

Eksamen i oral mikrobiologi - SODB16043E



80

16 juni 2022

Planlagt: 09:00 - 12:00

Eksamensnr: 80

Plads: ITXM-070

Side 1 af 14

## Opgave 1

### Bakterier kan danne biofilm på forskellige overflader.

#### 1. Beskriv de generelle karakteristika for bakterielle biofilm.

En bakteriel biofilm defineres som bakterier i sessil vækst, som er indlejret i en overvejende selvproduceret intermikrobielsubstans. Den intermikrobielsubstans består af produkter fra saliva, kost, gingivalvæske men vigtigst af alt biprodukter fra bakterierne, der danner extracellulære og intracellulære polysaccharider, som omringer bakterierne. Biofilmen er ikke en kompakt struktur, da man finder væskefyldte kanaler, som giver anledning til forskellige gradienter af ilt, pH og næringsstoffer forskellige steder i biofilmen. Dette gør at der findes et stort omfang af forskellige bakterier i biofilmen, som lever under forskellige forhold. Bakterierne i biofilmen lever i en ernæringsmæssig symbiose og benytter sig af quorum sensing som er en intermikrobiel kommunikationsmetode, hvor bakterierne udveksler signalstoffer med hinanden, som regulerer på hinandens gener med hensyn til vækst, virulens og resistens. Resistens er af stor betydning i biofilmen, da man generelt ser en øget genekspression af resistensgener, en øget genoverførsel, hvor man ser konjugation og transformation. Konjugation er en mekanisme hvor et plasmid indeholdende resistensgener replikeres og overføres til en anden bakterie via en rørformet forbindelse kaldt en sexpillus. Transformation er en mekanisme som omhandler celledød. Når bakterier undergår apoptose, vil de frigive deres arvemateriale til omgivelserne. I arvematerialet, kan der befinde sig resistensgener, som andre nærliggende bakterier kan optage og erhverve. På denne måde kan bakterierne i biofilmen erhverve resistensgener i højere grad. Udover en øget genekspression og øget genoverførsel, vil der i biofilmen være en nedvækst væksthastighed som skyldes konkurrence af næringsstoffer. Dette er dog til fordel for bakterierne, da visse antibiotika virker på celler i vækst. Man ser også at biofilmen er for tyk til at antibiotika kan have en virkning på bakterierne dybere inde i biofilmen.

For at en biofilm kan etableres, vil pelliclen på tænderne være nødvendig. Pelliclen er et polylag af proteiner, som dannes efter tandbørstningen. Når tanden er ren, vil phosphationen i HAP vende ud mod overfladen, og dette vil give tanden en overordnet negativ ladning. De negative ladninger tiltrækker positive ladninger såsom calcium fra spytet, som over tid giver en overvægt af positive ioner, og derfor vil negative ladninger og negativt ladede proteiner igen tiltrækkes og etablere

pelliklen. De første proteiner der udgør pelliklen er statheriner og prolinrige protiener. Herefter kan streptokokker udføre en kolonisation via uspecifikke bindinger som er svage og reversible.

## 2. Beskriv de typiske bakterier i biofilm i dentalunits vandsystemer samt mulige konsekvenser af denne biofilmdannelse.

De dentale vandsystemer består af små snævre rør, som kan muliggøre biofilmdannelse i højere grad. Hvis der dannes en biofilm i de snævre vandsystemer, kan der i biofilmen findes patogene mikroorganismer, eksempelvis legionella pneumophila. Legionella pneumophila er en ikke-sporedannende aerob gramnegativ stav, som trives i stillestående vand og i temperaturer på mellem 30-45 grader. Legionella pneumophila smitter ved luftbåren smitte og aerosoler, og dette kan ske ved at vandet der sprøjtes ud af eksempelvis trefunktionssprøjten er kontamineret med denne bakterie, og give anledning til sygdom hos patienten eller tandlægen. Den hyppigste sygdom man ser grundet smitte med legionella pneumophila er legionær sygdom samt svær interstiel pneumoni. Ved legionær sygdom ser man en mild lungebetændelse med influenzalignende symptomer, brystmerter, dyspnø, feber, hoste og kraftig hovedpine. Efter en inkubationstid på 5-6 dage vil man kunne se svær interstiel pneumoni, som ubehandlet kan lede til dannelsen af lungeabscesser. Disse sygdomme er muligt ved hjælp af bakteriens virulensfaktorer. Vi husker at legionella pneumophila er en gramnegativ bakterie, som betyder at den har lipopolysaccharider i den ydre cellemembran, som grundet lipid A delens toksiske virkning, fungerer som et endotoksin, som igangsætter komplementsystemet og giver anledning til en inflammationstilstand. Udover dette har bakterien et periplasmatiske rum, hvor man finder toxiner og enzymer. Legionella pneumophila frigiver blandt andet hæmolysin som nedbryder erythrocytter, proteoaser, som nedbryder proteiner, eksempelvis antistoffer, og på denne måde modarbejder immunsystemet, samt cytotoxiner som virker toksisk på vores værtsceller.

