

ELŻBIETA ZEDLER<sup>1A, B, D-F</sup>, ANNA KĘDZIA<sup>2, B, D, E</sup>, ADAM ZEDLER<sup>3, B</sup>, AGATA ŻÓŁTOWSKA<sup>1, E</sup>,  
BARBARA KOCHAŃSKA<sup>1, A, D, E</sup>

## Częstość izolacji Gram-ujemnych pałeczek bezwzględnie beztlenowych z ziarniniaków okołowierzchołkowych zębów wraz z oceną ich wrażliwości na antybiotyki i pochodne 5-nitroimidazoli

### Frequency of Isolation of Gram-Negative Obligate Anaerobes Rods from Dental Periapical Granulomas with their Sensitivity to Antibiotics and 5-Nitroimidazole Derivatives

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>3</sup> Katedra i Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej i Stomatologicznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

A – koncepcja i projekt badania; B – gromadzenie i/lub zestawianie danych; C – opracowanie statystyczne;  
D – interpretacja danych; E – przygotowanie tekstu; F – zebranie piśmiennictwa

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** W zakażeniach w obrębie kanału korzeniowego oraz tkanek okołowierzchołkowych, oprócz innych bakterii mieszanego zakażenia, występują bezwzględnie beztlenowe pałeczki Gram-ujemne, które mogą wywoływać niespecyficzne reakcje zapalne w tkankach okołowierzchołkowych, brać udział w etiologii ropni endodontycznych i przewlekłych zmian zapalnych tkanek okołowierzchołkowych.

**Cel pracy.** Określenie izolowanych gatunków i rodzajów Gram-ujemnych bezwzględnie beztlenowych pałeczek w ziarniniakach okołowierzchołkowych oraz ocena ich wrażliwości na antybiotyki i pochodne 5-nitroimidazoli.

**Materiał i metody.** Materiał do badań mikrobiologicznych stanowiło 70 ziarniniaków okołowierzchołkowych. Badane materiały posiewano na podłoża odpowiednie dla bakterii beztlenowych oraz inkubowano w warunkach beztlenowych w anaerostatach w 37°C przez 10 dni. Wyhodowane bakterie beztlenowe zidentyfikowano zgodnie z wynikami testów fermentacyjnych dla identyfikacji bakterii beztlenowych API20A (bioMérieux). Oceniono wrażliwość (MIC) beztlenowców na następujące antybiotyki: penicylinę G, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem, cefazolinę, cefadroksyl, cefuroksym, erytromycynę, klindamycynę, doksyklicynę, metronidazol i tynidazol.

**Wyniki.** Ogółem wyizolowano 143 szczepy Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych. Występowały one w 58 (82,9%) ziarniniakach okołowierzchołkowych. Najczęściej izolowano pałeczki z rodzaju *Prevotella* (34,3%), *Bacteroides* (21,8%), rzadziej *Fusobacterium* (17,5%), *Porphyromonas* (16,8%), *Tannerella* (9,8%), a najrzadziej *Selenomonas* (0,7%). Wszystkie badane pałeczki Gram-ujemne wykazały 100% wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym i ampicylinę z sulbaktamem, dużą wrażliwość na metronidazol (93–100%), tynidazol (95–100%) i klindamycynę (91–96%). Wrażliwość na pozostałe antybiotyki wynosiła 17–42%.

**Wnioski.** Częstość izolacji pałeczek Gram-ujemnych beztlenowych z badanych materiałów była duża (82,9%). Najczęściej stwierdzano w badanych ziarniniakach pałeczki z rodzaju *Prevotella* i *Bacteroides*.

Wyizolowane Gram-ujemne pałeczki bezwzględnie beztlenowe wykazały 100% wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem oraz dużą wrażliwość na metronidazol, tynidazol, klindamycynę (Dent. Med. Probl. 2012, 49, 3, 363–369).

**Słowa kluczowe:** bakterie beztlenowe, wrażliwość, antybiotyki, metronidazol i tynidazol, ziarniniak okołowierzchołkowy.

