

# 6. GAIA

## DIAGNOSTIKO

### MIKROBIOLOGIKOA

#### *Egileak:*

García-De La Fuente AM, Estefanía-Fresco R, Aguirre-Zorzano L A

OCW-2016

## DESKRIBAPENA

Ebidentzia zientifikoak (*Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997*) proposatu du test mikrobiologikoak erabiltzea ondo legokeela:

1. Espezie zehatzen proportzioa eta presentzia determinatzeko.
2. Antibiotiko zehatzeen kontra mikrobiotaren erantzuna determinatzeko.

Poltsa periodontalaren mikrobiotaren identifikazioak klinikori egiazko /potentzialeko periodontopatogenoei buruzko informazioa eman dio eta, nola ez, zein antibiotikoak izan daitekeen eraginkorrenak patogeno horien kontra.

Egia esan, badakigu zenbat laguntzen dioten testa hauek klinikori gaixotasun peridontalaren tratamendua ezartzeko?

## Antibiotikoen erabilera terapia periodontalan

### Tratamendu mekanikoa

Bakterio-masa murriztu dezake: bai hortzoiaren goiko/behekoa

Zenbait patogeno garrantzitsuk tratamendu horri erresistentzia eragin ahal diote

*(Mombelli y cols 1994 a, 1994 b, 1996, Simonson y cols 1992, Chaves y cols 2000, Haffajee y cols 1997,)*

*AA, T. denticola, P. gingivalis, P. intermedia, F. nucleatum, T. forsythia*

Ehunak inbaditzeko gaitasunagatik  
*(Christersson et al 1987)*

Poltsa sakonaraino heltzeko ezgaitasunagatik  
*(Caffesse y cols 1986, Walker & Ash 1976)*

Oinarrizko terapiari ondo erantzuten ez duten paziente gutxi (paziente immuneak)

Antimikrobiarrak erabiliko dira tratamendu mekanikori laguntzeko.

Patogeno garrantzitsuen maila murriztu edo ezabatu

Pazienteak onura klinikoa lortuko du  
*(Rams y cols 1990)*

- Ebidentziari dagokionez, antibiotiko sistemikoak erabiltzeagatik posible da bakterioen erresistentzia handitzea. *(Walker 1996)*
  - Dena dela, kliniko gehienagoak uste du bere erabilera justifikatuta dagoela, batez ere pazienteak zuzen erantzun ez badio terapiari.
- Nahiz eta klinikoek antibiotikoak sarritan erabili, antibiotiko eraginkorrena jakiteko zein den test mikrobiologikoak ez dira asko erabiltzen; hau da bere erabilera ez da ohikoena.
- Ebidentziak → Noiz erabiliko dugun antibiotiko sistemikoak ?
  - Periodontitis agresiboak
  - Pazientea immunokonprometituta (ostalariaren erantzuna aldatuta dago)
  - Periodontitis sendagorrorak (immuneak)
  - Lesio akutuak (abtsezuak) ( seinale sistemiko konkomitanterekin lotutakoak)
  - Gingibitis eta periodontitis nekrotiziarrik *(Haffajee y cols 2003, Herrera y cols 2002, Walker & Karpinia 2002, Slots 2004)*

## Gaixotasun periodontalarekin lotutako patogenoak

- **Socransky et al-ek (1998)** patogeno nagusiak zenbait konplexutan banatu zituzten:

**Komplexu gorria:**  
*P. gingivalis*  
*T. forsythia*  
*T. denticola*

**Komplexu laranja:**  
*C. rectus*  
*E. nodatum*  
*F. nucleatum*  
*P. intermedia*

Osasuna gaixotasunetatik desberdintzen dute (*Socransky & Haffajee 2005*)

- Badirudi *A. Actimicencomitans*-en presentzia periodontitis agresiboarekin lotuta dabilela (*Zambon y cols 1983*)

Bakteria horiek pertsona osasuntsuengan daude (*Lamell y cols 2000*)

Dirudienez, m.o.-en multzoak diferentzia markatuko du

Periodontitisa pairatzen duten pazienteek bakterio horien kontaketa handiagoa dute (*Colombo y cols 1998, Socransky & Haffajee 2005*)

## **Rams et al (1996):**

“ Peridontotopatogeno nagusien presentziak (*Aa*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *P. micros*) ez du adierazten periodontitisa berriro sortuko denik.

