

Proefschriften 25 jaar na dato 12

Classificatie en virulentie van zwart-gepigmenteerde bacteriën in relatie tot parodontitis

Bacteriën in de tandplaque spelen een essentiële rol bij het ontstaan en de progressie van parodontitis. In de jaren '70 van de vorige eeuw werd duidelijk dat zwart-gepigmenteerde bacteriën van het genus *Bacteroides* hierbij een zeer belangrijke rol spelen. Deze bacteriën zijn tegenwoordig bekend als *Porphyromonas gingivalis* en *Prevotella intermedia*. Uit een promotieonderzoek 25 jaar geleden bleek via DNA-analyse dat er onder deze bacteriën een grote heterogeniteit bestaat en dat er sprake is van verschillende species die zijn geassocieerd met verschillende orale infecties. Tevens bleek dat *Porphyromonas gingivalis* vaak bij patiënten met ernstige parodontitis wordt aangetroffen en dat deze bacterie het meest virulent is. Omdat *Porphyromonas gingivalis* een belangrijke rol speelt bij parodontitis, is deze bacterie de laatste decennia uitgebreid onderzocht. Zo is de samenstelling van het volledige genoom op DNA-niveau bekend. Ook blijkt er overdracht tussen de partners mogelijk, al leidt dat niet altijd tot het ontstaan van parodontitis. Er is nog geen eenduidige uitspraak te geven of bij patiënten met *Porphyromonas gingivalis* een ander antibioticumbeleid moet worden gehanteerd dan bij patiënten bij wie deze bacterie niet aanwezig is.

T.J.M. van Steenbergen. Proefschriften 25 jaar na dato 12. Classificatie en virulentie van zwart-gepigmenteerde bacteriën in relatie tot parodontitis
Ned Tijdschr Tandheelkd 2006; 113: 513-515

Inleiding

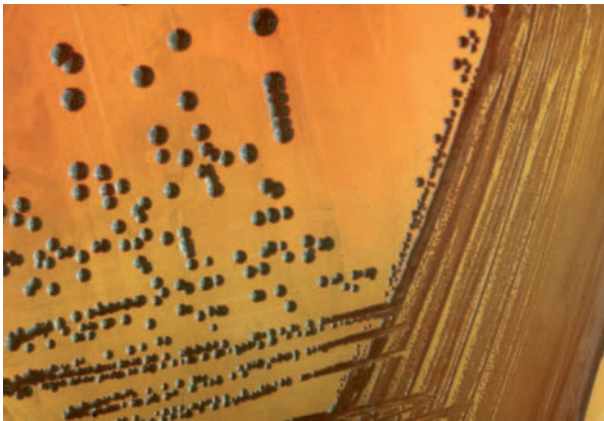
Vijfentwintig jaar geleden verscheen het proefschrift 'Classification and virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains' (Van Steenbergen, 1981). Destijds werd algemeen aanvaard dat parodontale ontstekingen worden veroorzaakt door bacteriën in de tandplaque, maar er was onduidelijkheid over de vraag of specifieke bacteriën verantwoordelijk zijn voor bepaalde ziektebeelden. Inmiddels is duidelijk geworden dat bepaalde bacteriën inderdaad een zeer belangrijke rol spelen bij parodontitis. Een veel voorkomende groep van bacteriën bij parodontitis is die van de zwart-gepigmenteerde, gramnegatieve, strikt anaerobe staafvormige bacteriën (afb. 1). Ten tijde van het onderzoek werden deze bacteriën gerekend tot het genus *Bacteroides*, maar tegenwoordig kennen we ze als *Porphyromonas gingivalis* en *Prevotella intermedia*. In dit artikel wordt ingegaan op de vraag of de resultaten uit het proefschrift nog steeds geldig zijn. Verder wordt ingegaan op enkele recente ontwikkelingen in dit vakgebied. Het onderzoek naar deze bacteriën werd destijds uitgevoerd binnen de afdeling Orale Microbiologie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam en werd daar op succesvolle wijze voortgezet in samenwerking met de

afdeling Parodontologie, hetgeen heeft geresulteerd in proefschriften van onder andere Van Winkelhoff (1986), Petit (1993) en Laine (2000).

