

ZMĚNY ORÁLNÍHO MIKROBIOMU V PRŮBĚHU NECHIRURGICKÉ TERAPIE PACIENTŮ S POKROČILOU PARODONTITIDOU

Původní práce, klinická studie

CHANGES IN ORAL MICROBIOME DURING NON-SURGICAL THERAPY OF PATIENTS WITH SEVERE PERIODONTITIS

Original article, retrospective study

Myšák J.¹, Podzimek Š.¹, Janatová T.¹, Dušková J.¹, Janata J.², Najmanová L.²

¹Oddělení parodontologie, Stomatologická klinika, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

²Mikrobiologický ústav, Akademie věd ČR, v. v. i., Praha

SOUHRN

Úvod a cíl práce: Parodontitida, která u dospělé populace patří mezi onemocnění s hromadným výskytem, ve svých důsledcích představuje u osob starších než 35 let téměř stejně častý důvod ztráty zubu jako následky zubního kazu.

Cílem této studie bylo zhodnotit využitelnost sekvenčních metod nové generace jako nástroje pro komplexní charakterizaci subgingiválního bakteriálního biofilmu u pacientů s pokročilou parodontitidou a pro sledování dynamiky změn složení subgingiválního bakteriálního biofilmu v průběhu terapie. Předpokládá se, že sekvenční metody nové generace poskytnou novou kvalitu sledování průběhu léčby a nabídnou parodontologům nástroj pro objektivní hodnocení účinnosti zvoleného terapeutického postupu a volbu další léčby.

Metody: Do studie vstoupilo 43 pacientů s diagnózou pokročilé parodontitidy. Pacienti byli rozděleni do dvou podskupin a léčeni jednou ze dvou standardně schválených metod – pouze deep scaling a root planing (podskupina A – 20 pacientů) a deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou terapii (podskupina B – 23 pacientů). Stav jejich parodontu byl hodnocen parodontálními indexy PPD (periodontal pocket depth), BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss) před léčbou a dva týdny, tři měsíce a 18 měsíců po léčbě. Každému pacientovi byla ve shodných časových intervalech odebrána sada čtyř vzorků z nejhlubšího parodontálního chobotu pro stanovení složení mikrobiomu.

Výsledky: V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálních indexů BOP, CAL a PPD u obou podskupin pacientů. V průběhu léčby došlo také k významnému poklesu indexu parodontálního rizika R/G. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik (podskupina B) došlo 14 dní po léčbě k významně vyššímu poklesu R/G indexu v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing. Tři měsíce a 18 měsíců po léčbě byly hodnoty indexu parodontálního rizika R/G u obou podskupin pacientů obdobné.

Závěr: Taxonomická charakterizace mikrobiomu vyjádřená formou R/G indexu umožňuje monitorovat dynamické změny v průběhu léčby, na rozdíl od pouhého sledování klinických parametrů ukazuje jednoznačné rozdíly mezi skupinami s použitím a bez použití antibiotik v čase 14 dnů po terapii deep scaling a root planing. S ohledem na klinické parametry obou skupin, které se po třech ani 18 měsících v podstatě neliší, je ovšem na místě velmi pečlivě zvážit, zda je antibiotická podpora terapie deep scaling a root planing přínosem, neboť existuje nezanedbatelné riziko rozvoje a šíření rezistencí. Použití antibiotik v parodontologii by mělo být podloženo podrobným klinickým, mikrobiologickým a celkově medicínským vyšetřením.

Klíčová slova: pokročilá parodontitida, orální mikrobiom, antibiotika, deep scaling, root planing

SUMMARY

Introduction, aim: Periodontitis, which is one of the most common diseases in the adult population, is almost as common cause of tooth loss in people over the age of 35 as it is due to tooth decay. The aim of this study was to evaluate the utility of new-generation sequencing methods as a tool for complex characterization of subgingival bacterial biofilm in patients with advanced periodontitis and for monitoring the dynamics of changes in the composition of subgingival bacterial biofilm during therapy. We assume that next-generation sequencing methods will provide a new quality of monitoring the course of treatment and offer periodontologists a tool for objective evaluation of the effectiveness of the chosen therapeutic procedure and choice of further treatment.

Methods: The study included 43 patients with a diagnosis of advanced periodontitis. Patients were divided into two subgroups and treated with one of two standard approved methods – deep scaling and root planing only (subgroup A – 20 patients) and deep scaling and root planing supplemented with antibiotic therapy (subgroup B – 23 patients) – and their periodontal status was assessed

by periodontal indices BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss) a PPD (periodontal pocket depth) before treatment and two weeks, three months and 18 months after therapy. A set of four samples was taken from each deepest periodontal pocket at equal time intervals to determine the microbiome composition.

Results: During treatment, there was a significant decrease in the periodontal indices PPD, BOP and CAL in both subgroups of patients. There was also a significant decrease in the periodontal risk index R/G during treatment. In addition, the subgroup of patients treated with deep scaling and root planing with antibiotics (subgroup B) had a significantly higher decrease in R/G index 14 days after treatment compared to subgroup A treated with deep scaling and root planing alone. Three months and 18 months after treatment, the periodontal risk index R/G values were similar in both subgroups of patients.

