

Giorgio Lavagnoli
Stefano Accorsi
Franco Brenna
Luigino Fiamminghi

Università degli Studi di Parma
Corso di Laurea in Odontoiatria
e Protesi Dentaria
Cattedra di Odontoiatria Conservatrice
Prof. L. Fiamminghi

Caratteristiche morfo-funzionali dei ceppi batterici di maggiore importanza nelle infezioni endodontiche

Morphological and structural characteristics of the most relevant bacterial species in the endodontic infections

Lavagnoli G, Accorsi S, Brenna F, Fiamminghi L. Caratteristiche morfo-funzionali dei ceppi batterici di maggiore importanza nelle infezioni endodontiche. *G It Endo* 1990; 14/3: 38-43

non-motile, non-spore-forming rods. *Fusobacterium* are spindle-shaped, Gram-, non motile, non-spore-forming bacilli. *Peptostreptococci* are round-shaped, Gram+, non-motile cocci. *Veillonella* are small, Gram-, non-motile cocci.

Key words: Bacteriology. Endodontic infection.

RIASSUNTO

La maggior parte dei germi implicati nelle infezioni endodontiche possono esser considerati "altamente specifici" per questo tipo di patologia: infatti essi sono scarsamente rilevanti in tutto il rimanente vastissimo campo delle malattie umane ad eziologia batterica.

Si tratta di specie appartenenti tutte alla famiglia degli anaerobi obbligati, quali in particolare *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* e *Veillonella*.

Quella dei *Bacteroides* è una famiglia composta da diversi ceppi con differenti caratteristiche metaboliche e genetiche. Essi hanno forma di bastoncino, sono Gram-, non mobili ed asporigeni.

I *Fusobacterium* sono bastoncini con le estremità appuntite, Gram- e asporigeni. I *Peptostreptococcus* sono cocchi, disposti in coppie o in catene, Gram+ e non mobili. Le *Veillonelle* sono piccoli cocchi Gram- immobili.

Parole chiave: Batteriologia. Infezione endodontica.

SUMMARY

Most of the bacteria involved in the endodontic infection can be considered as "highly specific", for they appear to be almost irrelevant in the large field of the other human disease from infection. Namely the most important anaerobias responsible for endodontic infection are: *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, and *Veillonella*.

The group of *Bacteroides* is composed by several species with different metabolic and genetic characteristics. They are Gram-,

La maggior parte dei germi implicati nelle infezioni endodontiche sono indubbiamente "altamente specifici" per questo tipo di patologia; sono infatti scarsamente rilevanti in tutto il rimanente e vastissimo campo delle malattie umane ad eziologia batterica (per quanto alcuni di essi siano stati isolati a livello di peritoniti, osteomieliti, endocarditi subacute). Sono quindi spesso trascurati nei testi di microbiologia generale e ne riteniamo perciò utile la descrizione morfo-funzionale in questo lavoro; ciò anche in considerazione del fatto che solo un certo grado di conoscenza sulla struttura e sulle proprietà dei singoli microrganismi permette la comprensione dei concetti relativi ai rapporti ecologici nell'infezione mista ed ai problemi di patogenesi. Limiteremo comunque la descrizione alle specie batteriche di maggiore importanza per la genesi di lesioni periapicali (che sono contemporaneamente le più bistrattate nei testi di microbiologia generale). Le specie in questione sono tutte appartenenti alla famiglia degli anaerobi obbligati; vedremo in particolare *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* e *Veillonella*.

Bacteroides

Abbiamo potuto osservare dai dati generali sulla flora canalare, riportati in un precedente lavoro (1), come i *Bacteroides* ne costituiscano forse la specie maggiormente rappresentata. Esistono in proposito importanti studi specifici cui vale la pena di dare uno sguardo.

Haapasalo e coll. nel 1986 (2) evidenziarono la presenza di *Bacteroides* sp. (considerando solo i Black-Pigmented *Bacteroides*) in 31 canali su 62 esaminati (tutti i denti in questione presentavano segni evidenti di periodontite apicale), vale a dire nel 50% dei casi. Si trattava in tutti i casi di infezioni di tipo

misto.

Furono isolati 5 diversi ceppi di *Bacteroides* tra i quali risultavano più spesso presenti *Bacteroides intermedius* e *Bacteroides denticola* (12 casi ciascuno).

Da una ricerca di Griffée e coll. (3) emerge inoltre un preciso rapporto tra la presenza di *Bacteroides* nei canali e la presenza di determinati segni e sintomi clinici.

Questo lavoro costituisce indubbiamente un passo importante riguardo all'applicazione della microbiologia endodontica in campo clinico; rappresenta infatti il tentativo di stabilire quali relazioni esistono tra le caratteristiche qualitative della flora canalare e le condizioni cliniche del dente. Furono studiati 33 canali radicolari di denti con necrosi pulpale diagnosticata tramite esame obiettivo, test di sensibilità elettrico e termico, esame radiografico (che in 27 casi evidenziava la presenza di periodontite apicale). Successivamente vennero registrati 8 diversi parametri clinici per ogni dente: dolore, sensibilità alla palpazione della mucosa in zona periapicale, sensibilità alla percussione, presenza di radiotrasparenza, formazione di tragitti fistolosi, gonfiore locale, presenza di essudato nei canali, cattivo odore. Parallelamente si effettuarono i prelievi microbiologici dai canali radicolari, tramite tecniche di notevole affidabilità (simili al protocollo adottato da Fabricius e coll.).

