Università degli Studi di Torino
Facolta di Medicina e Chirurgia
Corso di Laurea in Igiene Dentale
Corso integrato - Conservativa

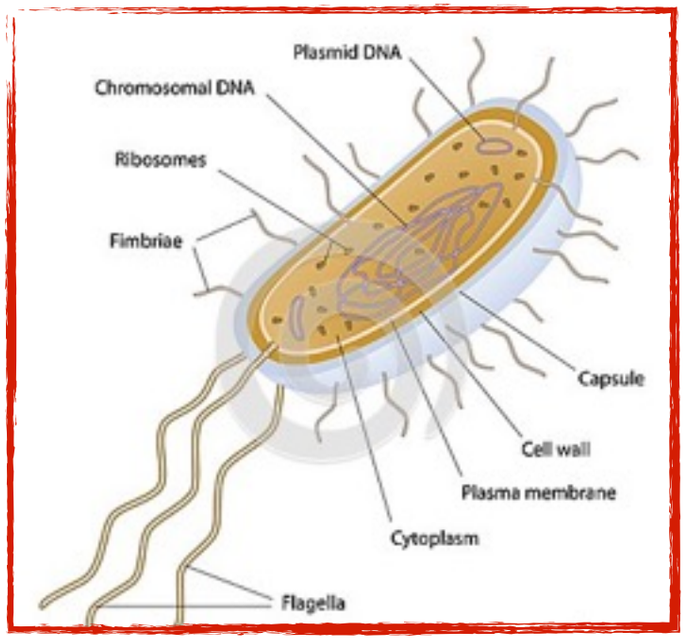
THE ORAL MICROFLORA AND BIOFILM

Dott.ssa Laura Montemaggiore

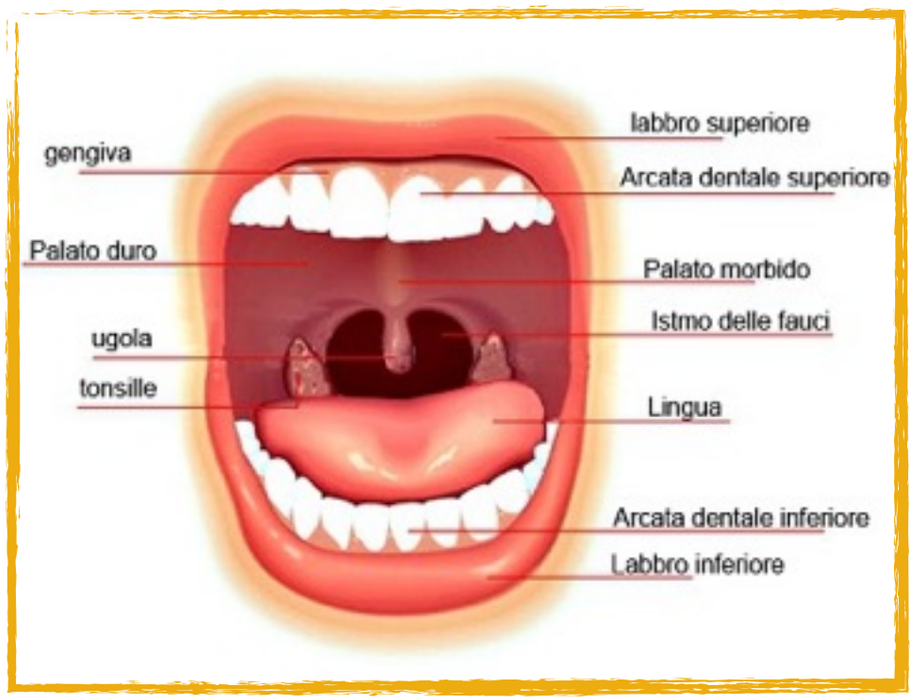
ECOSISTEMA ORALE

Batteri

più di 300 diverse specie batteriche. In un mm di placca dentale sono presenti più di 10



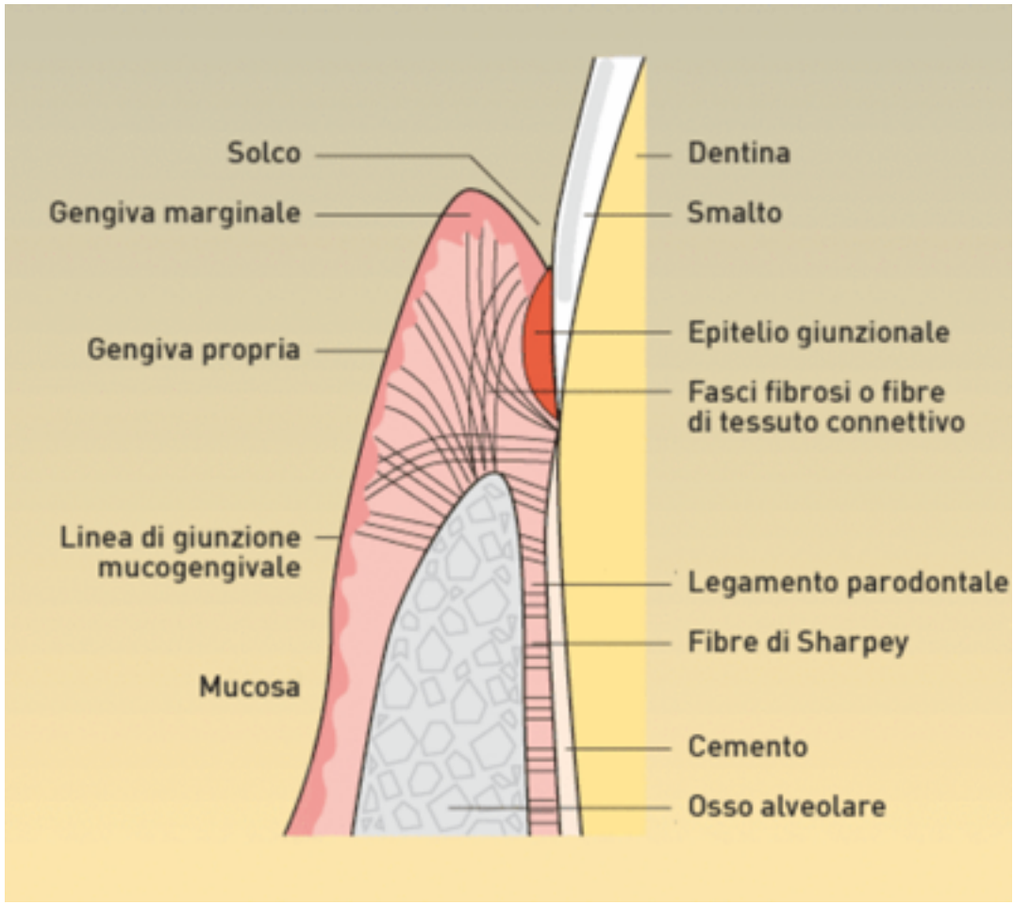
rapporto di COMMENSALISMO o SIMBIOSI
in patologia rapporto opportunistico



Cavità Orale

Presenta una grande varietà di habitat (labbra, guance, palato, denti, solco gengivale) con caratteristiche chimico-fisiche differenti

HABITAT



Tessuti duri
non soggetti a sfaldamento, possono essere colonizzati sopra o sotto il margine gengivale

Tessuti molli
caratterizzati da una continua desquamazione delle cellule epiteliali di superficie, che permette una rapida eliminazione dei batteri aderenti.