Conclusion: Taxonomic characterization of the microbiome expressed in the form of R/G index allows to monitor dynamic changes during treatment, in contrast to mere monitoring of clinical parameters shows clear differences between groups with and without antibiotics at 14 days after deep scaling and root planing therapy. However, given the clinical parameters of the two groups, which do not differ significantly after three or 18 months, it is appropriate to carefully consider whether antibiotic support for deep scaling and root planing is beneficial, as there is a significant risk of developing and spreading resistance. The use of antibiotics in periodontology should be based on detailed clinical, microbiological and general medical examination.

Key words: severe periodontitis, oral microbiome, antibiotics, deep scaling, root planing

Myšák J, Podzimek Š, Janatová T, Dušková J, Janata J, Najmanová L.

Změny orálního mikrobiomu v průběhu nechirurgické terapie pacientů s pokročilou parodontitidou.

Čes stomatol Prakt zubní lék. 2021; 121(3): 67–74. doi: 10.51479/cspzl.2021.009

ÚVOD A CÍL

Parodontitida, která u dospělé populace patří mezi onemocnění s hromadným výskytem, ve svých důsledcích představuje u osob starších než 35 let téměř stejně častý důvod ztráty zubu jako následky zubního kazu. Gingivitida, nejmírnější forma parodontálního onemocnění, je velmi rozšířená a snadno léčebně ovlivnitelná účinnou ústní hygienou. Přesto u vnímavých jedinců může přetrvávající gingivitida vést k parodontitidě, která působí nevratnou destrukci parodontální tkáně [1]. Parodontitida byla podle klasifikace z roku 1999 členěna na agresivní a chronickou [2]. Vzhledem k podstatným překryvům v symptomatologických projevech a ne zcela zřetelnému patobiologickému rozdílu mezi oběma formami onemocnění bylo v roce 2017 rozhodnuto, že se tato dvě onemocnění nepovažují za samostatné nosologické jednotky [3]. Projekt byl zahájen ještě před změnou klasifikace a byl zaměřen na mladší pacienty se závažnými symptomy a rychlým nástupem onemocnění, tedy podle původní klasifikace na pacienty s agresivní parodontitidou. Podle nové klasifikace se bude v následujícím textu pro tuto formu onemocnění parodontu používat termín pokročilá parodontitida. Pokročilá parodontitida je v mnoha ohledech podobná chronické parodontitidě, ale obě formy mají řadu významných klinických rozdílů, mezi něž patří: věk nástupu, rychlost progresu, postup destrukce atd. [4].

Parodontitida je charakterizována akumulací bakterií v parodontálním prostředí s tvorbou zánětlivého infiltrátu vedoucí k destrukci junkč-

ního epitelu, resorpci alveolární kosti a popřípadě až ke ztrátě zubu [5]. Konverze junkčného epitelu na epitel parodontálního chobotu je považována za charakteristický znak ve vývoji parodontitidy. Destrukce strukturální integrity spojovacího epitelu, která zahrnuje narušení kontaktů mezi buňkami a oddělení od povrchu zubu, narušuje obranný systém parodontu. Apikální prohloubení chobotu a také horizontální expanze biofilmu na kořeni zubu akceleruje destruktivní proces. Obranné buňky a makromolekuly vnikají do parodontálního chobotu a většina epitelových buněk čelí přímo vlivu mikrobiálních buněk obsažených v biofilmu. Destrukci tkáně způsobuje reakce imunitního systému iniciovaná bakteriemi biofilmu, která vede k rozvoji zánětu. Ztenčení epitelu a jeho ulcerace zvyšují šanci na invazi mikroorganismů a jejich produktů do měkké pojivové tkáně [6]. Terapie parodontitidy vede k reparaci nebo k regeneraci parodontálních tkání. Při reparaci se nevytvoří kolagenní vlákna periodoncia a vzniká neplnohodnotné spojení mezi kořenem zubu a okolními strukturami, např. alveolární kostí. Při regeneraci se obnovují všechny tkáně parodontu včetně kolagenních vláken.

Parodontitida se dává do souvislosti s řadou závažných systémových onemocnění a stavů, nejčastěji je zmiňována souvislost s kardiovaskulárními onemocněními a s diabetes mellitus [7]. Parodontitida je multifaktoriální onemocnění, při kterém se uplatňuje genetická predispozice a zdravotní stav hostitele, ale zároveň aktivní role subgingiválního bakteriálního

biofilmu při poškození tkáně je jedním z dominantních faktorů patogeneze. Onemocnění parodontu má polymikrobiální etiologii. V roce 1991 Socransky a kol. odhalili, že počty přítomných mikroorganismů byly obecně vyšší u pacientů s tímto onemocněním v porovnání se zdravými osobami [8]. V roce 1998 Socransky a kol. definovali soubor tří druhů mikroorganismů vykazujících silnou souvislost s parodontálním onemocněním: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* a *Tannerella forsythia* [9]. Následně byl tento seznam potenciálních patogenů rozšířen pomocí molekulární taxonomie založené na 16S rDNA sekvencích, ale tyto rané studie nemohly poskytnout komplexní pohled na bakteriální komunity; jednoduše nebylo ekonomicky možné získat dostatek sekvenčních informací o celkové rozmanitosti bakterií přítomných v subgingiválním prostředí [10–12].