Si tentò quindi di stabilire le relazioni tra stato clinico e presenza nei canali di *Bacteroides melaninogenicus*; a questo scopo i denti vennero divisi in due gruppi dei quali uno caratterizzato dalla presenza di *Bacteroides melaninogenicus* nei canali (12) e l'altro dalla sua assenza (21).

Si resero così evidenti strette correlazioni tra la presenza di *Bacteroides melaninogenicus* nei canali radicolari e la presenza di cattivo odore, dolore e formazione di tragitti fistolosi.

Detti rilievi clinici riconducono probabilmente ad un unico fenomeno patologico: la presenza di una periodontite apicale di tipo purulento.

La capacità, da parte dei *Bacteroides* isolati da canali radicolari, di determinare infezioni purulente è d'altronde ben documentata da un lavoro di Sundqvist e coll. del 1979

(4). Lo studio, relativo alle possibilità di indurre infezioni sottocutanee purulente trasmissibili nei "Guinea pigs", evidenziò le particolari attitudini al riguardo da parte di *Bacteroides melaninogenicus* (ceppo non specificato) e *Bacteroides melaninogenicus* ss. *asaccharolitycus*, in assenza dei quali l'infezione purulenta risultava di modesta entità e comunque non trasmissibile.

Un'ulteriore conferma dell'importanza della presenza di *Bacteroides*, affinché si manifesti una flogosi periapicale acuta, è data dallo studio di Haapasalo del 1989 (5). In esso si osserva un chiaro rapporto esistente tra sintomatologia acuta e presenza di *Bacteroides* nei canali: tra questi, i più frequentemente associati a casi di periodontite acuta erano: *B. buccae*, *B. Endodontalis* e *B. Intermedius*.

Ribadita tutta l'importanza dei *Bacteroides* nelle infezioni canalari e nelle relative conseguenze periapicali, possiamo ad illustrarne le più importanti caratteristiche morfologiche.

I *Bacteroides* costituiscono un gruppo di batteri piuttosto vasto, di tipo Gram-, in maggioranza non mobili e asporigeni. Sono considerati germi strettamente anaerobi, pur essendo da segnalare la capacità da parte di alcuni ceppi (ad esempio *B. Fragilis*) di produrre una superossido dismutasi. Questa proprietà comunque permette la sopravvivenza in ambiente ricco di O solo per breve tempo poiché la quantità di enzima sintetizzato è ridotta e risultano inoltre assenti altri due enzimi fondamentali per la sopravvivenza in ambiente aerobio: catalasi e perossidasi.

La morfologia varia notevolmente a seconda dei diversi ceppi, che possono presentarsi sotto forma di bastoncelli più o meno sottili (forme più frequenti), in forme ramificate e talvolta anche in forme rotondeggianti; questo notevole pleomorfismo rappresenta uno degli ostacoli maggiori incontrati nella descrizione e classificazione dei germi appartenenti a questa famiglia.

I terreni di coltura più adatti alla crescita dei *Bacteroides* sono quelli a base di agar associato ad infuso di cuore-cervello, con aggiunta di alcune sostanze particolari quali emina e menadione (essenziali per i *B. melaninogenicus*). L'ambiente esterno deve

essere in condizioni di assoluta anaerobiosi; si utilizzano in particolare N₂ (80%), H₂ (10%), CO₂ (10%), alla temperatura di 37° C. I *Bacteroides* fanno parte della flora saprofita della cavità orale, del tubo digerente e dell'apparato genitale femminile; a livello intestinale sono presenti in numero molto maggiore rispetto a *E.coli* e rappresentano il 90% della flora fecale normale.

Nella cavità orale sono presenti nella saliva, a livello tonsillare, nel solco gengivale, nelle tasche parodontali e nei canali e polpe infette. Di norma la colonizzazione del cavo orale inizia contemporaneamente all'eruzione dei denti per la presenza del microambiente favorevole del solco gengivale; sono descritti tuttavia molti casi di colonizzazione antecedente all'eruzione dentale.

Sono considerati germi con ridotto grado di patogenicità; ciò non è comunque legato all'assenza di un corredo genetico codificante per sostanze patogeniche, ma alle peculiari esigenze biochimiche che ne condizionano la crescita alla presenza di altri ceppi batterici o di altre condizioni particolarmente favorevoli.

Dimostrano particolare predilezione per i tessuti necrotici, quale che ne sia stata la causa determinante (traumi, radiazioni, ischemia, interventi chirurgici).

E' stato possibile isolarli da infezioni pleuriche, del tratto genito-urinario e gastro-intestinale.

A livello orale sono coinvolti nell'eziologia di diverse patologie quali le malattie parodontali (soprattutto la parodontite rapidamente progressiva e la parodontite dell'adulto), le gengiviti ulcero-necrotiche, la patologia pulpale e periapicale ad eziologia infettiva.