## Abstract

**Background.** In infections within the root-canal and the periapical tissue besides other bacteria of mixed infection the Gram-negative strictly anaerobic bacteria occur. Those may cause non-specific inflammations of the periapical tissues or take part in creating an endodontic abscesses and chronic inflammations of periapical tissue etiology.

**Objectives.** To define the most frequently isolated species and genera of Gram-negative bacteria in obligate anaerobic periapical granuloma and their assessment of the sensitivity to antibiotics and derivatives 5-nitroimidazol.

**Material and Methods.** The material for the microbiological study were 70 periapical granulomas. The tested materials were inoculated on substrates suitable for anaerobic bacteria and incubated at anaerobic in aerostats at 37°C for 10 days. Cultured anaerobic bacteria were identified in anaerobic conditions with applicable standards of identifying anaerobic bacteria API20A (bioMérieux). Sensitivity (MIC) of anaerobic bacteria to the following antibiotics: penicillin G, amoxicillin with clavulanic acid, ampicillin sulbactam with cefazolin, cefadroxil, cefuroxime, erythromycin, clindamycin, doxycycline, metronidazole and tinidazole was evaluated.

**Results.** In total the 143 strains of Gram-negative anaerobic rods were isolated. They were found in 58 (82.9%) of periapical granulomas. The most frequently isolated were the rods from genera of *Prevotella* (34.3%), *Bacteroides* (21.8%), rarer *Fusobacterium* (17.5%), *Porphyromonas* (16.8%), *Tannerella* (9.8%), and least frequently *Selenomonas* (0.7%). All tested Gram-negative rods showed 100% sensitivity to amoxicillin with clavulanic acid, sulbactam and ampicillin, high sensitivity to metronidazole (93–100%), tinidazole (95–100%) and clindamycin (91–96%). Sensitivity to other antibiotics ranged from 17 to 42%.

**Conclusions** The frequency of isolation of Gram-negative anaerobes from the tested materials was high (82.9%). The most frequently observed species in the studied granulomas, were *Prevotella* and *Bacteroides*. Isolated Gram-negative strictly anaerobic rods clearly showed 100% susceptibility to amoxicillin with clavulanic acid, sulbactam and ampicillin, high sensitivity to metronidazole, clindamycin and tinidazole (*Dent. Med. Probl.* 2012, 49, 3, 363–369).

**Key words:** anaerobic bacteria, susceptibility, antibiotics, metronidazole and tinidazole, periapical granulomas.

W zakażeniach w obrębie kanału korzeniowego oraz tkanek okołowierzchołkowych biorą udział bezwzględnie beztlenowe pałeczki Gram-ujemne [1, 2]. Mogą one wywoływać niespecyficzne reakcje zapalne w tkankach okołowierzchołkowych [3], brać udział w powstawaniu ropni endodontycznych [4] oraz przewlekłych zmian zapalnych tkanek okołowierzchołkowych [5].

Ziarniniaki okołowierzchołkowe, które są przewlekłymi zmianami zapalnymi tkanek okołowierzchołkowych zęba, według niektórych autorów są jałowe [6–8]. Wymienieni autorzy uważają, że bakterie występują głównie w kanale korzeniowym i są oddzielone od tkanki zapalnej przez licznie nagromadzone leukocyty wielojądrowe [7]. Badania innych autorów [2, 9] wskazują, że w ziarniniakach okołowierzchołkowych mogą być obecne drobnoustroje. Samaranyake et al. [9], którzy zbadali 64 przewlekłe zmiany okołowierzchołkowe, stwierdzili obecność bakterii w 78% przypadków. Oceniając szczegółowo 29 badanych zmian, stwierdzili [9], że bakterie beztlenowe stanowiły 30% wszystkich wyizolowanych drobnoustrojów. Abou-Rass et al. [10] pobierali próbki do badań mikrobiologicznych z opornych na leczenie zmian okołowierzchołkowych oraz z okolicy okołowierzchołkowej zęba po wyłuszczeniu zmian. Drobnoustroje występowały we wszystkich 13 próbkach pobranych z okolicy wierzchołka korzenia, natomiast wewnątrz zmian okołowierzchołkowych stwierdzono bakterie w 62% badanych materiałów. Uważa się, że Gram-ujemne pałeczki beztlenowe biorą czynny udział w powstawaniu chorób