Area crevicolare
presenta caratteristiche proprie (anaerobiosi, essudato plasmatico,⋯)

Microrganismi predominanti nei diversi siti del cavo orale

Tipo	Genere/famiglia	Presenza %			
		Fluido crevicolare	Placca dentale	Lingua	Saliva
Aerobi/anaerobi facoltativi					
Cocchi gram +	Streptococcus	28,8	28,2	44,8	46,2
	S. mutans (gruppo)	(0-30)	(0-50)	(0,1)	(0,1)
	S. sanguis	(10-20)	(40-60)	(10-20)	(10-30)
	S.mitis	(10-30)	(20-40)	(10-30)	(30-50)
	S. salivarius (gruppo)	(0-1)	(0-1)	(40-60)	(40-60)
Bastoncelli Gram +	Lactobacillius	15,3	23,8	13,0	11,8
Cocchi Gram -	Moraxella	0,4	0,4	3,4	1,2
Bastoncelli Gram -	Enterobacteriaceae	1,2	ND	3,2	2,3
Anaerobi					
Cocchi Gram +	Peptostreptococcus	7,4	12,6	4,2	13,0
Bastoncelli Gram +	Actinomyces/Eubacterium/Leptotrichia	20,2	18,4	8,2	4,8
Cocchi Gram -	Veillonella	10,7	6,4	16,0	15,9
Bastoncelli Gram -	Fusobacterium	1,9	4,1	0,7	0,3
	Prevotella/Porphyromonas	4,7	ND	0,2	ND

ZONE ANATOMICHE

LINGUA
Streptococchi S.salivarius, S. mitis, S. sanguis
Veillonella (cocchi Gram -, anaerobi)

GUANCE
Streptococchi aerobi, anaerobi facoltativi
dominante S. mitis

LABBRA E PALATO
Streptococchi orali

FLUIDI

MANTENIMENTO DELL'ECOSISTEMA

Contengono: **lattoferrina**, **anticorpi**, **proteasi**, **agenti antibatterici salivari** *e* **proteine del complemento**

SALIVA

Prodotta dalle ghiandole salivari (parotidi, sottomandibolari, sottolinguali e ghiandole minori), con flusso variabile (800/1500 ml/giorno), asporta detriti, cellule sfaldate e microrganismi ed è caratterizzata da un PH di 6,7 c.ca

ACQUA - ELETTROLITI
GLICOPROTEINE - ANTIBATTERICI
ENZIMI - CELLULE

Streptococchi aerobi e anaerobi facoltativi rappresentano il 50% dei ceppi isolati
S. salivarius e S. mitis
Variabile S. mutans e Lactobacillius
Presenti anche altri generi in concentrazione variabile

SALIVA

Crescita delle comunità batteriche

- Nutrimento
- Glicoproteine
- Fatt. aggreganti

- Lisozima
- Lattoperossidasi
- Lattoferrina
- Immunoglobuline

FLUIDO CREVICOLARE

Origina dal plasma e raggiunge il solco gengivale tramite l'epitelio sulculare. In presenza di infiammazione il fluido aumenta. Contiene proteine, albumina, leucociti, Ig, complemento.

Crescita delle comunità batteriche

Nutrimento (albumina, emina, ∝2 globulina)

Difesa specifica e specifica: IgG, IgM, IgA, complemento, leucociti, PMN, linfociti T e B

FATTORI CHE INFLUENZANO L'AMBIENTE ORALE

fattori legati ai batteri

- **Aderenza**
- **Interazioni batteriche**

fattori esterni

- Dieta
- Igiene orale
- Agenti antimicrobici
- Farmaci
- Malattie
- Altri fattori

fattori fisico-chimici

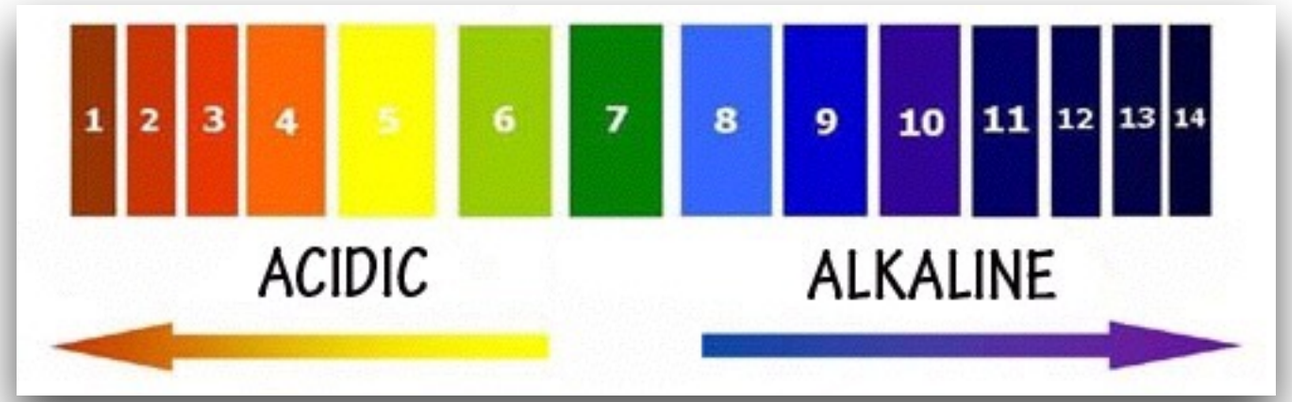
- Temperatura
- PH
- Potenziale Redox
- Anaerobiosi
- Nutrienti

fattori legati all'ospite

- **Difesa ospite**
- **Età**
- **Variazioni ormonali**
- **Stress**
- **Fattori genetici**

TEMPERATURA 35-36 °C

PH 5-8



POTENZIALE REDOX

è proporzionale alla presenza di O_2

batteri anaerobi → ambiente riducente

batteri aerobi → ambiente ossidante

fattori fisico-chimici

NUTRIENTI

DIETA carboidrati e proteine
SALIVA crescita di molti microrganismi anche in assenza di apporti esogeni
LIQUIDO CREVICOLARE è ricco di nutrienti (plasma)
PRODOTTI DEL METABOLISMO BATTERICO acidi organici

fattori fisico-chimici

ADESIVITÀ indispensabile per diventare un microbiota commensale e affinché un microrganismo patogeno possa danneggiare l’ospite

RITENZIONE
ADESIONE
COAGGREGAZIONE

Fattori legati ai batteri

Fattori legati ai batteri

INTERAZIONE

- Polimeri extracellulari
- Glucosiltransferasi
- Acido lipoteicoico (LTA)
- Fimbrie