Si sono riscontrate nel cavo orale le seguenti diverse specie:

<i>B. melaninogenicus</i>	ss. <i>melaninogenicus</i>
	ss. <i>intermedius</i>
	ss. <i>asaccharolitycus</i>

<i>B. buccae</i>	<i>B. preacutus</i>
<i>B. buccalis</i>	<i>B. bivius</i>
<i>B. fragilis</i>	<i>B. forsythus</i>
<i>B. oris</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>B. oralis</i>	<i>B. corrodens</i>

<i>B. pentosaceus</i>	<i>B. ruminicola</i>
<i>B. gracilis</i>	<i>B. pneumosintes</i>
<i>B. multiacidus</i>	<i>B. distasonis</i>
<i>B. capillus</i>	<i>B. ovatus</i>
<i>B. succinogenes</i>	<i>B. heparinolyticus</i>

Vediamo ora in maggior dettaglio alcune caratteristiche strutturali dei *Bacteroides*.

Struttura di particolare importanza in tutti i batteri Gram- è la parete cellulare, che ne rappresenta il principale fattore di antigenicità. Tra i diversi costituenti di essa è il lipopolisaccaride (LPS) il responsabile dell'attività endotossica. Pur essendo questa una caratteristica comune a tutti i germi Gram-, le diverse specie presentano LPS con specifiche peculiarità.

Studi condotti su LPS dei *Bacteroides* ne hanno evidenziato il contenuto particolarmente elevato in zuccheri, in particolare glucosio, ed una ridotta quantità di lipidi. Inoltre il lipide A., al quale è associata la tossicità e parte del potere immunizzante, presenta variazioni rispetto alla norma. In particolare si è osservata una notevole carenza di ac. 3-idrossi-miristico (IM), uno dei componenti comunemente più importanti e più rappresentati all'interno del lipide A. (soprattutto di *Enterobacteriaceae*, quale ad esempio *E.coli*).

Altra particolarità è costituita dalla carenza, nel lipide A. della parete, di ac. 2-keto-3-deossi octulonato (KDO).

Queste variazioni rispetto alla norma di IM e KDO si traducono in un'attività endotossica ridotta rispetto ad altri Gram- quali ad esempio *E.coli*, *Veillonella*, *Fusobacterium*. Come vedremo meglio nel lavoro dedicato alla patogenesi delle lesioni periapicali, queste variazioni di struttura non impediscono comunque l'induzione di una risposta immunitaria e una discreta predisposizione all'attivazione del complemento attraverso altra via alternativa. E d'altronde sperimentalmente dimostrato (6) che anche specie batteriche con LPS carente in KDO e IM all'interno del lipide A., come *Eikenella Corrodens*, possono determinare lesioni periapicali di notevole entità.

Particolari caratteristiche presenta inoltre il gruppo dei cosiddetti "Black-Pigmented *Bacteroides*", capostipite dei quali (isolato

per primo, nel 1921 da Oliver e Wharry) è il *B. melaninogenicus*, denominato tale in quanto si riteneva che la colorazione nerastra delle colonie fosse dovuta alla presenza di melanina; in seguito ciò si è rivelato assolutamente falso. Il pigmento nerastro è infatti costituito da ematina.

I B-P *Bacteroides* rivestono indubbiamente un ruolo fondamentale nelle infezioni endodontiche e meritano quindi una descrizione particolareggiata. In base ai recenti studi sulle strutture del DNA di questo gruppo di batteri, è stato possibile formularne una nuova classificazione. Considerando che detta classificazione, pur essendo datata a circa la metà degli anni '80, è ormai universalmente accettata e ad essa fa riferimento tutta la letteratura internazionale, riteniamo utile illustrarla brevemente.

Nella tabella relativa ai *Bacteroides* riportata in precedenza abbiamo presentato la vecchia classificazione poiché senza partire da essa è estremamente difficoltoso illustrare il nuovo inquadramento tassonomico. Essa prevedeva la presenza di una specie (*B. melaninogenicus*) comprendente 3 sottospecie: *B. melaninogenicus* ss. *melaninogenicus*, *B. melaninogenicus* ss. *intermedius*, *B. melaninogenicus* ss. *asaccharolyticus*. Gli studi condotti su *B. melaninogenicus* ss. *asaccharolyticus* (7-8-9-10) ne hanno permesso la differenziazione in 3 ceppi distinti (tutti asaccharolitici ma geneticamente ed antigenicamente piuttosto diversi): *B. gingivalis*, *B. asaccharolyticus*, *B. endodontalis*. Di questi però solo *B. gingivalis* e *B. endodontalis* fanno parte della flora orale. I 3 ceppi sono stati in seguito elevati al rango di specie. Anche il ceppo *B. melaninogenicus* ss. *melaninogenicus* si è dimostrato in realtà non omogeneo (11) ma composto di almeno 3 forme geneticamente piuttosto differenti (anch'esse elevate a specie): *B. melaninogenicus*, *B. loeschii* e *B. denticola* (precedentemente denominato *B. socran-skii*). Le 3 specie fanno tutte parte della flora orale.

Differenze strutturali significative si sono evidenziate anche all'interno dei *B. melaninogenicus* ss. *intermedius*; ciò ha permesso di suddividere il gruppo in 3 specie diverse (12). Due di esse sono state per il momento differenziate in base alle sequenze geneti-

che ma non ancora in base alle caratteristiche biochimiche per cui vanno entrambe, seppur momentaneamente, inquadrate nella specie *B. intermedius*. La terza è stata invece ben definita e classificata come *B. corporis*; detta specie non fa però parte della flora orale.