Skutečný zlom nastal po roce 2005 s využitím sekvenačních metod nové generace (NGS) umožňujících sběr tisíců sekvencí z jednoho vzorku a poskytujících možnost komplexně studovat složení bakteriálních komunit na úrovni druhů [13, 14]. V roce 2010 byla zřízena veřejně dostupná online databáze Human Oral Microbiome Database (HOMD), která shromažďuje 16S rDNA sekvence přibližně 1200 orálních taxonů pokrývajících téměř 700 druhů, z nichž jsou dvě třetiny nekultivatelné [15]. Přibližně 400 druhů bylo identifikováno ze vzorů odebraných z parodontálních chobotů, nicméně v jednom odběru u konkrétního pacienta bývá identifikováno jen několik desítek různých taxonů zároveň. V posledních několika letech byly publikovány desítky vědeckých studií využívajících NGS pro charakterizaci mikrobiomu ústní dutiny. Přístup s využitím NGS metod se jeví za určitých předpokladů jako nadějný do budoucna pro rutinní použití při sledování terapie parodontitidy a pro screening jedinců s rizikem rozvoje parodontálních onemocnění. Například Griffen a kol. dokumentovali vyšší diverzitu mikrobiálního společenství u pacientů v porovnání se zdravými osobami (123 druhů versus 53 druhů) [16]. Mnoho bakteriálních druhů popsanych v souvislosti s parodontitidou však bylo identifikováno i ve tkáních zdravého parodontu. Nelze tedy jednoznačně tvrdit, že určitý bakteriální druh nebo skupina druhů způsobují parodontitidu. Spíše se jedná o komplexní vztahy mezi jednotlivými bakteriálními druhy, jejich poměrné zastoupení a pravděpodobně o vzájemné vztahy mezi mikrobiotou a hostitelským imunitním systémem. S postupným vznikem dysbiózy, kdy jsou druhy asociované se zdravým parodontem na-

hrazovány taxony typickými pro parodontitidu, je velmi důležitá relativní četnost neboli abundance, která říká, jak je daný taxon zastoupený ve vzorku vůči ostatním bakteriálním taxonům. Ovšem ani zde není výsledek jednoznačný, protože u některých bakteriálních taxonů patřících do červeného komplexu může být relativní abundance nízká (<1 %), přesto však může znamenat riziko pro tkáň parodontu. Naopak existují taxony (např. rod *Fusobacterium*), které se objevují i v určité „přechodové zóně“, kdy lze předpokládat, že vyšší relativní abundance může být varovným signálem pro rozvoj nebo progresi parodontitidy [17]. Z toho důvodu má diagnostika parodontitidy založená na identifikaci omezeného počtu vybraných taxonů své limity a s ohledem na technologický pokrok lze očekávat, že bude postupně nahrazena metodami založenými na komplexní charakterizaci celého mikrobiálního společenstva, ideálně ještě v kombinaci s hodnocením imunitní odpovědi hostitele [17].

Cílem této studie bylo zhodnotit využitelnost metod NGS jako nástroje pro komplexní charakterizaci subgingiválního bakteriálního biofilmu u pacientů s pokročilou parodontitidou a pro sledování dynamiky změn složení subgingiválního bakteriálního biofilmu v průběhu terapie. Předpokládá se, že NGS metody poskytnou novou kvalitu sledování průběhu léčby a nabídnou parodontologům nástroj pro objektivní hodnocení účinnosti zvoleného terapeutického postupu a volbu další léčby.

SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA

Do studie vstoupilo 43 pacientů (průměrný věk 33 let) s diagnózou pokročilé parodontitidy, která byla potvrzena na základě klinického vyšetření, zahrnujícího zjištění hloubky parodontálního chobotu (periodontal pocket depth – PPD >5 mm), BOP (bleeding on probing), CAL (clinical attachment loss), a rentgenologického vyšetření, v němž převažovaly vertikální infraalveolární parodontální choboty. Pacienti nebyli v posledních třech měsících před začátkem studie podrobeni antibiotické léčbě ani parodontální terapii a nebyli léčeni v souvislosti se systémovým onemocněním. Pět pacientů bylo kuřáků (3–10 cigaret/den). Pacienti s pokročilou parodontitidou byli v rámci iniciační fáze terapie parodontitidy léčeni jednou ze dvou standardně schválených metod v rámci konzervativní terapie (buď pouze deep scaling a root planing, nebo deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou terapii). Stav parodontu byl hodnocen před léčbou a dva týdny, tři měsíce

