

MODIFICĂRI CLINICE ȘI MICROBIOLOGICE ÎN MICROFLORA SUBGINGIVALĂ DUPĂ APLICAREA TRATAMENTULUI MECANIC PARODONTAL

Summary

CLINIC AND MICROBIOLOGICAL CHANGES IN SUBGINGIVAL MICROFLORA AFTER PERIODONTAL THERAPY

Objective: To investigate (1) reduction in the number of microorganisms obtained directly after subgingival instrumentation, (2) rate of bacterial re-colonization during 2 weeks, under subgingival plaque-free conditions.

Materials and Methods: Effects of subgingival instrumentation were measured at one deep pocket in 22 patients (11 smokers and 11 non-smokers). Immediately after initial therapy, experimental sites, under strict plaque control, were instrumented subgingivally. Microbiological evaluation was performed at pre-instrumentation, immediate post-instrumentation and 1 and 2 weeks post-instrumentation.

Results: Mean total anaerobic colony forming units (CFUs) dropped from 3.9×10^6 before to 0.09×10^6 immediately following instrumentation. Significant reductions were found for *Tannerella forsythia*, *Micromonas micros*, *Fusobacterium nucleatum* and spirochetes. Significant reductions were not observed for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Campylobacter rectus*. Except for spirochetes, no reduction in prevalence of specific periodontal bacteria was found immediately after instrumentation. During follow-up, mean total CFU tended to increase. Prevalence of periodontal bacteria further reduced. No effect of smoking was found.

Conclusion: Results indicate that subgingival mechanical cleaning in itself, has a limited effect, in actually removing bacteria. The subsequent reduction in prevalence of specific periodontal bacteria shows that it is apparently difficult for these species to survive in treated pockets.

Key words: periodontal therapy; periodontitis; re-colonization; smoking; subgingival microflora

Prof. dr. Silvia Mărțu

Sef lucrări dr. Sorina
Solomon

Prep. dr. Ioana Rudnic

Disciplina de
Parodontologie
Facultatea de Medicină
Dentară
UMF „Gr. T. Popa“ Iași

Rezumat

Obiective: De a investiga reducerea numărului microorganismelor obținute direct sub instrumentare subgingivală și viteza recolonizării bacteriene timp de două săptămâni, după îndepărtarea plăcii subgingivale.

Materiale și metode: Efectele instrumentării subgingivale au fost măsurate la o pungă de adâncime într-un număr de 22 pacienți (11 fumători și 11 nefumători). Imediat după tratamentul inițial, siturile experimentale, sub control strict al plăcii, au fost instrumentate subgingival. Evaluarea microbiologică a fost derulată la pre-instrumentare, post-instrumentare imediată și post-instrumentarea de la 1 săptămână și de la 2 săptămâni.

Rezultate: Unitățile formatoare de colonie (UFC) anaerobă totale medii au scăzut de la $3,9 \times 10^6$ înainte de instrumentare la $0,09 \times 10^6$ imediat după instrumentare. Reduceri semnificative au fost identificate pentru *Tannerella forsythia*, *Micromonas mciros*, *Fusobacterium nucleatum* și spirochete. Nu s-au observat reduceri semnificative pentru *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* și *Campylobacter rectus*. Cu excepția spirochetelor, nu s-a observat, imediat după instrumentare, o reducere a prevalenței unei anume bacterii parodontale. La urmărirea longitudinală, UFC total mediu a prezentat tendința de creștere. Prevalența bacteriilor parodontale a continuat să se reducă. Nu s-a identificat un efect al fumatului.

Concluzii: Rezultatele indică faptul că procesul de debridare mecanică subgingivală prin el însuși are un efect limitat în îndepărtarea reală a bacteriilor. Reducerea subsecventă arătată a prevalenței bacteriilor parodontale este aparentă fiind dificil pentru aceste specii să supraviețuiască în pungile tratate prin terapie mecanică parodontală.

Cuvinte cheie: terapie parodontală, boala parodontală, recolonizare, microflora subgingivală

Există un acord general asupra faptului că succesul tratamentului parodontal depinde de reducerea patogenilor parodontali în zona subgingivală (8,9,11). Studiile au arătat că detartrajul subgingival la pacienții cu boală parodontală este urmată de schimbări profunde în compoziția microflorei subgingivale care este comparabilă cu microflora identificată în situri sănătoase

S-a demonstrat existența unei asociații pozitive între proporțiile scăzute de patogeni parodontali reducerea adâncimii pungii și câștigul în sondarea atașamentului în urma tratamentului parodontal (2,5,12).