tkanek okołowierzchołkowych, ale nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy pałeczki mogą wnikać do ziarniniaków okołowierzchołkowych, czy mogą tam przeżyć i rozmnażać się oraz jakie antybiotyki bądź pochodne 5-nitroimidazoli mogą wspomóc leczenie tych zmian.

Celem pracy było stwierdzenie, czy w ziarniniakach okołowierzchołkowych występują Gram-ujemne pałeczki beztlenowe. W przypadku wyizolowania bakterii określenie ich gatunków i rodzajów oraz ocena wrażliwości na antybiotyki i pochodne 5-nitroimidazoli (metronidazol i tinidazol).

## Materiał i metody

Badaniami objęto 70 zębów (37 zębów górnych i 33 zęby dolne, w tym 54 zęby trzonowe, 9 przedtrzonowych, 6 zębów siecznych i 1 kieł) z przewlekłym ziarninowym zapaleniem tkanek okołowierzchołkowych, które zostały usunięte razem z ziarniniakiem okołowierzchołkowym. Zęby te nie były leczone endodontycznie, istniało bezwzględne wskazanie do ekstrakcji, ponadto – co należy podkreślić – nie stwierdzano zapalenia przyzębia brzeżnego. Materiał do badań stanowiły ziarniniaki okołowierzchołkowe, które odcinano sterylnymi nożyczkami bezpośrednio po ekstrakcji. Materiał natychmiast po pobraniu umieszczano w jałowych pojemnikach zawierających płyn transportowy przygotowany metodą PRAS i w czasie godziny dostarczano do laborato-

rium. Z każdego badanego materiału wykonywano preparat bezpośredni, który barwiono metodą Grama oraz dokonywano posiewów na powierzchni szeregu podłoży agarowych. W celu oceny ilościowej drobnoustrojów przygotowywano seryjne rozcieńczenia próbek, które posiewano na odpowiednie niewybiórcze podłoża. W celu wyhodowania bakterii beztlenowych materiały posiewano na następujące podłoża: agar dla beztlenowców z dodatkiem 5% krwi baraniej, menadionu i heminy (po 10 µg/ml), dwa podłoża wybiórcze tryptykazo-sojowe zawierające: kanamycynę i wankomycynę oraz neomycynę [11], *Fusobacterium Medium* (Difco) oraz *Clostridium Selective Agar* (Merck). Podłoża z posiewami inkubowano w warunkach beztlenowych w anaerostatach zawierających 10% CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> i 80% N<sub>2</sub>, katalizator palladowy, wskaźnik warunków beztlenowych i żel krzemionkowy jako odsuszacz, w 37°C. Po 7–10-dniowej inkubacji oceniano morfologię wy-

hodowanych kolonii, ich zdolność do fluorescencji w promieniach UV, oznaczano cechy biochemiczne z użyciem zestawu API20A (bioMérieux), w razie potrzeby uzupełniając badania o dodatkowe cechy. Badano obecność produktów metabolizmu glukozy, w tym kwasy tłuszczowe od C<sub>1</sub> do C<sub>6</sub>, zdolność do wytwarzania kwasu bursztynowego, mlekowego i fumarowego za pomocą chromatografu gazowego. Wyhodowane szczepy bakterii beztlenowych identyfikowano wg obecnie obowiązujących zasad [12–14].

