



13 juni 2024

Planlagt: 09:00-12:00

Eksamensnr: 206

Plads: ITXM-027

Side 1 af 18

Opgave 1

Bakterier kan danne biofilm på forskellige overflader

1. Redegør for karakteristika ved og konsekvenser af biofilmdannelse på henholdsvis a) hjertets endocardium og b) dentalunits vandsystemer.

Karakteristisk er biofilmdannelse en mikrobiel samling, som lever i en ernæringsmæssig symbiose, hvor disse blandt andet kan udveksle resistensgener med hinanden.

Hjertet er et sterilt miljø, som ikke indeholder en resident mikrobiota. Derfor kan bakterier i blodet, som derved transporteres til hjertet, medføre *infektøs endocarditis*. Her kan der blandt andet dannes biofilm på hjertets klapper. Disse bakterier i blodet kan stamme fra tandbehandlinger, hvilket kan medføre bakteræmi.

Biofilmdannelse kan forekomme i dentalunits vandsystemer, hvor mikroorganismer som *pseudomonas aeruginosa*, mykobakterier som *mycobacterium abscessus* samt hyppigst *legionella pneumophila*. Her ses optimale vækstbetingelser i vandet, ofte stillestående, hvor mikroorganismene har optimale vækstbetingelser mellem 30-45 grader i vandet. Legionella pneumophila er en gram negativ bakterie, som indeholder flere virulensfaktorer, herunder LPS som medfører en inflammationsreaktion i værten. Bakterien kan medføre legionær sygdom, som giver

pneumoni/lungebetændelse. Dette inkluderer symptomer som feber, dyspnø, trykken for brystet, ubehag med flere. Derudover kan *Legionella pneumophila* give pontiac syge, som er en mildere form, som ikke inkluderer lungebetændelse, mens denne samtidigt ofte er selvbegrænsende.

2. Redegør for, hvordan du som tandlæge kan forebygge biofilmdannelse på de to forskellige lokalisationer.

Risikoen for biofilmdannelsen på hjertet, ved infektiøs endocarditis, kan minimeres på flere forskellige måder. Risikogruppen af patienter, som har en større risiko for at udvikle infektiøs endocarditis inkluderer patienter med hjertesygdomme, hjertetransplanteret eller immunosuppressive patienter. Ved tandbehandlinger, som depuration, ekstraktioner eller andre indgreb med kontakt til blodbanen, risikeres bakteræmi. Bakteræmi kan føre til infektiøs endocarditis, hvorfor der ses en direkte relation i mellem tandbehandlinger og risikoen for udviklingen af dette.

Dette kan undgås ved antibiotikabehandling en time før behandling for risikopatientgruppen. Her doseres 2 g Amoxicillin en time før behandlingen.

Patienter med overfølsomhed overfor penicillin, kan eksempelvis behandles med 500 mg Roxithromycin. Denne antibiotikabehandling nedsætter ikke risikoen for bakteræmi, men nedsætter koncentrationen af mikroorganismer i blodet op til og efter behandlingen. Derved kan risikoen for en eventuel biofilmdannelse minimeres.

Derudover ligger en stor del af forebyggelsen af infektiøs endocarditis i kontrol af patientens mundhygiejne. Dermed opfordres patienter til at følge sine eftersyn samt tandrensninger, mens det endnu vigtigere opfordres, samt eventuel instrueres i, at holde en sufficient mundhygiejne mellem tandlægebesøgene. Slutteligt opfordres patienter, som altid, til at få behandlet infektiøse tilstand som en apikal opklaring, idet disse bakterier har direkte relation til blodbanen.

Angående dentale units, da kan *Legionella pneumophila* smitte via dråbe og kontakt smitte. Denne bakterie har derfor rig mulighed for at smitte patienter samt behandlere på klinikken, idet der under behandlinger anvendes mange forskellige aerosoldannende instrumenter, herunder trefunktionssprøjten og de roterende instrumenter. Biofilmdannelsen ønskes derfor begrænset, hvorved risikoen for smitte med førnævnte sygdomme kan minimeres. Normalvis ønskes det, at instrumenter m.m. behandles med termisk desinfektion. Dette er dog ikke en mulighed i den dentale unit – samtidig med at dette ikke yder den nødvendige effekt, hvorfor der anvendes kemisk desinfektion. Derfor anvendes klorforbindelser, som yder den maksimale antimikrobielle effekt. Derudover suppleres med hydrogenperoxid, som yder en minimal antimikrobiel effekt. Denne procedure udføres dagligt for at undgå biofilmdannelse i dentale units. Ydermere skal vandkvaliteten tjekkes en gang årligt, idet der her undersøges for kimtallet samt tilstedeværelsen af *Legionella*

pneumophila. Der må ikke være et højere kimal end i drikkevandet (500 cfu/ml), samt en kontrol af tilstedeværelsen af Legionella pneumophila (maks. 100 cfu/l).