Per dare un quadro completo della classificazione dei B-P *Bacteroides* ricordiamo l'isolamento e l'identificazione di altri 2 ceppi (che comunque non fanno parte della flora umana): *B. macacae* (ceppo somigliante a *B. gingivalis*) e *B. levii* (simile a *B. melaninogenicus*).

Nell'ambito delle diverse specie di B-P *Bacteroides*, le più caratteristiche delle infezioni endodontiche risultano essere *B. intermedius*, *B. endodontalis* e *B. denticola*. Mentre la presenza di *B. endodontalis* sembra essere assolutamente specifica a livello di flora endodontica, quella di *B. intermedius* risulta comune anche nell'ambito della flora parodontale. Maggiore predilezione per l'ecosistema parodontale ha invece dimostrato il *B. gingivalis*, per quanto anch'esso sia stato evidenziato con una certa frequenza anche a livello canalare.

E' comunque da ricordare come la revisione tassonomica dei *Bacteroides* sia tuttora in evoluzione; ad esempio è stata proposta nel 1988 da Shah e Collins (13) in relazione alle peculiari caratteristiche biochimiche del gruppo di batteri in questione, la rimozione dei B-P *Bacteroides* asaccharolitici (*B. gingivalis*, *B. endodontalis* e *B. asaccharolyticus*) dal genere *Bacteroides*. Gli Autori propongono infatti il loro inquadramento in un nuovo genere denominato *Porphyromonas*.

E' stato inoltre classificato un nuovo genere batterico, *Mitsuokella*, finora composto da una sola specie: *Mitsuokella dentalis* (14). Si tratta di un germe finora identificato come *Bacteroides*. Risulta infatti per molti versi simile al *B. gingivalis*; studi più approfonditi ne hanno tuttavia dimostrato differenze sostanziali, prima fra tutte la struttura della capsula esterna, che in *Mitsuokella dentalis* presenta uno spessore eccezionalmente grande. Questa specie fa parte della flora orale ed è stata isolata anche all'interno di canali radicolari di denti che presentavano lesioni periapicali.

Nel valutare la potenziale patogenicità dei B-P *Bacteroides*, è estremamente importante analizzarne il corredo enzimatico, ricco di numerose proteasi, tra cui spicca la collagenasi.

La produzione di collagenasi non risulta tuttavia di uguale entità nei diversi ceppi di B-P *Bacteroides*; infatti, come brillantemente dimostrato dal lavoro di Jin e coll. del 1989 (15), la specie maggiormente in grado di degradare il collagene è rappresentata da *B. gingivalis*, seguito a distanza notevole da *B. intermedius*, *B. asaccharolyticus* e *B. corporis*. Altri studi recenti sull'argomento tendono a limitare ancora maggiormente la diffusione di questa proprietà, limitandola in alcuni casi al solo *B. gingivalis* (16). Altri enzimi, importanti come fattori di patogenicità, sono le proteasi fibrino/fibrinogenolitiche e le leucocidine attive contro i granulociti PMN. Altre sostanze prodotte dai *Bacteroides* determinano l'inibizione della fagocitosi da parte dei PMN stessi; dette sostanze vanno ad organizzarsi in una specie di capsula esterna piuttosto rigida che rende lunga e complessa l'attività fagocitaria. Un ulteriore meccanismo di inibizione della attività dei neutrofili è legato alla produzione di acidi grassi a basso peso molecolare, sostanze dimostrate in grado di inibire la chemiotassi (17). Altro enzima prodotto è la ialuronidasi o Spreading factor, la cui attività viene esaltata dalla presenza di collagenasi e viceversa; i due enzimi agiscono infatti in modo sinergico distruggendo rispettivamente le fibre e la sostanza fondamentale del tessuto connettivo.

I B-P *Bacteroides* si sono inoltre dimostrati in grado di produrre fosfolipasi A, fosfatasi acide e alcaline, DNase e RNase.

Emerge con chiarezza da questi dati il notevolissimo potenziale patogeno e distruttivo dei B-P *Bacteroides*. Fortunatamente tali proprietà sono abbinate a necessità assoluta di protezione dall'O₂, di vit. K (menadione) e di Emima, fattori fortemente limitanti l'azione patogena.

Fusobacterium

Come già abbiamo avuto modo di osservare (1), la presenza di *Fusobacterium* nelle infezioni endodontiche rappresenta un evento tutt'altro che infrequente. Ne abbiamo inoltre constatato la particolare predilezione per le infezioni periapicali di tipo purulento quali ascesso periapicale ed ascesso alveolare acuto.

Il *Fusobacterium* riveste tuttavia un ruolo di primo piano anche nella genesi delle lesioni periapicali croniche. Ricordiamo a questo proposito un lavoro di Dahlen, Magnusson e Moller del 1981 (18) che dimostra l'efficacia della LPS di *Fusobacterium nucleatum* nel determinare reazioni flogistiche periapicali di tipo cronico. Ciò premesso (detto studio sarà discusso dettagliatamente nel lavoro dedicato alla patoge-

nesi), passiamo ora alla descrizione delle principali caratteristiche dei *Fusobacterium*. Sono batteri Gram-, strettamente anaerobi, asporigeni. Presentano una forma di tipo bacillare, allungata e piuttosto sottile, con la particolare caratteristica delle due estremità appuntite. E' stata osservata la possibilità di variazione della forma a seconda delle condizioni ambientali; ceppi di *Fusobacterium necrophorum* evidenziati all'interno di materiale purulento con forma regolare di bastoncelli corti e sottili, trasportati in coltura hanno sviluppato forme di lunghezza maggiore con rigonfiamenti rotondeggianti. Alcuni ceppi presentano possibilità di movimento mentre altri sono assolutamente immobili.