COMPONENTI SALIVARI

- *mucine*
- *glicoproteine*
- *amilasi*
- *lisozima*
- *IgA, IgG*

COMPONENTI BATTERICHE LEGATE ALLA SUP. ORALE

- *Glucosiltransferasi (GTF)*
- *Glucani*

Fattori di adesività

Gli SM tramite la GTF trasformano il saccarosio in glucano (insolubile). La sua presenza facilità l'adesione dei batteri alle superfici orali. La Glucosiltransferasi (GFT) oltre a catalizzare la formazione di glucani, agisce anche come FATTORE DI ADESIONE

ACIDO LIPOTEICOICO componente della membrana dei GRAM +

FIMBRIE appendici presenti sia nei GRAM + che nei GRAM -

Formazione della placca

FORMAZIONE DELLA PELLICOLA ACQUISITA

FUSIONE DI SINGOLE CELLULE BATTERICHE (0-4H)

CRESCITA DEI BATTERI E FORMAZIONE DI MICROCOLONIE (4-24H)

SVILUPPO MICROBICO E COAGGREGAZIONE (1-14GG)

CLIMAX COMMUNITY - PLACCA MATURA (+14GG)

FORMAZIONE DELLA PELLICOLA ACQUISITA

Materiale non strutturato, acellulare e abatterico di ORIGINE SALIVARE

- Spessore 0.1-1 µm (24h)
- Ricopre il dente subito dopo l'eruzione
- Se viene rimossa si riforma nel giro di pochi secondi
- Rappresenta la superficie su cui avviene l'adesione dei batteri

COMPOSIZIONE i maggiori costituenti sono le glicoproteine salivari, le fosfoproteine, i lipidi e i componenti del fluido crevicolare.

CARATTERISTICHE FISICO-CHIMICHE resistente agli enzimi proteolitici, stabile alla temperatura, relativamente insolubile. Rappresenta una barriera alla diffusione degli acidi nello smalto.

È stato ipotizzato che le caratteristiche superficiali dei denti e dei materiali dentali possano influenzare la presenza di amminoacidi nella pellicola, modificando così la composizione batterica che aderisce ad essa

COLONIZZAZIONE PRIMARIA E VARIAZIONI QUANTITATIVE

La colonizzazione avviene sulla pellicola acquisita

FASE INIZIALE (8h) entro le prime due ore avviene la colonizzazione da parte dei pionieri. Soprattutto Gram + facoltativi (*Streptococcus Sanguis*).

FASE DI CRESCITA (16H) i cocchi e i bastoncelli Gram + facoltativi si aggregano e si moltiplicano. Si creano così microcolonie di batteri pionieri, immerse in una matrice di polisaccaridi extracellulari.

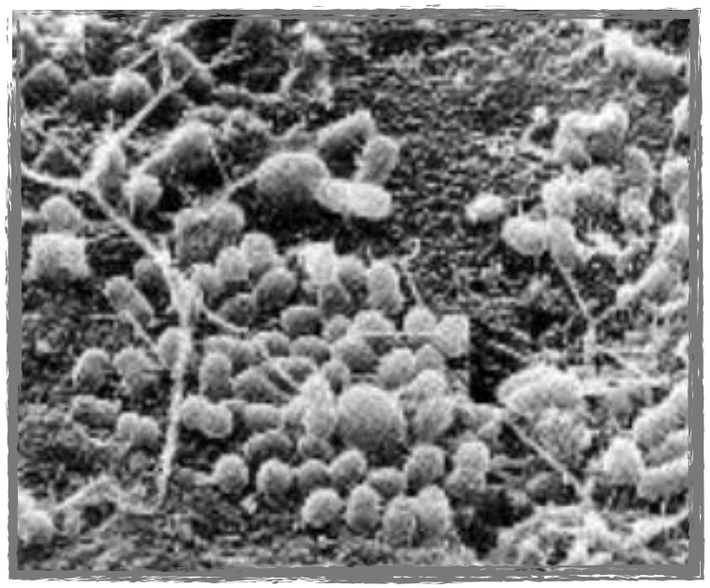
COLONIZZAZIONE INIZIALE

Streptococcus sanguis, streptococcus mitis e streptococcus oralis
Costituiscono il 95% degli streptococchi presenti e il 56% dei batteri totali
in percentuali minori presenti Actinomiceti

Sistema di riconoscimento sulla superficie dei batteri

⬇

legami con le molecole complementari della pellicola acquisita



Alcuni recettori identificati sono oligosaccaridi che fanno parte della glicoproteine della pellicola acquisita

S. Sanguis e S. Oralis → acido sialico

S. Oralis → adesina che si lega al galattosio

Actinomices → prolina e staterina, residui di galattosio

COLONIZZAZIONE SUCCESSIVA

Flora streptococcica necessaria per successiva proliferazione di altri microrganismi

Passaggio ad una placca con prevalenza di actinomyces

Shift di popolazione ➡ successione microbica

Creazione di un ambiente più favorevole per i patogeni secondari. Con l'accumulo di prodotti metabolici inibitori, la comunità di microrganismi residenti è rimpiazzata da altre specie

INTERAZIONE TRA RECETTORI

COADESIONE

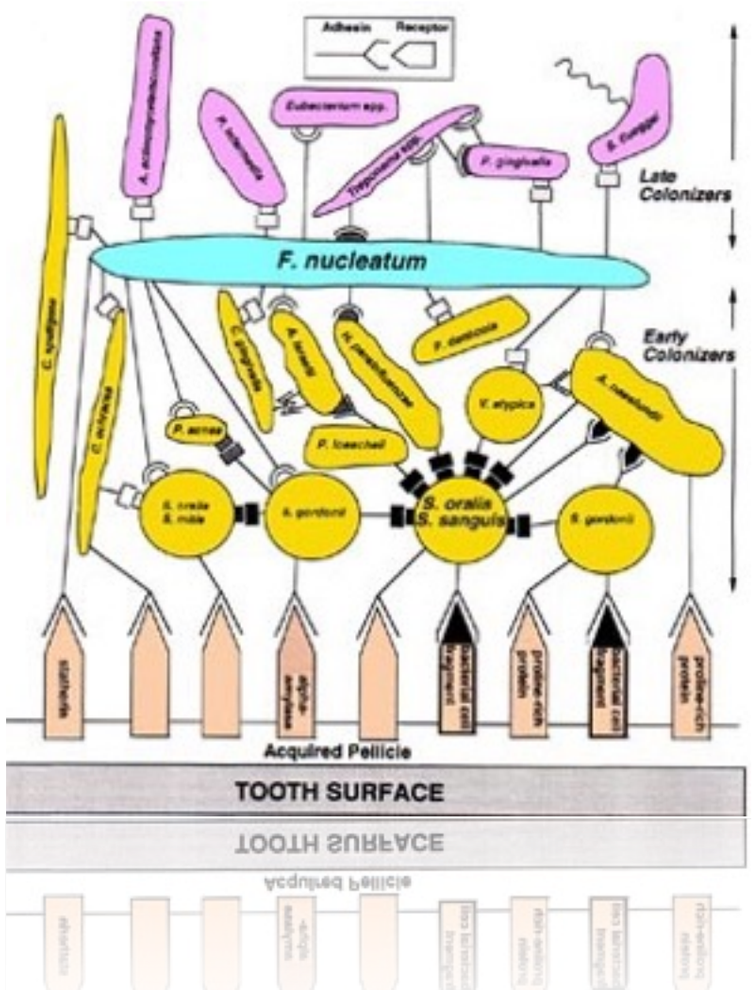
COAGGREGAZIONE

↑ spessore dei depositi batterici ↓ concentrazione O_2

FASE DI MATURAZIONE

Nelle fasi iniziali di formazione della placca predominano batteri aerobi o anaerobi facoltativi per poi passare ad una prevalenza di anaerobi facoltativi e obbligati