Derudover vil der ved kirurgisk arbejde anvendes sterilt vand fra sterile rør, idet den dentale unit ikke kan gøres steril.

Ydermere skal de aerosoldannende instrumenter desinficeres og steriliseres. De roterende instrumenter, som håndstykket, air rotor og opgearingsstykket, kan ikke termisk desinficeres i en dental vaskemaskine. Disse steriliseres i en special autoklave (Type S), som opfylder kravene til sterilisation (3 min ved 134 grader ved 3 atm. eller 15 min ved 121 grader ved 2 atm.). Såfremt disse skal anvendes til sterilt arbejde, skal de efterfølgende pakkes i autoklaveposer samt steriliseres i en type B autoklave (med vakuum). Herefter holdes de sterile i autoklaveposen frem mod udløbsdatoen.

Opgave 2

Mikroorganismer kan inaktiveres ved hjælp af både fysiske og kemiske metoder.

1. Beskriv hvorledes fysiske metoder anvendes til inaktivering af mikroorganismer på tandklinikken.

Jeg antager, at der spørges til fysiske metoder til inaktivering af mikroorganismer på redskaber/overflader, som anvendes under behandlinger på klinikken. Ydermere inaktivering af mikroorganismer ved hånddesinfektion. Fysiske desinfektionsmetoder inkluderer overfladedesinfektion, henstandsdesinfektion og hånddesinfektion.

Vedrørende overfladedesinfektion anvendes medium antimikrobielle midler, som ethanolervietter. Disse fjerner effektivt mikroorganismer på overflader som behandlerbord, units. Kontaktiden bør overholdes, hvilket er omkring 1 min. Derudover anvendes alkoholervietter til desinfektion af redskaber, som ikke kan overleve en termisk desinfektion samt af redskaber som ikke har været i direkte kontakt med patienten.

Henstandsdesinfektion (*jævnfør kapitel 10 i NIR.*) er ligeledes en vigtig antimikrobiel procedure, som minimerer risikoen for smitte mellem klinikken og eksempelvis tandteknikere. Herved desinficeres alginataftryk, bideskinner,

gipsmodeller med videre inden afsendelse mod den tandtekniske arbejder. Denne procedure udføres ved brug af handsker samt eventuelt brug af briller (ved risiko for stænk i øjnene). Samtidigt bør dette udføres i lokale med udsugning. Aftrykket afskylles under rindende vand, hvorefter dette desinficeres i en klorforbindelse indeholdende 300-400 ppm i en time eller 1000 ppm i kortere tid. Herefter afskylles det igen under rindende vand samt pakkes til afsendelse mod tandteknikeren.

Angående hånddesinfektion, da udføres denne på synligt rene hænder. Såfremt disse er kontamineret, udføres først grundig håndvask med efterfølgende aftørring.

Hånddesinfektionen udføres med 70-85% ethanol indeholdende 1-3% glycerol.

Herefter indgrides dette i hænderne, mens disse holdes fugtige i mindst 30 sekunder. Hånddesinfektion fjerner den transiente mikrobiota samt minimerer den permanente mikroflora. Håndvask minimerer blot den transiente mikroflora.

2. Beskriv kriterier for valg af biocider/kemiske desinfektionsmidler til desinfektionsopgaver på tandklinikken.

Ved valg af kliniske desinfektionsmidler ønskes det at have flere faktorer i betragtning. Her bør overvejes, at valget af det kemiske desinfektionsmiddel ikke medfører skade på klinikpersonalet, idet de udøver procedurerne mange gange dagligt. Derudover ønskes det selvfølgelig at der anvendes det kemiske

desinfektionsmiddel, som yder den maksimale mikrobielle effekt. I forhold til de to overvejelser anvendes følgende til desinfektion:

- Maksimale antimikrobielle midler, såsom klorforbindelser ved henstandsdesinfektion eller ved desinfektion af dentalunits.
- Medium antimikrobielle midler, såsom alkohol ved hånddesinfektion samt overfladedesinfektion.
- Minimale antimikrobielle midler, såsom hydrogenperoxid som anvendes som supplement ved desinfektion af dentale units.