Come per i *Bacteroides*, anche la coltura di *Fusobacterium* esige un'atmosfera priva di O₂, formata da N₂ (85%), H₂ (10%), CO₂ (5%); rispetto ai *Bacteroides* la sola variazione è un 5% in meno di CO₂ di cui i *Fusobacterium* hanno minore necessità.

Pur essendo in genere scarsamente rilevanti nel campo delle malattie umane ad eziologia batterica, è stato possibile isolarli in svariate condizioni patologiche quali polmoniti, artriti infettive, osteomieliti, ascessi epatici, faringiti, otiti medie, condizioni di batteriemia. Alla batteriemia può fare seguito la colonizzazione di tessuti necrotici, nei quali i *Fusobacterium* trovano un ambiente particolarmente adatto alle proprie caratteristiche; in essi infatti si moltiplicano molto attivamente, in particolare se associati ad altre specie batteriche. Uno dei requisiti più importanti affinché si riscontri un'attività patogena da parte dei *Fusobacterium* è proprio la presenza di flora mista.

Nella patologia del cavo orale costituiscono un fattore importante nella genesi delle gengiviti ulcero-necrotiche, della parodontite cronica dell'adulto, delle infezioni endodontiche e delle conseguenze ad esse relative. I ceppi isolati più frequentemente a livello orale sono il *F. naviforme* e il *F. nucleatum*, quest'ultimo di gran lunga più importante nell'eziologia delle lesioni periapicali. Il *F. nucleatum* presenta un lipopolisaccaride di parete piuttosto ricco di lipidi e con un contenuto medio in glucidi; il lipide A si è dimostrato in grado di attivare con facilità il sistema del complemento, principalmente

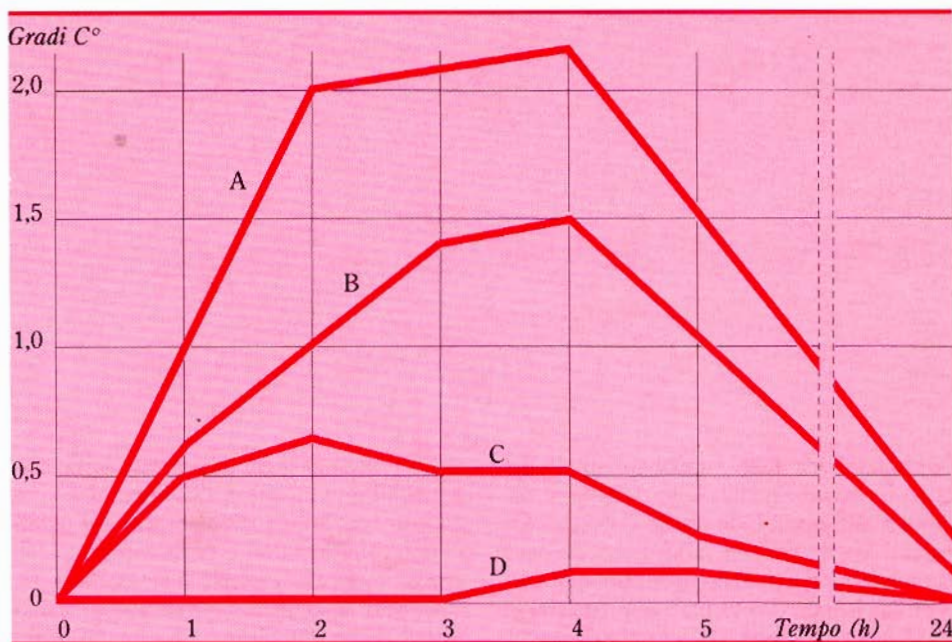


Fig. 1 - A: *F. nucleatum* B: *Bacteroides* C: *Treponema M.* D: *S. Viridans*

attraverso la via alternativa. Il lipide A di *F. nucleatum* ha inoltre dimostrato un'elevata attività biologica, paragonabile a quella del lipide A di *E. coli*. Tra queste due molecole si sono evidenziate diverse analogie strutturali, tra le quali spicca la presenza di quantità elevata di glucosamine legate agli acidi grassi a lunga catena; ciò pare rivestire una certa importanza nel determinare il grado di attività biologica della componente lipidica dell'LPS.

L'attività endotossica dell'LPS di *F. nucleatum* è comunque tra le più elevate in assoluto, come indica con precisione un lavoro di Mergenhagen del 1961 (19), che paragona l'entità del rialzo termico indotta da diverse specie batteriche. La risposta dell'organismo (l'esperimento fu condotto su conigli) all'attività pirogenica dei diversi batteri iniettati per via endovenosa, venne valutata sia in termini di entità che di tempo; i risultati sono sintetizzati nel grafico della Fig. 1.