a 18 měsíců po konzervativní terapii deep scaling a root planing. Chirurgická terapie parodontitidy nebyla ani u jednoho zařazeného pacienta do studie aplikována. Zařazení pacientů do podskupiny A nebo B bylo provedeno randomizací pomocí generování náhodných čísel. Podskupina A byla vytvořena 20 pacienty (10 mužů, 10 žen, průměrný věk: 32,2 let) léčenými pouze deep scaling a root planing, který byl doplněn o výplach ústní vodou obsahující 0,2 % chlorhexidini digluconati dvakrát denně po dobu 10 dnů. Podskupina B byla tvořena 23 pacienty (13 mužů, 10 žen, průměrný věk byl 31 let) léčenými stejně jako pacienti podskupiny A, avšak navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (Amoksiklav 1 g; jedna tableta každých 12 hodin a Entizol 250 mg; dvě tablety každých 8 hodin) a podáním první dávky 48 hodin před léčbou deep scaling a root planing.

U všech pacientů byla v průběhu terapie (před léčbou a dva týdny, tři měsíce a 18 měsíců po léčbě) zjištěna hodnota parodontálních indexů BOP, CAL a PPD. Každému pacientovi byla v průběhu terapie odebrána sada čtyř vzorků z nejhlubšího a vždy stejného parodontálního chobotu pro stanovení složení mikrobiomu. Během počátečního vyšetření při vstupu pacienta do studie byl pacient poučen o správné ústní hygieně. První vzorek (1) byl odebrán bezprostředně před provedením deep scaling a root planing pro podskupinu A a jeden den před per os aplikací první dávky antibiotik pro podskupinu B. Vzorky 2 a 3 byly u obou podskupin pacientů odebrány dva týdny, resp. tři měsíce po léčbě metodou deep scaling a root planing. Po 18 měsících od léčby metodou deep scaling a root planing byl u obou podskupin pacientů odebrán vzorek 4 k dlouhodobému monitorování k posouzení rizika remise pokročilé parodontitidy. Všechny vzorky byly odebrány z nejhlubšího parodontálního chobotu neinvazivní bezbolestnou technikou sterilními endodontickými papírovými čepy velikosti ISO 40. Odebrané čepy byly vždy umístěny do sterilní mikroskopické vavky a předány do laboratoře k izolaci mikrobiální DNA. Pro izolaci mikrobiální DNA byl použit kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, GmbH, Hilden, Německo), přesný popis je uveden v publikaci Najmanova a kol. [17]. Izolovaná DNA byla uložena při -20 °C pro sekvenční analýzu.

Illumina MiSeq 2×250 pair-end protokol byl použit pro sekvenování variabilní oblasti IV až V 16S rDNA. Taxonomické složení orálního mikrobiomu bylo stanoveno porovnáním získaných výsledků s databází HOMD (Human oral microbiome database). Tento přístup umožnil charakterizovat orální mikrobiom v jednotlivých

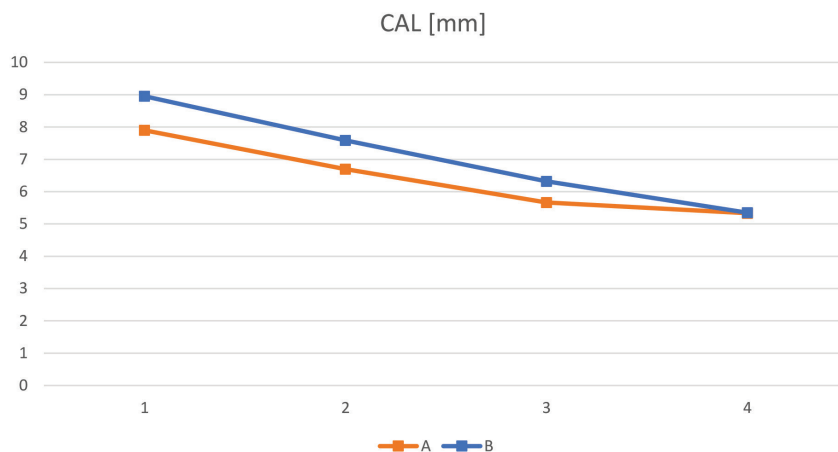
vzorcích na úrovni rodů i druhů. Primární i sekundární PCR amplifikace byly provedeny přesně podle popisu uvedeného v publikaci Najmanova a kol. [17]. Purifikované roztoky tagovaných ampliconů testovaných vzorků se dále smísily v ekvimolárních koncentracích a s použitím TruSeq DNA Library Preparation Kit v2 (Illumina, San Diego, Kalifornie, USA) a byl připraven aplikovaný výzkum. Vlastní sekvenace proběhla na přístroji Illumina MiSeq platform protokolem paired-end reads, 2×250 bp. Sekvenční data byla vyhodnocena s použitím veřejně dostupné platformy Seed 2.0 postupem popsáním v publikaci Najmanova a kol. [17].

