

Učinak struganja i poliranja korijena na kliničke i mikrobiološke čimbenike parodontnih bolesti

Marija Ivić-Kardum¹
Igor Jurak²
Koraljka Gall-Trošelj²
Krešimir Pavelić²
Andrej Aurer¹
Lejla Ibrahimagić³

¹Zavod za parodontologiju
Stomatološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu

²Zavod za molekularnu
medicinu
Institut "Ruđer Bošković" u
Zagrebu

³Dom Zdravlja Zenica, BiH

Sažetak

Postojanje parodontnih patogena u subgingivnoj flori parodontitisa rizik je za napredovanje parodontne bolesti. Zato mikrobiološka dijagnostika ima opravdanu indikaciju u otkrivanju patogena, praćenju uspjeha terapije i ishoda bolesti. Svrha ovoga rada bila je prikazati učinak struganja i poliranja korijena (SRP) na kliničke i mikrobiološke čimbenike u 28 pacijenata s kroničnim i agresivnim parodontitisom. Klinička procjena i mikrobiološko testiranje provedeni su prije mehaničke terapije (SRP) i tri mjeseca nakon terapije. Klinički je utvrđeno postojanje ili nepostojanje bakterijskoga plaka i gingivnoga krvarenja, te je određena dubina sondiranja i gubitak pričvrstka prije struganja i poliranja korijena te tri mjeseca nakon toga. Uzorci subgingivnoga plaka uzeti iz parodontnih džepova analizirani su tehnikom lančane reakcije polimeraze (PCR) na nazočnost sedam bakterijskih patogena. Rezultati kliničkih pokazatelja i čestota bakterijskih vrsta analizirani su prije i poslije terapije Wilcoxon- testom rangova. Srednja vrijednost dubine sondiranja izrazito se je smanjila, od 3,9 na 3 mm. Gubitak pričvrstka smanjio se je umjereno, i to od 4,1 na 3,8 mm. Srednja vrijednost plaka i gingivnoga krvarenja također su smanjeni nakon terapije. Čestota subgingivnih patogena u ispitanika bila je sljedeća: samo jedna patogena vrsta nađena je u 28,6% ispitanika, dvije vrste u 46,4% i tri u 14,3% ispitanika. Najčešće zastupljeni ispitivani patogeni bili su: *Bacteroides forsythus* u 85,7%, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.) i *Fusobacterium nucleatum* u 32,1% ispitanika. Nakon terapije čestota patogena umjereno se je smanjila. Ukupni broj ispitivanih patogena smanjio se je u 12 ispitanika i taj nalaz bio je statistički znatan ($p=0,001$). U 16 ispitanika broj patogena ostao je isti, a nije se povećao ni u jednog ispitanika. Nalazi pokazuju da se struganjem i poliranjem korijena u liječenju parodontitisa djelotvorno postiže kliničko i mikrobiološko poboljšanje smanjenjem čestote patogena odgovornih za napredovanje bolesti.

Ključne riječi: parodontitis, struganje i poliranje korijena, mikrobiologija.

Acta Stomat Croat
2001; 33-38

IZVORNI ZNANSTVENI
RAD
Primljeno: 13. srpnja 2000.

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Marija Ivić-Kardum
Zavod za parodontologiju
Stomatološki fakultet
Gundulićeva 5, 10000 Zagreb

Uvod

Struganje i poliranje korijena najčešće je upotrebljavani oblik mehaničke terapije u tretmanu parodontitisa i čini "zlatni standard" terapije u usporedbi s drugim terapijskim postupcima (1,2). Provođi se ne samo u početnome liječenju parodontnih bolesti već i u održavanju postignutog stanja te u prevenciji recidiva bolesti. Klinički učinci struganja i poliranja korijena pokazuju uglavnom smanjenu dubinu sondiranja i dobitak pričvrstka (3).

Velik dio parodontitisa moguće je stabilizirati s pomoću klasičnoga mehaničkog tretmana, kao što je struganje i poliranje korijena. Međutim, zbog invazije na tkivo parodontnih patogena, kao što su *Porphyromonas gingivalis* ili *Actinobacillus actinomycesetemcomitans* (A.a.), mehanička terapija često nije dovoljna da se uklone bakterije iz parodontnog džepa.