Un'ulteriore dimostrazione dell'elevato grado di attività biologica da parte di LPS di *F. nucleatum* viene dai risultati ottenuti da una ricerca di Horiba e coll. (1989) (20). Questo studio analizzava la citotossicità nei confronti di colture cellulari epiteliali e mesenchimali, da parte di LPS di diversi batteri isolati all'interno di canali radicolari. Come termine di paragone si utilizzò LPS di *E. coli*. LPS di *F. nucleatum* dimostrò il più alto grado di citotossicità rispetto a tutte le altre specie di provenienza canalare. In accordo con quanto ricordato in precedenza a proposito delle analogie strutturali, gli effetti citotossici di LPS di *E. coli* ed *F. nucleatum* risultarono praticamente sovrapponibili, con punte di leggera prevalenza da parte di *F. nucleatum*.

Il *F. nucleatum* presenta inoltre una buona attività emoagglutinante, dimostrata sperimentalmente da Falker e coll. (1977) (21)

tramite l'inibizione mediante l'uso di antisieri specifici. L'attività di emoagglutinazione e forse anche l'adesione dei *Fusobacterium* alle cellule epiteliali orali, ai fibroblasti gengivali ed ai leucociti, è legata alla formazione di un ponte tra una glicoproteina della superficie batterica ed un sito contenente galattosio posto sulle membrane cellulari.

La glicoproteina corrispondente al sito emoagglutinante si trova in stretta vicinanza del determinante antigenico principale, per cui un eventuale blocco anticorpale risulta efficace verso quasi tutte le maggiori proprietà biologiche del *Fusobacterium*.

Ancora in discussione, e comunque non dimostrata direttamente, è la capacità del *F. nucleatum* di elaborare una tossina anti-granulociti PMN che ne impedisca l'attività fagocitaria. E' stato finora possibile evidenziarla sperimentalmente in un solo ceppo della famiglia, il *F. necrophorum*. Fino a non molti anni or sono si riteneva che questo ceppo batterico facesse parte della flora orale dei Primati ma non di quella umana; gli studi più recenti ne hanno però dimostrato la presenza anche nel cavo orale dell'uomo, con particolare predilezione per le tasche parodontali profonde (Topoll e coll. 1990) (22). Vediamo infine brevemente la posizione dei *Fusobacterium* rispetto ad un'altra importante proprietà quale l'attività fibrinolitica e fibrinogenolitica. La possibilità di scindere fibrina e fibrinogeno rappresenta un importante fattore di penetrazione e quindi di patogenicità.

Lo studio di Wikstrom, Dahlen e Linde del 1983 (23), evidenzia in proposito discrete capacità da parte dei *Fusobacterium* di agire in senso fibrinogenolitico; minore risulta invece l'attività fibrinolitica.

Peptostreptococcus

I batteri del gruppo *Peptostreptococcus* rap-

presentano una delle componenti di più frequente riscontro nell'ambito della flora microbica dei canali radicolari e delle camere pulpari. Estremamente indicativi in proposito sono gli studi di Wittgow e Sabiston (24) e di Zawistoski e coll. (25), già illustrati in un precedente lavoro (1), al quale rimandiamo per una più attenta analisi dei dati. Anche nelle flogosi periapicali acute si sono dimostrati importanti; il loro ruolo nella genesi di infezioni purulente è d'altronde ben documentato sperimentalmente.

Una ricerca di Sundqvist e coll. del 1979 (4) analizza le diverse reazioni patologiche ottenute inoculando diverse combinazioni batteriche nel tessuto sottocutaneo di Guinea pigs. Si notò che le combinazioni di batteri provenienti da denti che presentavano una sintomatologia clinica al momento del prelievo, riuscivano quasi sempre (6 su 7) a determinare infezioni sottocutanee purulente, trasmissibili per almeno quattro volte trasferendo l'inoculo da un animale all'altro. In tutte le combinazioni maggiormente patologiche e dimostrate capaci di determinare infezioni trasmissibili, veniva riscontrata la presenza di *Peptostreptococcus*.

Si tratta di un gruppo di batteri Gram+, anaerobi obbligati, non dotati di motilità; presentano forma di cocchi disposti a coppie od in catene di lunghezza variabile.

La coltura richiede stretta anaerobiosi anche se eccezionalmente, mantenuti in coltura per molto tempo, alcuni ceppi hanno dimostrato un aumento della tolleranza all'O₂. Sono morfologicamente piuttosto simili ad un altro gruppo di cocchi Gram+ anaerobi, i *Peptococcus*, dai quali si differenziano mediante il test di sensibilità alla novobiocina. Fanno parte della flora saprofita della cute, dell'apparato genitale femminile, del tubo gastroenterico, delle prime vie respiratorie e della cavità orale, dove occupano soprattutto il solco gengivale.

Affinché i *Peptostreptococcus* possano risultare patogeni si richiedono condizioni di anaerobiosi e presenza di flora mista, il che ne limita in genere l'azione patogena. Possono comunque essere coinvolti in peritoniti, sepsi puerperali, infezioni polmonari di tipo suppurativo acute e croniche ed infezioni endometriali. Per quanto riguarda la patologia di interesse stomatologico, possono

entrare nell'eziologia di sinusiti mascellari, gengiviti e stomatiti di tipo ulcero-necrotico, osteomieliti mandibolari, necrosi pulpari, infezioni cavarali e periodontiti apicali croniche, ascessi periapicali ed alveolari.