V tomto projektu byla použita metodika stanovení R/G indexu parodontálního rizika, která byla navržena v publikaci Najmanova a kol. [17]. Metodika je založena na stanovení poměru souhrnné relativní abundance taxonů jednoznačně přiřaditelných k parodontitidě (R) a souhrnné relativní abundance taxonů jednoznačně přiřaditelných k parodontálnímu zdraví (G), tzv. R/G index. Predikční síla R/G indexu, tedy správnost určení pacienta s parodontálním zdravím nebo s parodontitidou na základě stanovení tohoto indexu, byla 95 %.

VÝSLEDKY

V **grafu 1** jsou znázorněny hodnoty parodontálního indexu CAL (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu CAL u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k vyššímu poklesu z hodnoty $8,955 \pm 1,838$ mm (aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka) na hodnotu $5,348 \pm 1,774$ mm v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $7,900 \pm 1,252$ mm na hodnotu $5,333 \pm 1,414$ mm.

V **grafu 2** jsou znázorněny hodnoty hloubky parodontálního chobotu PPD (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu PPD u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu 10 dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k vyššímu poklesu z hodnoty $8,455 \pm 2,041$ mm (aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka) na hodnotu $3,435 \pm 1,199$ mm v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $7,450 \pm 1,276$ mm na hodnotu $3,700 \pm 0,923$ mm.



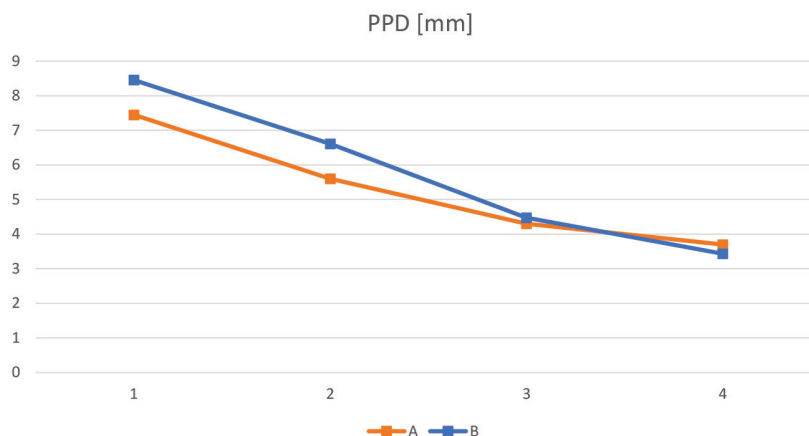
Graf 1 Parodontální index CAL v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v mm)

Graph 1 Periodontal index CAL during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in mm)

V **grafu 3** jsou znázorněny hodnoty parodontálního indexu BOP (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu parodontálního indexu BOP u obou podskupin pacientů. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu 10 dnů (podskupina B) došlo v průběhu terapie k nižšímu poklesu z hodnoty $68,391 \pm 31,080$ % (aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka) na hodnotu $15,826 \pm 16,972$ % v porovnání s podskupinou A, kde došlo k poklesu z hodnoty $77,150 \pm 29,283$ % na hodnotu $18,750 \pm 12,523$ %.

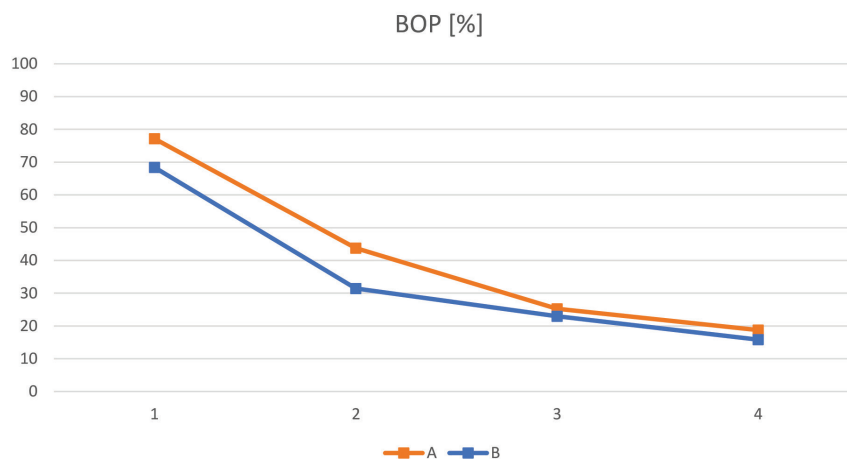
V **grafu 4** jsou znázorněny hodnoty indexu parodontálního rizika R/G (aritmetický průměr v podskupinách) v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou. V průběhu léčby došlo k významnému poklesu inde-

xu parodontálního rizika R/G. U podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik po dobu deseti dnů (podskupina B) došlo 14 dní po léčbě k významně vyššímu poklesu R/G indexu v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing ($R/G = -0,890 \pm 1,395$ vs. $R/G = 1,071 \pm 1,672$) (aritmetický průměr \pm směrodatná odchylka). Tři měsíce po léčbě byly hodnoty indexu parodontálního rizika R/G u obou podskupin pacientů obdobné ($R/G = 0,511 \pm 1,276$ vs. $R/G = 0,683 \pm 1,200$) a 18 měsíců po léčbě jsme pozorovali nižší hodnotu průměru R/G indexu u podskupiny pacientů léčených deep scaling a root planing navíc s aplikací antibiotik (podskupina B, $R/G = 0,587 \pm 1,550$) v porovnání s podskupinou A léčenou pouze deep scaling a root planing ($R/G = 1,107 \pm 1,725$).