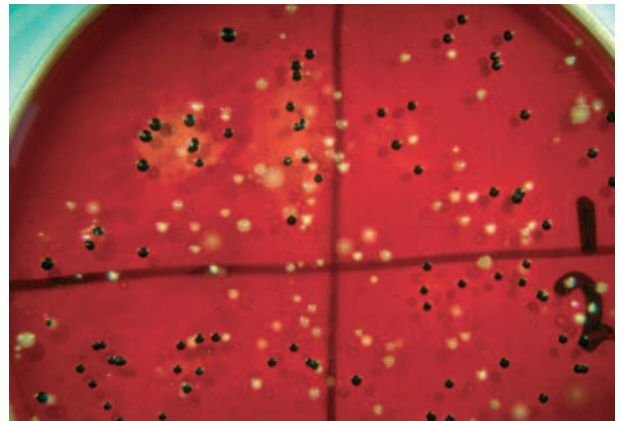
Classificatie en prevalentie

Bij orale infecties is vrijwel altijd sprake van een mengflora met verschillende soorten bacteriën. Opvallend is dat bij parodontitis vaak grote aantallen zwart- of bruin-gepigmenteerde bacteriën worden gevonden (afb. 2). Begin jaren '70 van de vorige eeuw werden deze bacteriën gerekend tot de species *Bacteroides melaninogenicus*. Ook bij niet-orale infecties worden deze bacteriën soms aangetroffen. Een probleem was dat deze groep bacteriën morfologisch en biochemisch erg heterogeen is en dat er mogelijk gesproken moest worden over verschillende species. De beste manier om dit vast te stellen was analyse van het DNA van de bacteriën. In het onderhavige proefschrift is beschreven dat deze bacteriën op DNA-niveau een grote heterogeniteit vertonen, en dat er sprake is van een aantal verschillende species (Van Steenbergen, 1981). Deze werden later soms zelfs tot verschillende genera gerekend.

Op basis van deze nieuwe informatie werd de vraag gesteld wat de prevalentie van deze verschillende soorten is



Afb. 1. Zwart-gepigmenteerde bacteriën in een reinkweek op een bloedagarplaat.



Afb. 2. Veel zwart-gepigmenteerde bacteriën op een bloedagarplaat, vanuit de pocket van een patiënt met parodontitis.

bij verschillende orale infecties. Duidelijk werd dat de verschillende species zijn geassocieerd met verschillende typen orale infecties (Van Winkelhoff et al, 1988). Zo wordt *Porphyromonas gingivalis* in het bijzonder gevonden bij patiënten met ernstige parodontitis. *Porphyromonas endodontalis* wordt minder vaak in de mondholte aangetroffen, maar is, zoals de naam al suggereert, relatief vaak betrokken bij endodontale infecties. *Porphyromonas asaccharolytica* wordt niet in de mondholte aangetroffen en kan betrokken zijn bij niet-orale infecties. *Prevotella intermedia* wordt bij parodontitis en gingivitis aangetroffen, terwijl *Prevotella melaninogenica* zowel in de mondholte wordt aangetroffen als bij infecties elders in het lichaam.

Pathogeniciteit en virulentie

Om een bacterie als pathogeen aan te wijzen bij een bepaalde infectie moet deze bacterie daar niet alleen in verhoogde aantallen aanwezig zijn, maar moet deze ook pathogene eigenschappen hebben. Onderzoek naar de pathogeniciteit (ziekmakend vermogen) en virulentie (de mate van ziekmakend vermogen) van bacteriën kan inzicht geven in het werkingsmechanisme bij een bepaalde infectie.