↑ Fusobacterium nucleatum
Prevotella intermedia



CLIMAX COMMUNITY

Omeostasi microbiologica che tende ad eliminare le specie invadenti non precedentemente presenti. Condizione altamente dinamica, in cui i batteri morti sono continuamente rimpiazzati da altri nuovi.

STRUTTURA DELLA PLACCA

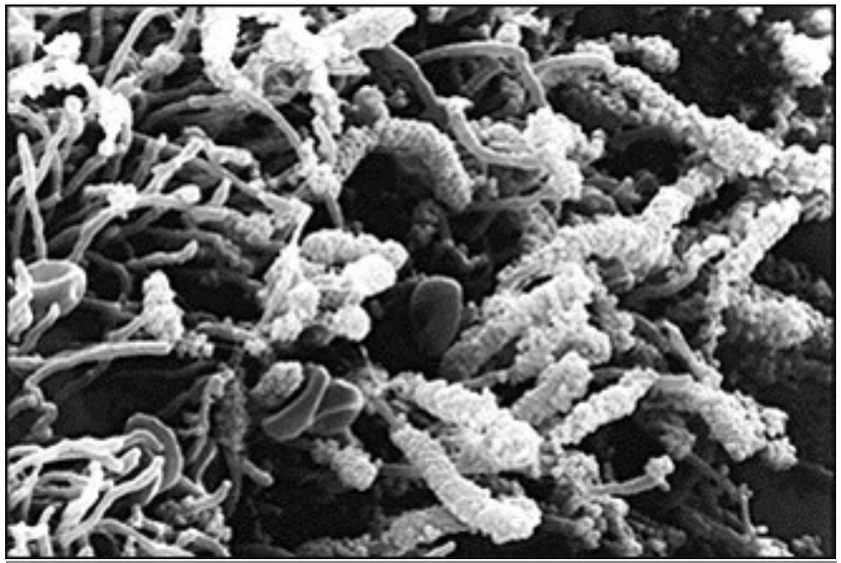
Evoluzione della popolazione indotta da fattori microbici

- Diminuzione Eh → IMPIANTO ANAEROBI
- Strutture recettoriali dei colonizzatori come substrato per l'adesione di altri batteri INTERAZIONE BATTERICA

↓ streptococchi ↑ specie filamentose

DISPOSIZIONE STRATIFICATA

strati verticali
(alterni cocchi-filamenti)
strato orizzontale
(deposito sullo strato iniziale)
disposizioni peculiari
(pannocchia di granturco CORN COB)



Con il tempo la pellicola acquisita viene degradata enzimaticamente e lo smalto può essere attivamente eroso

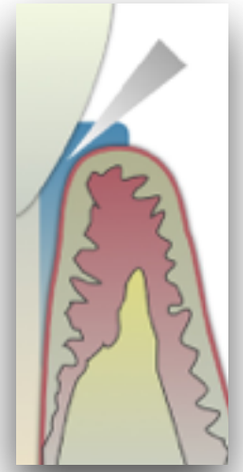
MICROBIOLOGIA DELLE SUPERFICI

Le differenze qualitative e quantitative rilevate sono così ampie che vengono considerate zone distinte

SPAZI INTERPROSSIMALI

SOLCHI E FESSURE

ZONA CREVICOLARE E GENGIVALE



Queste variazioni locali nella composizione della microflora possono spiegare perché alcuni siti sono ad alta attività cariogena con possibili formazioni di cavità, mentre un sito vicino, nella stessa bocca rimane libero da carie.

BACTERIUM	FISSURES	APROSSIMAL SURFACE	GINGIVAL CREVICE
STREPTOCOCCUS	8-86	<1-70	2-73
ACTINOMYCES	0-46	4-81	10-63
AN G+R	0-21	0-6	0-37
NEISSERIA	+	0-44	0-2
AN G-R	-	0-66	8-20
TREPONEMA	-	-	+
VEILLONELLA	0-44	0-59	0-5
NUTRIENT SOURCE	saliva and diet	saliva and diet	gcf
PH	neutral-low	neutral-low	neutral-high
EH	positive	slight negative	negative

MICROBIOLOGIA DELLE SUPERFICI

SPAZI INTERPROSSIMALI

- predominanza di ACTINOMICETI (A. israelii)
- maggior presenza di batteri anaerobi
- nicchia di S. mutans

SOLCHI E FESSURE (E DIFETTI DI STRUTTURA DELLO SMALTO)

- composizione più semplice (COCCHI e corti BASTONCELLI)
- organizzazione semplice senza formazioni a palizzata e a pannocchia

ZONA CREVICOLARE E GENGIVALE

- a livello del margine composizione simile a quella delle superfici lisce
- nella profondità del solco minore quantità di matrice intercellulare
- COCCHI, batteri FUSIFORMI e FILAMENTOSI
- SPIROCHETE (placca più vecchia e in caso di parodontopatia)

BIOFILM

COMUNITÀ DI MICRORGANISMI ADESI AD UNA SUPERFICIE, ORGANIZZATI IN STRUTTURE TRIDIMENSIONALI E INCLUSI IN UNA MATRICE ESOPOLISACCARIDICA DERIVATA SIA DALLE CELLULE STESSE CHE DALL'AMBIENTE

- protezione
- aumento della resistenza e tolleranza agli agenti antimicrobici
- eterogenicità spaziale che crea un mosaico di microambienti che facilitano la differenziazione batterica
- organizzazione tra microrganismi che facilita le interazioni metaboliche
- elevata concentrazione di nutrienti tra l'interfaccia liquida (saliva) e il biofilm