## 3. Redegør for hvordan tandlægen kan forebygge og kontrollere biofilmdannelse i dentalunits vandsystemer og tilkoblede roterende instrumenter.

De dentale vandsystemer har nogle krav som skal opfyldes for at biofilmdannelse kan forebygges. Der må ikke ske en ophobning af mikroorganismer, der må ikke befinde sig patogene mikroorganismer i de dentale vandsystemer, kimtallet må ikke være højere end kimtallet for drikkevand, og dette skal kontrolleres 2 gange årligt, for at sørge for at tingene fungerer som de skal.

En måde hvorpå man kan overholde disse krav, og forebygge forekomsten af patogene mikroorganismer og biofilmdannelse, er at gennemrense vandsystemer med koldt vand under 5 grader eller varmt vand over 70 grader. Dog er dette ikke tilstrækkeligt og derfor benyttes også et kemisk desinfektionsmiddel, eksempelvis brintoverilte eller klor, som danner klorforbindelser. Det kemiske desinfektionsmiddel giver en maksimal antimikrobiel effekt.

For at forebygge og kontrollere biofilmdannelse i de tilkoblede roterende instrumenter eksempelvis vinkelstykker og air-rotore, skal disse først mekanisk rengøres, desinficeres, og steriliseres. De skal nødvendigvis ikke pakkes og mærkes med dato. Dette er kun gældende for roterende instrumenter som man eksempelvis benytter til endodontiske behandlinger. Først rengøres de roterende instrumenter hvor de herefter desinficeres med et desinfektionsmiddel som indeholder ethanol med en koncentration på 70-85 % ren ethanol. Disse skal nemlig ikke i en dental opvaskemaskine. De skal herefter steriliseres, dog før de skal steriliseres skal de smøres med olie, som gør at de holder i længere tid og fungerer bedre. De kan steriliseres i en smart maskine, som samtidig også kan desinficere og smøre dem med olie. Dog er der nogle tandklinikker, der ikke har råd til disse smarte maskiner, og derfor skal de roterende instrumenter autoklaveres, som er en proces hvor man udnytter vanddamp under et bestemt tryk i en autoklave. Sterilisationen frembringer en tilstand uden levedygtige organismer herunder sporer. Sterilisationen kan udføres på følgende 2 indstillinger:

- 2 atm ved 121 grader i mindst 15 min
- 3 atm ved 134 grader i mindst 3 min

## Opgave 2

### Behandling med antibiotika.

1. Beskriv kort opbygningen af tre mulige angrebepunkter for antibiotika i bakteriecellen.

Antibiotika kan have følgende virkningsmekanismer:

- Hæmme cellevægssyntesen ved hjælp af penicilliner (penicillin V, methicillin, amoxicillin og ampicillin)
- Hæmme proteinsyntesen ved hjælp af tetracyklin, makrolider og clindomycin
- Hæmme nukleinsyresyntesen ved hjælp af metronizadol og quinoloner
- Hæmme cytoplasmamembranen ved hjælp af polymixiner

Alle disse mekanismer er bakteriocide undtagen proteinsyntesen som er bakteriostatisk.