Uit het onderzoek in het hier behandelde proefschrift bleek dat uit de groep van zwart-gepigmenteerde bacteriën *Porphyromonas gingivalis* het meest virulent was: in diermodellen veroorzaakte deze bacterie ernstige infecties (flegmone), terwijl andere zwart-gepigmenteerde soorten een (minder ernstig) abces veroorzaakten. Voor de virulentie van *Porphyromonas gingivalis* waren verschillende factoren verantwoordelijk. Ten eerste werd aangetoond dat *Porphyromonas gingivalis* stoffen produceerde die toxisch waren voor cellen in weefselkweek. Een van deze stoffen werd geïdentificeerd als boterzuur. Ten tweede werd aangetoond dat *Porphyromonas gingivalis* van alle geteste bacteriën de sterkste proteolytische (eiwitafbrekende) activiteit bezat. Een belangrijke bevinding was verder dat *Porphyromonas gingivalis* slecht gefagocyteerd werd door leukocyten. Deze virulentiefactor droeg ongetwijfeld bij aan de succesvolle kolonisatie van het subgingivale gebied.

Vervolgonderzoek versterkte bovenstaande bevindingen: van alle onderzochte orale bacteriën bleek *Porphy-*

romonas gingivalis het meest virulent te zijn in proefdieren. Onderzoek aan virulentiefactoren liet zien dat *Porphyromonas gingivalis* beschikte over een groot arsenaal aan virulentiefactoren, die de pathogeniciteit kunnen verklaren. Hiertoe behoorden onder andere diverse cytotoxische stoffen als ammoniak en lipopolysaccharide, meerdere proteolytische enzymen die relevante eiwitten (bijvoorbeeld antistoffen, complementfactoren) konden afbreken en een kapsel dat de fagocytose belemmerde. Interessant was de bevinding dat er meerdere kapselserotypen bestaan die niet alleen verschillen in virulentie, maar ook in prevalentie (Laine, 2000).

Recente ontwikkelingen en praktische consequenties

Omdat nu duidelijk is dat *Porphyromonas gingivalis* een belangrijke rol speelt bij parodontitis, is deze bacterie de laatste decennia uitgebreid onderzocht. Zo is bijvoorbeeld de samenstelling van het volledige genoom op DNA-niveau bekend. Dit biedt nieuwe mogelijkheden om op moleculair niveau onderzoek te doen naar de pathogeniciteit en naar het werkingsmechanisme van infecties met deze bacterie.

Voor de tandarts die patiënten met parodontitis behandelt waarbij deze bacterie is betrokken, zijn 2 vragen relevant: hoe kom je aan deze bacterie, en hoe kom je ervan af? Om te onderzoeken hoe iemand met een parodontale bacterie als *Porphyromonas gingivalis* besmet raakt, moet onderscheid worden gemaakt tussen individuele stammen. Dit kan met moleculair-biologische technieken. Gebleken is dat niet elke patiënt met parodontitis geïnfecteerd is met *Porphyromonas gingivalis* en dat overdracht tussen partners mogelijk is (Van Steenberghe et al, 1993; Van Steenberghe et al, 1996). Het is opvallend dat in een bestaand ecosysteem als de mond op volwassen leeftijd kolonisatie met nieuwe bacteriën optreedt. Deze overdracht lijkt echter niet erg gemakkelijk, omdat bij slechts ongeveer de helft van de (langdurige) partners transmissie is aangetoond. Er zijn momenteel onvoldoende gegevens beschikbaar om te kunnen concluderen of deze overdracht op volwassen leeftijd ook leidt tot parodontitis.

Porphyromonas gingivalis wordt bij 10-25% van de parodontaal gezonde personen gevonden. Besmetting leidt daarom niet automatisch tot parodontitis. De subgingivale aanwezigheid van *Porphyromonas gingivalis* lijkt echter wel een risicofactor te zijn, die bij een gevoelige gastheer de kans op parodontitis vergroot. Het kan daarom verstandig zijn om de kans op besmetting te verkleinen door bijvoorbeeld de partner van een patiënt met parodontitis ook parodontaal te behandelen, afhankelijk van de klinische situatie van de partner. Mechanische en chirurgische parodontale behandeling van een *Porphyromonas gingivalis*-geassocieerde parodontitis leidt niet altijd tot een klinisch stabiele situatie. Bij dergelijke patiënten kan een additionele antibioticumtherapie worden overwogen. In het algemeen blijkt dat patiënten met ernstige parodontitis, die onvoldoende reageren op de normale initiële behandeling, vaak baat hebben bij een dergelijke additionele therapie. Er zijn aanwijzingen dat dit vooral geldt voor patiënten met *Porphyromonas gingivalis* subgingivaal (Winkel et al, 2001; Herrera et al, 2002; Abbas en Van Winkelhoff, 2004). Er is echter nog geen eenduidige uitspraak te geven of bij patiënten met *Porphyromonas gingivalis* een ander antibioticumbeleid moet worden gehanteerd dan bij patiënten bij wie deze bacterie niet aanwezig is.