Stoga, unatoč brižljivu tretmanu nastaje brzo napredovanje gubitka pričvrstka i resorpcije alveolne kosti. U tim slučajevima može biti djelotvorna antimikrobna popratna terapija. Izbor djelotvornog sredstva i način aplikacije određuje se utvrđivanjem sastava, subgingivne flore i kliničke slike parodontitisa. Negativni nalaz testa može u većini slučajeva biti odraz inaktivnosti bolesti, a postojanje parodontnih patogena upozorava na rizik napredovanja destrukcije parodonta (4). Zato mikrobiološka dijagnostika ima opravdanu indikaciju u oblicima parodontnih bolesti kao što su agresivni (prepubertetni, juvenilni, rapidni) i teški oblici kroničnog parodontitisa. Brojne studije u praćenju uspjeha terapije struganjem i poliranjem korijena primjenjuju tehniku mikroskopije tamnog polja i fazno kontrastnu mikroskopiju.

Rezultati tih studija pokazali su da je broj spiroheta i pokretnih vrsta bakterija reduciran nakon terapije, a da su koki i nepokretne vrste bili povećani (5,6). Druge studije, koje su se koristile bakterijskom kulturom, pokazale su smanjenu zastupljenost skupina mikroorganizama kao što su "crno pigmentirani Bacteroides" ili specifičnih vrsta kao *Porphyromonas gingivalis* i A.a. (7,8,9). No, druge su studije, služeći se sličnim tehnikama, pokazale minimalan učinak struganja i poliranja korijena na subgingivnu mikrofloru, osobito na A.a. (10,11,12).

Mnogo češće, upotreba tehnika ELISA i DNA sonde pokazala je redukciju broja *Porphyromonas gingivalis* nakon struganja i poliranja korijena (13, 14).

U studiji Haffajee i sur. (15) primijenjena je tehnika DNA-DNA hibridizacije u detekciji i praćenju redukcije broja parodontnih patogena u kroničnom parodontitisu prije i poslije struganja i poliranja korijena.

Napretkom tehnologije na polju parodontne mikrobiologije moguće je na velikom broju uzoraka procijeniti široki spektar bakterijskih vrsta subgingivnoga plaka. Posljednjih je godina nekoliko istraživača na polju parodontologije uspješno razvilo primjenu tehnike lančane reakcije polimeraze (PCR, polymerase chain reaction). Za detekciju specifičnih mikroorganizama kao što su *Actinobacillus actinomycesetemcomitans* i *Porphyromonas gingivalis* u uzorcima bakterijskog plaka.

Svrha ovoga rada bila je procijeniti mikrobiološke i kliničke učinke struganja i poliranja korijena u 28 ispitanika s parodontitisom i to 3 mjeseca nakon terapije metodom lančane reakcije polimeraze, PCR (16,17).

Materijal i metode

Izbor ispitanika

U istraživanje su uključene osobe koje su došle u Zavod za parodontologiju zbog simptoma parodontitisa. Ispitanici su bili stariji od 20 godina, imali su najmanje 20 prirodnih zuba s više zuba dubine parodontnih džepova 4 mm i gubitkom pričvrstka 3 mm.

Ispitanici koji su imali sustavske bolesti i uzimali antibiotsku terapiju u posljednja 3 mjeseca nisu ispitivani. U ispitivanju je uključeno ukupno 28 ispitanika, od toga 19 s kroničnim parodontitisom i 9 s agresivnim. Provedena je klinička i mikrobiološka procjena prije i poslije tretmana.

Klinička procjena

Za procjenu stanja parodonta određeni su bakterijski plak, gingivno krvarenje, dubina sondiranja

i razina pričvrstka. Supragingivni plak i gingivno krvarenje zabilježeni su kao postojanje ili nepostojanje, tj. 0 ili 1. Dubina sondiranja mjerena je na četiri mjesta na zubu i to kao udaljenost od gingivnoga ruba do dna parodontnog džepa graduiranom parodontnom sondom. Retrakcija gingive određena je vestibularno i oralno od caklinsko cementnog spojišta do ruba gingive.