3. Redegør for elementerne i en fornuftig antibiotikapolitik, der kan bidrage til, at antibiotika også fremover kan anvendes til behandling af infektionssygdomme.

Resistensudvikling af bakterier er en tendens, som vi stræber efter at minimere. Der kendes eksempler på stammer af bakterier, såsom *S. aureus* (MRSA eller VRSA), som har udviklet antibiotikaresistens. Lignende resistente bakterier undgås ved kun at ordinere antibiotika ud fra "*Vejledningen om ordination af antibiotika*".

Det er vigtigt at der ligger mikrobiel evidens for at infektionen skyldes mikroorganismer, som kan behandles med antibiotika. Eksempelvis gram positive streptokokker, som kan behandles med Penicillin V. Virus kan eksempelvis ikke behandles med antibiotika, hvorfor den mikrobielle evidens er vigtig. Derudover ønskes det at undgå ordinerings af antibiotika ved selvbegrænsende infektioner,

som ofte inkluderer et mildere sygdomsforløb. Derudover skal behandleren ordinere et antibiotikum, som er så smalspektret som muligt. Dette har en direkte relation til den mikrobielle evidens, idet der kan findes et antibiotikum, som er smalspektret – men samtidigt virksomt overfor infektionen. Dette kunne eksempelvis være ordinerings af metronidazol til progressiv parodontitis, som er kendetegnet ved tilstedeværelse af anaerobe bakterier. Metronidazol er bacteriocid overfor strikt anaerobe bakterier, idet hæmmer disses nukleinsyresyntese.

Opgave 3

Komplementsystemet

1. Hvad kaldes de tre aktiveringsveje i komplementsystemet?

- Den klassiske aktiveringsvej
- Lektin aktiveringsvejen
- Den alternative aktiveringsvej

2. Nævn de komplementkomponenter, der indgår i hver af de tre aktiveringsveje.

Den klassiske aktiveringsvej aktiveres ved tilstedeværelse af immunoglobuliner, specifikt IgM og IgG. Disse binder til mikroorganismen, hvor komplementkomponenterne C1, C2 og C4 aktiverer C3-konvertasen.

Tilstedeværelsen af MBL (Mannose bindende lektin) aktiverer den lektinaktiveringsvejen, som via komplementkomponenterne C2 og C4 aktiverer C3-konvertasen.

Den alternative aktiveringsvej aktiveres spontant.

Kort opsummeret sker den efterfølgende kaskade, som uddybes i følgende spørgsmål: C3-konvertasen hydrolyserer C3 til C3a og C3b, hvoraf C3b aktiverer C5-konvertasen. C5-konvertasen hydrolyserer C5 til C5a og C5b.

3. Angiv tre måder, hvorpå komplementsystemet medvirker til forsvar imod bakterier.

- C3a og C5a skaber inflammation, blandt andet ved tilstedeværelse af kemotaksi. Ved inflammation rekrutteres andre immunceller.
- C3b stimulerer til opsonization, som mærker mikroorganismene til nedbrydelse. Eksempelvis gennem fagocytose af mikroorganismen af makrofager.
- C5b stimulerer C6, C7, C8 og C9, som tilsammen danner *MAC-komplekset*. MAC danner porer i mikroorganismens membran, hvorved det osmotiske tryk stiger, hvilket medfører cellolysis.

4. Hvilke immunglobulinklasser er i stand til at aktivere komplement, og hvilken komplementkomponent binder til disse?

Immunglobulinklasserne IgG og IgM er i stand til at aktivere komplement gennem den klassiske aktiveringsvej, hvor disse binder til mikroorganismen.

Oral immunologi

- 1. Nævn mindst tre indholdsstoffer i saliva – ud over antistoffer – der har beskyttende effekt overfor mikroorganismer.**

Saliva indeholder blandt andet væksthæmmende faktorer såsom lysozym, laktoferrin, peroxidase, muciner og histatiner.