Graf 2 Parodontální index PPD v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v mm)

Graph 2 Periodontal index PPD during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in mm)



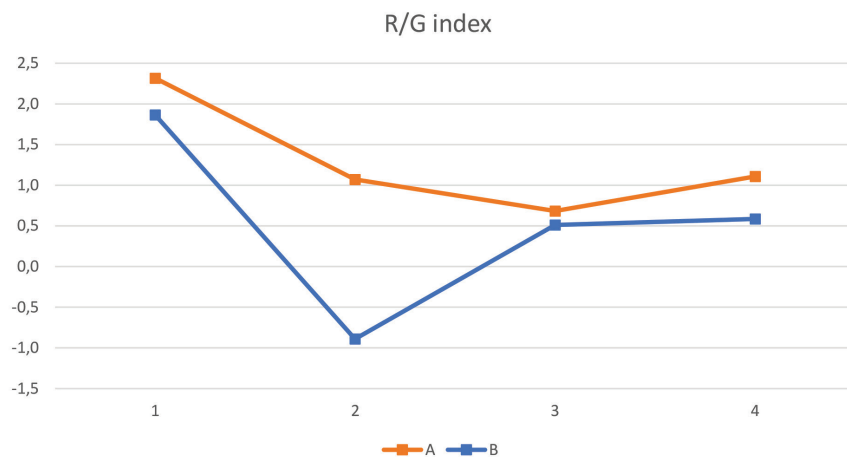
Graf 3 Parodontální index BOP v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr v %)
Graph 3 Periodontal index BOP during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean in %)

DISKUSE

Systémově podaná antibiotika jsou dnes oblíbenou součástí parodontologické léčby, jak uvádějí četné studie [18–21]. Ve studii mezi oběma testovanými skupinami, tedy u pacientů léčených v rámci konzervativní terapie pouze deep scaling a root planing a deep scaling a root planing doplněný o antibiotickou suplementaci, nebyl shledán podstatný rozdíl v klinických parametrech.

Komplexní charakterizace mikrobiomu ukázala, že v případě podpory deep scaling a root planing léčby systémovými antibiotiky došlo po 14 dnech k výraznému posunu taxonomického složení směrem k vysloveně zdravému charakteru orální mikrobioty, ovšem po dalších třech měsících se tento rozdíl zcela smazal a na vývoj klinických parametrů nemělo podání antibiotik významný vliv.

Je nutné zmínit i negativní efekt antibiotik, kterým je vytváření selektivního tlaku na vznik a šíření rezistencí některých bakteriálních taxonů k určitému typu antibiotik. Tento vztah je samozřejmě studován i v rámci parodontálních bakteriálních taxonů, jak popisuje studie testující rezistenci taxonů patřících do červeno-oranžového komplexu (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus constellatus* a *Campylobacter rectus*) vůči účinku tinidazolu (16 mg/l), metronidazolu (16 mg/l), amoxicilinu (8 mg/l), doxycyklinu (4 mg/l) nebo klindamycinu (4 mg/l) in vitro. Výsledek studie ukazuje, že společná druhová rezistence in vitro vůči tinidazolu a amoxicilinu nebo metronidazolu a amoxicilinu byla vzácná. Tinidazol fungoval in vitro podobně jako metronidazol a výrazně lépe než



Graf 4 R/G index v průběhu léčby pacientů s pokročilou parodontitidou (aritmetický průměr)
Graph 4 R/G index during treatment of patients with severe periodontitis (arithmetic mean)