Ved hæmning af cellevægssyntesen, vil angrebepunktet for antibiotika være cellevæggen, specifikt et enzym, som sørger for krydsbindingen af de molekyler som udgør cellevæggen. Cellevæggen består af et peptidoglykanlag, som består af polysaccharider med pentapeptider som er krydsbundet til hinanden ved hjælp af enzymet carboxypeptidase. Carboxypeptidase krydsbinder molekylerne ved at fraspalte D-alanin fra det første pentapeptid, så det bliver til et tetrapeptid. Peptidoglykanlaget giver bakteriecellen stivhed og modvirker ændringer i det høje osmotiske tryk. Ved antibiotika behandling vil penicilliner (beta-lactam) sætte sig i det aktive site af enzymet via en irreversibel esterbinding til sidekæden af aminosyren serin, som inaktiverer enzymet, og ødelægger det høje osmotiske tryk i bakterien (bakteriocid).

Ved hæmning af proteinsyntesen, vil angrebepunktet for antibiotika være ribosomet. Ribosomet består af 70S RNA, hvor man opdeler den i to subunit på 30s rRNA og 50s rRNA. Ribosomerne befinder sig i cytosolen adskilt fra arvematerialet, som er placeret i cellens nukleoid, som er et område uden ribosomer. Ved antibiotika behandling såsom tetracyklin, vil tetracyklin binde reversibelt til 30S delen af ribosomet specifikt 16s rRNA delen, som gør at tRNA ikke kan binde til A-sitet i ribosomet. Dette forstyrrer elongationsprocessen (bakteriostatisk).

Ved hæmning af cytoplasmamembran, vil angrebepunktet for antibiotika være cytoplasmamembranen, specifikt phosphatdelen. Cytoplasmamembranen består af et dobbelt phospholipid membran, som indeholder mesosomer, som er invaginationer i membranen som DNA hæfter sig til under celledeling. Ved antibiotika behandling såsom polymixiner, vil polymixiner binde til phosphatdelen af phospholipiderne, som gør at  $Mg^{2+}$  forsvinder fra overfladen som leder til at hvilemembranpotentialet forsvinder og giver et øget membranpotential.

## 2. Beskriv tre resistensmekanismer knyttet til den enkelt bakteriecelle.

Tre resistensmekanismer knyttet til den enkelte bakteriecelle:

- Inaktivering af antibiotika
- Ændring af receptorer
- Ændring af permeabilitet

Ved inaktivering af antibiotika, vil nogle bakterier have mulighed for at danne et enzym kaldt beta-lactamase, som kan nedbryde beta-lactam, så det derved ikke har en virkning på krydsbindingen af molekylerne i cellevæggen. Eksempelvis danner 90 % af *S. aureus* beta-lactamase, hvor de kan benævnes MRSA (methicillin-resistente stafylococcus aureus). Det er dog ikke alene på baggrund af resistensmekanismen den udvikler sig til MRSA, men også fordi den importerer et af følgende to gener fra en anden celle, nemlig *MecA* eller *MecC*.

Ved ændring af receptorer, vil nogle bakterier have mulighed for at ændre eller modificere i eksempelvis deres penicillin-bindende-receptorer, som medfører til at penicillin derved ikke kan binde til dem mere. Dette ser man ofte grundet mutationer i bakteriecellen.

Ved ændring af permeabiliteten, vil nogle bakterier have mulighed for at indføre effluxpumper i cellemembranen. Effluxpumperne vil pumpe antibiotika ud af cellen før det når at have en virkning. Dette ses på antibiotika som skal ind i cellen, eksempelvis tetracyklin, som har en effekt på ribosomerne i cytosolen. Dette ser man ofte grundet mutationer i bakteriecellen.

### 3. Beskriv den generelle opbygning af et virus og angiv, hvorfor virusinfektioner ikke kan behandles med antibiotika.