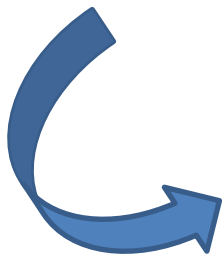
Hots, ez da berraktibatzearen faktore pronostiko esanguratsua.



Patogeno oportunistak:

m.o.-ren/bakterioen proportzioa-ren/ostalaria-ren arteko elkarreraginak baldintzatuko du eritasunaren hasiera eta aurrerapena.

- Ebidentzia zientifikoak:
  - Filotipoak: Badaude zenbait bakterioak berri identifikatuak orain lotuta daudenak periodontitisarekin. *(Paster y cols 2001) (Kumar y cols 2003, 2005)*
  - Periodontitis agresiboarekin lotuta dagoen Aa-ren zepa oso leukotoxikoa da (batez ere afrikanoen artean) *(Haubek y cols 1996, 1997)*



Periodontopatogenoak eta medikamenturen kontrako minberatasuna ikasteari ekin behar izango da

- Bestalde, ostalaria rol berezia eta ezinbestekoa du .  
Biofilm subgingibalaren konposizioa osatalariaren arabera aldatzen da eta.



- Bakterio-espezie eta multzo ezberdinak kolonizatuko dute ostalariak
- Horregatik, osasunekin eta gaixotasunekin lotutako bakterioko perfila ikasi behar da, aldaketa indibidual horiek kontuan hartuta.



## Antibiotikoriko periodontopatogenoren suszeptibilitatea

Antibiotikorekin lotutako minberatasuna analizatzean,  
badaude zenbait muga kontuan izan behar dugunak:

- Mikroorganismo beraren zepa ezberdinak
- Antibiotiko bakoitzaren kontzentrazio subgingibala

## Antibiotikoriko periodontopatogenoren suszeptibilitatea

### **Mikroorganismo beraren zepa ezberdinak :**

antibiotikoren aurka ez daukate minberatasun berdina

*(Pajukanta y cols 1993)*

### **Antibiotiko bakoitzaren kontzentrazio subgingibala:**

pazienteren arabera aldatzen da.

- **Irtenbidea??:** Antibiotikoak era lokalean emango dira **tratamendu peridontala egin eta gero**

*(Infekzio-lekuan antibiotikoren kontzentrazioa altuagoa izango dugu, antibiotikoak sistemikoki emanaz baino)*

- Oraindik ez daukagu ebidentzia zientifikorik antibiotikoak eraginkorrak izango diren ala ez; batez ere, ehunak inbaditzen duten bakterioen kontra (A.A. y *P. gingivalis*)

- Nahiz eta antibiotiko bat baino gehiago bakterioen kontra eraginkorrak izan, ez dago antibiotiko bakarra poltsa periodontalaren espezie patogenikoaren aurka eraginkorra izan daitekeena.
- Ikerketetako suszeptibilitate bakterianoaren baloreak bakterio-kultura puruan aurkitutako emaitzetan datza.
  - Biopelikuletan dauden bakterioak 500 halako aldiz antibiotikoaren kontrako erresistenteak dira (**Sedlacek & Walker 2007**)



horregatik, biopelikularen egitura apurtu behar  
dugu **ANTIBIOTIKOA ERABILI BAINO  
LEHEN**

- Poltsan periodontalean dauden bakterioaren arabera , antibiotiko eraginkorrena hautatzeko gida:

	AA	Konplexu gorria ( <i>P. gingivalis</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> )	Konplexu laranja ( <i>P. intermedia</i> , <i>F. nucleatum</i> )	<i>E. corrodens</i>
<b>Patogenotasuna</b>	Handia	Handia	Erdi-handia	Moderatua
<b>Amoxizilina</b>	Bai	Ez*	Ez*	Ez
<b>Klindamizina</b>	Ez	Bai	Bai	Ez
<b>Doxiziklina</b>	Bai**	Bai	Bai	Ez
<b>Minoziklina</b>	Bai**	Bai	Bai	Ez
<b>Azitromizina</b>	Bai	Ez	Ez	Bai
<b>Ciprofloxacino</b>	Bai	Ez	Ez	Bai
<b>Metronidazol</b>	Ez	Bai	Bai	Ez
<b>Amoxizilina + Metronidazol</b>	Bai	Bai	Bai	Bai

\* Amoxicilina ez da preskribatzen; beta-laktamasa asko ekoizten dutengatik

\*\* Baliteke eraginkorra ez izatea, espezie honek tetraziklinaren kontra erresistentzia asko ekoiztu baitu

## **METODO DIAGNOSTIKOAK**

Diagnostiko mikrobiologikoa egiten dugunean poltsa periodontaletik lagina hartzen da; lagina hartuta, gaixotasuna sortzen duten mikroorganismoak isolatzen eta identifikatzen dira.