Wyhodowane szczepy pałeczek beztlenowych zostały poddane ocenie wrażliwości na następujące leki przeciwbakteryjne: penicylinę G (Fluka), amoksycylinę z kwasem klawulanowym (Smith-Kline Beechem), ampicylinę z sulbaktamem (Pfizer), cefazolinę (Sigma), cefadroksyl (Sigma), cefuroksym (Sigma), erytromycynę (Fluka), klindamycynę (Pharmacia-Upjohn), doksycylinę (Pofa, Tarchomin), metronidazol (Sigma) i tynidazol

**Tabela 1.** Zestawienie poszczególnych rodzajów Gram-ujemnych pałeczek bezwzględnie beztlenowych w 58 badanych ziarninakach okołowierzchołkowych zębów w zależności od ich występowania

**Table 1.** Summary of different types of Gram-negative obligate anaerobes rods in 58 subjects periapical granulomas depending on their occurrence

Liczba ziarninaków (N), w których stwierdzono obecność: (The number of granulomas (N), are found to contain)	N	Liczba ziarninaków (n), w których stwierdzono obecność poszczególnych rodzajów Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych występujących w różnych konfiguracjach  (The number of granulomas (n), which are found in different types of Gram-negative anaerobic rods present in various configurations)	n
Tylko 1 rodzaj Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (Only one type of Gram-negative anaerobic rods)	16	<i>Prevotella</i>	7
		<i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i>	5
		<i>Porphyromonas</i>	3
		<i>Fusobacterium</i>	1
2 różne rodzaje Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (2 different types of Gram-negative anaerobic rods)	21	<i>Prevotella</i> ; <i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i>	8
		<i>Prevotella</i> ; <i>Porphyromonas</i>	5
		<i>Prevotella</i> ; <i>Fusobacterium</i>	2
		<i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Porphyromonas</i>	2
		<i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Fusobacterium</i>	2
		<i>Porphyromonas</i> ; <i>Fusobacterium</i>	2
3 różne rodzaje Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (3 different types of Gram-negative anaerobic rods)	18	<i>Prevotella</i> ; <i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Fusobacterium</i>	8
		<i>Prevotella</i> ; <i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Porphyromonas</i>	4
		<i>Prevotella</i> ; <i>Porphyromonas</i> ; <i>Fusobacterium</i>	3
		<i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Porphyromonas</i> ; <i>Fusobacterium</i>	2
		<i>Prevotella</i> ; <i>Fusobacterium</i> ; <i>Selenomonas</i>	1
4 różne rodzaje Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (4 different types of Gram-negative anaerobic rods)	3	<i>Prevotella</i> ; <i>Bacteroides</i> i <i>Tannerella</i> ; <i>Porphyromonas</i> ; <i>Fusobacterium</i>	3

**Tabela 2.** Rodzaje i gatunki Gram-ujemnych pałeczek bezwzględnie beztlenowych wyizolowanych z 58 ziarniniaków okołowierzchołkowych

**Table 2.** Species and genera of obligate anaerobe Gram-negative rods isolated from 58 periapical granulomas

Drobnoustroje (Bacteria)		Liczba szczepów (No. of strains)	%*
Gram-ujemne pałeczki (Gram-negative rods)	Rodzaj <i>Porphyromonas</i> Gatunki: <i>P. asaccharolytica</i> <i>P. endodontalis</i> <i>P. gingivalis</i>	24 1 13 10	16,8 0,7 9,1 7,0
	Rodzaj <i>Prevotella</i> Gatunki: <i>P. bivia</i> <i>P. buccalis</i> <i>P. denticola</i> <i>P. intermedia</i> <i>P. loescheii</i> <i>P. nigrescens</i> <i>P. oralis</i> <i>P. oris</i>	49 1 3 11 15 5 4 7 3	34,3 0,7 2,1 7,7 10,5 3,5 2,8 4,9 2,1
	Rodzaj <i>Bacteroides</i> Gatunki: <i>B. corporis</i> <i>B. fragilis</i> <i>B. gracilis</i> <i>B. ovatus</i> <i>B. putredinis</i> <i>B. ureolyticus</i>	44 1 6 6 1 1 15	30,8 0,7 4,2 4,2 0,7 0,7 10,5
	Rodzaj <i>Tannerella</i> Gatunek: <i>T. forsythia</i>	14	9,8
	Rodzaj <i>Fusobacterium</i> : Gatunki: <i>F. necrogenes</i> <i>F. necrophorum</i> <i>F. nucleatum</i>	25 3 12 10	17,5 2,1 8,4 7,0
	Rodzaj <i>Selenomonas</i> Gatunek: <i>S. sputigena</i>	1 1	0,7 0,7
	Gram-ujemne pałeczki ogółem (Gram-negative rods total)	143	100