INTERAZIONI TRA MICRORGANISMI

INTERAZIONI AGONISTICHE

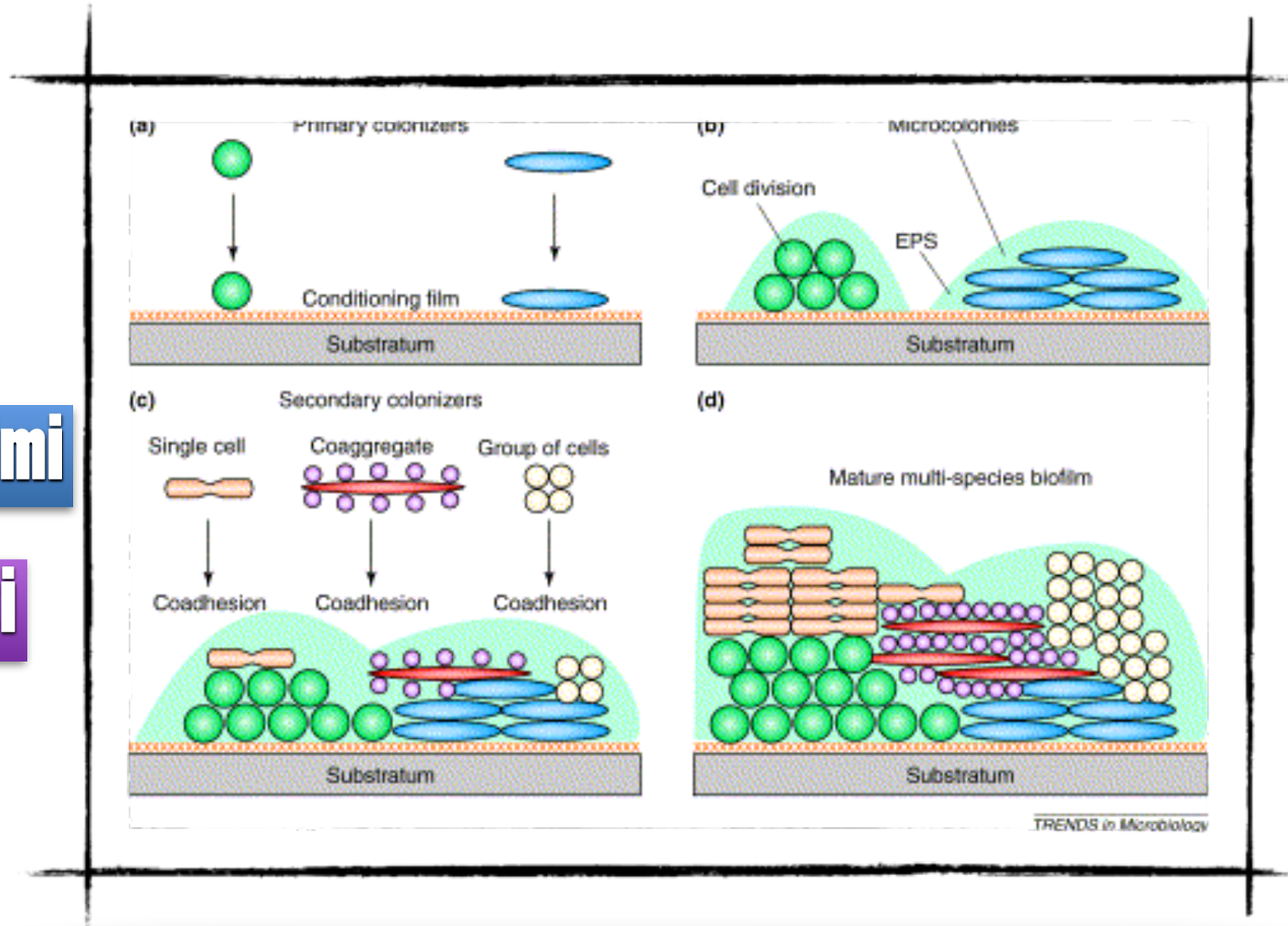
Complementazioni di enzimi

Condivisione di nutrimenti

Coaggregazioni

Inattivazione di inibitori

Sovversione delle difese dell'ospite



INTERAZIONI TRA MICRORGANISMI

INTERAZIONI ANTAGONISTICHE

Produzione di H_2O_2

Produzione di batteriocine

Acidi organigi

Competizione per i nutrienti

Basso PH

Il meccanismo antagonista serve ad escludere le specie esogene dalla bocca. La comunità microbica è più resistente agli stress e alle perturbazioni ambientali in seguito ad un aumento del potenziale patogeno.

Variazioni della placca

SONO CORRELATE ALLE VARIAZIONI CHE INFLUENZANO LA POPOLAZIONE MICROBICA

- SITI ANATOMICI
- MICROAMBIENTI DIFFERENZIATI
- VARIAZIONI INTER-INDIVIDUALI
- DIETA (SACCAROSIO E S. MUTANS)
- INTERVENTI SUI DENTI STESSI
- ANTIBIOTICI
- TEMPO
- VARIAZIONI ORMONALI