Za procjenu razine pričvrstka upotrebene su vrijednosti dubine sondiranja i retrakcije gingive. Uzorak subgingivnoga plaka uzet je iz parodontnih džepova. Zatim je provedena inicijalna terapija parodonta kojom se je uklonio supragingivni plak i zubni konkrementi te pacijentu dana poduka o oralnoj higijeni. Nakon lokalne anestezije proveden je zahvat struganja i poliranja korijena svih zuba. Mikrobiološki uzorak uzet je ponovno 3 mjeseca nakon zahvata. Uzorci subgingivnoga plaka uzeti su s pomoću sterilnih papirnatih pointa uronjenih u parodontne džepove ispitivanih zuba te u transportnome mediju preneseni u laboratorij.

Statistička raščlamba

Razlike pojedinih pokazatelja parodontitisa (plak, gingivno krvarenje, dubina sondiranja, gubitak pričvrstka i čestota bakterija) prije i poslije terapije struganja i poliranja korijena (SRP) testirane su Wilcoxon Signed Rank testom.

Mikrobiološki postupci

Uzorci su uzimani iz parodontnoga džepa sterilnim papirnatim konusom i prebačeni u Eppendorf epruvetu napunjenu s 1,5 ml pufera za digestiju (50 mM Tris-Cl, mM EDTA, 0,5% Tween 20, pH 8,5) i bili su zamrznuti sve do početka izdvajanja DNA (18). Nakon snažnoga miješanja uzorka konusi su odstranjeni i u svaku je dodan enzim Proteinaza K u konačnoj koncentraciji 100 µg/ml. Uzorci su uz umjerenu trešnju inkubirani na 37° C tijekom noći. Nakon toga su razdvojeni u dvije mikroeprove (2x 750µl) i DNA je izdvojena s dvije fenol/kloroform ekstrakcije, a zatim istaložena na -20° C dodavanjem 2 V apsolutnog ledenog etanola. Na dobiveni talog, nastao nakon centrifugiranja na 10000 x g

tijekom 10 minuta, dodano je 15-20 µl pufera TE, pH 8,0 (19). Količina i kakvoća DNA provjereni su u 1% gelu agaroze u kojem je bio etidij-bromid; količina DNA određena je prema poznatom standardu DNA.

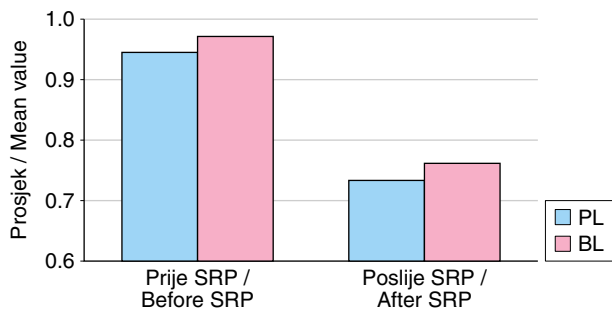
U reakciji PCR upotrebjeno je 7 parova početnih oligonukleotida kojima je dokazivano postojanje DNA sljedećih bakterija: *Actinobacillus actinomycescomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Bacteroides forsythus* (Bf), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Streptococcus mitis* (Sm) i *Leptotrichia buccalis* (Lb). Za prve četiri bakterije uporabljani su početni oligonukleotidi već opisani u literaturi, a potonja tri konstruirani su u Zavodu za molekularnu medicinu Instituta "Ruđer Bošković" na temelju slijeda DNA bakterija koje su dostupne u genskoj banci (20,21).

Reakcijske smjese volumena 25 µl sadržavale su 2-4 µl otopljene DNA, 10 mM Tris-Cl pH 8,3, 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 200 µM deoksinukleotide, 10 pmola svakoga početnog oligonukleotida i 0,75 jedinica rekombinantne Taq polimeraze. Reakcije su izvedene u aparatu Perkin Elmer ThermoCycler 2400, tijekom 35 ponavljajućih ciklusa koji su se sastojali od denaturacije 96° C 30 sekundi, 58° C 35 sekundi (nalijeganje) i 72° C 40 sekundi (produljavanje). Šest mikrolitara umnoženog odsječka nanoseno je u 2%-om gelu agaroze obojen etidij-bromidom, uz nazočnost poznatog standarda DNA: prije umnažanja odsječka DNA bakterija u svakom je uzorku omnožen odsječak gena za β-globin čovjeka. Na taj je način izbjegnuta mogućnost lažno negativnih rezultata koji bi se mogli pojaviti u slučaju postojanja zaostalih inhibitora u izdvojenoj DNA.