\* W stosunku do ogólnej liczby szczepów beztlenowych pałeczek Gram-ujemnych.

\* In proportion to total numbers of anaerobe Gram-negative strains.

(Sigma). Badanie przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń wyżej wymienionych antybiotyków w agarze Brucella, zawierającym 5% krwi baraniej [15]. Leki przeciwbakteryjne dodawano do upłynnionego agaru, uzyskując następujące stężenia: 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,1; 6,2; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0 µg/ml. Hodowlę zawierającą 10<sup>6</sup> CFU nanoszono na powierzchnię agaru aparatem Steersa [13–15]. Do każdej serii badań wykonywano kon-

trolę wzrostu drobnoustrojów na agarze niezawierającym antybiotyku. Inkubację podłoży z posiewami badanymi i kontrolnymi prowadzono przez 48 godz. w temp. 37°C w anaerostatach, w obecności 10% CO<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> i 80% N<sub>2</sub>, katalizatora palladowego, wskaźnika beztlenowości i odsuszacza. Za minimalne stężenie hamujące (MIC) przyjęto takie najmniejsze rozcieńczenie antybiotyku lub chemioterapeutyku, które hamowało wzrost badanych bakterii beztlenowych.

## Wyniki

Gram-ujemne pałeczki bezwzględnie beztlenowe stwierdzono w 58 (82,9%) ziarniniakach okołowierzchołkowych spośród 70 badanych. Jak wynika z tabeli 1, w 16 ziarniniakach stwierdzono tylko 1 rodzaj pałeczek beztlenowych i najczęściej były to pałeczki z rodzaju *Prevotella* (7 materiałów). Dwa różne rodzaje badanych pałeczek występowały w 21 ziarniniakach. Najczęściej występowały one w konfiguracji *Prevotella* oraz *Bacteroides* i *Tannerella* (8 materiałów). Natomiast 3 różne rodzaje Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych wyizolowano z 18 ziarniniaków i były to drobnoustroje w konfiguracji *Prevotella*, *Bacteroides* i *Tannerella* oraz *Fusobacterium* (8 materiałów). W 3 ziarniniakach występowały jednocześnie 4 różne rodzaje pałeczek beztlenowych i była to jedna konfiguracja: *Prevotella*, *Bacteroides* i *Tannerella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*. W żadnym ziarniniaku nie stwierdzono jednoczesnej obecności 5 lub więcej różnych rodzajów badanych drobnoustrojów (tab. 1).

Ogółem wyizolowano 143 szczepy Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (tab. 2). W badanych ziarniniakach najczęściej stwierdzano pałeczki z rodzaju *Prevotella* i *Bacteroides* (odpowiednio 49 i 30 szczepów). Wśród innych izolowanych pałeczek były szczepy z rodzaju *Fusobacterium* (25 szczepów), *Porphyromonas* (24 szczepy), *Tannerella* (14 szczepów). Tylko w jednym materiale stwierdzono pałeczki Gram-ujemne z rodzaju *Selenomonas*.

Analizując częstość izolacji różnych gatunków Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych (tab. 2), stwierdzono najczęstsze występowanie drobnoustrojów z gatunku *Prevotella intermedia*, *Bacteroides ureolyticus*, *Tannerella forsythia* (odpowiednio 15, 15, 14 szczepów). Z badanych ziarniniaków często izolowano bakterie z gatunku *Porphyromonas endodontalis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* (odpowiednio 13, 12, 11, 10, 10 szczepów).