En virus er en infektiøs enhed på mellem 10-100 nm, som indeholder genetisk materiale, så den kan reproducere sig selv. Dog benævnes viruspartiklen også en obligat intracellulær parasit, som betyder at den er afhængig af en levende værtscelle til at overleve og reproducere sig selv. Dette er nemlig fordi at viruspartiklen ikke har nogle intracellulære membransystemer, og derfor er afhængig af en værtscelles maskineri til at kunne udføre sine funktioner. Viruspartiklen kan danne virioner, som er infektiøse partikler som indeholder tilstrækkeligt nok genetisk materiale til at inficere en anden celle. Simpelt sagt er en virus et arvemateriale omringet af en proteinskal. Arvematerialet kan være DNA eller RNA, dobbeltstrengt eller enkeltstrengt, samt cirkulært eller lineært. Specifikt gældende for enkeltstrengt RNA virus (ssRNA), kan viruspartiklen have en polaritet, som omhandler hvordan viruspartiklen omdanner sit RNA. Hvis viruspartiklen har en positiv polaritet, vil den omdanne sit RNA direkte til protein, men hvis viruspartiklen har en negativ polaritet, vil den omdanne sit RNA først til komplementært RNA og herefter et protein. Man kan yderligere ud fra reproduktionsstedet af arvematerialet, klassificere viruspartiklen som en DNA eller RNA virus. Hvis reproduktionsstedet foregår i kernen, har man en DNA virus, hvis reproduktionsstedet foregår i cytoplasmaen, har man en RNA virus. Arvematerialet er omringet af en proteinskal, som benævnes et kapsid. Kapsidet beskytter arvematerialet under transport, og kan sørge for adhæsion til værtscellen. Kapsidet udgøres af ens enheder, som udgør en karakteristisk symmetri, som kan give kapsidet en kubisk form, en helical form, at være tyveformet eller generelt ingen symmetri have. Arvematerialet og kapsidet benævnes tilsammen et nucleokapsid. Viruspartiklen kan yderligere være nøgent eller kappebærende. Kappen er en lipidkappe, som kan indeholde overfladeproteiner. Man ser eksempelvis ved HIV følgende overfladeproteiner som benævnes GP120 og GP41, hvor GP120 sørger for binding til CD4 på t-hjælperceller, og GP41 sørger for en fusion med t-hjælpercellen.

Virusinfektioner kan ikke behandles med antibiotika, da antibiotika benyttes til bakterier, som er den mindst levende encellet organisme, som har en cellevæg, ribosomer og en cellemembran som kan bruges som angrebepunkt. Viruspartiklen er en infektiøs enhed og defineres ikke som en celle. Specifikt har viruspartiklen heller ikke disse bestanddele, som antibiotika benytter som et angrebepunkt. Man benytter sig derfor at eksempelvis antivirale midler, som stopper den antivirale reproduktion. Dette kan eksempelvis være i form af en reverse transkriptase hæmmer, som hæmmer

reverse transkriptase enzymet, således at RNA ikke kan omdannes til DNA og integreres i værtscellens DNA.

4. Angiv to centrale anbefalinger i Sundhedsstyrelsens ”Vejledning om ordination af antibiotika”, og beskriv formålet med og betydningen af anbefalingerne.

Anbefalinger af ordination af antibiotika:

- Antibiotika må kun ordineres hvis det beskytter patienten mod en livsfarlig og livstruende tilstand, eksempelvis infektiøs endocarditis. Før antibiotika ordineres skal man sørge for at tilstanden via kliniske og diagnostiske undersøgelser er af bakteriel årsag.
- Man skal også sørge for at det givne antibiotikum er smalspektret og at man benytter det i så kort tid som muligt.

Formålet og betydning af ovenstående anbefalinger er at man ikke ønsker at ordinere antibiotika til patienten, hvis tilstanden eksempelvis skyldes virus. Derved kan antibiotikummet kun have en negativ effekt på værtskroppen. Udover at tilstanden kan være af viral årsag, eller ikke være nødvendig, da tilstanden ikke er livstruende, så kan et bredspektret antibiotikum, give anledning til udvikling af biologiske bivirkninger. Ved de biologiske bivirkninger vil man kunne se antibiotikummet begynder med at dræbe de gode bakterier i vores normalflora, som leder til en forskydning af bakteriesammensætning, og derved giver mulighed for at de opportunistiske patogener udvikler endogene infektioner, eksempelvis candida albicans. Man ser også at kolonisationsresistens kan falde, og derved kan udefrakommende mikroorganismer i højere grad, kolonisere sig og eventuelt udvikle eksogene infektioner. Ved en langvarig behandling med antibiotika, kan man også udvikle biologiske bivirkninger, hvor man ser begyndende resistensudvikling hos bakterierne, som kan spredes via den horisontale genoverførsel.



### Opgave 3

#### Bakteriesammensætningen afspejler de økologiske forhold på en given overflade.

1. Beskriv de væsentligste økologiske faktorer som påvirker bakteriesammensætningen på henholdsvis kinden, tungen og tandoverfladen langs gingiva ved sunde orale forhold.