Conclusies

De resultaten uit een proefschrift van 25 geleden naar zwart-gepigmenteerde orale bacteriën zijn heden ten dage nog steeds geldig. De belangrijkste conclusies zijn dat deze groep van bacteriën uit een aantal goed beschreven species bestaat en dat *Porphyromonas gingivalis* de meest pathogene en virulente vertegenwoordiger is uit deze groep. *Porphyromonas gingivalis* wordt vooral aangetroffen bij patiënten met ernstige parodontitis. Transmissie van deze pathogeen tussen partners is aangetoond, maar verder onderzoek naar de consequenties hiervan is noodzakelijk.

Literatuur

- › Abbas F, Winkelhoff AJ van. Antibiotica beïnvloeden de indicatie voor parodontale chirurgie. Ned Tijdschr Tandheelkd 2004; 111: 425-429.
- › Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldan S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. J Clin Periodontol 2002; 29 Suppl 3: 136-159.
- › Laine ML. Periodontal disease: virulence factors of *Porphyromonas gingivalis* and polymorphisms in the host IL-1 gene family. Amsterdam: Vrije Universiteit, 2000. Academisch proefschrift.
- › Petit MDA. Periodontitis and periodontopathic bacteria in families. Amsterdam: Universiteit van Amsterdam, 1993. Academisch proefschrift.
- › Steenbergen TJM van. Classification and virulence of black-pigmented *Bacteroides* strains. Amsterdam: Vrije Universiteit, 1981. Academisch proefschrift.
- › Steenbergen TJM van, Petit MDA, Scholte LHM, Velden U van der, Graaff J de. Transmission of *Porphyromonas gingivalis* between spouses. J Clin Periodontol 1993; 20: 340-345.
- › Steenbergen TJM van, Loos BG, Velden U van der. Typering en transmissie van parodontale bacteriën. Ned Tijdschr Tandheelkd 1996; 103: 127-131.
- › Winkel EG, Winkelhoff AJ van, Timmerman MF, Velden U van der, Weijden GA van der. Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. J Clin Periodontol 2001; 28: 296-305.
- › Winkelhoff AJ van. Black-pigmented *Bacteroides* in human oral diseases. Amsterdam: Vrije Universiteit, 1986. Academisch proefschrift.
- › Winkelhoff AJ van, Steenbergen TJM van, Graaff J de. The role of black-pigmented *Bacteroides* in human oral infections. J Clin Periodontol 1988; 15: 145-155.

Summary

Dissertations 25 years after date 12. Classification and virulence of black-pigmented bacteria relating to periodontitis

Bacteria in dental plaque play an essential role in the origin and development of periodontitis. In the seventies of the last century it became clear that black-pigmented bacteria of the genus *Bacteroides* play a vital role in this process. These bacteria are currently known as *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. In a PhD dissertation 25 years ago it was shown by DNA analysis that this group of bacteria is very heterogeneous, and that different species exist, which are associated with different oral infections. Because *Porphyromonas gingivalis* plays an important role in periodontitis, this bacterium has been investigated extensively during the last decades. The entire genome is now known at the DNA level. In addition, transmission between spouses has been shown to be possible, although it does not always cause periodontal disease. It is not yet possible to conclude if for patients with *Porphyromonas gingivalis* a different antibiotic policy should be used compared to patients without this bacterium.

Bron

T.J.M. van Steenbergen

Uit de afdeling Mondziekten en Kaakchirurgie van het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam (ACTA)

Datum van acceptatie: 31 juli 2006

Adres: dr. T.J.M. van Steenbergen, ACTA/VUmc, postbus 7057, 1007 MB Amsterdam

tjm.vansteenbergen@vumc.nl