

# *Actinobacillus actinomycetemcomitans* i familier med forekomst af parodontitis juvenilis

## Kasuistisk studie af tre familier

Zohair Azzouzi, Dorte Haubek, Tove Larsen og Jytte Westergaard

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.a.*) har længe været forbundet med parodontitis juvenilis (juvenil parodontit (JP)). I de seneste år er en specifik klon af *A.a.*, karakteriseret ved en deletion (mistet DNA-stykke) i det genområde der regulerer leukotoxinproduktionen, blevet endnu stærkere forbundet med JP. Denne klon er især blevet isoleret fra unge med en afrikansk baggrund.

I nærværende arbejde er forekomsten af *A.a.* med og uden ovennævnte deletion blevet undersøgt i tre familier med afrikansk baggrund. Familierne har været bosiddende i Danmark i en årrække, og der forekom JP i alle tre familier. *A.a.* med deletion i leukotoxin-genområdet blev isoleret fra børnene i to af familierne, hvor der desuden var en høj forekomst af JP. Pga. den stærke association mellem den specifikke klon af *A.a.* og forekomsten af JP må også herboende unge med afrikansk baggrund formodes at udgøre en højrisikogruppe for udvikling af JP, hvilket kræver særlig tæt diagnostisk overvågning.

Parodontitis juvenilis (juvenil parodontit (JP)) er en form for parodontitis marginalis der bryder ud hos unge efter puberteten, og som er karakteriseret ved et hurtigt fremadskridende marginalt fæstetab. Prævalensen af JP er lav, men varierer i forskellige dele af verden. Således har undersøgelser vist en højere forekomst af JP i populationer af afrikansk oprindelse end blandt kaukasiere (1-4).

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.a.*) har længe været forbundet med JP, da den ofte har været isoleret fra den subgingivale mikroflora hos patienter med JP. Der har også været målt højere koncentrationer af antistoffer mod *A.a.* i serum og gingivalvæske fra patienter med JP end fra raske individer (5). Inden for de senere år er der blevet isoleret en mutant af *A.a.* der har vist sig at have en 10-20 gange forhøjet leukotoxinproduktion sammenlignet med andre isolater af *A.a.* (6). Denne mutant (JP2-klon) er karakteriseret ved at have mistet et DNA-stykke (en deletion) på 530 basepar (bp) i den region som regulerer leukotoxinproduktionen. JP2-klonen er især blevet isoleret fra individer med afrikansk baggrund (7). I en nyere undersøgelse fra Marokko blev det desuden observeret at JP2-klonen var associeret med JP, ligesom den parodontale nedbrydning var mere omfattende blandt patienter med denne *A.a.*-klon end blandt patienter hvor denne bakterie ikke fandtes (8). JP2-klonen er isoleret fra patienter med JP i Danmark, men kun hos individer af afrikansk oprindelse (9).

Flere udenlandske undersøgelser har vist at *A.a.* overføres inden for familier hvor der forekommer individer med JP (10-12). Der er kun få oplysninger om hvorledes JP2-klonen og andre klonale typer af *A.a.* forekommer i familier (13).

Formålet med nærværende kasuistik var derfor at undersøge forekomsten af marginal parodontit og af JP2-klonen af *A.a.* samt andre typer af *A.a.* hos tre familier af afrikansk oprindelse, som er bosiddende i Danmark, og hvor der forekommer JP.

### Materiale og metode

I materialet indgår tre familier med nordvestafrikansk baggrund som blev undersøgt klinisk, røntgenologisk og mikrobiologisk. En person fra hver familie var indskrevet på Tandlægeskolen, Københavns Universitet, til behandling for JP. Pga. information om den afrikanske baggrund blev familiedlemmerne til de tre patienter som boede i samme husstand, tilbudt parodontal undersøgelse.

### Klinisk undersøgelse

Alle fik foretaget en klinisk undersøgelse omfattende: intraoral inspektion og registrering af tilstedeværende tænder, samt registrering af plak (score 0-3) (14), pochemåling og

blødning ved pochemåling på følgende indekstænder: 621+126 og 621÷126. Såfremt en tand manglede, registreredes på nærmest bagved stående tand i tandrækken. Der registreredes tre flader facialt og tre flader lingvalt, ialt 72 sites per individ.