După tratamentul parodontal, pungile sunt repopulate de o microfloră care este dominată de specia *Actinomyces* și specia *Streptococcus* (13,15).

În plus, s-a descoperit că, la situsurile subgingivale netratate, la pacienții tratați, există o tendință spre o diminuare a numărului unor anumiți patogeni parodontali [Pawlowski et al., 2005]. Din contra, când subiecții prezintă, post-tratament, niveluri ridicate de placă, rezultatul acțiunii diferiților patogeni parodontali poate atinge nivelurile pre-tratament în 3 săptămâni.

Un alt factor care poate influența viteza recolonizării bacteriene subgingivale este fumatul. Studiile arată o influență redusă, dacă aceasta există, asupra incidenței subgingivale a bacteriilor asociate cel mai frecvent cu afecțiunea parodontală (1,6,7).

Rezultatul tratamentului nechirurgical la fumători și nefumători a fost la fel de eficient în privința reducerii patogenilor parodontali.

Până acum, sunt disponibile puține informații privind efectele microbiologice ale detartrajului și surfasajului cementului radicular în perioada imediat următoare tratamentului în absența plăcii supragingivale (2,5).

Prin urmare, **scopul acestui studiu** a fost (1) de a investiga reducerea numărului de microorganisme obținut imediat după instrumentarea subgingivală și (2) de a studia viteza recolonizării bacteriene în cele două săptămâni subsecvente în condiții libere de placă supragingivală.

Materiale și metode

Selectarea pacienților și a pungilor

Pentru studiul de față, s-au selectat 22 de pacienți cu boală parodontală netratați (vârsta medie 44,8 ani, DS: 11,8) dintre pacienții Departamentului de Paro-

dentologie din cadrul Facultății de Medicină Dentară lași pe motive de afecțiune parodontală.

Criteriile de excludere la intrarea în acest studiu au fost utilizarea antibioticelor în ultimele 6 luni, sarcina și afecțiuni sistemice (6,7) care ar putea influența condiția țesuturilor parodontale și a microflorei subgingivale.

Criteriile de includere au fost prezența unor pungi moderat adânci (ASP \geq 2 mm) și sângerare generalizată la sondare.

Pentru că fumatul ar fi putut influența rezultatele (14), grupul de studiu a fost echilibrat pentru fumat și a inclus 11 fumători și 11 nefumători.

Dintre nefumători, nouă nu fumaseră niciodată, în timp ce doi subiecți renunțaseră la fumat cu mai mult de 1 an înainte de admitere. Numărul mediu de pachete fumate pentru lotul de fumători a fost de 17,6 (DS: 14,7), iar numărul anilor de fumat s-a situat între 10 și 44 de ani. După selecție, tuturor participanților li s-a cerut să furnizeze un consimțământ informat în scris.

Pentru studiul de față, s-a selectat un situs experimental per pacient, situs care trebuia să îndeplinească următoarele criterii: (1) cel mai adânc situs interproximal cu ASP \geq 5 mm și sângerarea la sondare localizat la un dinte uniradicular, (2) adâncimi de sondare vestibulare și linguale superficiale (ASP \leq 4 mm) pe același dinte, și (3) absența oricăror defecte osoase unghiulare care să depășească 45° vizibile pe radiografiile periapicale.

Tratament

Faza I

Pentru obținerea condițiilor libere de placă gingivală la situsurile experimentale pe perioada experimentului, tratamentul a fost împărțit în două faze. Faza I a început la admisie și a constat din examinarea parodontală, instrucțiuni de igienă orală și instrumentarea supragingivală a tuturor dinților. Instrumentarea subgingivală a fost derulată pe toți dinții, în afară de doi, adică dintele selectat și dintele adiacent sitului experimental al dintelui selectat. S-a explicat utilizarea unei periute electrice (Oral-B, Braun, Kronberg/Ts, Germania) și a periutei interdentare, a pansamentului sintetic și a aței dentare sau a hârtiei dentare, după cum s-a considerat că este cazul (3,4). Controlul plăcii pacientului a fost monitorizat săptămânal. S-a planificat un maximum de șase ședințe de câte 1 oră/săptămână pentru tratamentul parodontal, funcție de gravitatea și dimensiunea afecțiunii. Pe perioada fazei I, instrumentarea sub- și supragingivală a fost oferită prin utilizarea instrumentelor ultrasonice și/sau a celor manuale (9,15).