ATTIVITÀ BIOCHIMICHE DELLA PLACCA

BATTERI

ZUCCHERO → fermentazione → **ACIDI**

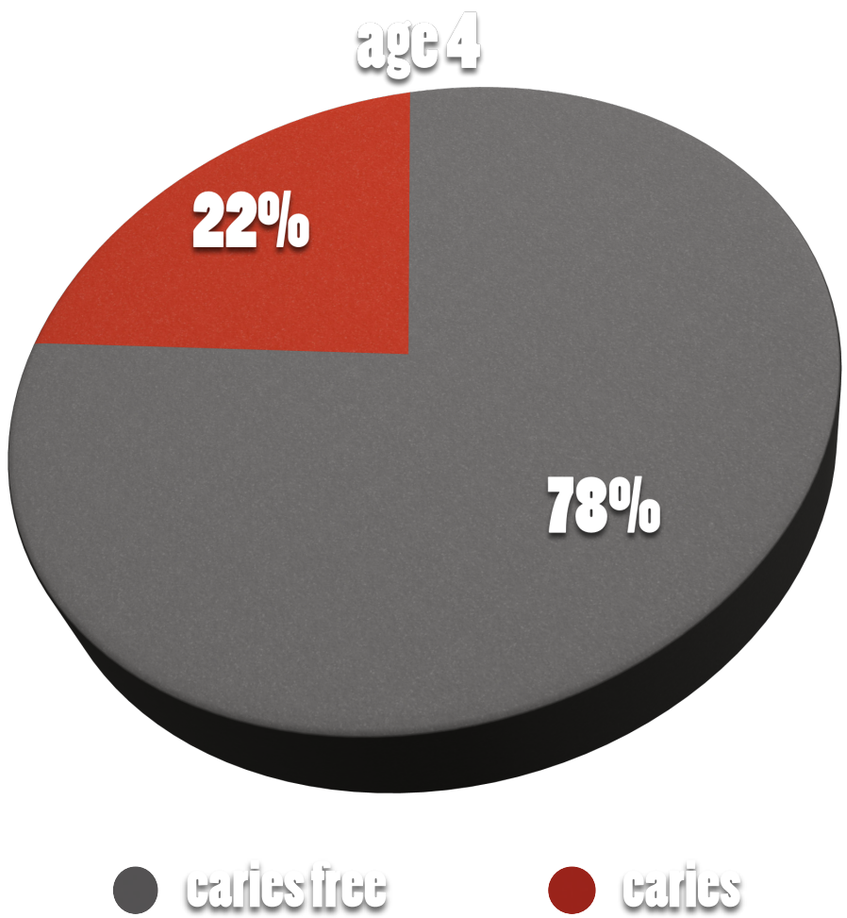
potenziale patogeno

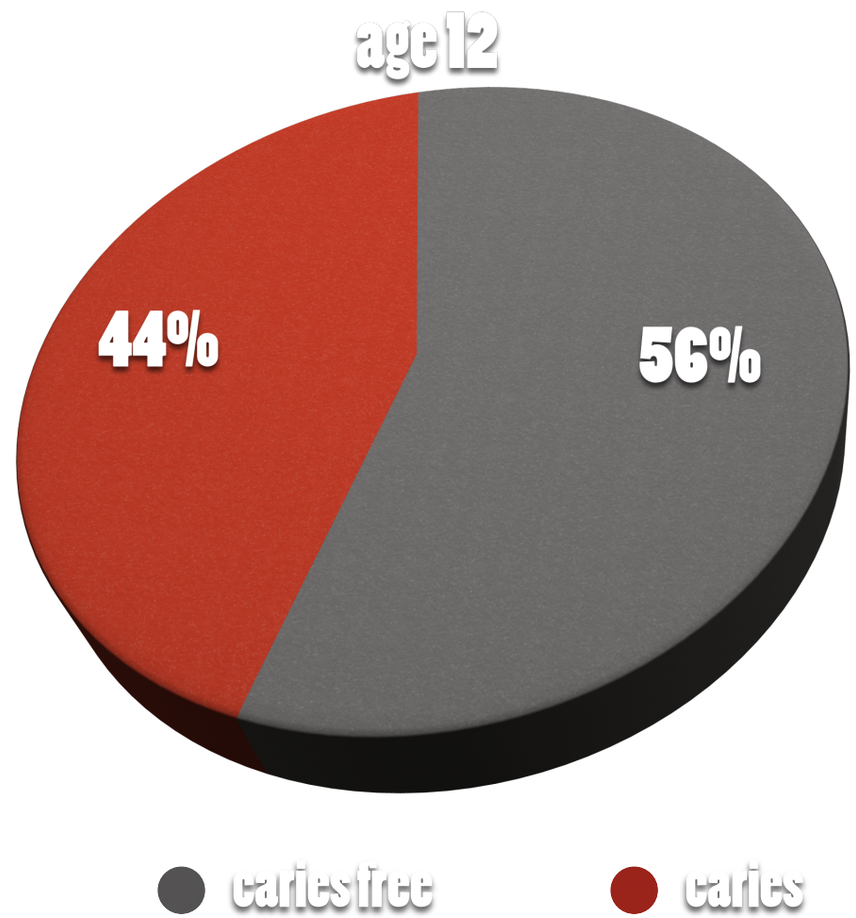
SINTESI DI POLISACCARIDI

CORRELAZIONE TRA PLACCA DENTALE E CARIE

La patologia cariosa è una malattia infettiva, trasmissibile, a carattere cronico-degenerativo, a eziologia multifattoriale che interessa i tessuti duri dentali con distruzione degli stessi. È una delle patologie maggiormente diffuse nella popolazione, particolarmente in età pediatrica.

DEFINIZIONE E PREVALENZA





La comunità microbica orale rappresenta una delle flore più complesse nel corpo umano (700 specie di batteri Gram + e Gram-).
La placca sopragengivale è dominata da batteri Gram positivi, tra cui S. mutans, S. mitis, S. salivarius, Lactobacillus e Actinomyces responsabili della carie dentaria, nonché Veillonella e Fusobacterium.