På de henviste patienter (probanderne) blev marginalt knogletab målt mesialt og distalt på 621+126 og 621÷126 på helstatusrøntgenoptagelser. Der blev registreret knogletab på en tand hvis afstanden mellem emalje-cement-grænsen (CEJ) og den marginale knogle var  $\geq 2$  mm. På familiemedlemmerne blev knogletab målt mesialt og distalt på 621+126 og 621÷126 på panoramarøntgenoptagelser. Knogletab registreredes hvis afstanden mellem CEJ og den marginale knogle var  $\geq 1/5$  af afstanden fra CEJ til vertex. Såfremt en tand manglede registreredes på nærmest bagved stående tand i tandrækken.

Diagnosen JP blev stillet hos individer med pocher  $\geq 5$  mm og marginalt knogletab på to eller flere incisiver og/eller 1. molarer, og hvor sygdommen var brudt ud inden 20-årsalderen (Fig. 1). Diagnosen parodontitis marginalis adulta progressiva lenta (AP) blev stillet hos individer med to eller flere tænder med pocher  $\geq 5$  mm og marginalt knogletab, hvor der ikke var kliniske symptomer på stor sygdomsaktivitet.

*Mikrobiologisk prøvetagning* – Subgingivale prøver blev taget fra 2-4 sites med de dybeste pocher. Var der ingen pocher  $\geq 3$  mm, blev der taget prøver fra sites med radiologisk knogletab eller fra sites med gingivitis. Prøverne blev taget med *paperpoint*-teknik. Efter fjernelse af supragingival plak blev en steril *paperpoint* ført til pochebunden med en steril pincet. Efter 10 sek. overførtes *paperpoint*'en til prøvetagningsrørene.