- 2. Nævn to grupper af antimikrobielle peptider og hvilke(n) celletype(r), der producerer dem, og beskriv hvordan de virker.**

Jeg antager, at der med antimikrobielle peptider menes faktorer, som kan dræbe celler. NK-celler er et eksempel på en celle, som udskiller antimikrobielle peptider som *perforin* og *granzym*. Perforiner perforerer cytoplasmamembranen, hvorefter granzym kan trænge ind og initiere *apoptose* (programmeret celledød). NK-cellerne kan binde til MHC-I receptorer, MICA receptorer (MHC uden betasegmentet) samt til DAMPs.

En anden celletype, som kan frigive perforiner og granzym er den cytotoksiske T-celle, som kan binde til en MHC-I receptor. Denne receptor kan fremkomme på alle celler med en cellekerne, som efter nedbrydning af det intracellulære antigen i proteasomer kan præsenteres på cellens overfladen ved exocytose af MHC-I/antigen komplekset. Dette kan eksempelvis forekomme på en virus- eller canceriniceret celle. MHC-I kan den cytotoksiske T-celle binde til via dens TCR

(T-celle receptor) samt CD4+, hvorefter den cytotoxiske T-celle kan udskille perforiner og granzym, som nævnt ovenfor.

3. Angiv hvilken immunglobulinklasse, antistoffer i saliva tilhører.

- Antistoffer i saliva tilhører IgA (dimer). Disse hindrer mikroorganismernes mulighed for at adhærere.

Opgave 4

Caries økologiske forhold og virulensfaktorer.

1. Beskriv hvilke økologiske forhold, der karakteriserer en carieslæsion.

De økologiske forhold inkluderer:

- Overfladeforhold
- Fysiologiske forhold
- Vækstforhold
- Øvrige forhold

En carieslæsion sker som følge af en forskydning af de økologiske forhold i biofilmen, hvilket følger *den økologiske plakhypotese*. Angående overfladeforholdene, da karakteriseres tandemaljen som en glat overflade uden adskillelse af emaljen - som det modsat ses ved den høje turnover rate i kindslimhinde epitelet. Dette maksimale overfladeforhold bidrager til pelikkeldannelse langs margo gingiva. De minimale overfladeforhold inkluderer bakteriernes mulighed for at adhærere. De orale gram positive *streptokokker* (såsom *s. mitis*, *s. oralis*, *s. gordonii*, *s. sanguinis m.fl.*) binder først til den dannede pelikel gennem uspecifikke, reversible og svage bindinger (*Van Der Walls*). Såfremt denne initiale binding ikke brydes, da vil bakterierne danne en stærkere, irreversibel specifik binding, såsom hydrofobe bindinger eller polymerbroer. Polymerbroer dannes vha. bakteriernes adhæsiner: *fimbriale (fimbriae/pili) eller a-fimbriale (glycocalyx)*. Efter dannelsen af de

specifikke bindinger vil andre bakterier co-aggregere. Bakterier vil efterfølgende indlejres i ekstracellulærmatrix (ECM), idet disse danner ekstra- og intracellulære polysakkarider (EPS & IPS). Efter ECM-dannelse fremkommer en tiltagende impermeabel biofilm, hvor der yderligere ses bakteriel anaerob kulhydratmetabolisme. Denne anaerobe kulhydratmetabolisme medfører dannelsen af laktat og andre lavmolekylære organiske syrer. Dette ændrer de økologiske forhold, hvad vedrører de fysiologiske forhold. Disse inkluderer pH, ilt og temperatur. Temperaturen ses ikke ændret i den anaerobe biofilm, mens pH-værdien og ilten spiller en essentiel rolle i demineraliseringsprocessen, som medfører en carieslæsion. Kulhydratmetabolismen medfører nemlig et acidurisk og acidogent miljø med lave koncentrationer af ilt (deraf den anaerobe kulhydratmetabolisme), hvilket favoriserer bakterier som *Lactobacillus*, *Veillonella*, *actinomyces*, *s. mutans m.fl.*

Vedrørende vækstforhold næres bakterierne af saliva, modsat de parodontitis-associerede bakterier, som næres af gingivalvæsken (serumsekret). I saliva ses både væksthæmmende og -fremmende faktorer. De vækstfremmende faktorer inkluderer spyttets indhold af glykoproteiner, kulhydrater og proteiner fra føden, elektrolytter med videre. Derimod indeholder spyttet væksthæmmende faktorer (se opgave 3, oral immunologi, spg. 1). Eksempelvis virker laktoferrin ved at fjerne jern fra blodet, som bakterierne derved ikke kan anvende i deres metabolisme.