Faza II

Faza II a început la 1 săptămână după finalizarea fazei I.

În faza II, s-a derulat un singur episod de instrumentare subgingivală la dintele selectat și la dintele adiacent sitului experimental al dintelui prin utilizarea numai a instrumentelor manuale.

Evaluările microbiologice au fost derulate la pre-instrumentare, imediat după instrumentare și la 1 și 2 săptămâni după instrumentare. Pacienții au primit instrucțiuni de igienă orală la fiecare ședință.

Pe perioada celor 2 săptămâni de observație, pacienții s-au clătit de două ori pe zi cu apă de gură pe bază de clorhexidrină 0,2% (Corsodyl, Zeist, Olanda) și au fost instruiți să utilizeze o periuță interdentară umezită cu fluid CHX între dinții selectați în vederea derulării unui control maxim al plăcii supragingivale la aceste situsuri. Măsurătorile clinice la situsurile experimentale au fost obținute la admitere, la pre-instrumentare și la 1 și 2 săptămâni după instrumentare (10,14).

Măsurătorile clinice au inclus (3):

1. acumularea de placă supragingivală [Silness și Loe, 1964];
2. indicele de sângerare. Sângerarea la sondare: 0 — fără sângerare, 1 — sângerare la pișcare cu acul; 2 — sângerare imediată și evidentă;
3. ASP (în mm) prin utilizarea sondei parodontale standard (Hu-Friedy, Chicago, Illinois, SUA)

Procedurile microbiologice

Prelevarea de mostre

Situsurile au fost supuse la îndepărtarea atentă a depozitelor de placă supragingivală cu un instrument de detartraj. Pentru a se evita contaminarea cu salivă, zona selectată a fost izolată cu ruloari de vată și uscate delicat cu aer.

Înainte de prelevării de mostre bacteriene, s-a inserat o sondă parodontală Hu-Friedy în pungă aproximală, de-a lungul axului dintelui, până la întâlnirea unei rezistențe ferme.

Două nuri de hârtie pentru uscarea canalului radicular (dimensiune 40#, Johnson & Johnson, Windsor, New York, SUA) au fost inserate ulterior timp de 15 s fiecare, în pungă, de-a lungul sondei, avându-se grijă să nu se împătorească sau să nu se împingă în altă zonă. Conurile de hârtie au fost ambele transferate în aceeași fiolă conținând 1,8 ml de fluid de transport redus (FTR).

Cultura

Mostrele au fost cultivate în vederea analizei microbiologice suplimentare în aceeași zi. Mostrele au fost subsecvent depuse stratificat pe plăcuțe din ser de vancomicină-bacitracină (SVB) în vederea izolării și numărării de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

Prezența și proporțiile patogenilor parodontali putativi *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *M. Micros* și *Campylobacter rectus* au fost determinați pe plăcuțe de geloză sanguină anaerobă [van Winkelhoff et al., 1985]. Identificarea speciilor bacteriene selectate s-a bazat pe colorarea Gram și morfologia celulară și a coloniei, toleranța la aer și producția de catalază și pe un număr de reacții biochimice. *A. actinomycetemcomitans* a fost identificat

pe baza morfologiei sale de colonie caracteristică (o structură interioară de tip stea), o reacție de catalază pozitivă cu 3% peroxid de hidrogen, și un set de enzime specifice.

Rezultate clinice

În faza I, pe perioada de observație de la admitere la pre-instrumentare, parametrii clinici s-au îmbunătățit semnificativ. La pre-instrumentare, scorurile de placă erau aproape zero. Pe perioada II, s-a observat o reducere suplimentară gradată în sângerare și ASP pe tot intervalul celor două săptămâni de observație. În această perioadă, nu a fost prezentă aproape deloc placa. Totuși, în săptămâna a doua, 45% din situri însă prezentau sângerare la sondare. Nu s-a descoperit nici un efect semnificativ statistic al fumatului pentru nici unul dintre parametrii clinic pe întreaga perioadă a studiului.