Wyizolowane drobnoustroje poddano ocenie wrażliwości na antybiotyki i pochodne 5-ni-

**Tabela 3.** Wrażliwość 142 szczepów Gram-ujemnych pałeczek bezwzględnie beztlenowych na antybiotyki i pochodne 5-nitroimidazoli**Table 3.** Sensitivity of 142 obligate anaerobe Gram-negative rods to antibiotics and 5-nitroimidazole derivatives

Chemioterapeutyki (Chemotherapeutics)	Odsetek szczepów wrażliwych (Percentage of susceptible strains) %			
	Gram-ujemne pałeczki beztlenowe (Gram-negative rods)			
	<i>Prevotella</i> spp. 49 szczepów (49 strains)	<i>Porphyromonas</i> spp. 24 szczepy (24 strains)	<i>Bacteroides</i> spp. i <i>Tannerella</i> spp. 44 szczepy (44 strains)	<i>Fusobacterium</i> spp. 25 szczepów (25 strains)
Penicylina G (Penicillin G)	75	78	60	68
Amoksycylina (Amoxicillin)	76	80	62	70
Amoksycylina + kwas klawulanowy (Amoxicillin + clavulanic acid)	100	100	100	100
Ampicylina + sulbaktam (Ampicillinum + sulbactam)	100	100	100	100
Cefazolina (Cefazolin)	84	90	58	88
Cefadroksyl (Cefadroxil)	88	91	64	91
Cefuroksym (Cefuroxime)	90	92	68	91
Erytromycyna (Erythromycin)	87	84	71	75
Klindamycyna (Clindamycin)	96	94	92	91
Doksycyklina (Doxycylin)	77	87	83	92
Metronidazol (Metronidazole)	100	100	100	93
Tynidazol (Tynidazole)	100	100	100	95

troimidazoli (metronidazol i tynidazol) (tab. 3). Wszystkie badane pałeczki Gram-ujemne wykazały 100% wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym i ampicylinę z sulbaktamem. Pałeczki z rodzaju *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Bacteroides* i *Tannerella* wykazały również 100% wrażliwość na metronidazol i tynidazol, nieco mniejszą wrażliwość wykazały pałeczki z rodzaju *Fusobacterium* (5–7% szczepów opornych). Badane drobnoustroje wykazały dużą wrażliwość na klindamycynę (4–9% szczepów opornych). Pałeczki z rodzaju *Prevotella*, *Porphyromonas* i *Fusobacterium* także wykazywały dużą wrażliwość (92–84%) na badane cefalosporyny. Oporność natomiast na pozostałe antybiotyki wynosiła 17–42%. Największą oporność wykazały pałeczki Gram-ujemne z rodzaju *Bacteroides* i *Tannerella*.

## Omówienie

Ze zmian zapalnych tkanek okołowierzchołkowych Wayman et al. [2] wyhodowali 87 szczepów bakterii beztlenowych, z których 17 (19,5%) należało do rodzaju *Bacteroides*. Pałeczki z gatunku *Tannerella forsythia* (dawniej *Bacteroides forsythus*) by-

ły stwierdzane w zmianach zapalnych tkanek okołowierzchołkowych zarówno metodą hybrydyzacji DNA [16], jak i metodą hodowlaną [17].

Bogen i Slots [18] badali częstość występowania Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych z gatunku *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* i *Prevotella nigrescens* w zmianach okołowierzchołkowych zębów, które utrzymywały się pomimo przeprowadzonego leczenia kanałowego. Stwierdzili oni, że spośród tych gatunków bakterii jedynie *Porphyromonas gingivalis* był obecny w jednej zmianie okołowierzchołkowej. Podobne wyniki uzyskali Abou-Rass et al. [10], którzy wyizolowali pałeczkę z gatunku *Porphyromonas gingivalis* jedynie w jednej z 13 próbek pobranych z „zamkniętych” zmian okołowierzchołkowych. Bakterie te izolowali również Samaranyake et al. [9] ze zmian okołowierzchołkowych pobieranych podczas zabiegu resekcji wierzchołka korzenia zębów. Należy zaznaczyć, że do tych badań autorzy kwalifikowali jedynie takie przypadki, w których były widoczne na zdjęciu RTG zmiany wokół wierzchołka korzenia, a w badaniu przedmiotowym nie stwierdzono przetoki, charakterystycznej dla przewlekłych zmian ropnych oraz kieszonek przyzębnych. W ziarninia-