Rezultati

U uzorku od ukupno 28 ispitanika bilo je 9 muških i 19 ženskih. Podjela uzorka prema dijagnozama bila je: 19 ispitanika s kroničnim parodontitisom i 9 s agresivnim parodontitisom. Srednja vrijednost bakterijskoga plaka bila je 0,94, gingivnog krvarenja 0,98, dubine sondiranja 3,9 mm i gubitka pričvrstka 4,1 mm. Na Slici 1 prikazani su učinci struganja i poliranja korijena (SRP) na kliničke pokazatelje parodontitisa. Prosječna vrije-

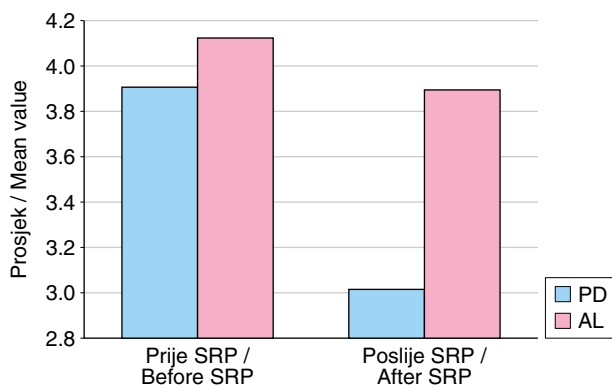
dnost plaka smanjila se je s 0,94 na 0,72, a gingivnog krvarenja s 0,98 na 0,75 poslije zahvata. Na slici 2 prikazani su rezultati prosječnih vrijednosti dubine sondiranja i gubitka pričvrstka. Tako je srednja vrijednost dubine sondiranja izrazito smanjena s 3,9 mm na 3,0 mm, a smanjenje gubitka pričvrstka bilo umjereno i to s 4,1 mm na 3,8 mm.



SRP - Struganje i poliranje korijena / Scaling and root planing
 PL - Bakterijski plak / Bacterial plaque
 BL - Gingivno krvarenje / Gingival bleeding

Slika 1. Prosječne vrijednosti plaka i gingivnoga krvarenja prije i poslije struganja i poliranja korijena (SRP)

Figure 1. Mean plaque and gingival bleeding values before and after scaling and root planing (SRP)

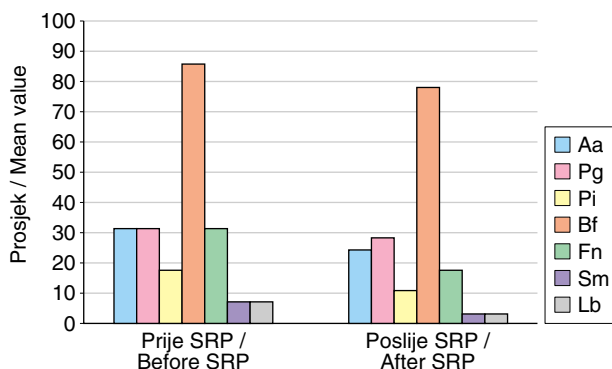


Slika 2. Prosječne vrijednosti dubine sondiranja i gubitak pričvrstka prije i poslije SRP

Figure 2. Mean pocket depth and attachment loss before and after SRP

Čestoća sedam subgingivnih patogena promatranih prema svakom ispitaniku bila je sljedeća: samo jedna vrsta otkrivena je u 28,6% ispitanika, dvije u 46,4% i tri u 14,3%. Četiri vrste patogena nađene su u jednog ispitanika i pet vrsta subgin-

givnih patogena u dva ispitanika. Dakle, najčešća prosječna zastupljenost prema svakom ispitaniku bila je dvije subgingivne vrste patogena. Čestoća subgingivnih vrsta ispitivanih na početku i tri mjeseca nakon inicijalne terapije, struganja i poliranja korijena, prikazani su na Slici 3. Rezultati raščlambe postojanja bakterija pokazale su da je u ukupnom uzorku ispitanika A.a. nađen u 32,1% ispitanika a nakon zahvata u 25% ispitanika, što znači da je A.a. eliminiran u 7,1% ispitanika. *P. gingivalis* nađen je na početku u 32,1% ispitanika, a nakon terapije u 28,6%, eliminacija je bila u svega 7,1% ispitanika.



