označenim komplementarnim delcem DNK. Variacije v številu in velikosti teh fragmentov imenujemo polimorfizem dolžine restrikcijskih fragmentov (RFLP – restriction fragment length polymorphism). Za genomске analize bakterijskih klonov izkoriščajo tudi verižno reakcijo s polimerazo s pomnoževanjem genomске DNK, oligonukleotidne genske teste za 16S ribosomo RNK in druge metode.

### **Literatura**

Dragaš AZ, Gubina M, Hren-Vencelj H, Logar J, Stropnik Z. Možnosti laboratorijske diagnostike mikrobnih povzročiteljev bolezni. Hren-Vencelj H ed, Ljubljana: Medicinska fakulteta 1992.

Haffajee AD, Socransky SS, Dibart S. The use of DNA probes to examine the distribution of subgingival species in subjects with different levels of periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 84–91.

Hong L, Califano JV, Schenkein HA, Tew JG. Immunglobulin class and subclass distribution of antibodies reactive with the immunodominant antigen of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b. *Inf Immun* 1993; 61: 2400–7.

Lah S. Korelacija bakterijske sestave subgingivalnega plaka z globino sondiranja in s stopnjo indeksa krvavitve pri sondiranju. Mentorja Dragaš AZ in Grošelj D. Raziskovalna naloga nagrajena s Prešernovo nagrado Medicinske fakultete za leto 1990.

Loesche WJ, Bretz WA, Kerschensteiner D, Stoll J, Socransky SS, Hujuel PH, Lopatin DE. Development of a diagnostic test for anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1551–9.

Praktikum iz mikrobiologije za študente stomatologije. Dragaš AZ ed. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1995; 8–14, 19–64, 78, 110–112, 122–125.

Tofant S. Spremljanje aktivnosti parodontalnih bolezni s pomočjo mikroskopskih metod. Mentorja Dragaš AZ in Grošelj D. Raziskovalna naloga nagrajena s Prešernovo nagrado Medicinske fakultete za leto 1987.

Van Poperin N, Lopatin DE. Slot immunoblot assay for detection and quantitation of periodontal disease-associated microorganisms in dental plaque. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2554–8.

Whitney C, Ant J, Moncla B, Johnson B, Page RC, Engel D. Serum immunoglobulin G antibody to *Porphyromonas gingivalis* in rapidly progressive periodontitis: titer, avidity and subclass distribution. *Inf Immun* 1992; 60: 2194–200.

Williams RC, Howell TH. New technologies for the diagnosis of periodontal disease. *J Prosthet Dent* 1993, 69: 551–7.



Ana Zlata Dragaš  
ORALNA BAKTERIOLOGIJA

Izdala in založila: DZS, d.d.  
Za DZS: Adi Rogelj  
Za izobraževalno založništvo: Irena Junkar  
Urednik: Tine Logar  
Opremila in grafično uredila: Meta Škrabar  
Stavek in prelom: SYNCOMP  
Tisk: DAN, d.d., Ljubljana

Ljubljana 1996  
Prva izdaja

Gradivo je smotrno pripravljeno in didaktično pravilno urejeno. Slike in sheme dodatno pojasnjujejo vsebino oralne mikrobiologije z imunologijo, ki je primerna za študente stomatologije, medicine in drugih naravoslovnih visokošolskih smeri kakor tudi za podiplomce in visokošolske učitelje pri pripravi predavanj.

Nomenklatura je posodobljena, hkrati pa je omenjena tudi stara taksonomija oralne mikrobiologije, ki bo prišla prav tudi pri branju druge literature s področja.

Široko je obravnavan pomen gostiteljevih substratov pri prehrani oralne mikroflore in zapleteno razmerje med imunskim odgovorom in normalno ustno tratico.

*Doc. dr. stom. Dušan Grošelj*

Vsebino ocenjujem zelo pozitivno. V njej je vse, kar potrebuje študent stomatologije po katalogu znanja za izpit iz predmeta *oralna mikrobiologija*.

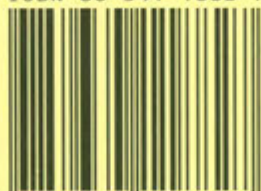
Gradivo je obdelano v lepi slovenščini in na razumljiv način. Opremljeno je s številnimi preglednicami in slikami, povečini barvnimi, kar bo olajšalo študij in razumevanje snovi.

Mikroorganizmi so poimenovani po moderni taksonomiji. Dodano je tudi poglavje *Imunska dogajanja v ustni votlini*, ki ga je prispeval doc. dr. Alojz Ihan.

*Prof. dr. Stanko Banič*



ISBN 86-341-1882-7



1 788634 118827