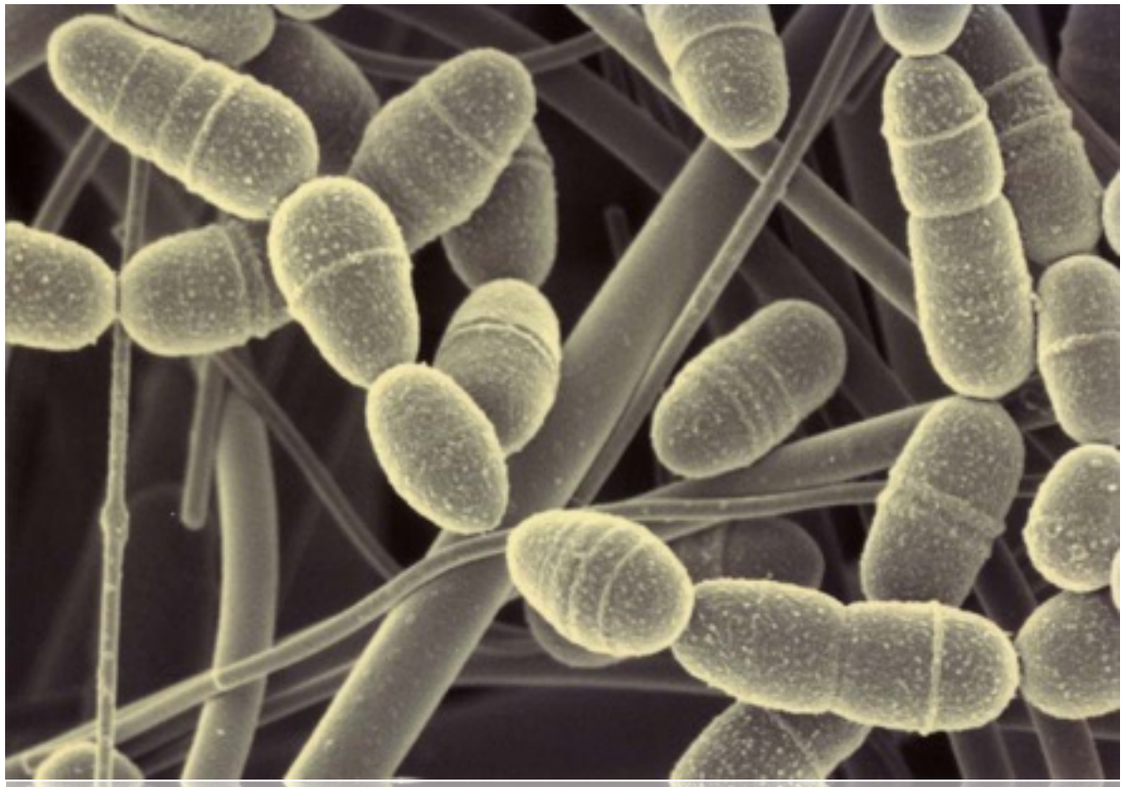
ETIOLOGIA

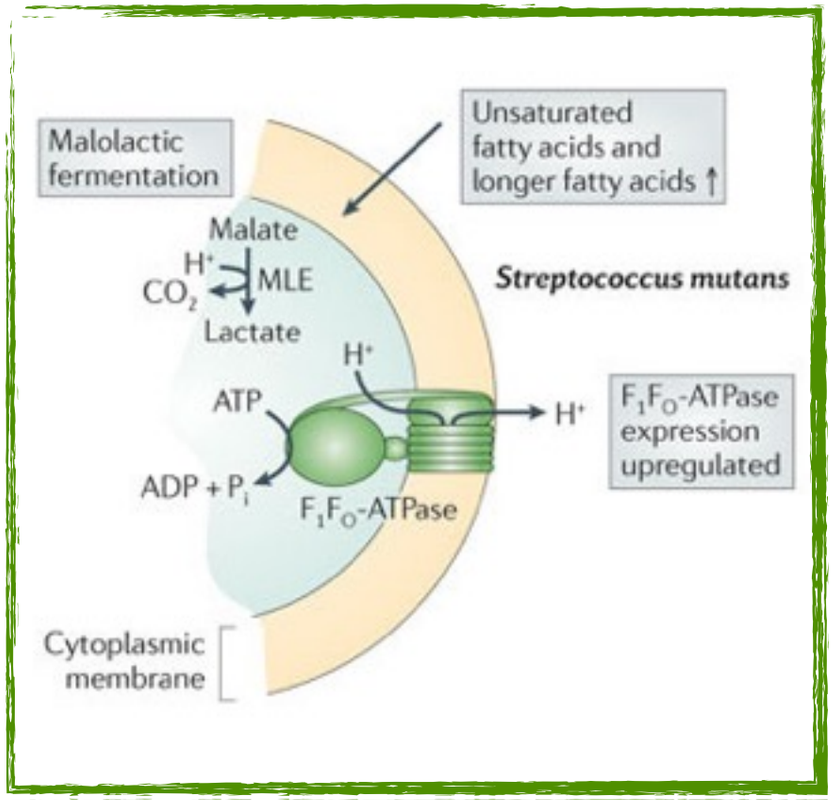
I principali responsabili del processo carioso sono S. mutans e Lactobacillus; questi batteri metabolizzano i carboidrati fermentabili, assunti con la dieta, producendo acidi organici che a loro volta provocano una caduta del pH con conseguente demineralizzazione dello smalto.

EQUILIBRIO TRA DEMINERALIZZAZIONE E REMINERALIZZAZIONE

Quando il pH scende al di sotto del punto critico di 5,5, per effetto dell'acido lattico prodotto da S. mutans e in presenza di una quantità notevole di zucchero, si altera l'equilibrio tra remineralizzazione e demineralizzazione e comincia il processo carioso

Streptococcus mutans





- mediante gli enzimi glicosiltransferasi metabolizza facilmente il saccarosio della dieta dell'ospite per formare polimeri insolubili di glucosio che aiutano nella colonizzazione continua delle superfici solide
- sopravvive a valori di pH intollerabili dalle altre specie batteriche presenti nel cavo orale, contribuendo notevolmente al potenziale patogeno
- utilizza un'ampia varietà di zuccheri, che vengono rapidamente metabolizzati in acidi organici, tra cui è predominante l'acido lattico, responsabile di acidificare l'ambiente intorno al batterio
- si avvantaggia della presenza del saccarosio, legandosi irreversibilmente alla superficie del dente grazie alla sua capacità di produrre e aderire ai glucani

EZIOLOGIA MULTIFATTORIALE

Tre fattori di rischio NECESSARI nell'eziopatogenesi della carie (Keyes 1962)

- *flora batterica cariogena*
- *dieta ricca di carboidrati fermentativi*
- *suscettibilità individuale*

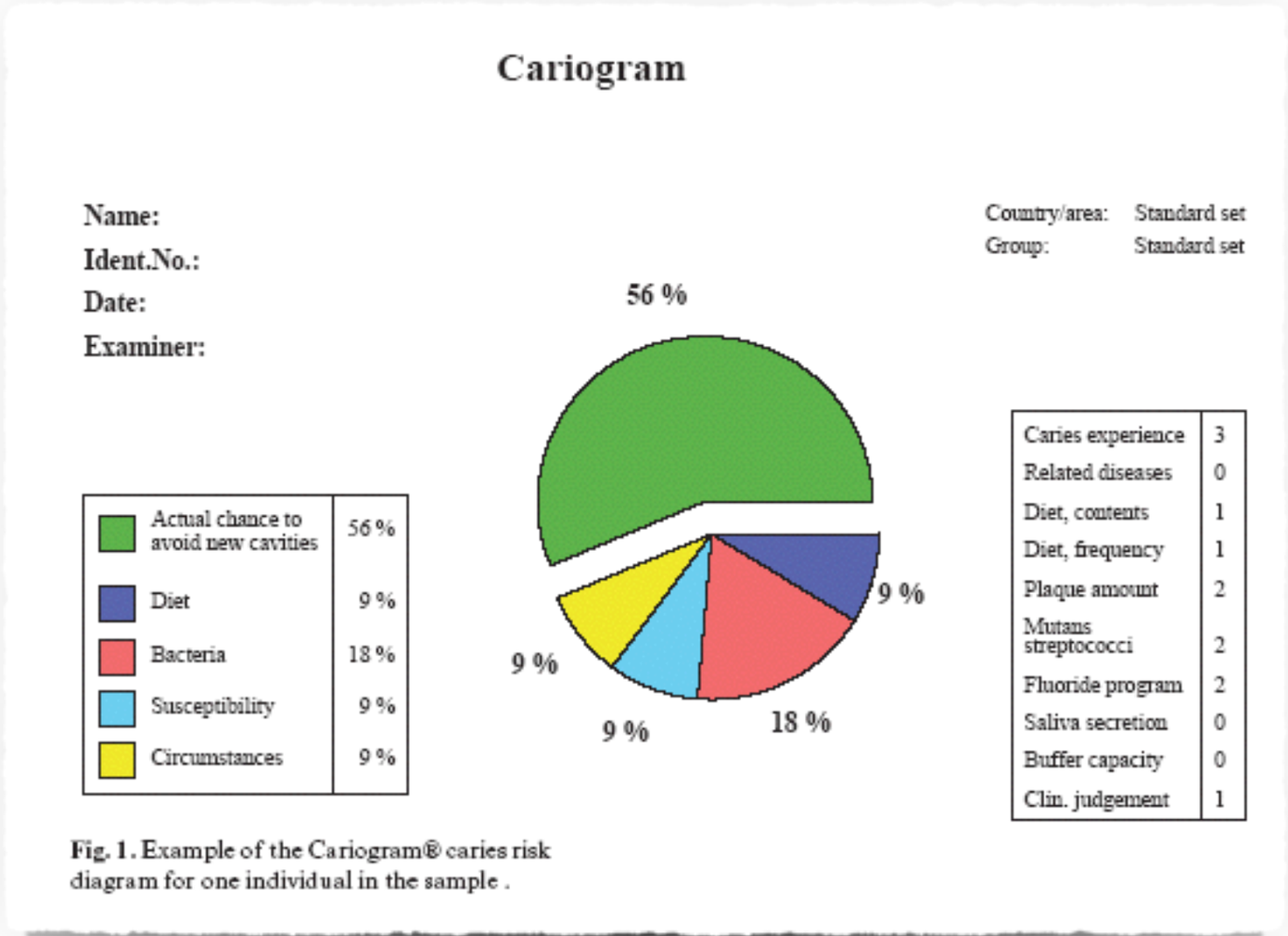


Fig. 1. Example of the Cariogram® caries risk diagram for one individual in the sample .

interazione di fattori causali, genetici, biologici, ambiente sociale (famiglia e comunità), ambiente fisico, comportamenti di salute, cure dentistiche, mediche e suscettibilità dell'ospite

ACQUISIZIONE DELLA POPOLAZIONE MICROBICA

Cavità orale alla nascita STERILE

BOCCA EDENTULA i primi batteri colonizzatori sono definiti pionieri. È favorito l'insediamento di batteri aerobi e anaerobi facoltativi, primi tra tutti gli streptococchi con S. salivarius. I batteri anaerobi sono scarsi: veillonelle e fusobatteri.