På kindslimhinden finder man en glat overflade, hvor mikroorganismer kan få svært ved at kolonisere sig. Udover den glatte overflade, er dette område præget af muskelbevægelser fra selve tungen men også m. buccinator som gør at bakterierne bliver forstyrret. Området præges også af saliva, som via sit flow, og sin aggluterende, adhæsinhæmmende og neutraliserende effekt, kan fjerne bakterierne fra dette område. Man skal dog ikke glemme, at saliva også har vækstfremmende faktorer, eksempelvis glykoproteiner som bakterierne kan nære sig af. De bakterier der opnår en god og stærk etablering vil ikke leve længe i dette område, da epitelet i kindslimhinden har en høj turn-over rate, som betyder at epitelet afstødes kontinuerligt. De bakterier man dog vil finde ved kindslimhinden er de orale streptokokker, som defineres som fakultative anaerobe grampositive streptokokker, som er kædedannende men ubevægelige. De orale streptokokker, man vil finde her vil eksempelvis være *S. mitis*, *S. oralis* og *S. sanguinis*. Man vil også finde andre bakterier, dog i mindre omfang end de orale streptokokker. Dette kan være *Prevotella* som er en strikt anaerob gramnegativ stav, *Haemophilus* som er en fakultativ gramnegativ pleomorf lille ubevægelig stav og *Neisseria* som er en fakultativ gramnegativ diplokok. Det vil sige man også ser en forekomst af gramnegative bakterier.

På tungeryggen finder man en ru overflade som skyldes forekomsten af papiller. Der findes forskellige slags papiller, hvor nogle af dem danner furer og krypter rundt om den enkelte papil på tungeryggen. I disse krypter er der et lavt redox potentiale, som fremmer miljøet for de anaerobe bakterier. Samtidig med at redox potentialet er lavt, vil saliva have sværere ved at trænge ned i krypterne, og dette kan også forklare forekomsten af anaerobe bakterier her. Tungeryggen har en lav turn-over rate, som betyder at bakterierne kan leve uforstyrret på tungeryggen, og eksempelvis danne svovlforbindelser, som giver individet dårlig ånde. Her vil man se mange bakterier blandt andet:

- *Prevotella* som er en strikt anaerob gramnegativ kikkoid stav
- *Veillonella* som er en strikt anaerob gramnegativ streptokok

- *P. gingivalis* som er en strikt anaerobe kokkoid gramnegativ stav
- Spirokæter som er en strikt anaerobe gramnegativ bevægelige skrue
- *Actinomyces* som er en fakultativ grampositiv stav

Udover ovenstående bakterier vil faktisk 50 % af bakteriesammensætningen på tungeryggen bestå af orale streptokokker, som defineres som fakultative anaerobe grampositive streptokokker, som er kædedannende men ubevægelige. De orale streptokokker, man vil finde her vil eksempelvis være *s. mitis*, *s. oralis* og *s. salivarius*.

På tandoverfladen langs gingiva ved sunde orale forhold, vil man både finde glatte overflader men også ru overflader, som små furer, fossae eller foramen caecum, som bakterierne kan vandre ind i og leve uforstyrret ved. Disse områder kaldes plakstagnationsområder, og det er her man hyppigst ser plakdannelse. Før plakdannelse er mulig, skal pelliclen være etableret. Pelliclen frastøder faktisk op til 90 % af alle mikroorganismer, dog er der få mikroorganismer, eksempelvis de fakultative grampositive streptokokker, som kan etablere en uspecifik svag og reversibel binding til pelliclen. Derfor vil bakteriesammensætningen først bestå af fakultative grampositive streptokokker, herefter vil de grampositive stave eksempelvis *actinomyces* og *lactobacillus* co-aggregere til streptokokkerne, og dele sig, samt danne EPS og IPS som gør biofilmen tykkere. I takt med at biofilmen bliver tykkere vil der profunder i biofilmen opstå anaerobe forhold, som fremmer forekomsten af anaerobe bakterier. Man ser eksempelvis *veillonella*, som er en strikt anaerob gramnegativ streptokok. Ved den initale biofilm, vil der derfor være mange grampositive bakterier, men i takt med at biofilm bliver tykkere vil der forekomme mange gramnegative bakterier, samt filamenter. Hvis biofilmen som også benævnes den supragingivale plak får lov til at leve uforstyrret og ikke børstes væk ved en tandbørstning, kan dette ultimativt lede til gingivitis.