kach okołowierzchołkowych zębów mlecznych izolowano bakterie z gatunku *Prevotella oralis* (dawniej *Bacteroides oralis*) [19], natomiast bakterie z gatunku *Prevotella intermedia*, które w badaniach własnych występowały z częstością wynoszącą 34,3% były izolowane z zakażonych kanałów korzeniowych przez Assed et al. [20] i Lana et al. [21].

Izolowane z ziarninaków okołowierzchołkowych Gram-ujemne pałeczki beztlenowe wykazywały 100% wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem, dużą wrażliwość na metronidazol i tynidazol oraz dużą oporność na penicylinę i amoksycylinę. Wyniki te są zbieżne z danymi z piśmiennictwa [22, 23]. Shore et al. [21] oceniali wrażliwość na antybiotyki i metronidazol bakterii beztlenowych, w tym Gram-

-ujemnych pałeczek z rodzaju *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Prevotella*. Bakterie te wykazały 100% wrażliwość na metronidazol, dużą wrażliwość na klindamycynę (67–92%) oraz amoksycylinę z kwasem klawulanowym (94–100%). Pałeczki z gatunku *Bacteroides fragilis* wykazały małą (14–16%) wrażliwość na ceftriakson i penicylinę (0–2%).

W podsumowaniu można stwierdzić, że z ziarninaków okołowierzchołkowych najczęściej izolowano Gram-ujemne pałeczki z rodzaju *Prevotella* i *Bacteroides* z dominującymi gatunkami *P. intermedia*, *B. ureolyticus*. Wyizolowane Gram-ujemne pałeczki bezwzględnie beztlenowe wykazały 100% wrażliwość na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, ampicylinę z sulbaktamem oraz dużą wrażliwość na klindamycynę, metronidazol i tynidazol.