Tra i vari ceppi di *Peptostreptococcus* finora isolati e classificati, numerosi sono quelli presenti a livello orale; tra questi ne sono stati identificati 6 quali possibili patogeni presenti nelle infezioni endodontiche: *P. magnus*, *P. anaerobius*, *P. asaccharolyticus*, *P. productus*, *P. micros*, *P. parvulus*.

La colonizzazione della cavità orale da parte dei *Peptostreptococcus* è un evento piuttosto precoce, spesso antecedente all'eruzione dentale: sono infatti presenti in percentuali elevatissime già nei bambini di 5/6 mesi.

Una caratteristica comune a tutti i ceppi di *Peptostreptococcus* è la capacità di produrre collagenasi (Keudell e Conte 1976) (26), enzima proteolitico di notevole importanza nella diffusione delle infezioni batteriche all'interno dei tessuti. Detta proprietà, nell'ambito dei germi saprofiti dell'uomo, è comune solo ad altre due specie: *Bacteroides* e *Peptococcus*.

Da ricordare inoltre la capacità di produrre ialuronidasi, dotata tra l'altro di proprietà antigeniche ed in grado quindi di stimolare la risposta immune.

L'attività fibrinolitica e fibrinogenolitica è di grado intermedio; alcuni ceppi di *P. intermedius* sono dotati di sola attività fibrinolitica, altri di entrambe le azioni, mentre altri ceppi si dimostrano inattivi sia verso la fibrina che verso il suo precursore.

Veillonella

Pur essendo un germe isolato con frequenza minore rispetto a quelli visti in precedenza, la *Veillonella* riveste comunque un ruolo abbastanza importante nelle infezioni canalari. Ciò in considerazione sia dei particolari rapporti ecologici dell'ambiente canalare, che delle caratteristiche intrinseche di questo germe.

Le *Veillonelle* sono piccoli cocchi Gram-, immobili e strettamente anaerobi. Fanno parte della flora residente della cavità orale, delle vie respiratorie e del tubo digerente. La colonizzazione del cavo orale avviene molto precocemente; le *Veillonelle* sono sempre dimostrabili nei neonati di una setti-

mana e talvolta sono già presenti dopo i primi due giorni di vita.

I ceppi isolati a livello orale sono due: *V. parvula* e *V. alcalescens*.

Sebbene costituiscano una famiglia scarsamente patogena, sono stati isolati in lesioni di tipo ascessuale a livello dei polmoni, delle cripte tonsillari e dell'appendice vermiforme. L'isolamento avviene sempre da infezioni di tipo misto, con la partecipazione di varie specie di anaerobi obbligati. Ciò è stato evidenziato anche a livello orale nelle malattie parodontali e pulpo-periapicali.

Uno dei fattori fondamentali attraverso cui si esplica l'azione patogena delle *Veillonelle* è rappresentato, come per tutti i Gram-, dal lipopolisaccaride della parete cellulare. Questo si è dimostrato piuttosto efficace nel determinare l'attivazione del complemento, principalmente attraverso la via classica (Nygren e coll. 1979) (27).

Un interessante lavoro di Dahlen e Bergholtz del 1980 (28) studia tra l'altro il grado di attività endotossica dei diversi LPS dei più importanti ceppi batterici anaerobi Gram- della cavità orale.

Da esso risulta che l'attività endotossica più elevata è quella di *Veillonella parvula*, superiore anche a quella di *E. coli* e *F. nucleatum*. Questo dato veniva in seguito confermato anche *in vivo* mediante la determinazione dell'attività endotossica del contenuto di alcuni canali infetti; i valori più elevati si ottennero nei casi in cui era presente *Veillonella parvula*.

L'analisi chimica dell'LPS di *V. parvula* ha evidenziato il contenuto piuttosto basso in proteine e zuccheri e abbastanza elevato in acidi grassi a lunga catena. La principale componente endotossica, il lipide A, ha mostrato caratteristiche simili a quelle di *F. nucleatum* per quanto riguarda i legami tra disaccaridi della glucosamina ed acidi grassi (Dahlen e Mattsby-Blatzer) (29).

Tuttavia, per quanto concerne i rapporti di attività endotossica tra *V. parvula* e *F. nucleatum*, i dati delle ricerche sono tra loro leggermente discordanti.

I risultati appena citati del lavoro di Dahlen e Bergholtz non trovano accordo con quanto emerge da un lavoro del 1983 dello stesso Dahlen che segnala una maggiore attività endotossica da parte del lipide A di *F. nucleatum* rispetto a quello di *V. parvula* (le sottospecie utilizzate sono le stesse del lavoro precedente cioè *F. nucleatum* FUS MC-8 e *V. parvula* VEIL-H3). La conclusione che si potrebbe trarre è che altre strutture all'interno dell'LPS batterico oltre al lipide A, sarebbero responsabili di attività endotossica, dette strutture risulterebbero più rappresentate o maggiormente attive in *V. parvula* rispetto a *F. nucleatum*.

