

PROFIL MIKROBIOMU TKANEK OKOŁOWIERZCHOŁKOWYCH ZĘBA MĄDROŚCI PRZELECZONEGO ENDODONTYCZNIE Z WIDOCZNĄ ZMIANĄ TORBIELOWĄ

Anna Turska-Szewczuk¹, Dorota Samborska¹, Gabriela Omiotek¹

Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Akademicka 19, 20-033 Lublin



Wprowadzenie

Zęby pozornie prawidłowo przeleczone endodontycznie, nawet bez obserwowalnych objawów klinicznych i widocznych zmian w obrazie rentgenowskim, ale także ze zmianami okołowierzchołkowymi i torbielami stanowią źródło infekcji groźnych dla zdrowia człowieka. Jest to miejsce bytowania oportunistycznej mikrobioty, głównie ściśle beztlenowej, której namnażanie się prowadzi do zmian w obrębie tkanek wierzchołka korzenia, a w miarę rozwoju tego procesu do transmisji drobnoustrojów do innych narządów. Dane kliniczne wskazują, że źródła zakażeń pierwotnych są często zlokalizowane w przydatkach, układzie moczowym, drogach żółciowych, jednak aż 90% z nich powstaje w obrębie głowy. Ucho środkowe, zatoki przynosowe, a zwłaszcza jama ustna, migdałki, zęby i tkanki przyzębia stanowią 80% wszystkich zmian o charakterze zapalnym, a wśród nich pierwsze miejsce zajmują ogniska zębopochodne [1,2].