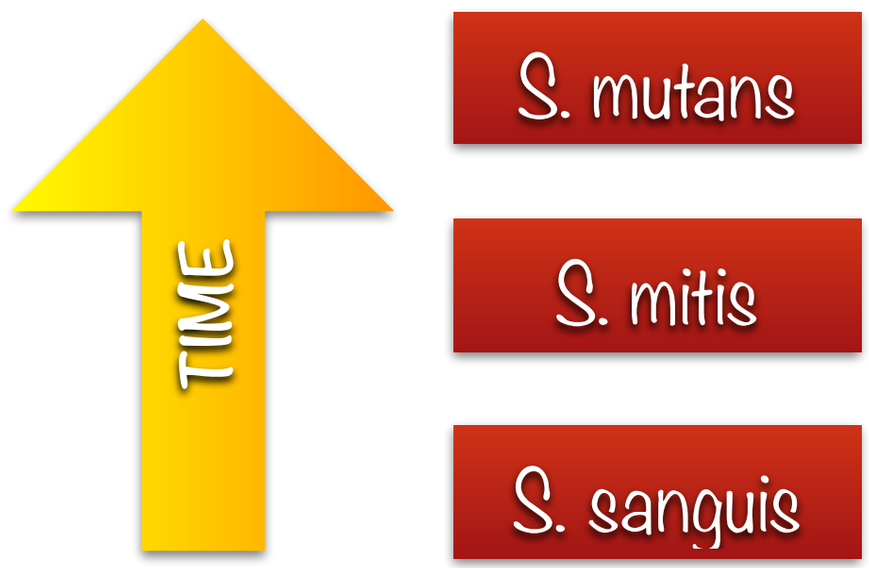
71%

TRASMISSIONE VERTICALE

L'acquisizione dipende dalla trasmissione di batteri ai siti di potenziale colonizzazione e può derivare da acqua, cibi e altri fluidi nutrizionali. La via principale è comunque la saliva

ERUZIONE → nuovi HABITAT

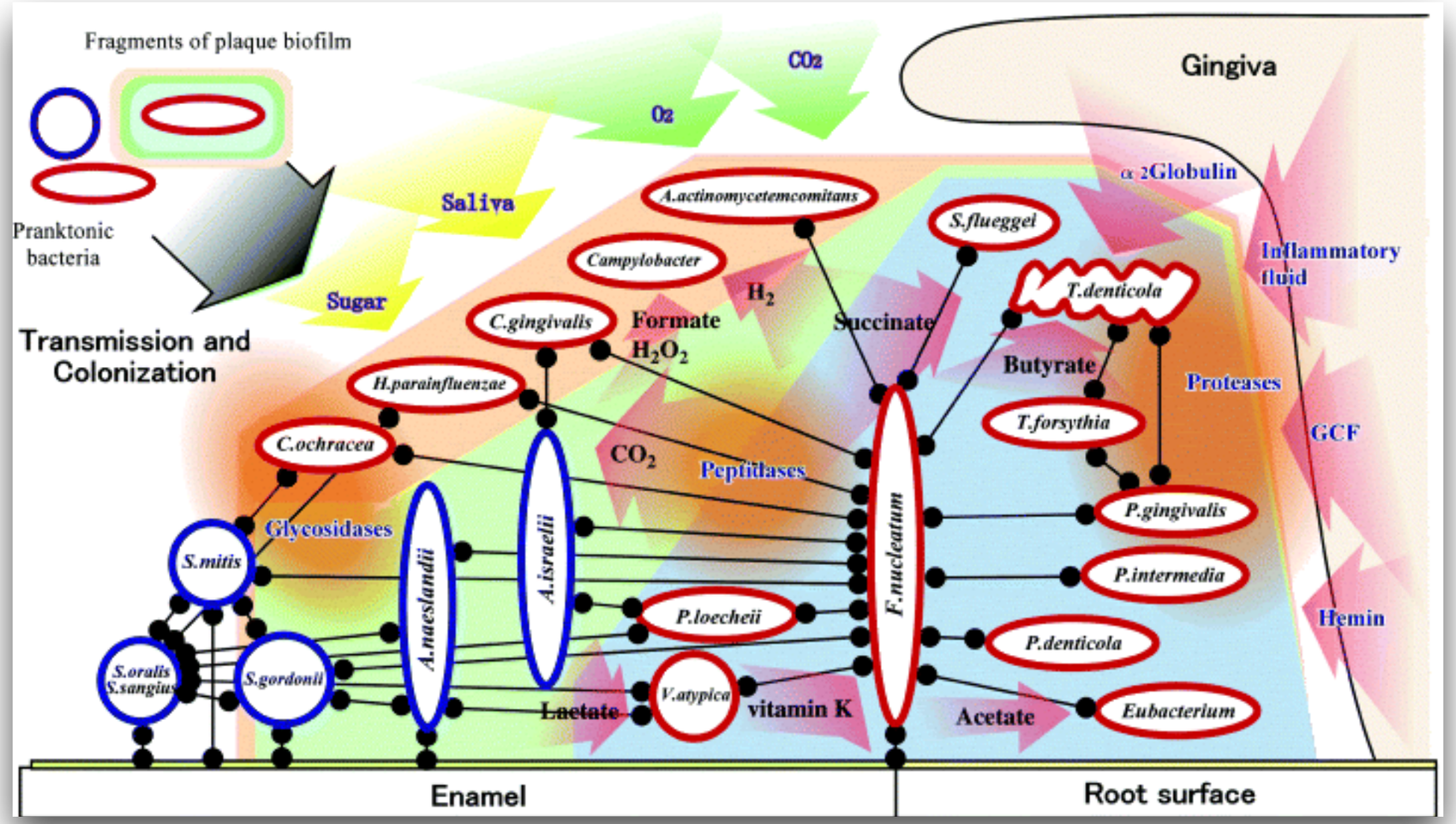
Sono a disposizione nuove superfici dure, non sfaldabili, che consentono un'indisturbata colonizzazione batterica S. sanguis



La microflora orale aumenta la sua biodiversità fino ad una situazione di stabilità THE CLIMAX COMMUNITY

MICROBIAL HOMEOSTASIS

è una condizione stabile nel tempo, nonostante le normali piccole perturbazioni nell'ambiente locale, dovuti ai cambi di dieta, ormonali e di igiene



EQUILIBRIO DINAMICO TRA LA MICROFLORA RESIDENTE E LE CONDIZIONI AMBIENTALI DEL SITO DELL'OSPITE