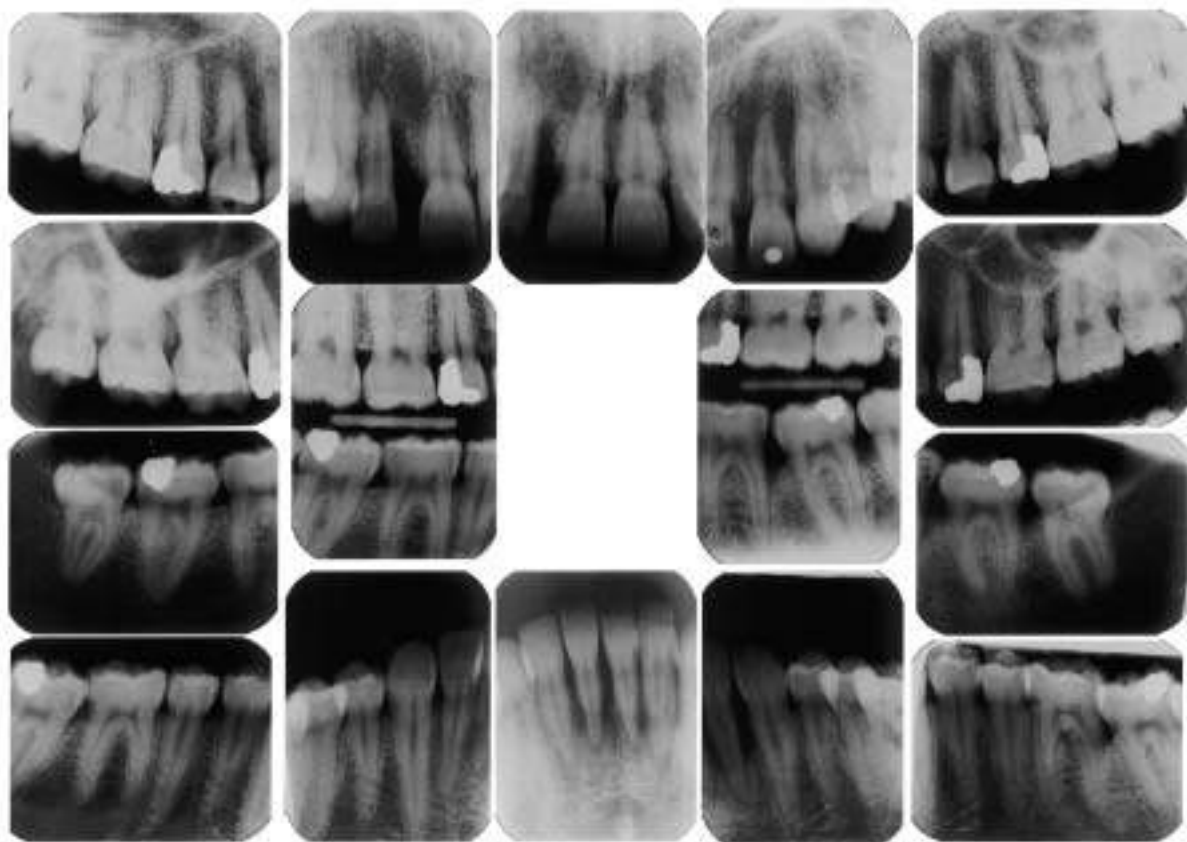


Fig. 1. Røntgenstatus af 21-årig kvinde fra Gambia med juvenil parodontitis. Der ses lokaliseret marginalt knogletab mesialt på 2+ og distalt på ÷6 og ÷7, samt mere udbredt knogletab ved underkæbeincisiverne.

*Fig. 1. Radiographic full mouth survey from 21-year-old woman from Gambia with juvenile periodontitis. Localized angular bony defects are seen mesially to 2+ and distally to ÷6 and ÷7, as well as more extended bone loss along the mandibular incisors.*

Der blev taget fire prøver fra hver poche. Den første prøve anbragtes i prøverør med RTF (*Reduced Transport Fluid*). Den næste i prøverør med sterilt saltvand (0,9%) og så fremdeles. Prøver fra flere sites per individ blev samlet i samme prøverør. Undersøgelsen af prøverne omfattede mikrobiologisk dyrkning og PCR-analyse.

### Mikrobiologisk undersøgelse

**Dyrkning** – Prøverne i RTF blev udsået inden for to timer på TSBV-plader (selektivt medium for *A.a.*) samt på præreducerede TSBV- og TSA-plader (non-selektivt medium). Der blev fremstillet en 10-fold fortyndingsrække til en koncentration på  $10^{-4}$ . Fra hver af fortyndingerne blev udsået 100 µl på pladerne, der inkuberedes ved 37 °C. Ikke-reducerede TSBV-plader inkuberedes i CO<sub>2</sub>-inkubator og præreducerede TSA- og TSBV-plader i anaerob boks i syv dage.

Tælling og identifikation af *A.a.* baseredes på kolonimorfologi, gramfarvning, katalasetest (15) samt forgæring af lactose, mannitol, sucrose, trehalose og glucose (16). Der blev udtaget enkelte kolonier til PCR-analyse. Endvidere blev der foretaget tælling af sortpigmenterede kolonier (*Porphyromonas*- og *Prevotella*-arter) samt totalt antal kolonier på TSA-plader.

**PCR-analyse** – Prøverne i saltvand analyseredes for *A.a.*-stammer med og uden den karakteristiske 530 basepar deletion i promotorregionen af leukotoxinoperonet ved brug af *Polymerase Chain Reaction* (PCR)-teknik. Efter centrifugering i 30 min. ved 20.000 omdr./min. ved 4 °C og fjernelse af supernatanten blev der tilsat 100 µl dobbeltdestilleret vand. Prøven blev kogt i 10 min. Fem piko-mol af primerne ltx3 (5'-GCCGACACCAAAGACAAAGTCT) og ltx4 (5'-GCCATAACCAAGCCACATAC) (venligst modtaget af lektor Knud Poulsen, Institut for Medicinsk Mikrobiologi og Immunologi, Aarhus Universitet), blev tilsat et PCR-rør med *Ready-To-Go-PCR Beads* (Amersham Biosciences) indeholdende Taq DNA polymerase, dNTP'er og buffere. 23 µl af den kogte prøve blev derefter tilsat PCR-rørene, og PCR-processen blev sat i gang i en PCR-maskine (Perkin Elmer 2400) på følgende program: 94 °C i fem min. én gang i starten, derefter 30 cykler a 94 °C i ét min., 60 °C i ét min., 72 °C i to min. og til sidst 72 °C i otte min. Herefter blev tilsat 5 µl *loading*-buffer (0,25% bromphenolblåt, 40% sucrose opløst i 1x TAE-buffer) til hvert PCR-rør med 25 µl prøver samt til ét rør med 4 µl DNA-markør ( $\lambda$ DNA, *Hind* III digested), og prøverne blev derefter *load*'et på 1% agarosegel i 1x TAE-buffer (0,04 M Tris-acetate og 0,01 M EDTA) i elektroforesekarret (Bio-Rad Sub-Cell Electrophoresis System). Elektroforesen kørte i ca. én time ved en spændingsforskel på ca. 110-15 V/cm. Agarosegelen farvedes derefter med ethidiumbromid opløst i 1x TAE-buffer (0,5