Rezultate microbiologice

Imediat după instrumentare, nu s-a identificat aproape nici un efect asupra prevalenței bacteriilor parodontale specifice, cu excepția cazului **spirochetelor**, care au prezentat o **reducere semnificativă în prevalență**. La 2 săptămâni după instrumentare, totuși, s-a văzut o reducere a prevalenței lui *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *M. micros* și *F. nucleatum*. Prevalența lui *A. actinomycetemcomitans* (N = 4) și *C. rectus* (N = 4) a rămas nemodificată, în timp ce *T. forsythia* a fost prezentă la 16 pacienți înaintea instrumentării și a scăzut la niveluri mai joase după instrumentare. Totuși, semnificația statistică a fost obținută doar la post-instrumentarea de la 1 săptămână pentru această specie (N = 8). Înainte și imediat după instrumentare, nouă subiecți au fost depistați pozitivi la *P. gingivalis*. Acest număr s-a redus semnificativ la patru subiecți, la 2 săptămâni după instrumentare. Similar, *P. intermedia*, *M. micros* și *F. nucleatum* nu au prezentat nici o reducere semnificativă imediat după instrumentare, dar s-au observat reduceri suplimentare semnificative la 1 și 2 săptămâni. Spirochetele au fost identificate la nouă pacienți înaintea instrumentării. Imediat după instrumentare, acest număr a scăzut la unu și a rămas nemodificat pentru următoarele două săptămâni. Fumatul nu a avut nici un efect semnificativ asupra vreuneia dintre bacteriile studiate.

Număratoarea anaerobă totală medie, determinată pe cultura la pre-instrumentare, a fost de $3,784 \times 10^6$ /ml UFC-uri. Imediat după instrumentare, UFC-urile totale au fost semnificativ reduse, la o medie de $0,092 \times 10^6$ /ml. După instrumentare, pe toată perioada celor 2 săptămâni de observație, nu s-au putut determina modificări semnificative în numărul total al UFC-urilor. În faza II, nu s-a descoperit o reducere semnificativă a UFC-urilor la pacienții pozitivi pentru *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* și *F. nucleatum*. La pacienții pozitivi pentru *T. forsythia*, *M. micros* și *F. nucleatum*, UFC-urile medii au fost semnificativ reduse imediat după instrumentare. Pentru *T. forsythia* și *F.*

nucleatum, UFC-urile medii au rămas reprimite pe perioada celor 2 săptămâni de observație. Numărul mediu al spirochetelor la pre-instrumentare a fost de $12,1 \times 10^6/\text{ml}$, iar imediat după instrumentare a fost semnificativ redus, la $0,1 \times 10^6/\text{ml}$. Pe perioada de observație de 2 săptămâni, numărările medii au rămas semnificativ reprimite. De asemenea, pe perioada fazei II nu s-a identificat un efect semnificativ statistic al fumatului.

Discutii

Studiile anterioare au arătat că recolonizarea zonei subgingivale de către microorganismele poate apărea la 2–3 săptămâni după tratament (2,3,7,9).

Pentru că dezvoltarea plăcii este dependentă atât de inflamația parodontală, cât și de numărul de bacterii din salivă [Dahan et al., 2004], schema acestui studiu a inclus tratamentul parodontal pre-experimental al ambelor arcade dentare, cu excepția situsurilor experimentale. În plus, în faza I a studiului, pacienților li s-a cerut să se clătească de două ori pe zi cu clorhexidină și să aplice o periută inter-dentară umezită cu clorhexidină la situsul experimental.

Rezultatele au arătat o îmbunătățire a parametrilor clinici ai situsurilor experimentale între admitere și pre-instrumentare, deși aceste situsuri nu fuseseră debridate subgingival, și nu primiseră decât măsurile stricte de control al plăcii supragingivale. În special, ASP a arătat o reducere de circa 0,5 mm.

Pentru că situsurile experimentale din studiul de față au inclus punși ≥ 5 mm, profilul microbiologic subgingival se poate să se fi îmbunătățit pe parcursul fazei I a studiului, deși intervalul de timp dintre completarea fazei I și începutul fazei II a fost de numai 1 săptămână, iar faza I însăși a inclus doar 4-6 săptămâni.

După faza II, s-a observat o îmbunătățire suplimentară a condiției clinice a situsurilor experimentale. Totuși, îmbunătățirea parametrilor clinici obținută între începutul fazei I și sfârșitul fazei II a fost mai mică în comparație cu rezultatele din literatură privind efectul tratamentului parodontal inițial.

Pentru nici unul dintre parametrii clinici nu s-au descoperit efecte semnificative statistice ale fumatului.