Si tratta comunque di un'ipotesi al momento del tutto speculativa non essendo a disposizione in proposito dati scientifici precisi.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - Accorsi S, Lavagnoli G, Frigeri S, Fiamminghi L. Significato della flora batterica nell'eziologia delle periodontiti apicali: aspetti qualitativi, quantitativi e topografici. *G It Endo* 1990; in pubblicazione.
- 2 - Haapsalo M, Ranta H, Ranta K, Shah H. Black-pigmented *Bacteroides* sp. in human apical periodontitis. *Infect Immun* 1986; 53: 149-53
- 3 - Griffie MB, Patterson SS, Miller CH, Kafrani AH, Newton CW. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1980; 50: 457-61
- 4 - Sundqvist G, Echerbom MI, Larsson AP, Syggen UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. *Infect Immun* 1979; 25: 685-93
- 5 - Haapasalo M. *Bacteroides* sp. in dental root canal infections. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5: 1-10
- 6 - Mattison GD, Haddix JE, Kehoe JC, Prokulsche-Fox A. The effect of *Eikenella corrodens* endotoxin on periapical bone. *J Endod* 1987; 13: 559-65
- 7 - Finegold SM, Bernes EM. Report of ICSB Taxonomic Subcommittee on Gram-negative anaerobic rods. *Int J Syst Bact* 1977; 27: 388-91
- 8 - Van Steenberghe JM, Vlaanderen CA, Degraaf J. Confirmation of *B. gingivalis* as a species distinct from *Bacteroides Asaccharolyticus*. *Int J Syst Bact* 1981; 31: 236-41
- 9 - Van Steenberghe JM, Van Winkelhoff AJ, Mayrand D, Grenier D, De Graaf J. *Bacteroides endodontalis* Sp. nov. an asaccharolytic B-P *Bacteroides* species from infected dental root canals. *Int J Syst Bact* 1984; 34: 118-20
- 10 - Van Winkelhoff AJ, Van Steenberghe JM, Kippuw N, De Graaf J. Further characterization of *B. endodontalis*, an asaccharolytic B-P *Bacteroides* species from the oral cavity. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 75-9
- 11 - Holdeman LV, Johnson JL. Description of *Bact. Loescheii* Sp. nov. and emendation to description of *B. melaninogenicus* and *B. denticola*. *Int J. Syst Bact* 1981; 31: 399-409
- 12 - Johnson JL, Holdeman LV. *Bact. intermedius* comb. nov. and descriptions of *B. corporis* and *B. levii* Sp. nov. *Int J Syst Bact* 1983; 33: 15-25
- 13 - Shah HN, Collins MD. Proposals for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. *Int J Syst Bact* 1988; 38: 128-31
- 14 - Haapsalo M, Ranta H, Shah H, Ranta K, Lounatmaa K, Kroppenstedt R M. *Mitsoukella dentalis* Sp. nov. from dental root canals. *Int J Syst Bact* 1986; 36: 566-8
- 15 - Jin K, Barua PK, Zambon JJ, Neiders ME. Proteolytic activity in black-pigmented *Bacteroides* species. *J Endod* 1989; 15: 463-7
- 16 - Sundqvist G, Carlsson J, Hanstrom L. Collagenolytic activity of black-pigmented *Bacteroides* species. *J Period Res* 1987; 22: 300-6
- 17 - Rotstein OD, Pruet TL, Fiegel VD, Nelson RD, Simmons RL. Succinic acid, a metabolic by-product of *Bacteroides* species, inhibits polymorphonuclear leukocyte function. *Infect Immun* 1985; 48: 402-8
- 18 - Dahlen G, Magnusson BC, Moller AJR. Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Macaca fascicularis*. *Arch Oral Biol* 1981; 26: 591-8
- 19 - Mergenhagen SE, Hampp EG, Scherp HW. Preparation and biological activities of endotoxins from oral bacteria. *J Infect Dis* 1961; 108: 304
- 20 - Horiba N, Maekawa Y, Abe Y, Ito M, Matsumoto T, Nakamura H, Ozeki M. Cytotoxicity against various cell lines of lipopolysaccharides purified from *Bacteroides*, *Fusobacterium* and *Veillonella* isolated from infected root canals. *J Endod* 1989; 15: 530-9
- 21 - Falker WA, Martin SA, Tolba M, Siegel MA, Mackler BF. Reaction of pulpal immunoglobulins to oral microorganisms by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Endod* 1987; 13: 260-6
- 22 - Topoll HH, Lange DE, Muller RF. Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *J Clin Period* 1990; 17: 268-72
- 23 - Wikstrom MB, Dahlen G, Linde A. Fibrinogenolytic activity in oral microorganisms. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 759-67
- 24 - Wittgow W, Sabiston CB. Microorganisms from pulpal chambers of intact teeth with necrotic pulps. *J Endod* 1975; 1: 168-71
- 25 - Zavistoski J, Dzink JA, Onderdonk A, Bartlett J. Quantitative bacteriology of endodontic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1980; 49: 171-4
- 26 - Keudell K, Conte M. Enzymes of microbial isolates from, infected pulp chambers - a preliminary report. *J Endod* 1976; 2: 217-9
- 27 - Nygren H, Dahlen G, Nilsson L. Human complement activation by lipopolysaccharides from *Bacteroides oralis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella parvula*. *Infect Immun* 1979; 26: 391-96
- 28 - Dahlen G, Bergenholtz G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. *J Dent Res* 1980; 59: 1033-40
- 29 - Dahlen G, Mattsby-Blatzer. Lipid A in Anaerobic bacteria. *Infect Immun* 1983; 39: 466-8