µg/ml) i ca. én time og fotograferedes under UV-lys. *A.a.*-stammer med eller uden deletionen demonstrerede DNA-fragmenter af størrelsesordenen hhv. 0,5 kb og 1 kb. Som kontroller fremstilledes to positive prøver med *A.a.*-stammerne JP2 og HK 1605 og én negativ prøve samtidig med patientprøverne.

## Resultater

### Familie nr. 1

Familien var fra Marokko og bestod af forældre på hhv. 41 og 39 år samt fire børn i alderen 12-21 år. Den kliniske undersøgelse viste at begge forældre havde AP, de tre ældste børn havde JP, og det yngste barn på 12 år havde gingivitis. De tre ældste børn var blevet behandlet for JP inden for de seneste år (Tabel 1). De to børn på hhv. 19 og 15 år havde imidlertid fortsat inflammation karakteriseret ved pocher  $\geq 5$  mm på hhv. 12 og fem sites samt blødning ved pochemåling på hhv. 35 og 32 sites ud af 72 undersøgte sites. Mundhygiejnen var dårlig hos de fleste familiemedlemmer, karakteriseret ved plakindeks (PI) på 1,1 til 2,1, undtagen hos den ældste datter.

Der blev observeret radiologisk marginalt knogletab fra 1-13 approssimallflader hos de fem af familiemedlemmerne. Det ses af Tabel 2 at JP2-klonen blev påvist i to subgingivale prøver, fra én søn med JP og én der havde gingivitis. *A.a.* uden deletionen blev observeret hos moderen samt hos den 12-årige som også havde JP2-klonen. Der blev således ikke fundet *A.a.* hos de to døtre der var behandlet for JP, og hos faderen. Det fremgår ligeledes af Tabel 2 at der også forekom sortpigmenterede kolonier hos fire individer.

### Familie nr. 2

Denne familie var fra Gambia og bestod af moderen på 41 år samt fire børn i alderen 4-21 år. Den kliniske undersøgelse viste at moderen havde AP, og de tre ældste børn havde JP, mens det ikke var muligt at gennemføre en grundig undersøgelse af den fireårige søn. Den yngste datter på 17 år var flere gange tidligere blevet behandlet for JP, sidst for 1½ år siden. Af Tabel 1 ses at de tre ældste børn i denne familie havde pocher  $\geq 5$  mm ved 10-17 af de 72 undersøgte sites, samt 15-54 sites med blødning ved pochemåling. PI var højst hos moderen, mens det for de tre ældste børn varierede mellem 0,7 og 1,3. Der observeredes marginalt knogletab hos alle undersøgte. Det ses af Tabel 2 at JP2-klonen blev fundet hos tre af børnene. Hos den 20-årige søn blev den først identificeret efter dyrkning af primærprøven og efterfølgende PCR-analyse. Hos denne søn blev der tillige fundet *A.a.* uden deletionen, mens den 17-årige datter alene havde *A.a.* uden deletionen. Der blev desuden observeret sortpigmenterede kolonier hos alle fem familiemedlemmer.

Tabel 1. Parodontal undersøgelse af tre familier med afrikansk baggrund. Plakindeks, pochedybde, blødning ved pochemåling og marginalt knogletab er angivet for indekstænderne 621+126 og 621+126. AP: Parodontitis marginalis adulta progressiva lenta. JP: Parodontitis juvenilis.