SRP - Struganje i poliranje korijena / Scaling and root planing
 Aa - *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
 Pg - *Porphyromonas gingivalis*
 Pi - *Prevotella intermedia*
 Bf - *Bacteroides forsythus*
 Fn - *Fusobacterium nucleatum*
 Sm - *Streptococcus mitis*
 Lb - *Leptotrichia buccalis*

Slika 3. Prevalencija parodontnih patogena prije i poslije SRP

Figure 3. Prevalence of periodontal pathogens before and after SRP

Čestoća *P. intermedia* bila je na početku u 17,9% ispitanika, a nakon terapije 10,7% i do eliminacije je došlo u 7,2% ispitanika. *B. forsythus* bio je najčešće zastupljen u 85,7% ispitanika, a nakon zahvata eliminacija je nastala u samo dva (7,1%) ispitanika.

Zastupljenost *Fusobacterium nucleatum* bila je u 32% ispitanika na početku, a nakon terapije u 17% ispitanika. *Streptococcus mitis* i *Leptotrichia buccalis* nađeni su u 3,6% ispitanika prije terapije i eliminirani su samo u jednog ispitanika.

Čestoća ukupno ispitivanih subgingivnih vrsta smanjila se u 12 ispitanika i taj nalaz bio je statistički znatan ($p=001$). U 16 ispitanika nije bilo promjene broja bakterija, a u ni jednog se ispitanika broj bakterija nije povećao.

Rasprava

Svrha ovog ispitivanja bila je ustanoviti kliničke i mikrobiološke promjene nastale tri mjeseca nakon inicijalne terapije, struganja i poliranja korijena (SRP) u 28 ispitanika s kroničnim i agresivnim parodontitisom. Ispitanici su promatrani kao ukupna skupina budući da se nisu pokazale znatne razlike promatranih parametara u suporedbi s dijagnozom. Rezultati su pokazali očito kliničko poboljšanje u obliku smanjenoga gingivnoga krvarenja i bakterijskoga plaka. Srednje vrijednosti dubine sondiranja i gubitka pričvrstka izrazito su smanjene, što potvrđuje uspješnost mehaničke terapije struganja i poliranja korijena. Rezultati se mogu usporediti s nalazima drugih ispitivanja koja opisuju kliničko poboljšanje tijekom postizanja stabilnosti parodontne bolesti (3,10,22,23). Kliničke promjene prikazane u ovome radu mogu se povezati s promjenama u nazočnosti subgingivnih patogena. Najčešće zastupljeni subgingivni patogeni prije terapije bili su: *B. forsythus*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum* i *P. intermedia*. U samo dva ispitanika dokazano je postojanje suspektnih patogena *Leptotrichia buccalis* i *Streptococcus mitis*.

Nakon inicijalne terapije (SRP) postotak zastupljenosti navedenih patogena bio je smanjen. Tako je u 12 osoba čestoća ispitivanih patogena bila znatno manja, u 16 je ostala ista, a ni u jednog bolesnika nije povećan broj bakterija.

Najčešće zastupljen parodontni patogen bio je *B. forsythus* i svi promatrani ispitanici imali su barem jedan ispitivani patogen. Smanjenje ukupnoga broja patogena nakon terapije bilo je statistički znatno ($p = 0,01$). Slična ispitivanja provedena tijekom dužega razdoblja o učinku SRP pokazala su smanjenu čestoću i razinu subgingivnih patogena tri mjeseca nakon terapije. Takvo stanje zadržalo se je uz neznatne promjene u daljnjem razdoblju održavanja uspjeha terapije postignutog inicijalnom terapijom.

Zaključak

Budući da je SRP najčešći oblik inicijalne parodontne terapije, i u početnoj fazi i u održavanju postignutog stanja zahvat nije u svim slučajevima dovoljan da se postigne najbolji učinak. To se osobito odnosi na duboke parodontne džepove i komplicirane intraosealne defekte kada je potrebna intervencija parodont kirurškim zahvatom i primjena antimikrobnoga sredstva. Ipak, rezultati ovog ispitivanja, potpomognuti poboljšanim kliničkim nalazom i smanjenim brojem specifičnih subgingivnih patogena, pokazuju na svrsishodnost struganja i poliranja korijena u inicijalnoj fazi terapije parodontitisa.