2. Nævn tre forskellige laboratorieteknikker, som kan benyttes til at identificere, hvilke bakterier der findes på tandoverfladen, herunder mindst én teknik, der kan differentiere de orale streptokokker. Beskriv de overordnede principper for hver af de tre teknikker

Man kan benytte sig af stereomikroskopi. Før dette er muligt skal man dyrke bakterierne på en agarplade. Dette gør man ved at tage en pødepind og pøde tandens overflade, og herefter overføre det

over til en agarplade. Agarpladen kan sagtens være selektiv, og man kan eksempelvis benytte sig af en *S. mitis* og *S. salivarius* plade. Efter en uge kan man tilse pladen, og betragte dem under et stereomikroskop, hvor man blandt andet betragter deres form, størrelse, farve og konsistens, og sammenligner dem med de karakteristiske træk for orale streptokokker.

Man kan også benytte sig af en normal mikroskopering. Her vil man tage noget materiale fra pladen og opslemme det med noget vand på en glasplade. Glaspladen lufttøres herefter, flammefikseres og gramfarves med mange forskellige farvestoffer. Herefter kan man betragte bakterierne, om de er streptokokker og grampositive som er karakteristisk for de orale streptokokker, som kan findes på tandoverfladen. Dog kan denne metode også fremvise mange andre bakterier, som kan være gramnegative og stave.

Man kan tilsidst også benytte sig af ApiStrips. Her vil man tage noget materiale fra pladen og opslemme det med noget vand og tilsætte det i nogle brønde. I disse brønde tilføres også nogle forskellige substanser hvor man vil se et farveskift i de forskellige brønde, som afspejler om der er en aktiv forgæring af det udvalgte kulhydrat. Gældende for hver af de orale streptokokker, vil de forgære nogle bestemte kulhydrater, og derfor vil man sammenligne sin ApiStrips men et ark, som viser hvilke orale streptokokker som forgærer hvilke kulhydrater.

### 3. Beskriv forskelle mellem de økologiske forhold på tandoverfladen langs gingiva ved sunde forhold sammenlignet med subgingivalt ved parodontitis.

De økologiske forhold er

- Overfladeforhold
- Fysiologiske forhold
- Vækstforhold
- Øvrige forhold

I dette spørgsmål vil der fokuseres på de fysiologiske forhold, samt vækstforhold, da overfladeforhold for supragingival plak er blevet benævnt i spørgsmål 3.1.

Bakterierne der lever i den supragingivale plak er sakkarolytiske, som betyder at de udfører deres metabolisme ved hjælp af kulhydrater (eksempelvis glykoproteiner), som fås fra saliva, som er deres