Familie nr.	Familie-medlemmer	Alder	Parodontal diagnose	Antal tænder	Plak-indeks	Pochedybde. Antal sites $\geq 5$ mm	Blødning ved pochemåling. Antal sites	Antal approssimale flader med knogletab på registrerbare flader
1	Far	41	AP	27	2,1	6	41	12
	Mor	39	AP	28	1,1	11	23	6
	*Datter	21	JP <sup>a</sup>	28	0,6	0	20	13
	Søn	19	JP <sup>a</sup>	30	1,4	12	35	2
	Datter	15	JP <sup>a</sup>	27	1,2	5	32	1
	Søn	12	Gingivitis	24	1,3	1	55	0
2	Mor	41	AP	30	1,6	3	41	4
	*Datter	21	JP	32	1,2	17	42	9
	Søn	20	JP	32	1,3	12	54	2
	Datter	17	JP <sup>a</sup>	30	0,7	10	15	4
	Søn	4	–	20	–	–	–	–
3	Far	58	AP	27	1,5	3	6	3
	*Datter	28	JP <sup>a</sup>	26	–	11	–	18
	Søn	16	Gingivitis	24	0,9	0	14	0
	Søn	15	Gingivitis	28	1,6	1	45	0
	Søn	12	Gingivitis	27	2,0	7	57	0

\*Proband.

<sup>a</sup> Tidligere behandlet for JP.

–) Manglende data.

### Familie nr. 3

Familien stammede fra Marokko og bestod af faderen og fire børn. Den kliniske undersøgelse viste at faderen havde AP, den ældste datter havde JP, og de tre yngste børn havde gingivitis. Datteren var tidligere behandlet for JP, men havde fortsat kraftig inflammation i parodontiet, og af Tabel 1 ses det endvidere at 11 af 72 undersøgte sites havde pocher  $\geq 5$  mm. Hos den yngste søn var der syv pocher  $\geq 5$  mm, og 57 sites af 72 sites havde blødning ved pochemåling. Der registreredes ikke knogletab hos de tre sønner. PI hos den yngste søn var 2,0, mens de resterende familiemedlemmer havde PI fra 0,9 til 1,6. Det ses i Tabel 2 at JP2-klonen ikke blev fundet hos denne familie, men fire familiemedlemmer havde A.a. uden deletionen, og kun hos den ene søn kunne der slet ikke isoleres A.a. Der blev observeret sortpigmenterede kolonier i prøverne fra de tre yngste børn.

### Diskussion

De tre familier der indgik i denne undersøgelse, var bosiddende i Danmark, men var af afrikansk oprindelse, og udvalgt fordi én person fra hver familie havde fået diagnosticeret JP. Den kliniske undersøgelse viste at i to af familierne havde tre af de fire undersøgte søskende JP, mens kun én havde JP i den tredje familie. Dette er i overensstemmelse med at tidligere studier har vist familiære ophobninger af JP (17). Mundhygiejnen hos de undersøgte var generelt dårlig, og der var inflammation i gingiva med blødning fra mange pocher.

Der blev påvist A.a. i den subgingivale plak hos 11 af de 16 undersøgte individer. A.a. forekom både hos individer med og uden marginal parodontitis, således kunne A.a. påvises hos fem af de syv unge med JP. De to unge som ikke havde A.a., var blevet behandlet for JP inden for det sidste år. Den

Tabel 2. Mikrobiologiske fund hos tre familier med afrikansk baggrund ved dyrkning af subgingival plakprøve samt PCR-analyse direkte på subgingival plakprøve samt på dyrkede isolater af *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.a.*). PCR er foretaget mhp. påvisning af to leukotoxin-promoter typer af *A.a.*, med eller uden forekomst af en 530 bp deletion i leukotoxin-genoperonet. AP: Parodontitis marginalis adulta progressiva lenta. JP: Parodontitis juvenilis.