Test mikrobiologikoen helburuak:

1. Periodontopatogeno zehaztuaren presentzia eta proportzioa determinatu.
2. Determinatu periodontopatogeno zehatz horiek nola eragiten dioten azpiko mikrobiota osoari.
3. Aurreko ak.

*(Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997)*

## Test mikrobiologikoen erabilera:

- Periodontopatogeno zehaztuaren presentzia eta proportzioa determinatu.
- Determinatu periodontopatogeno zehatz horiek nola eragiten dioten azpiko mikrobiota osoari.

## Test mikrobiologikoen erabilera:

- Determinatu nola mikrobiotari erantzuten dion **antibiotiko zehatz** batzuei (*Sakellari y cols 2000*)
- Determinatu antibiotiko horien zeintzuk diren **eraginkorrenak** GP-ren kontra.
- Mikroorganismo beraren ANDUI ezberdinak **minberatasun ezberdina** dute **ANTIBIOTIKOEN KONTRA** (*Pajukanta y cols 1993*)

( *Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997*)

## Test mikrobiologikoen erabilera:

- Test mikrobiologikoak eraginkorrak dira oso **antibiotiko zehatza** (espezifikoa) aukeratzeko:
  - Hasierako terapiari erantzuten ez dioten kasuetan
  - Antibiotikoterapia lehenago erabilitako kasuetan.
  - Periodontitis Sendagogor tratatzeko
  - Periodontitis Agresiboak tratatzeko

**Beharrezkoak**  
**badira**

*( Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997)*



# Periodontopatogenoak identifikatzeko metodoak:

1.- Kultur-metodoak eta immunologikoak. Testa horiek adieraziko dute bakterioen eta parametro klinikoren artean erlazioen bat dagoen ala ez.

2. Zundas DNA eta PCR

3.- Periodontopatogenoak identifikatzeko froga espezifikoak. Froga hauek oinarrituta daude bakterioen ezaugarri espezifiko batean (test BANA)

- **Orain dela urte batzuk:**
  - **Mikroorganismo Kultura (M-K):**  
Badaude **M-k** selektiboak eta ez-selektiboak
- **Gaur egun:**
  - **DNA-zundak:** Bakterio- espezie zehatzak identifikatu (*Socransky y cols 2004*)
  - **rRNA 16S-en analisisa:**
    - Bakterio-espezien artean erlazio handia duten bakterioak identifikazio oso zehatza,
    - Gaur egun kultibatu ezin daitekeen bakterioak identifikatu (*Paster y cols 2001, Sakamoto y cols 2000, 2004*)
  - **Polimerasa-ren kate-erreakzioa:**
    - Azpigingibalako bakterio-espezie ezberdin ugari DETERMINATZEKO :
      - **Presentzia**
      - **Proportzioa**

ABANTAILAK	DESABANTAILAK
Leku/pertsona zehatzetan GP-lotutako bakterioak determinatu	Poltsa kolonizatzen duten bakterio guztiak determinatzea ez da posible. (Mugak)
Antibiotiko eraginkorra aukeratzeko aproposa izan	Zenbait espezien presentziak ez du esan nahi GP edo Aktiboa dagoela
Antibiotikoen preskribapen arbitrarioa eta bakterio-erresistentzia handitzeko arriskua saihestu	Medikamentuaren eraginkortasunen mugak: - Fluido Krebikularrean kontzentrazio ezberdinak - Ostalariaren faktoreak determina dezake tratamenduaren erantzuna (erantzuna ezberdinak)
Tratamendu egin ostean, Bakterioen murrizketa/kanporatzea determinatu, gaitzaren aurreratzea /sendatze erlazionatzeko	Laginak batzeko eta bidaltzeko arazoak
Tratamendu osteko ANDUI ERRESINTENTEAK identifikatu	Ez daude tratamenduan zehar benetako probetxua adierazten duten ikerketa kontrolaturik

## **Bibliografia**

Caffesse RG, Sweeney PL, Smith BA(1986). Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. J Clin Periodontol 13: 205–210.

Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B. (2000). Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. J Clin Periodontol 27: 897–903.

Christersson LA, Wikesjö UME, Albin B, Zambon JJ, Genco RJ. (1987). Tissue localization of Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontitis. J Periodontol; 58: 540–545.

Colombo AP, Haffajee AD, DeWhirst FE, Paster BJ, Smith CM, Cugini MA, Socransky SS. (1998) Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. J Clin Periodontol; 25: 169–180

Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC.(2003). Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. Ann Periodontol; 8: 115–18

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Socransky SS.(1997)Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. J Clin Periodontol; 24: 767–776.

*Haubek D, Poulsen K, Westergaard J, Dahlén G, Kilian M. (1996) Highly toxic clone of Actinobacillus actinomycetemcomitans in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin. J Clin Microbiol 34: 1576–1578.*

*Haubek D, Dirienzo JM, Tinoco EM, Westergaard J, Lopez NJ, Chung CP. (1997) Racial tropism of a highly toxic clone of Actinobacillus actinomycetemcomitans associated with juvenile periodontitis. J Clin Microbiol 35: 3037–3042.*

*Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. (2002) A systematic review on the effect of systemic antibiotics as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. J Clin Periodontol : 29: 136–159.*

*Lamell CW, Griffen AL, McCellan DL, Leys EJ. (2000) Acquisition and colonization stability of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in children. J Clin Microbiol 38: 1196–1199.*

*Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ. (2005) Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. J Clin Microbiol: 43: 3944–3955.*

*Kumar MS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. (2000) New bacterial species associated with chronic periodontitis. J Dent Res 82: 338–344.*

- Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alauusua S, Jousimies-Somer H.(1993) In vitro antimicrobial susceptibility of different serotypes of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Scand J Dent Res: 101: 299–303.*
- Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE.(2001) Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 183: 3370–3783.*
- Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. (1994) Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis.I. Topographic distribution before and after treatment. J Periodontol: 65: 820–826.*
- Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. (1994) Actinobacillus actenomycetemcomitans in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. J Periodontol 65: 827–834.*
- Mombelli A, Van Winkelhoff AJ. (1996) The systemic use of antibiotics in periodontal therapy: Second European Workshop in Periodontology. Berne, Switzerland: Quintessence, 1996.*
- Rams TE, Listgarten MA, Slots J. (1996) Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. J Clin Periodontol 23: 346–354.*
- Sakamoto M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y.(2000) Comparison of the oral bacterial flora in saliva from a healthy subjects and two periodontitis patients by sequence analysis of 16S rDNA libraries. Microbiol Immunol 44: 643–652.*

*Sedlacek M, Walker C. (2007). Antibiotic resistance in an in vitro subgingival biofilm model. Oral Microbiol Immunol : 22: 333–339.*

*Simonson LG, Robinson PJ, Pranger RJ, Cohen ME, Morton HE. (1992 ) Treponema denticola and Porphyromonas gingivalis as prognostic markers following periodontal treatment. J Periodontol 63: 270–273.*

*Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL.(1998) Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 25: 134–144.*

*Socransky SS, Haffajee AD. (2005)Periodontal microbial ecology. Periodontol 2000 ; 38: 135–187*

*Slots, J., & Rams, T. E. (1990). Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. Journal of clinical periodontology, 17(s1), 479-493.*

*Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G, Chen C. (1995) Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. Clin Infect Dis 20: S304–S307*

Slots, J., & Ting, M. (2002). Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 28(1), 106-176.

Slots J. Systemic antibiotics in periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75: 1553–1565.

Walker SL, Ash MM. (1976). A study of root planing by scanning electron microscopy. *Dent Hyg* 50: 109–114.

Walker CB. (1996) The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol* 2000 ; 10: 79–8

Walker C, Karpinia K. (2002) Rational for the use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 73: 1189–1197.

Zambon JJ, Christerrsson LA, Slots J. (1983) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol* 54: 707–711.

Zambon JJ. (1997) Principles of the evaluation of the diagnostic value of subgingival bacteria. *Ann Periodontol* 2: 138–148