Øvrige faktorer som mundhygiejne, medicin, antibiotika med videre kan spille en stor rolle i udviklingen af en carieslæsion. Som tidligere nævnt følger cariesprogressionen den økologiske plakhypotese, som inkluderer en forskydning i økologiske forhold. Medicin kan indspille i cariesprogressionen, idet dette eksempelvis kunne være et antidepressiva, hvilket kan medføre mundtørhed som bivirkning. Medicinet kan medføre nedsat spyttproduktion- samt flow, hvilket kan øge risikoen for caries. Dette skyldes spyttets manglende oral clearance funktion, mens det samtidigt ikke kan bidrage i lige så høj grad med de væksthæmmende faktorer. Derudover kan den økologiske faktor, mundhygiejne, spille en rolle i den mekaniske fjernelse af biofilmen ved tandbørstning m.m. Derved får bakterierne i biofilmen ro til at metabolisere kulhydrater og derigennem medføre til demineraliseringsprocessen.

2. Beskriv virulensfaktorer hos caries-associerede bakterier.

Virulensfaktorer inkluderer:

- Kolonisation
- Multiplikation
- Invasion
- Unddragelse af værtsforsvaret
- Vævsdestruktion

De caries associerede bakterier inkluderer gram positive bakterier som *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *S. mutans*. De gram positive bakterier er ofte hæmolytiske (enten alfa- eller beta-hæmolytiske). Dette betyder, at de kan nedbryde hæmoglobin, hvorved de udvinder jern, som de kan bruge i deres metabolisme.

Derudover er de gram positive bakterier opbygget af en cytoplasmamembran med en cellevæg udenom. Denne cellevæg består af et peptidoglykanlag, som er farvbart under en gramfarvning. Peptidoglykanlaget består af lipoteicho- og teichosyre.

Lipoteichosyre består af en lipid- og en syre del. Denne del sørger for forankring til cytoplasmamembranen samt stabilitet af peptidoglykanlaget. Teichosyren består udelukkende af en syredel, hvilket spiller en rolle i adhæsion af bakterien. Denne evne til adhæsion er en virulensfaktor, som spiller en rolle i forhold til kolonisation og multiplikation, hvor bakterierne kan adhærere og formere sig i biofilmen. Dette medvirker også til bakteriernes evne til unddragelse af værtsforsvaret.

Angående vævsdestruktion, da udskiller de cariogene bakterier laktat og andre lavmolekylære syrer. Laktat/mælkesyre kan dissociere i uladet form ind i emaljelaget, hvor denne dissocierer til en laktation, L^- og en H^+ . Herefter kan laktat binde sig til calciumlaktat, som kan dissociere ud af emaljelaget igen. Dette medfører demineralisering af emaljen, hvilket medfører den initiale carieslæsion.

3. Beskriv principperne for, hvordan man i det mikrobiologiske laboratorium kan undersøge, hvilke kulhydrater en given bakterie er i stand til at nedbryde, og hvordan denne information kan bruges til bakteriel identifikation.

I laboratoriet kan man identificere mikroorganismer ud fra flere forskellige teknikker.

Såfremt man har fået forskellige prøver, hver i sær med en enkelt bakterie i, da kan man nemt gå til værks, da man ikke først skal re dyrke prøven samt mikroskopiere denne. Disse bakterier kan blandt andet udsættes for en *katalase* test, hvorved der kan differentieres mellem staphylokokker (*katalase positive*) og streptokokker (*katalase negative*) - (med undtagelse af *s.aureus*, som både er *katalase* og *koagulase positiv*).

Ydermere kan dyrkning på forskellige vækstmedier, såsom maltagar, blodagar eller NaCl plader, bruges til at skelne mellem mikroorganismene. Den mest præcise differentiering af de bakterier, som har kulhydratmetabolisme kan dog findes gennem Api strips. Denne metode udføres ved at tilføje bakterien samt vækstmedier i forskellige brønde. Disse brønde bruges til at differentiere streptokokkerne fra hinanden. Brøndene kan aflæses, hvoraf disse sammenlignes med en oversigt over bakteriernes egenskaber, herunder deres individuelle evne til at metabolisere forskellige kulhydrater.