Familie nr.	Familie-medlemmer	Alder	Parodontal diagnose	Identifikation af <i>A.a.</i> ved PCR-teknik på primærprøver.		Identifikation af <i>A.a.</i> med 530 bp deletion (JP2) ved PCR-teknik efter dyrkning af primær plakprøven	<i>A.a.</i> i % af den totale dyrkbare mikroflora	Sortpigmenterede kolonier i % af den totale dyrkbare mikroflora fra subgingival plakprøve
				<i>A.a.</i> med 530 bp deletion (JP2)	<i>A.a.</i> uden 530 bp deletion			
1	Far	41	AP	–	–		0	0
	Mor	39	AP	–	+		0	0,65
	*Datter	21	JP <sup>a</sup>	–	–		0	0
	Søn	19	JP <sup>a</sup>	+	–		0	9,4
	Datter	15	JP <sup>a</sup>	–	–		0	0,5
	Søn	12	Gingivitis	+	+		0	4,0
2	Mor	41	AP	–	–		0	13,5
	*Datter	21	JP	+	–	<sup>c</sup>	0,6	0,1
	Søn	20	JP	–	+	+	0,2	13,1
	Datter	17	JP <sup>a</sup>	–	+		0	21
	Søn	4	– <sup>b</sup>	+	–	+	1,5	0,09
3	Far	58	AP	–	+		0	0
	*Datter	28	JP <sup>a</sup>	–	+		– <sup>d</sup>	– <sup>d</sup>
	Søn	16	Gingivitis	–	+		0	3,75
	Søn	15	Gingivitis	–	–		0	7,95
	Søn	12	Gingivitis	–	+		0	0,004

\*Proband.

<sup>a</sup> Tidligere behandlet for JP.

<sup>b</sup> Ikke klinisk undersøgt på grund af manglende patientkooperation.

<sup>c</sup> PCR på de renyrkede isolater er ikke udført.

<sup>d</sup> Dyrkning af plakprøve er ikke gennemført.

høje forekomst af individer med *A.a.* er også observeret i tidligere prævalensundersøgelser af *A.a.* i familier med forekomst af JP (12,18). Der er desuden vist en lavere prævalens af *A.a.* hos individer der ikke havde JP (19,20).

JP2-klonen blev fundet i familie nr. 1 og nr. 2. Disse familier var karakteriseret ved en meget høj forekomst af JP. Således havde tre af de fire børn i begge familier JP, mens kun ét af de fire børn i familie nr. 3 havde JP. Dette er i overensstemmelse med en tidligere undersøgelse, hvor det blev observeret at i en stor del af de familier hvor JP2-klonen kunne påvises, havde mere end ét familiemedlem JP (7).

JP2-klonen blev fundet hos fem unge, hvoraf de tre havde JP. De to unge med denne type *A.a.*, som ikke havde JP – en

fireårig og en 12-årig dreng – udgjorde de yngste familiedlemmer i familie 1 og 2. I begge disse familier havde alle ældre søskende JP, og risikoen for at disse to individer på et senere tidspunkt vil udvikle JP må skønnes høj.

*A.a.* har i en lang årrække været associeret med JP (21). I de populationer hvor JP2-klonen har kunnet påvises, har denne association været særlig stærk. Således er der i en undersøgelse af 14-19-årige i Marokko fundet JP2 hos 38,5% af de unge med JP, hvorimod den kun blev fundet hos 2,2% af dem der var raske. Derimod blev der ikke fundet nogen signifikant sammenhæng mellem forekomsten af *A.a.* uden deletion og JP (22).

I en amerikansk undersøgelse af individer med forskellig

parodontal status og etnisk baggrund blev JP2-klonen fundet hos ca. halvdelen af individerne med JP, hvorimod den ikke blev isoleret i de øvrige grupper (13). Lignende resultater blev observeret i en undersøgelse af en større gruppe af patienter med JP, AP og parodontalt raske individer. Her fandtes JP2-klonen hos 57% af patienterne med JP, men kunne ikke påvises hos de parodontalt raske individer eller patienterne med AP (23).

JP2-klonen har, foruden at være associeret med en høj forekomst af JP, også i en nyere undersøgelse vist sig at være associeret med større grad af fæstetab hos de patienter med JP hvor den blev påvist, end hos de patienter hvor den ikke blev påvist (8). Denne sammenhæng har ikke kunnet konstateres i denne undersøgelse, formodentlig pga. undersøgelsens begrænsede størrelse og pga. aldersspredningen.