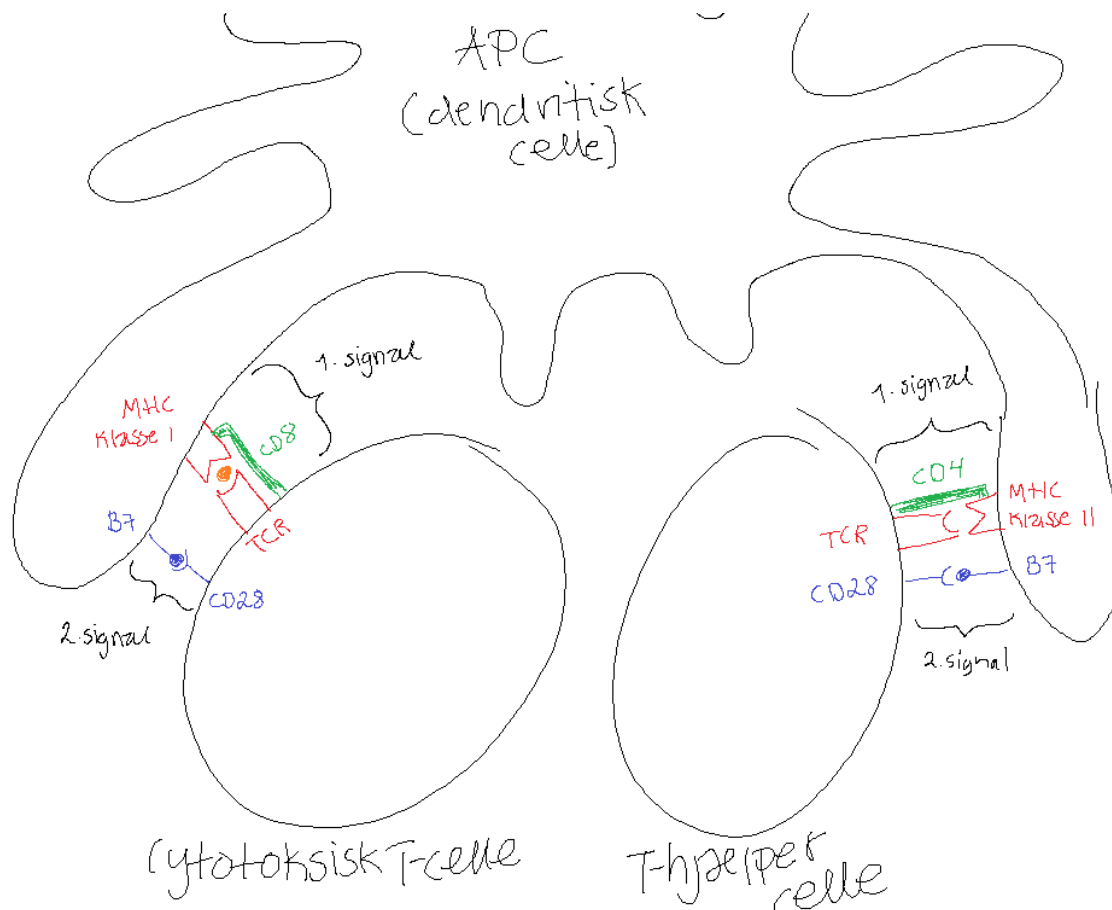
primære energikilde. Før kulhydrater kan benyttes til metabolismen, skal de først transporteres ind i bakteriecellen, som gøres ved hjælp af to transportsystemer: proton motive force (PMF) og phosphotransferasesystemet (PEP). Proton motive force udnytter protongradienten til at drive symport af glukose og protoner ind i cellen. Dog vil protonerne sænke pH-niveauet i bakteriecellen og give anledning til celledød, og derfor skal bakterien aktivt pumpe protonerne ud af cellen igen. Phosphotransferasesystemet udnytter dannelsen af phosphoenolpyruvat (PEP) ud fra glukose. En glukoseenhed kan danne to PEP. Den ene PEP benyttes til at transportere en glukoseenhed ind i cellen og fosforilere den, hvor glukoseenheden og den anden PEP herefter fortsætter sin omdannelse. Ud fra kulhydratmetabolismen vil resultatet være organiske syrer, som sænker pH-værdien i den supragingivale plak. Dette betyder at bakterier i plakken også er acidofile og aciduriske som betyder at de elsker syre og kan vokse i sure miljøer. Bakterierne kan også danne ekstracellulære og intracellulære polysakkarider, som gør biofilmen tykkere. I takt med at biofilmen bliver tykkere vil iltmætningen ændre sig. Man har normalt et højt iltniveau tilstede på tandens overflade, dog vil det blive benyttet af de superficielle bakterier, og derfor opstår der anaerobe forhold profunt i den supragingivale plak, som favoriserer forekomsten af anaerobe bakterier.

Bakterierne der lever i den subgingival plak er proteolytiske, ensbetydende med at de benytter sig af proteiner til at udføre deres metabolisme. Proteiner stammer fra gingivalvæsken, som er et serumsekret fra blodplasma, som dannes ved inflammatoriske tilstande. Den subgingivale plak er en nedvækst af den supragingivale plak og derfor indeholder den subgingivale plak bakterier stammende fra den supragingivale plak. Levebetingelserne for bakterierne stammende fra den supragingivale plak, vil ikke blive opfyldt i det subgingivale område, og derfor vil disse bakterier (som er caries-associeret) undergå apoptose. Leveforholdene vil fremme forekomsten af andre antagonistiske bakterier, eksempelvis de parodontitis-associerede bakterier. Når bakterierne begynder med at bruge proteinerne i deres metabolisme, vil det medføre til en proteolytisk pH, som gør miljøet endnu mere favorabelt for de parodontitis-associerede bakterier. Udover en høj pH-værdi, vil der være anaerobe forhold i den subgingivale plak i det subgingivale rum, nemlig fordi at saliva ikke kan trænge ned i disse områder.