Cel

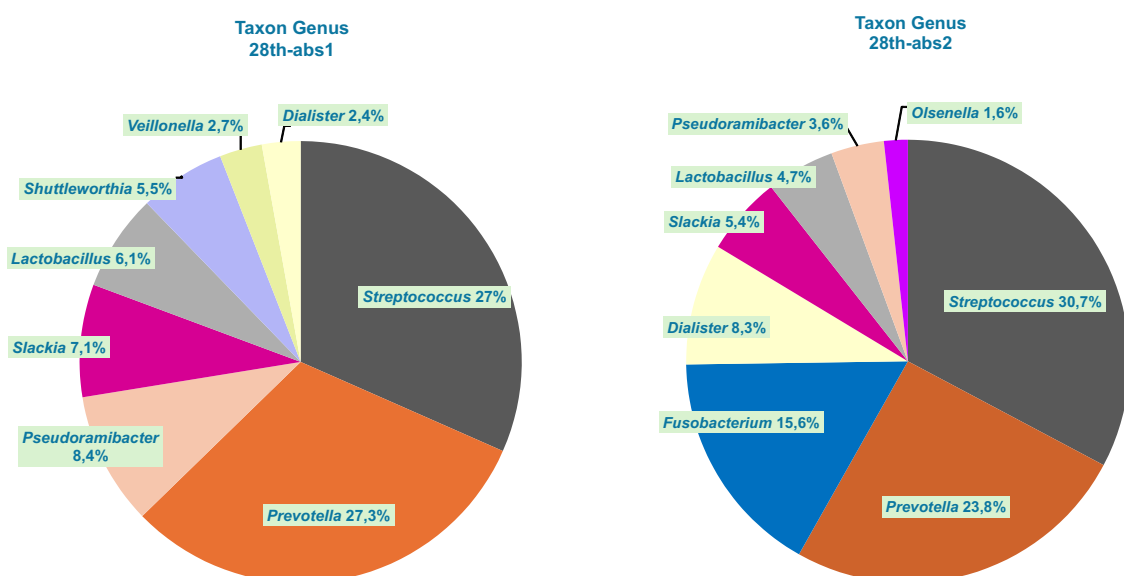
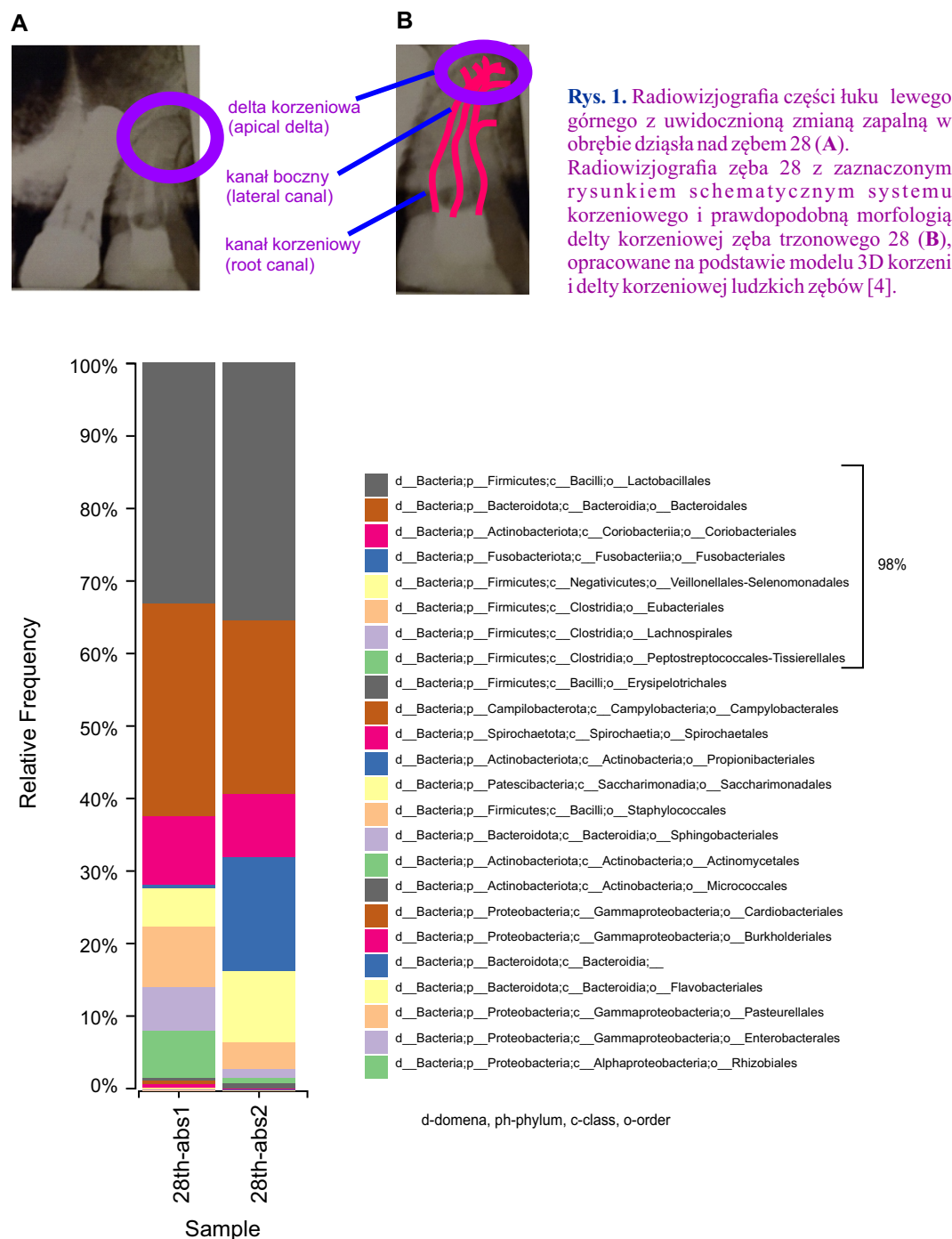
Celem pracy było określenie zmian w składzie mikrobiomu bakteryjnego tkanek okołowierzchołkowych zęba mądrości 28 (wg systemu Viohla) prawidłowo przeleczonego endodontycznie, z widoczną zmianą torbielową w obrazie rentgenowskim (Rys. 1), w zależności od czasu trwania hodowli preparatu w warunkach beztlenowych w bulionie tioglikolanowym w temperaturze 37°C.