Literatura

- LINDHE J, WESTFELT E, NYMAN S, SOCRANSKY S, HAFFAJEE AD. Longterm effect of surgical/nonsurgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984; 11:448-58.
- RAMFJORD SP, CAFFESE RG, MORRIDON EC et al. 4 modalities of periodontal treatment compared over 5 years. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 445-52.
- KALDAHL WB, KALKWARF KL, PATIL K. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol* 1993; 64:243-53.
- PURUCKER P. Mikrobiologie der Parodontitis - die infektiöse Natur der Parodontitis. *Parodontologie* 1991; 3:207-22.
- LAVANCKY DL, BICKEL M, BAEHNI PC. The effect of plaque control after scaling and root planing on the subgingival microflora in human periodontitis. *J Clin Periodontol* 1987; 14: 295-9.
- MULLER HP, HARTMANN J, FLORES-DE-JACOBY L. Clinical alteration in relation to the morphological composition of the subgingival microflora following scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 1986;13:825-32.
- PEDRAZZOLI V, KILIAN M, KARRING T, KIRKEGAARD E. Effect of surgical and non-surgical periodontal treatment on periodontal status and subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*1991;18:598-604.
- ALI RW, LIE T, SKAUG N. Early effects of periodontal therapy on the detection frequency of four putative periodontal pathogens in adults. *J Periodontol* 1992; 63: 540-7.
- SBORDONE L, RAMAGLIA L, GULLETA E, IACONO V. Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *J Periodontol* 1990; 61:579-84P.

10. GUNSOLLEY JC, ZAMBON JJ, MELLOTT CA et al. Periodontal therapy in young adults with severe generalized periodontitis. *J Periodont* 1994; 65: 265-73.
11. MOMBELLI A, GMUR R, GOBBI C, LANG NP. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodont* 1994; 65: 827-34.
12. NIEMINEN A, SIREN E, WOLF J, ASIKAINEN S. Prognostic criteria for the efficiency of non-surgical periodontal therapy in advanced periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995; 22:153-61.
13. LOWENGUTH RA, CHIN I, CATON JG et al. Evaluation of periodontal treatment using controlled-release tetracycline fibers: microbiological response. *J Periodont* 1995; 66: 700-7.
14. SIMONSON LG, ROBINSON PJ, PRANGER RJ et al. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. *J Periodont* 1995; 63:270-3.
15. HAFFAJEE AD, CUGINI MA, DIBART S et al. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 324-34.
16. LEYS EJ, GRIFFEN AL, STONG SJ, FUERST PA. Detection and strain identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* by nested PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1288-94.
17. FLEMMING TF, RUDIGER S, HOFMANN K et al. Identification of *Actionobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque by PCR. *J Clin Periodontol* 1995; 33: 3102-5.
23. MRAVAK-STIPETIĆ M, GALL-TROŠELJ K, LUKAČ J, KUSIĆ Z, PAVELIĆ K, PAVELIĆ J. Detection of *Helicobacter pylori* in various oral lesions by nested polymerase chain reaction. *J. Oral Pathol Med* 1998; 27:1-3.
24. SAMBROOK J, FRITSCH EF, MANIATIS F. Molecular cloning. A laboratory manual 2-nd edition. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press 1989.
25. WATANABE K, FROMEMEL TO. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. *J Dent Res* 1993; 72:1040-4.
26. ASHIMOTO A, CHEN C, BAKKER I, SLOTS J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1996;11:266-73.
27. GMUR R, SAXER UP, & GUGGENHEIM B. Effect of blunt scaling on periodontal status and subgingival microorganisms. A pilot study. *Schweizer Monatsschrift für Zahnmedizin* 1994;104: 430-9.
28. HAFFAJEE AD, CUGINI MA, DIBART S et al. Clinical and microbiological parameters in subjects who responded poorly to scaling and root planing. *J Clin Periodontol* 1997 b;24:767-76.