Rezultatele studiului de față arată că, imediat după instrumentare, s-a obținut o reducere de 42 de ori în UFC total. Pentru bacteriile parodontale specifice, acesta a variat între lipsa reducerii semnificative în UFC-uri până la o reducere de aproape 400 de ori (*T. forsythia*). Totuși, pentru că imediat după instrumentare, doar spirochetele au exhibat o reducere a prevalenței, iar UFC total s-a ridicat totuși la 105/ml, aceste rezultate indică faptul că procesul de curățare mecanică subgingivală prin el însuși are un efect limitat în îndepărtarea bacteriilor.

Concluzii:

Rezultatele studiului de față indică faptul că procesul de debridare mecanică subgingivală prin el în-

suși are un efect limitat în îndepărtarea eficientă a bacteriilor.

Scorurile extrem de joase placă denotă improbabilitatea ca recolonizarea subgingivală în acest studiu să fi fost influențată de placa supragingivală.

Reducerea ulterioară a bacteriilor parodontale specifice arată că este relativ dificil pentru aceste bacterii să supraviețuiască într-o pungă debridată. Aceasta s-ar putea datora condițiilor ecologice modificate și răspunsului imun al gazdei, în general.

Bibliografie:

- Ah, M. K., Johnson, G. K., Kaldahl, W. B., Patil, K. D. & Kalkwarf, K. L. (1994) The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 21, 91–97.
- Badersten, A., Nilve 'us, R. & Egelberg, J. (1984) Effect of non-surgical periodontal therapy. II. Severely advanced periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 11, 63–76.
- Cercek, J. F., Kiger, R. D., Garrett, S. & Egelberg, J. (1983) Relative effects of plaque control and instrumentation on the clinical parameters of human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 10, 46–56.
- Christou, V., Timmerman, M. F., Van der Velden, U. & Van der Weijden, F. A. (1998) Comparison of different approaches of interdental oral hygiene: interdental brushes versus dental floss. *Journal of Periodontology* 69, 759–764.
- Dahan, M., Timmerman, M. F., Van Winkelhoff, A. J. & Van der Velden, U. (2004) The effect of periodontal treatment on the salivary bacterial load and early plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology* 31, 972–977.
- Eggert, F. M., McLeod, M. H. & Flowerdew, G. (2001) Effects of smoking and treatment status on periodontal bacteria: evidence that smoking influences control of periodontal bacteria at the mucosal surface of the gingival crevice. *Journal of Periodontology* 72, 1210–1220.
- Grossi, S. G., Skrepinski, F. B., DeCaro, T., Zambon, J. J., Cummins, D. & Genco, R. J. (1996) Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *Journal of Periodontology* 67, 1094–1102.
- Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Dibart, S., Smith, C., Kent, R. L. Jr & Socransky, S. S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 24, 324–334.
- Pawłowski, A. P., Chen, A., Hacker, B. M., Mancl, L. A., Page, R. C. & Roberts, F. A. (2005) Clinical effects of scaling and root planing on untreated teeth. *Journal of Clinical Periodontology* 32, 21–28.
- Quirynen, M., Dekeyser, C. & van Steenberghe, D. (1991) The influence of gingival inflammation, tooth type, and timing on the rate of plaque formation. *Journal of Periodontology* 62, 219–222.
- Ramberg, P., Axelsson, P. & Lindhe, J. (1995) Plaque formation at healthy and inflamed gingival sites in young individuals. *Journal of Clinical Periodontology* 22, 85–88.
- Sato, K., Yoneyama, T., Okamoto, H., Dahle 'n, G. & Lindhe, J. (1993) The effect of subgingival debridement on periodontal disease parameters and the subgingival microbiota. *Journal of Clinical Periodontology* 20, 359–365.
- Sbordone, L., Ramaglia, L., Gulletta, E. & Iacono, V. (1990) Recolonization of the subgingival microflora after scaling and root planing in human periodontitis. *Journal of Periodontology* 61, 579–584.
- Van der Velden, U., Varoufaki, A., Hutter, J. W., Xu, L., Timmerman, M. F., Van Winkelhoff, A. J. & Loos, B. G. (2003) Effect of smoking and periodontal treatment on the subgingival microflora. *Journal of Clinical Periodontology* 30, 603–610.
- Van Winkelhoff, A. J., van der Velden, U. & De Graaff, J. (1988) Microbial succession in recolonizing deep periodontal pockets after a single course of supra- and subgingival debridement. *Journal of Clinical Periodontology* 15, 116–122.

Prezentat la 18. 06.2007