amoxicilin, doxycyklin nebo klindamycin proti klinickým izolátům parodontálních patogenů červenooranžového komplexu [22]. Předmětem studia jsou též možnosti použití kombinací antibiotik v terapii agresivní parodontitidy s ohledem na zlepšení klinických parametrů. Ve své studii Araujo a kol. zjistili, že podání klaritromycinu (500 mg 2× denně) po dobu sedmi dnů v porovnání s použitím kombinace amoxicilinu (500 mg 3× denně) a metronidazolu (400 mg 3× denně) po dobu sedmi dnů může být alternativou antimikrobiální léčby mladých pacientů díky pozitivnímu efektu na klinické parametry [23]. Pro použití antibiotik v rámci terapie parodontitidy je také významné načasování jejich použití v rámci konzervativní terapie parodontitidy. Nejvýhodněji z hlediska zlepšení klinických parametrů BOP, CAL a PPD se jeví preskripce antibiotik v iniciační fázi terapie parodontitidy nebo bezprostředně po deep scaling a root planing. Podání systémových antibiotik ve fázi reevaluace nebo po případné reinstrumentaci povrchu kořene se v porovnání klinických parametrů jeví jako méně výhodná [24, 25]. Ze studie je patrné, že klinické parametry BOP, PPD a CAL se v obou skupinách vyvíjely obdobně, a s ohledem na obecnou tendenci redukovat nadužívání antibiotik tedy spíše doporučujeme aplikovat pouze deep scaling a root planing a k podání antibiotik přistoupit jen ve výjimečných případech, pokud si to celkový zdravotní stav pacienta vyžadá.

V souvislosti s podávanými systémovými antibiotiky je nutné zmínit možnou rekolonizaci parodontálních chobotů parodontálními patogeny. Tato rekolonizace byla studována například v intervalech tří a šesti měsíců po systémovém podání antibiotik [26]. Byla potvrzena rekolonizace *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* a *Treponema denticola* z epiteliálních buněk ústní sliznice. Systémová antibiotika a topický chlorhexidin nesnížily procento napadených epiteliálních buněk. Tyto údaje podporují hypotézu, že existují extra krevikulární rezervoáry bakterií, které mohou u některých pacientů přispívat k rekurentní nebo refrakterní parodontitidě [26]. Parodontologická léčba by měla znesnadňovat rekolonizaci tím, že změní podmínky prostředí (redukce hloubky parodontálního chobotu, eliminace anaerobního prostředí, eliminace zánehtlivého edému gingivy atd.) a umožní kolonizaci aerobním streptokokům, které zde najdou vhodné životní podmínky. Přítomnost některých bakteriálních taxonů (*Prevotella* sp., *Fusobacterium nucleatum* subsp. *vincentii*, *Rothia* sp.), jejichž DNA byla detekována ve vzorcích z pa-

rodontálních chobotů jak u pacientů s klinickými projevy parodontitidy, tak i bez klinických projevů, by mohla varovat ošetřujícího parodontologa před klinickými projevy parodontitidy, což by představovalo významný nástroj v odhalení rizika možného vzniku parodontitidy ještě před nástupem samotných klinických projevů onemocnění [27]. Pro použití systémově podaných antibiotik v terapii parodontitidy je v době častých rezistencí na různé typy antibiotik vhodné mikrobiologické testování [28]. Rozšíření spektra metod pro DNA analýzu parapatogenních bakteriálních taxonů souvisí se zjištěním větší komplexnosti vztahů mezi jednotlivými bakteriálními taxony osidlujícími tkáňně parodontu a také s jejich finanční dostupností pro pacienta.

Individualizovaná terapie budoucnosti, kdy by dočasná redukce dysbiotické mikrobioty mohla být stabilizována vhodně zvolenou probiotickou léčbou nebo transplantací orální mikrobioty od zdravého dárce, by mohla z podání antibiotik profitovat, nicméně bez ověření účinnosti těchto kroků nespátřujeme v podávání antibiotik pro pacienta významnou výhodu, právě naopak, vystavujeme ho zbytečnému riziku vzniku rezistentních kmenů. Antibiotika jako systémové antimikrobiální léčivé přípravky zůstanou součástí parodontologické léčby, ovšem jejich použití by mělo být vždy velmi důkladně zváženo [29].

ZÁVĚR

Antibiotika jsou nedílnou součástí terapie agresivní parodontitidy. Ovšem již na začátku jednadvacátého století se hovořilo o postantibiotické éře. S rozvojem rezistence bakteriálních taxonů je více než nutné vždy pečlivě zvážit jejich použití. Hovoří se o takzvaných superbugs, bakteriálních taxonech vykazujících rezistenci vůči více třídám antibiotik najednou, což představuje velký medicínský problém obecně. Samozřejmě se tato rezistence týká i parapatogenních bakteriálních taxonů, proto i použití antibiotik v parodontologii by mělo být podloženo podrobným klinickým, mikrobiologickým a celkově medicínským vyšetřením.

**Tato studie byla vytvořena za podpory
výzkumného projektu č. 17-30753A
(Agentura pro zdravotnický výzkum,
Ministerstvo zdravotnictví ČR).**

MUDr. Jaroslav Myšák, Ph.D.

Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN
Karlovo náměstí 32
120 00 Praha 2
e-mail: jaroslav.mysak1@gmail.com

LITERATURA

- 1. Schätzle M, Loe H, Bürgin W, Anerud A, Boysen H, Lang NP.** Clinical course of chronic periodontitis. I. Role of gingivitis. *J Clin Periodontol.* 2003; 30(10): 887–901.
- 2. Armitage GC.** Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999; 4(1): 1–6.
- 3. Papananou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile WV, Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kebschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, Loos BG, Machtei E, Meng H, Mombelli A, Needleman I, Offenbacher S, Seymour GJ, Teles R, Tonetti MS.** Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018; 89(Suppl. 1): S173–S182.
- 4. Armitage GC, Cullinan MP.** Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2010; 53: 12–27.
- 5. Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, González FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J.** Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011; 90(10): 1164–1170.
- 6. Bosshardt DD.** The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol* 2000. 2018; 76(1): 43–50.
- 7. Scannapieco FA, Dasanayake AP, Chhun N.** Does periodontal therapy reduce the risk for systemic diseases? *Dent Clin North Am.* 2010; 54(1): 163–181.
- 8. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S.** Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol.* 1991; 18(10): 766–775.
- 9. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL.** Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(2): 134–144.
- 10. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ.** New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2003; 82(5): 338–344.
- 11. Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ.** Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. *J Clin Microbiol.* 2005; 43(8): 3944–3955.
- 12. Kumar PS, Leys EJ, Bryk JM, Martinez FJ, Moeschberger ML, Griffen AL.** Changes in periodontal health status are associated with bacterial community shifts as assessed by quantitative 16S cloning and sequencing. *J Clin Microbiol.* 2006; 4(10): 3665–3673.
- 13. Keijsers BJF, Zaura E, Huse SM, Vossen van der JMBM, Schuren FHJ, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W.** Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res.* 2008; 87(11): 1016–1020.
- 14. Zaura E, Keijsers BJF, Huse SM, Crielaard W.** Defining the healthy "core microbiome" of oral microbial communities. *BMC Microbiol.* 2009; 9: 259.
- 15. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, Lakshmanan A, Wade WG.** The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010; 192(19): 5002–5017.
- 16. Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK, Podar M, Leys EJ.** Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J.* 2012; 6(6): 1176–1185.
- 17. Najmanova L, Sabova L, Lenartova M, Janatova T, Mysak J, Vetrovsky T, Tesinska B, Balikova Novotna G, Koberska M, Broukal Z, Duskova J, Podzimek S, Janata J.** R/G value – a numeric index of individual periodontal health and oral microbiome dynamics. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; doi: 10.3389/fcimb.2021.602643
- 18. Prakasam A, Elavarasu SS, Natarajan RK.** Antibiotics in the management of aggressive periodontitis. *J Pharm Bioallied Sci.* 2012; 4(Suppl. 2): S252–S255.
- 19. Aral K, Aral CA, Kapila Y.** Six-month clinical outcomes of non-surgical periodontal treatment with antibiotics on apoptosis markers in aggressive periodontitis. *Oral Dis.* 2019; 25(3): 839–847.
- 20. Isola G.** Antibiotics and antimicrobials for treatment of the oral microbiota: myths and facts in research and clinical practice. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 95.
- 21. Mendes CL, de Assis P, Annibal H, de Oliveira LJR, de Albuquerque MS, de Lima Soares M, Lago MC, Braz R.** Metronidazole and amoxicillin association in aggressive periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Saudi Dent J.* 2020; 32(6): 269–275.
- 22. Rams TE, Sautter JD, van Winkelhoff AJ.** Comparative in vitro resistance of human periodontal bacterial pathogens to tinidazole and four other antibiotics. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 68.
- 23. Araujo CF, Andere NMRB, dos Santos NCC, Mathias-Santamaria IF, Reis AA, de Oliveira LD, Jardini MAN, Casarin RCV, Santamaria MP.** Two different antibiotic protocols as adjuncts to one-stage full-mouth ultrasonic debridement to treat generalized aggressive periodontitis: A pilot randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2019; 90(12): 1431–1440.
- 24. Kaner D, Christan C, Dietrich T, Bernimoulin JP, Kleber BM, Friedmann A.** Timing affects the clinical outcome of adjunctive systemic antibiotic therapy for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2007; 78(7): 1201–1208.
- 25. Abdallaoui-Maan L, Bouziane A.** Effects of timing of adjunctive systemic antibiotics on the clinical outcome of periodontal therapy: A systematic review. *Clin Exp Dent.* 2020; 12(3): e300–e309.
- 26. Johnson JD, Chen R, Lenton PA, Zhang G, Hinrichs JE, Rudney JD.** Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79(12): 2305–2312.
- 27. Lenartova M, Tesinska B, Janatova T, Hrebicek O, Mysak J, Janata J, Najmanova L.** The oral microbiome in periodontal health. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; doi: 10.3389/fcimb.2021.629723
- 28. Eick S, Nydegger J, Bürgin W, Salvi GE, Sculean A, Ramseier C.** Microbiological analysis and the outcomes of periodontal treatment with or without adjunctive systemic antibiotics – a retrospective study. *Clin Oral Investig.* 2018; 22(9): 3031–3041.
- 29. Pretzl B, Sälzer S, Ehmke B, Schlagenhauf U, Dannewitz B, Dommisch H, Eickholz P, Jockel-Schneider Y.** Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy – a consensus report. *Clin Oral Investig.* 2019; 23(7): 3073–3085.