I de to familier der var positive for JP2-klonen, blev den kun fundet hos børnene. Således var ingen af forældrene positive for denne *A.a.*-klon. Dette er i overensstemmelse med tidligere undersøgelser, hvor det blev fundet at JP2-klonen forekom langt hyppigere hos patienter med JP under 14 år end hos dem der var over 14 år, mens den slet ikke blev påvist hos individer over 25 år (13). I en anden tilsvarende undersøgelse af patienter med forskellig parodontal status havde ingen af individerne over 21 år JP2-klonen (23). Årsagen til at JP2 hovedsageligt forekommer hos helt unge og tilsyneladende forsvinder hos ældre, har været sat i forbindelse med værtsorganismens øgede immunologiske respons på disse stammers særligt store leukotoxinproduktion (24). I nærværende undersøgelse blev der påvist både JP2-klonen og *A.a.* uden deletionen i den subgingivale plak hos ét enkelt individ. Tilsvarende polyklonale infektioner med *A.a.* er også beskrevet i tidligere undersøgelser (25).

I den subgingivale plak blev isoleret sortpigmenterede bakteriearter svarende til tilstedeværelse af *Porphyromonas*- eller *Prevotella*-arter hos 12 af de 16 undersøgte, hvor de udgjorde en betydelig andel af den totale dyrkbare mikroflora hos syv af de undersøgte familiemedlemmer. *Porphyromonas gingivalis*- og *Prevotella*-arter er i flere undersøgelser blevet stærkt associeret til AP (26,27). Disse bakterier er i nærværende arbejde isoleret som en markør for eventuel forekomst af parodontale patogener ud over *A.a.* Det må formodes at disse mikroorganismer også kan have været medvirkende årsag til omfanget af parodontal sygdom hos de undersøgte.

Til at påvise *A.a.* i den subgingivale plak er der i denne undersøgelse foretaget dyrkning på selektivt medium samt anvendt en genteknologisk metode (PCR-analyse). Dyrkning på selektivt medium er tidligere vist effektiv til at påvise selv små mængder *A.a.* (15), men genteknologiske metoder har senere vist sig mere sensitive til at påvise bl.a. *A.a.* (28). Såle-

des er der i nærværende undersøgelse blevet påvist *A.a.* i 3-4 gange så mange af plakprøverne ved PCR-analyse som ved dyrkning.

I dette arbejde er JP2-klonen fundet i den subgingivale mikroflora hos flere individer i to af tre tilfældigt udvalgte familier med afrikansk baggrund, som har levet i Danmark i flere år, og hvor der forekom JP. Pga. den stærke association mellem JP2-klonen og forekomsten af JP må også herboende unge med afrikansk baggrund formodes at udgøre en højrisikogruppe for udvikling af JP, hvilket kræver en særlig tæt diagnostisk overvågning.

Lektor Knud Poulsen, Institut for Medicinsk Mikrobiologi og Immunologi, Aarhus Universitet, takkes for assistance i forbindelse med etablering af PCR-metoden.

### English summary

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with juvenile periodontitis. Casuistic report of three families

For many years *Actinobacillus actinomycetemcomitans* has been associated with juvenile periodontitis. A particular clone of *A. actinomycetemcomitans* characterised by a 530-bp deletion in the leukotoxin promoter region and an enhanced production of leukotoxin, has lately shown an even stronger association with juvenile periodontitis. This clone has particularly been isolated from young individuals of African origin. In the present study *A. actinomycetemcomitans* with and without the 530-bp deletion were examined in three families with African background. The families had been living in Denmark for several years, and juvenile periodontitis was present in all three families. *A. actinomycetemcomitans* with the 530-bp deletion were isolated from the children and adolescent individuals in two of the families in which the prevalence of juvenile periodontitis was high.

The high association between the specific clone of *A. actinomycetemcomitans* and presence of juvenile periodontitis indicates that young individuals with an African background and residing in Denmark are probably of high risk for developing juvenile periodontitis, which calls for a particular close diagnostic supervision.

### Litteratur

1. Saxén L. Prevalence of juvenile periodontitis in Finland. J Clin Periodontol 1980; 7: 177-86.
2. Saxby MS. Juvenile periodontitis: an epidemiological study in the west Midlands of the United Kingdom. J Clin Periodontol 1987; 14: 594-8.
3. Harley AF, Floyd PD. Prevalence of juvenile periodontitis in schoolchildren in Lagos, Nigeria. Community Dent Oral Epidemiol 1988; 16: 299-301.