Metody

Z obu prób po 10 (28th-abs1) i 28 dniach hodowli (28th-abs2-pasaż do świeżego podłoża) w warunkach beztlenowych w bulionie tioglikolanowym w temperaturze 37°C, wyizolowano genomowe DNA metodą automatyczną z wykorzystaniem drobinek magnetycznych i zestawu MagnifiQ 1 genomic DNA instant kit (A&A Biotechnology), a po sprawdzeniu jego ilości oraz czystości, skierowano do dalszych badań. Analiza struktury metagenomicznej populacji bakterii została wykonana dla obu prób techniką wysokoprzepustowego sekwencjonowania NGS (MiSeq Illumina, Genomed SA) hiperzmiennego regionu V3-V4 genu 16S rDNA. Analizę bioinformatyczną ampikonów wykonano z wykorzystaniem oprogramowania MiSeq Reporter (MSR) v2.6 oraz QIIME 2 [3] w oparciu o sekwencje referencyjne zdeponowane w bazie Silva 138.

Wyniki

Wyjściową mikrobiotę do badań (próba 28th-abs1) tkanek okołowierzchołkowych zęba 28 (Rys. 2) stanowili, w zdecydowanej większości przedstawiciele rzędów Lactobacillales (33%), Bacteroidales (29,3%), Coriobacteriales (9,5%), Eubacteriales (8,4%), Peptostreptococcales-Tissierellales (6,4%), Lachnospirales (6%) i Veillonellales-Selenomonadales (5,2%) (98% populacji). Najliczniej wśród taksonów były reprezentowane rodzaje, odpowiednio, *Streptococcus* (27,0%) i *Prevotella* (27,3%), *Pseudoramibacter* (8,4%), *Slackia* (7,1%) i *Lactobacillus* (6,1%) oraz *Shuttleworthia* (5,5%). Wśród taksonów na poziomie rzędu zauważalny był także udział Veillonellales-Selenomonadales, z dominującymi rodzajami *Veillonella* i *Dialister*, na poziomie od 2,4 do 2,7% (Rys. 3). Pasaż do świeżego bulionu tioglikolanowego i hodowla w warunkach beztlenowych (próba 28th-abs2), wpływały na strukturę mikrobioty, która zmieniała się, ale nadal zachowywała różnorodność (Rys. 2). Podobnie jak w stanie początkowym, dominowały wówczas drobnoustroje z rodzaju *Streptococcus* (31,0%) i *Prevotella* (24%), pasaż promował jednak istotnie wzrost *Fusobacterium* (15,6%), których udział w pierwotnej strukturze mikrobioty był znikomy.



Wnioski

Hodowla drobnoustrojów tkanki okołowierzchołkowej zęba 28 przeleczonego endodontycznie, z widoczną zmianą torbielową, prowadzona w warunkach beztlenowych w temp. 37°C pozwala na uzyskanie materiału jakościowego odpowiedniego do badań metagenomicznych NGS populacji bakterii, które odzwierciedlają jej początkową różnorodność. Pasaż oraz dłuższy czas hodowli preparatu w bulionie tioglikolanowym pozwoliły zachować zróżnicowaną strukturę mikrobioty, promując istotnie wzrost przedstawicieli rzędu Fusobacteriales, obok pierwotnie dominujących Bacteroidales i Lactobacillales, które łącznie stanowiły blisko 71% populacji drobnoustrojów.

Literatura:

- [1] Nowak-Kwater B., Kwater A., Chomyszyn-Gajewska M. Znaczenie zębopochodnych ognisk zakażenia. Przewodnik Lekarza, 2003 (7/8), 108–114.
- [2] Niedzielska I., Wziątek-Kuczmik D. Wpływ zębopochodnych ognisk infekcji na choroby innych narządów - przegląd piśmiennictwa. Chirurgia Polska, 2007, 9(2), 92-96.
- [3] Bolyen, E., Rideout, J., Dillon, M. et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 Nature Biotechnology, 2019, 37(8), 852-857.
- [4] Mazzi-Chaves, J., Silva-Sousa, Y. et al. (2020). Micro-computed tomographic assessment of the variability and morphological features of root canal system and their ramifications. Journal of Applied Oral Science. 2020, 28. 10.1590/1678-7757-2019-0393.