## Piśmiennictwo

- [1] ZEDLER E., KĘDZIA A., ZEDLER A., ŻÓŁTOWSKA A., KOCHAŃSKA B.: The frequency of the isolation of anaerobic bacteria from the apical segments of root canals in teeth with periapical granuloma. *Pol. J. Environ. Stud.* 2009, 18, 353–358.
- [2] WAYMAN B. E., MURATA S.M., ALMEDA R.J., FOWLER C.B.: A bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. *J. Endod.* 1992, 18, 152–155.
- [3] WEXLER H.M., MOLITORIS D., FINEGOLD S.M.: *In vitro* activity of Gatifloxacin against 238 strains of anaerobic bacteria. *Anaerobe* 2001, 7, 285–289.
- [4] VAN WINKELHOFF A.J., VAN STEENBERGEN T. J., DE GRAFF J.: *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis*, its role in endodontal infections. *J. Endod.* 1992, 18, 431–434.
- [5] DAHLEN G., MAGNUSON B.C., MOLLER A.: Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Maccaca fascicularis*. *Arch. Oral. Biol.* 1981, 26, 591–598.
- [6] PIĄTOWSKA D.: Histopathologic and histobacteriologic analysis of chronic periapical lesions of permanent teeth. *Pat. Pol.* 1989, 40, 1, 69–82 [in Polish].
- [7] NAIR P.N.R.: Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesion. *J. Endod.* 1987, 13, 29–39.
- [8] MOVLEN O., OLSON I., KEREEKES K.: Scanning electron microscopy of bacteria in the apical part of root canals in permanent teeth with periapical lesions. *Endod. Dent. Traumatol.* 1991, 7, 226–229.
- [9] SAMARANAYAKE L.P., STASSEN L.F. A., STILL D.M.: A microbiological study of pre- and postoperative apicectomy sites. *Clin. Oral Invest.* 1997, 1, 77–80.
- [10] ABOU-RASS M., BOGEN G.: Microorganisms in closed periapical lesions. *Int. Endod. J.* 1998, 31, 39–47.
- [11] KAŁOWSKI M., KĘDZIA A.: Non-sporulated anaerobic bacteria. *Microbiological diagnostics in medicine*. Ed.: W. Kędzia, PZWL, Warszawa 1990, 3rd ed. [in Polish].
- [12] JOUSIMIES-SOMER H, SUMMANEN P., CITRON D.M., BARON E.J., WEXLER H.M., FINEGOLD S.M.: *Wadsworth-KTL Anaerobic Bacteriology Manual*. Belmont C.A., Star Publ. 2002, 6th ed.
- [13] FORBES B.A., SAHN D.F., WESSELFELD A.S.: *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Mosby Elsevier, St. Louis 2007, 12th ed.
- [14] WINN W., ALLEN S., JOMDA W., KONEMAN E., PROCOP G., SCHRECKENBERGER P., WOODS G.: *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Lippincott, Williams and Wilkins, Baltimore MD, 2006.
- [15] National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: approved standards*. M11-A6. PA NCCLS, Wayne PA 2003, 6th ed.
- [16] GATTI J.J., DOBECK J.M., SMITH C., WHITE R.R., SOCRANSKY S.S., SKOBE Z.: Bacteria of asymptomatic periradicular endodontic lesions identified by DNA – DNA hybridization. *Dental Traumatol.* 2000, 16, 197–202.
- [17] SUNDE P. T., OLSEN I., DEBELIAN G.J., TRONSTAD I.: Microbiota of periapical lesions refractory to endodontic therapy. *J. Endod.* 2002, 28, 4, 304–310.
- [18] BOGEN G., SLOTS J.: Black – pigmented anaerobic rods in closed periapical lesions. *Int. Endod. J.* 1999, 32, 204–210.
- [19] BURCAN J., OSOWIECKI H., SZPRINGER-NODZAK M., GRODZKA K.: Microbiological studies of periapical granulomas of primary molars. *Czas. Stomatol.* 1984, 37, 313–317 [in Polish].
- [20] ASSED J., ITO I.Y., LEONARDO M.R., SILVA L.A., LOPATIN D.E.: Anaerobic microorganism in root canals of human teeth with with chronic apical periodontitis detected by indirect immunofluorescence. *Endod. Dent. Traumatol.* 1996, 12, 66–69.
- [21] LANA M., RIBEIRO-SOBRINTO A.P., STEHLING R., GARCIA G.D., SILVA B.K.C., HAMDAM I. S., NICOLI J.R., CARVAL-

- HO M.A.R., FARIAS L. DE M.: Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility *in vitro*. Oral Microbiol. Immunol. 2001, 16, 100–105.
- [22] KOCHAŃSKA B., KĘDZIA A.: *In vitro* study of the susceptibility of obligate anaerobes isolated from infected root canals to antibiotics and 5-nitroimidazole derivatives. Czas. Stomatol. 2001, 54, 419–426 [in Polish].
- [23] SHORE K. P., POTTUMARTHY S., MORRIS A.J.: Susceptibility of anaerobic bacteria in Auckland: 1991–1996. N. Z. Med. J. 1999, 12, 424–426.

**Adres do korespondencji:**

Elżbieta Zedler  
Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej GUM  
ul. Orzeszkowej 18  
80-208 Gdańsk  
tel.: +48 58 349 21 02  
e-mail: e.zedler@gumed.edu.pl

Received: 26.04.2012

Revised: 6.08.2012

Accepted: 10.08.2012

Praca wpłynęła do Redakcji: 26.04.2012 r.

Po recenzji: 6.08.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 10.08.2012 r.