## Opgave 4

### Det adaptive immunsystem.

1. Angiv (gerne ved hjælp af en tegning) de molekyler, der er involveret, når henholdsvis en cytotoxisk T-celle og en T-hjælpercelle bliver stimuleret.



2. Hvorfra (ekstracellulært eller intracellulært) stammer de antigener, der stimulerer henholdsvis cytotoxiske T-celler og en T-hjælpercelle?

De antigener der stimulerer de cytotoxiske T-celler stammer intracellulært fra, hvor det nedbrydes til et peptid, går i kompleks med et MHC klasse I molekyle og fremvises på overfladen af cellen. Dette omhandler ofte virus-inficeret celler.

De antigener der stimulerer t-hjælperceller stammer ekstracellulært fra, hvor det endocytteres, nedbrydes til et peptid, går i kompleks med et MHC klasse II molekyle og fremvises på overfladen af cellen. Dette kan omhandle bakterier og svampe.

### 3. Hvad er funktionen af cytotoksiske T-celler og T-hjælperceller?

De cytotoksiske T-celler har tumorceller og virusinficerede celler som målceller. Efter den cytotoksiske t-celle er blevet aktiveret via de 2 signaler fremvist i opgave 4.1, vil den frigive perforiner, som fungerer som komplementkomponent C9. Efter perforinernes polymerisering vil den danne porer i membranen af cellen, og herfra vil granzymes indtræde cellen og stimulere apoptose.

T-hjælperceller anses som immunforsvarets dirigent, som fortæller hvilke celler der skal prolifereres og differentieres. Efter t-hjælpercellen er blevet aktiveret via de 2 signaler fremvist i opgave 4.1, vil den via et 3. signal som den modtager fra den antigenpræsenterede celle, stimulere differentiering af andre celler. Den antigenpræsenterede celle kan nemlig mærke om antigenet er en svamp, en bakterie eller en parasit, og vil derfor fortælle dette til t-hjælpercellen via et 3. signal, som gør den aktive t-hjælpercelle mere specifikt. Den aktive t-hjælpercelle (TH0) kan differentiere sig til TH1, TH2, TH17 og en iTreg celle.

Den aktive TH0 t-hjælperceller differentierer sig til TH1 hvis den modtager IL-2, og herefter kan TH1 differentiere sig til makrofager, cytotoksiske t-celler og NK-celler via IFN-gamma. Disse celler bekæmper intracellulære mikroorganismer og hæmmer TH2 og TH17.

Den aktive TH0 t-hjælperceller differentierer sig til TH2 hvis den modtager IL-4, og herefter kan TH2 differentiere sig til b-lymfocytter, mastceller og eosinofile granulocytter via IL-4 og IL-5. Disse celler bekæmper intracellulære parasitter og hæmmer TH1 og TH17.

Den aktive TH0 t-hjælperceller differentierer sig til TH17 hvis den modtager IL-21 og TGF-beta, og herefter kan TH17 differentiere sig en neutrofil granulocyt via IL-17. Disse celler bekæmper extracellulære mikroorganismer og hæmmer TH1 og TH2.

Den aktive TH0 t-hjælperceller differentierer sig til en iTreg celle hvis den modtager TGF-beta, og herefter kan iTreg cellen differentiere sig til t-hjælperceller og b-lymfocytter via TGF-beta. De har til funktion at hæmme TH1, TH2 og TH17.

### 4. Genet for den tunge kæde af et immunglobulin ligger på kromosom 14, og de lette kæder (kappa og lamda) kodes fra to gener på hhv. kromosom 2 og 22. Beskriv de mekanismer, der gør, at man ud fra disse tre gener kan danne antistoffer mod millioner af forskellige antigener.

Dette er muligt via rekombination af V, J og D segmenter, som fører til en stor diversitet i den variable region i BCR. Den variable regioner i BCR som er et antistof, ofte kendt som IgM, binder flere forskellige antigener til sig. Sammensætningen af den tunge kæde har en betydning for antistofferne.