4. Løe H, Brown LJ. Early onset periodontitis in the United States of America. *J Periodontol* 1991; 62: 608-16.
5. Genco RJ, Zambon JJ, Murray PA. Serum and gingival fluid antibodies as adjuncts in the diagnosis of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontal disease. *J Periodontol* 1985; 56: 41-50.
6. Brogan JM, Lally ET, Poulsen K, Kilian M, Demuth DR. Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: Analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. *Infect Immun* 1994; 62: 501-8.
7. Haubek D, DiRienzo JM, Tinoco EMB, Westergaard J, López NJ, Chung C-P, et al. Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3037-42.
8. Haubek D, Ennibi O-K, Abdellaoui L, Benzarti N, Poulsen S. Attachment loss in Moroccan early onset periodontitis patients and infection with the JP2-type of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 657-60.
9. Haubek D, Poulsen K, Westergaard J, Dahlén G, Kilian M. Highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1576-8.
10. Alaluusua S, Asikainen S, Lai C-H. Intrafamilial transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol* 1991; 62: 207-10.
11. Asikainen S, Chen C, Slots J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11: 387-94.
12. Tinoco EMB, Sivakumar M, Preus HR. The distribution and transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in families with localized juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 99-105.
13. Haraszthy VI, Hariharan G, Tinoco EMB, Cortelli JR, Lally ET, Davis E, et al. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J Periodontol* 2002; 71: 912-22.
14. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964; 22: 112-35.
15. Slots J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 606-9.
16. Kilian M, Schiott CR. *Haemophilii* and related bacteria in the human oral cavity. *Archs Oral Biol* 1975; 20: 791-6.
17. Hodge P, Michalowicz B. Genetic predisposition to periodontitis in children and young adults. *Periodontol* 2000 2001; 26: 113-34.
18. Gunsolley JC, Ranney RR, Zambon JJ, Burmeister JA, Schenkein HA. Families afflicted with periodontitis. *J Periodontol* 1990; 61: 643-8.
19. Zambon JJ, Christersson LA, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol* 1983; 54: 707-11.
20. Bonta Y, Zambon JJ, Genco RJ, Neiders ME. Rapid identification of periodontal pathogens in subgingival plaque: Comparison of indirect immunofluorescence microscopy with bacterial culture for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Dent Res* 1985; 64: 793-8.
21. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980; 29: 1013-20.
22. Haubek D, Ennibi O-K, Poulsen K, Poulsen S, Benzarti N, Kilian M. Early-onset periodontitis in Morocco is associated with the highly leukotoxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Dent Res* 2001; 80: 1580-3.
23. Zambon JJ, Haraszthy VI, Hariharan G, Lally ET, Demuth DR. The microbiology of early-onset periodontitis: Association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67: 282-90.
24. Guthmiller JM, Lally ET, Korostoff J. Beyond the specific plaque hypothesis: Are highly leukotoxic strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* a paradigm for periodontal pathogenesis? *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12: 116-24.
25. Asikainen S, Chen C. Oral ecology and person-to-person transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 1999; 20: 65-81
26. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent LR. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-44.
27. Yano-Higuchi K, Takamatsu N, He T, Umeda M, Ishikawa I. Prevalence of *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival microflora of Japanese patients with adult and rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 597-602.
28. Loesche WJ, Lopatin DE, Stoll J, van Poperin N, Hujoel PP. Comparison of various detection methods for periodontopathic bacteria: Can culture be considered the primary reference standard? *J Clin Microbiol* 1992; 30: 418-26.

#### Forfattere

Zohair Azzouzi, scholarstipendiat, stud.odont.

Afdeling for Parodontologi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Dorte Haubek, lektor, ph.d.

Afdeling for Samfundsodontologi og Pæodonti, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet

Tove Larsen, lektor, ph.d.

Afdeling for Oral Mikrobiologi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

Jytte Westergaard, lektor, lic.odont.

Afdeling for Parodontologi, Odontologisk Institut, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet