



INFORMAZIONI
PER PROFESSIONISTI
DEL SETTORE DENTALE

Diagnosi precoce della parodontite & progressione

Analisi del microbioma orale
prima e durante la malattia parodontale

Il presente documento fornisce chiarimenti sulle basi scientifiche e sulle tecniche dell'analisi del microbioma orale mediante sequenziamento NGS e sul loro contributo alla terapia ed alla prevenzione della parodontite.

La ricerca si basa sulla presenza di disbiosi sottogengivale e di strutture caratteristiche del microbioma quali principali cause delle patologie parodontali. Al giorno d'oggi, nuovi metodi di biologia molecolare come la tecnologia NGS permettono di effettuare un'analisi precisa della flora sottogengivale specifica del paziente, consentendo di adottare misure terapeutiche per un trattamento personalizzato ed ottimizzato.

Indice

Parodontite. Conseguenza della disbiosi del microbioma orale	03
Microbioma sano o malato. Strutture caratteristiche del microbioma orale	04
Effetti della terapia parodontale sul microbioma orale	06
Perché PadoBiom [®] è innovativo?	07
Come funziona PadoBiom [®] ?	08
Antibiotici: sì o no?	10
Quali sono i vantaggi di PadoBiom [®] per gli studi dentistici?	11
Quali sono i vantaggi di PadoBiom [®] per i pazienti?	11
Bibliografia	12

Parodontite

Conseguenza della disbiosi del microbioma orale

Gli studi scientifici concordano pienamente sul fatto che la causa principale delle patologie parodontali è di origine batterica. Nel corso del tempo, tuttavia, le ipotesi sull'eziopatogenesi della malattia sono profondamente cambiate. In passato, alcune ipotesi sostenevano che l'aumento della presenza di un gruppo di specie batteriche particolarmente patogene, i cosiddetti batteri chiave, fosse il fattore determinante che innescava una risposta immunitaria infiammatoria con la conseguente distruzione del parodonto^[9].

Oggi, invece, prevale l'approccio olistico secondo il quale un equilibrio disturbato dell'intera flora sottogengivale è responsabile dello sviluppo delle patologie parodontali^[2,6]. Si ritiene che il disequilibrio microbiologico del microbioma orale sia il principale fattore di rischio per lo sviluppo e la progressione delle patologie parodontali, nel senso che l'entità della disbiosi determina il livello della risposta infiammatoria e quindi la progressione prevedibile della malattia^[8].

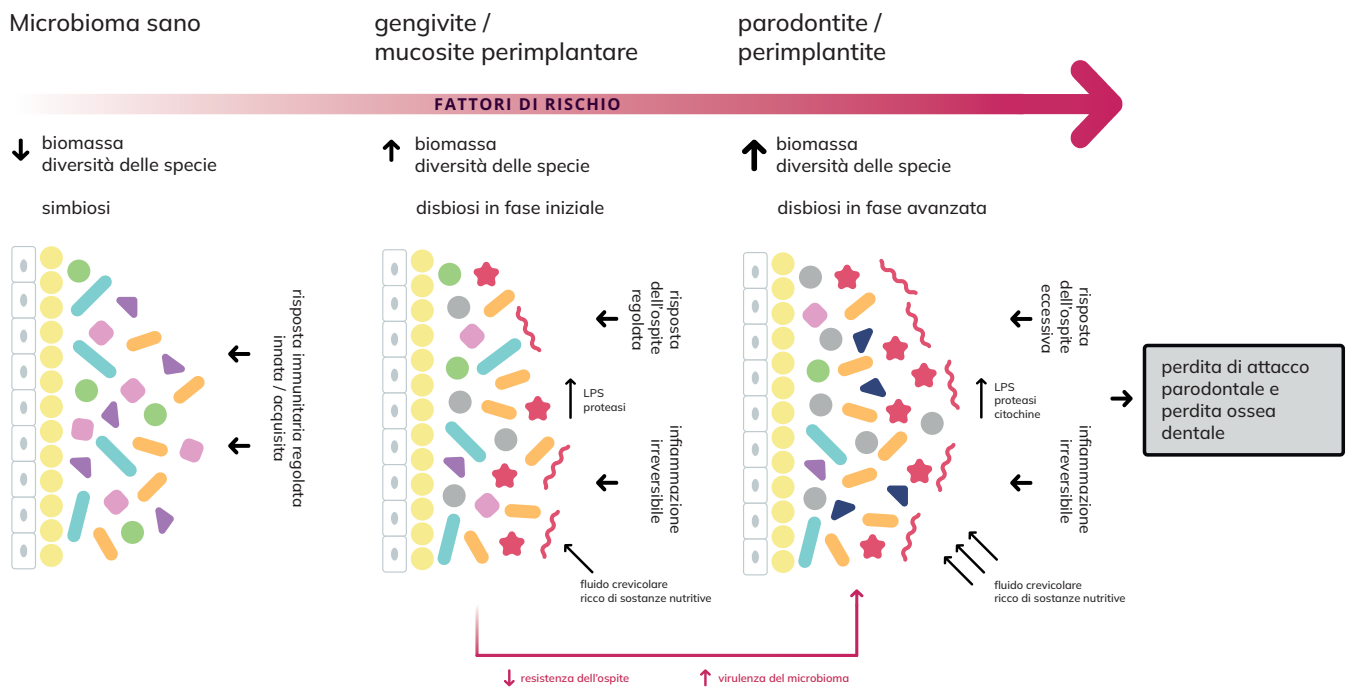


Figura 1: Mutamenti del microbioma sottogengivale nel corso della patologia parodontale. In un parodonto sano prevalgono i simbiotici e la risposta dell'ospite è regolata. Dall'accumulo di placca deriva un'infiammazione cronica maggiore seppur limitata, la quale a sua volta favorisce la comparsa di batteri identificati come parodontopatogeni. Con la progressione della malattia, si instaura una disbiosi caratterizzata dalla prevalenza di specie batteriche associate alla parodontite. Il microbiota disbiotico promuove un aumento della risposta immuno-infiammatoria, con conseguente perdita del parodonto.

Fonte: Columbo & Tanner, 2019

Microbioma sano o malato

Strutture caratteristiche del microbioma orale

Sulla base degli studi di Diaz^[2] e Columbo & Tanner^[1], il microbioma orale può essere suddiviso in tre categorie principali: specie associate alla salute orale, specie associate alla parodontite e specie comuni, presenti sia in soggetti sani che affetti da patologie parodontali. Le specie batteriche appartenenti alle singole categorie sono conosciute e censite: le loro sequenze di DNA sono disponibili nel database del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

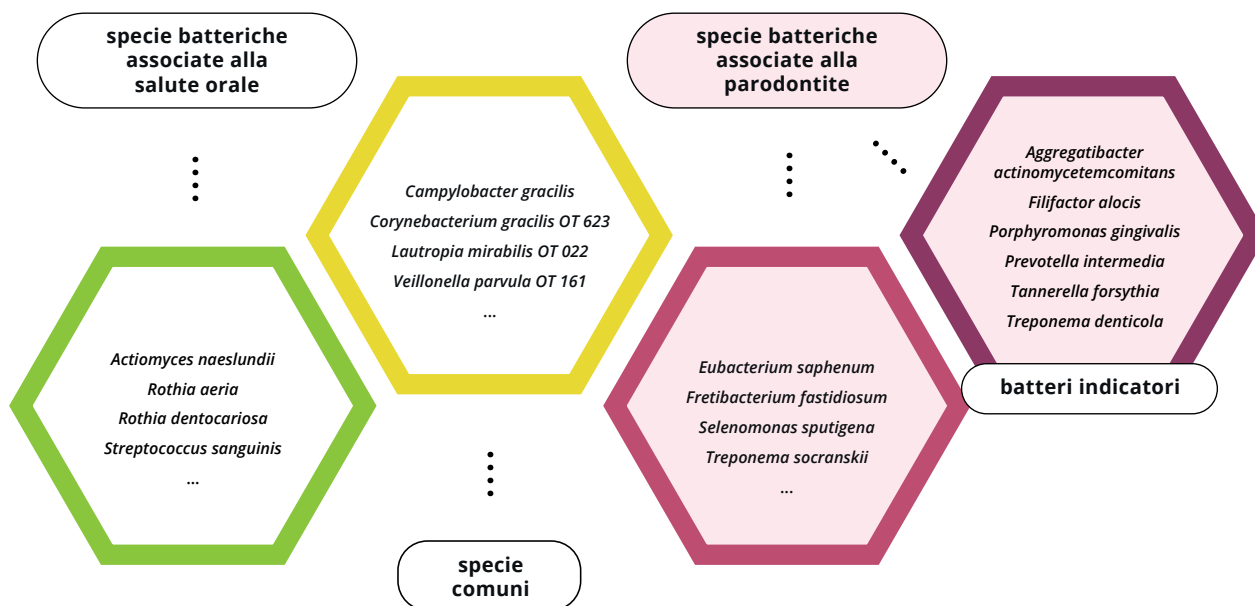
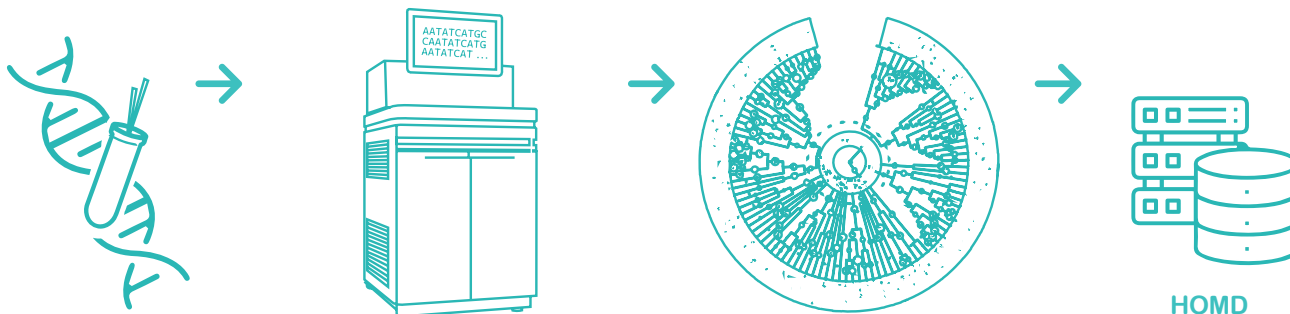


Figura 2: Gruppi di batteri del microbioma sottogengivale in soggetti con parodonto sano e in soggetti affetti da parodontite.

Vantaggi della tecnologia NGS per l'analisi del microbioma

Diversamente dai metodi di biologia molecolare utilizzati in passato per l'analisi della flora sottogengivale, la tecnologia Next Generation Sequencing è in grado di sequenziare simultaneamente ed in modo automatizzato un gran numero di molecole di DNA e di confrontarle con le sequenze di DNA del database di riferimento. Se in passato era possibile rilevare solo singoli batteri indicatori, i metodi basati sulle nuove tecnologie NGS permettono di analizzare tutti i batteri presenti nel campione di un paziente. Nell'ambito del "Human Microbiome Project", il microbioma orale è stato completamente decodificato e le sequenze geniche degli oltre 700 taxa batterici identificati sono state registrate nel "Human Oral Microbiome Database" (HOMD), liberamente accessibile.



Quota di gruppi di batteri nella biomassa sottogengivale

Utilizzando la tecnologia NGS si sono comparate le strutture del microbioma rilevate in soggetti sani e pazienti affetti da parodontite, dimostrando che la loro flora sottogengivale presenta una composizione fondamentale-

mente diversa^[7]. Da uno studio di Kirst et al.^[7] è emersa una quantità crescente di filotipi batterici a seconda del quadro clinico. Mentre nella flora sottogengivale del parodonto sano prevalgono Actinobacteria e Firmicutes, nel solco gengivale di soggetti affetti da parodontite sono presenti soprattutto anaerobi gram-negativi come Fusobacteria, generi Porphyromonas, Prevotella e Spirochete.

Inoltre, mentre il parodonto sano e simbiotico è caratterizzato da una predominanza di batteri aerobici gram-positivi associati alla salute, nel corso della progressione del parodonto tali batteri vengono gradualmente sostituiti da specie gram-negative ed anaerobiche associate alla patologia^[2].

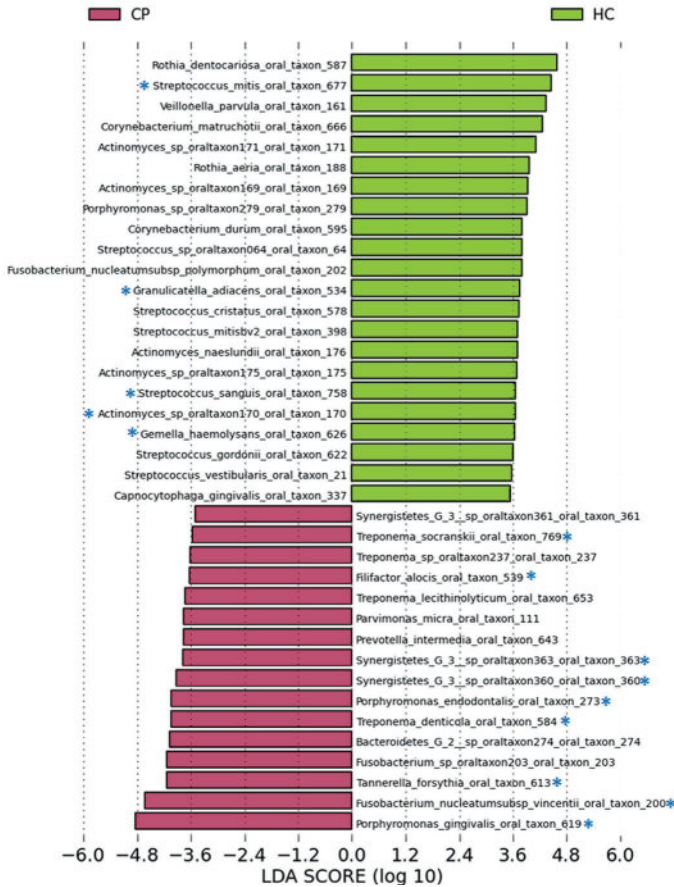
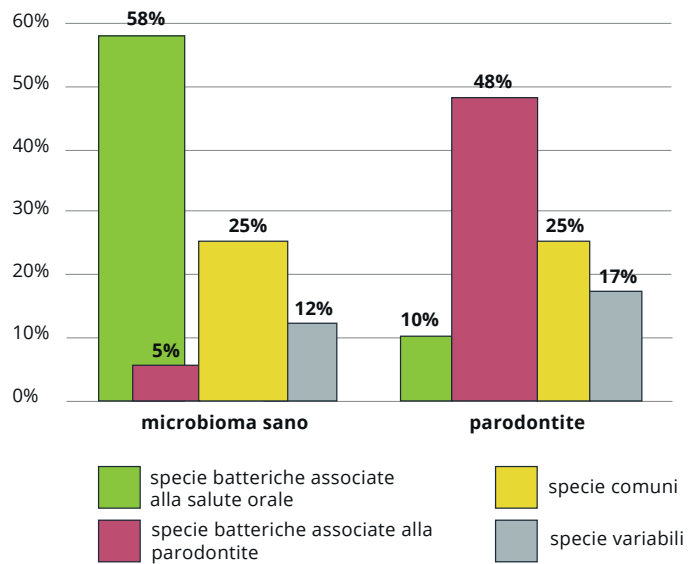


Figura 3: Presenza diversa di filotipi batterici: taxa batterici maggiormente presenti nei siti sani, rappresentati in verde, e taxa batterici maggiormente presenti nei siti parodontali, rappresentati in rosso (fonte: Kirst et al.^[7]).

Impiegando il sequenziamento del gene 16S rRNA, Diaz et al.^[2] hanno dimostrato che la carica batterica totale nel solco gengivale aumenta di 3 livelli log al progredire della patologia.

Questo è dovuto principalmente all'aumento superiore alla media di specie batteriche associate alla patologia parodontale, che costituiscono quasi il 50% della flora sottogengivale dei pazienti affetti da patologia parodontale. Il rapporto tra taxa associati alla salute e taxa associati alla malattia cambia significativamente durante lo sviluppo della parodontite ed è un indicatore dell'entità della disbiosi sottogengivale.

Figura 4: Cambiamenti nella composizione del microbioma orale nel parodonto sano (sinistra) rispetto a quello affetto da parodontite (destra), visualizzati in percentuale di ciascun gruppo che costituisce la biomassa sottogengivale (figura basata sulla fonte Diaz et al.^[2]).



Effetti della terapia parodontale sul microbioma orale

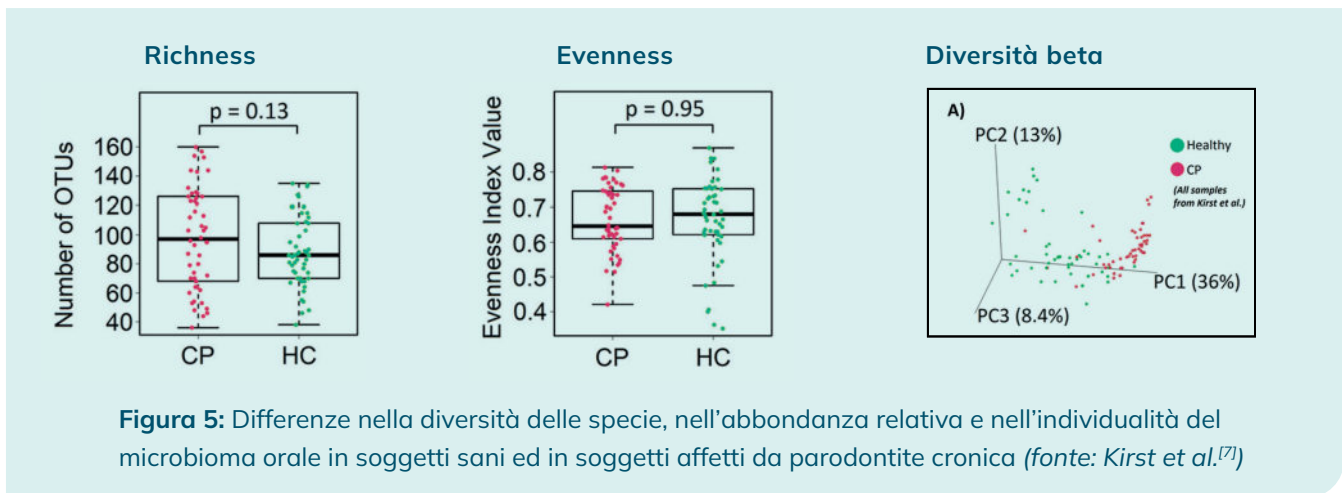
Dagli studi di Kirst et al.^[7] e di Hagenfeld^[3] risulta che i parametri di richness ed evenness utilizzati per valutare il microbioma differiscono in maniera significativa tra i soggetti dal parodonto sano e quelli affetti da patologia parodontale. D'altra parte, in questi ultimi soggetti tali parametri possono essere migliorati in modo significativo con una terapia parodontale efficace mirata a ristabilire la simbiosi.

Diversità alfa = stato del microbioma

- *Richness*: ricchezza di specie, numero di specie batteriche diverse
- *Evenness*: frequenza relativa, equiripartizione

Diversità beta = individualità, differenza tra il numero di specie di organismi

- » calcolo di un indice del microbioma per interpretare i risultati



La ricchezza di specie (richness) del microbioma aumenta quindi durante lo sviluppo della parodontite, in quanto un maggior numero di specie batteriche associate alla parodontite colonizza il solco gengivale. Contemporaneamente, diminuisce l'equiripartizione (evenness) in quanto il microbioma di pazienti affetti da patologie parodontali è sempre più dominato da singole specie.

Ne consegue che con la progressione della malattia diminuisce anche la diversità beta, in quanto la predominanza di specie associate alla parodontite rende i microbiomi dei soggetti malati sempre più simili tra loro.

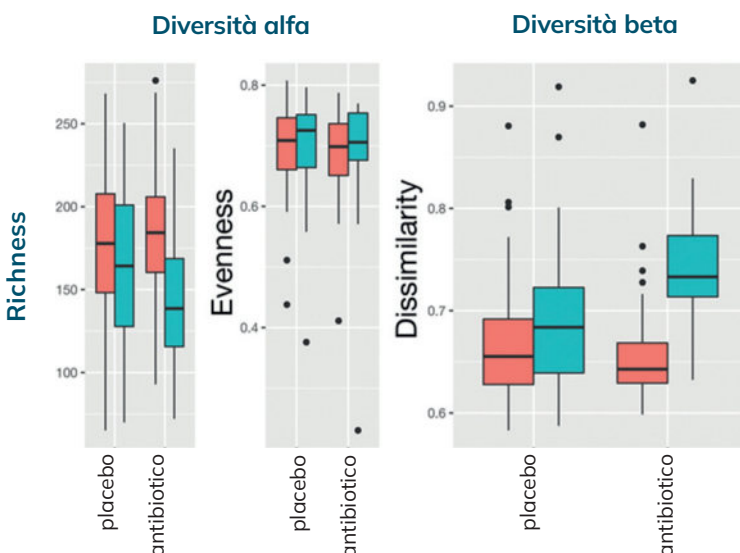


Figura 6: Effetti della terapia parodontale sugli indici di diversità del microbioma orale prima del trattamento (rosso) e due mesi dopo (turchese). La somministrazione aggiuntiva di un antibiotico sistemico porta ad un significativo miglioramento della composizione del microbioma^[3].

Perché PadoBiom® è innovativo?

Ottenere il vantaggio decisivo

PadoBiom® analizza e valuta il microbioma parodontale ed il suo equilibrio utilizzando la tecnologia Next Generation Sequencing. Diversamente dall'esame dei singoli batteri patogeni, questo metodo consente di effettuare una **valutazione completa e precoce** della parodontite in via di sviluppo. L'indice di disbiosi, l'**identificazione**

dei pazienti a rischio, la valutazione di parametri chiave e l'analisi dei geni di resistenza agli antibiotici permettono di ottenere un quadro completo su cui si basano delle raccomandazioni in grado di ottimizzare le tempistiche del trattamento e la relativa programmazione per lo studio dentistico.



Diagnosticare precocemente la disbiosi per avviare tempestivamente le misure profilattiche



Arrestare la progressione della parodontite grazie all'inizio tempestivo del trattamento



Utilizzare i test diagnostici come strumento di qualità e per fidelizzare i pazienti



Identificare i pazienti ad alto rischio di progressione della patologia, garantire il trattamento adiuvante (con antibiotici)

Avvalendosi di analisi statistiche comparative, **PadoBiom®** può anche identificare i pazienti per i quali, a causa della loro flora sottogengivale, si può prevedere una rapida progressione della patologia e che, di conseguenza, traggono beneficio da misure terapeutiche particolarmente intensive e da un costante monitoraggio.

Le raccomandazioni che risultano dall'analisi consistono nella classificazione in una di tre categorie, che suggeriscono le misure da adottare nell'ambito dei trattamenti odontoiatrici riconosciuti.

Pertanto, grazie a PadoBiom® per la prima volta è possibile decidere tempestivamente quali pazienti devono passare dal normale controllo periodico alla profilassi o addirittura dalla profilassi alla terapia.

In questo modo si aumenta il successo del trattamento e, se la diagnosi è precoce, si può evitare la necessità di una terapia.



Il metodo innovativo per analizzare le tasche gengivali

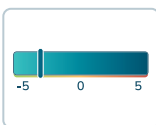
Come funziona PadoBiom®?

Informazioni per i professionisti del settore dentale

Obiettivo: risultati utili per fornire raccomandazioni per la pratica clinica

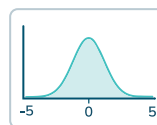
Partendo dalla valutazione clinica del paziente, l'analisi del microbioma orale basata su diversi indici, come l'indice di disbiosi, la progressione ed altri parametri chiave, consente di formulare raccomandazioni terapeutiche personalizzate che corrispondono alla reale necessità di trattamento del paziente. Tali raccomandazioni vengono attuate tramite misure terapeutiche orientate alla pratica, semplicemente integrabili in piani terapeutici già esistenti.

Indice di disbiosi e progressione *Diagnosi precoce della parodontite ed identificazione dei pazienti a rischio*



Valutare la simbiosi / la disbiosi

Il rapporto tra i batteri associati alla salute e quelli associati alla patologia fornisce l'indice di disbiosi del microbioma orale.



Identificare la progressione

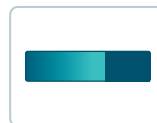
La carica microbica alterata nel confronto statistico permette di adottare una terapia mirata per i pazienti a rischio.

Parametri chiave *Per una valutazione approfondita*



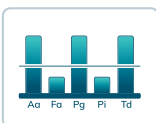
Valutare l'indice di richness

Minore è la ricchezza microbica, migliore è lo stato di salute del microbioma orale.



Valutare l'indice di evenness

La frequenza di singoli batteri consente di valutare l'equilibrio.



Valutare la patogenicità

Individuazione di batteri indicatori che permettono di classificare la patogenicità del microbioma orale.



Determinare i sierotipi di Aa

Identificazione di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sierotipi a-f, e del clone JP2 nella flora sottogengivale per una terapia antibiotica personalizzata.

Geni di resistenza agli antibiotici *Fallimento della terapia causato da batteri*

BETA-LATTAMICI:

positivo

NITROIMIDAZOLI:

negativo

TETRACICLINE:

negativo

CHINOLONI:

negativo

MAKROLIDE:

positivo

Identificare i geni di resistenza

Analisi della presenza di geni di resistenza agli antibiotici relativa a cinque classi di antibiotici rilevanti nel settore odontoiatrico al fine di ottimizzare la terapia antibiotica.

Figure a titolo esemplificativo

Identificare i pazienti “special care”

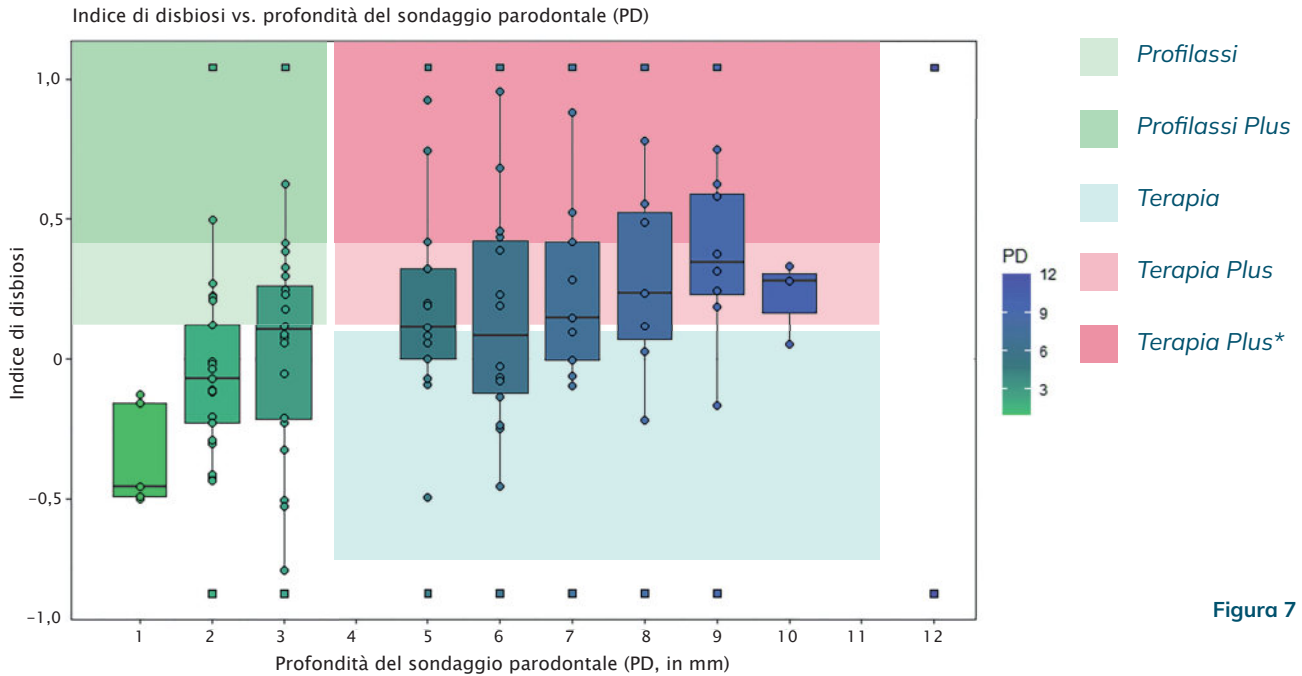


Figura 7

Grazie ad un monitoraggio costante e ad un intervento precoce, i soggetti sani, i pazienti a rischio e quelli affetti da gengivite che si sottopongono a controlli regolari possono prevenire la progressione della patologia ed evitare di dover passare alla terapia parodontale (v. figura 7, verde).

I pazienti affetti da parodontite con disbiosi devono essere sottoposti ad una terapia più intensa per ripristinare una condizione di simbiosi. Soprattutto i soggetti con disbiosi del microbioma superiore alla media corrono un rischio maggiore che la progressione della patologia sia rapida e traggono beneficio dal supporto della terapia strumentale con adiuvanti e da un'assistenza odontoiatrica più frequente (v. figura 7, rosso).

Verificare il grado della malattia

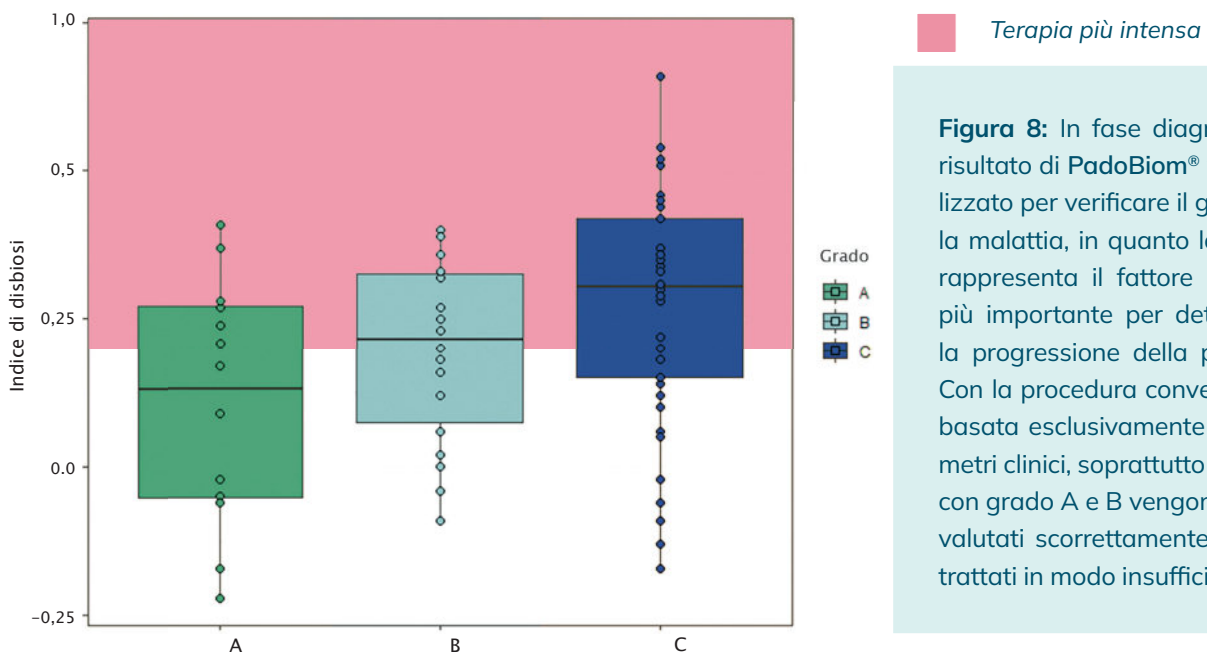
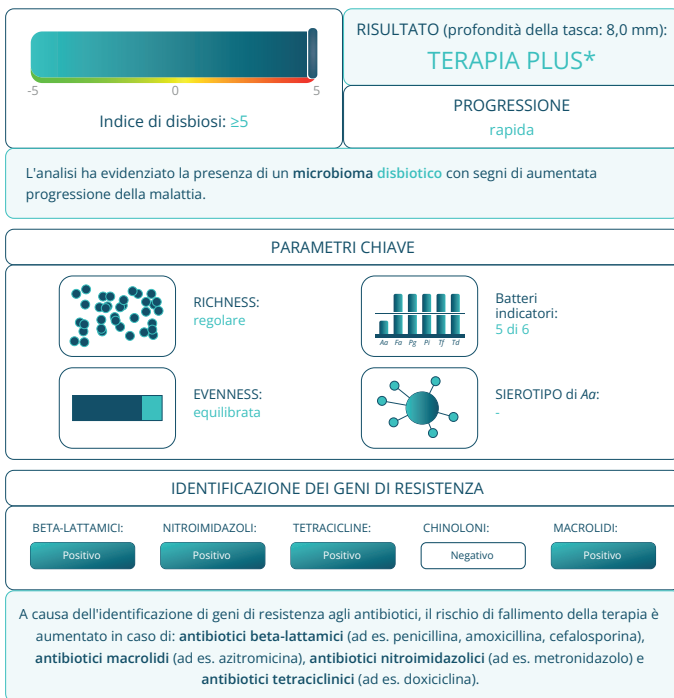


Figura 8: In fase diagnostica, il risultato di PadoBiom® viene utilizzato per verificare il grado della malattia, in quanto la disbiosi rappresenta il fattore predittivo più importante per determinare la progressione della patologia. Con la procedura convenzionale, basata esclusivamente su parametri clinici, soprattutto i pazienti con grado A e B vengono spesso valutati scorrettamente e quindi trattati in modo insufficiente.

Antibiotici: sì o no?

La somministrazione di antibiotici sistemici come terapia adiuvante nella terapia antinfettiva / terapia parodontale chirurgica ...

- ... secondo le linee guida S3 non è raccomandata di routine e deve avvenire solo in caso di forme di parodontite aggressiva caratterizzate da progressione rapida^[5]
- ... dal punto di vista della stewardship antibiotica è indicata solo dopo una diagnosi accurata e con uno spettro il più ristretto possibile
- ... contribuisce a migliorare il microbioma orale^[3]



TERAPIA PLUS*

(pazienti parodontali, disbiosi, progressione rapida)
vedi TERAPIA, con le seguenti aggiunte:

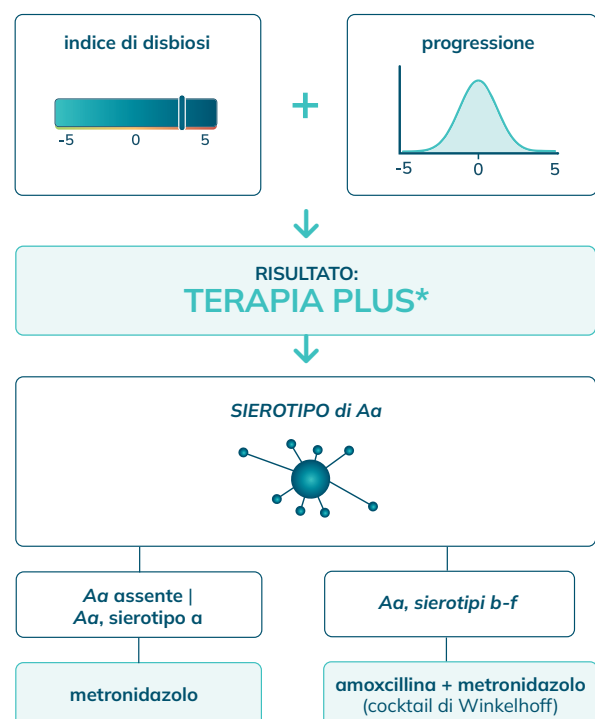
- misure di terapia antinfettiva **con aggiunta raccomandata di adiuvanti / antibiotici**
- in base al quadro clinico, terapia chirurgica parodontale **con aggiunta raccomandata di adiuvanti / antibiotici**
- terapia parodontale di supporto con frequenza massima

PadoBiom® ...








- consiglia l'uso di antibiotici sistemici esclusivamente in caso di disbiosi e di progressione rapida
- basa la scelta del principio attivo sulla diagnosi, tenendo conto dei sierotipi di *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* individuati^[4,10]
- tiene conto della presenza di geni di resistenza ai principi attivi comunemente utilizzati nella terapia parodontale, riducendo così al minimo il rischio di fallimento della terapia e di diffusione di resistenze.

Presenza di geni di resistenza





Con l'uso del principio attivo associato al corrispondente gene di resistenza, sussiste un rischio aumentato di fallimento della terapia. Si raccomanda uno stretto monitoraggio dell'efficacia.



Quali sono i vantaggi di PadoBiom[®] per gli studi dentistici?

 <p>Prevenzione della malattia tramite diagnosi precoce in fase ancora reversibile</p>	 <p>Analisi più completa del quadro clinico</p>	 <p>Piano di trattamento adeguato alla progressione</p>	 <p>Screening della parodontite in pazienti clinicamente sani</p>
 <p>Diagnosi precoce di reinfezioni e monitoraggio di pazienti a rischio</p>	 <p>Aumento del valore aggiunto dello studio dentistico attraverso una pianificazione appropriata</p>	 <p>Migliore qualità del trattamento e soddisfazione dei pazienti grazie ad un maggiore successo della terapia</p>	 <p>Pianificazione della terapia parodontale di supporto basata sul fabbisogno attraverso intervalli adeguati</p>

Quali sono i vantaggi di PadoBiom[®] per i pazienti?

 <p>Prevenzione della parodontite e dello sviluppo di patologie collaterali</p>	 <p>Riduzione dei costi evitando terapie inutili e l'insorgere di malattie parodontali</p>	 <p>Trattamento ottimale e personalizzato</p>
 <p>Conseguimento più rapido e sicuro dell'obiettivo del trattamento</p>	 <p>Aumento della motivazione del paziente attraverso una migliore comprensione della patologia</p>	 <p>Riduzione del rischio di trattamento insufficiente e di somministrazione di antibiotici non necessari</p>

Bibliografia

1. Colombo, A.P.V.; Tanner, A.C.R. (2019): The Role of Bacterial Biofilms in Dental Caries and Periodontal and Peri-implant Diseases: A Historical Perspective. *Journal of Dental Research*, 98: 373-385.
2. Diaz, P.I.; Hoare, A.; Hong, B.Y. (2016): Subgingival microbiome shifts and community dynamics in periodontal diseases. *CDA Journal*, 44(7): 421-435.
3. Hagenfeld, D.; Ehmke, B.; Prior, K. (2021): Das parodontalpathogene Mikrobiom bei Parodontitispatienten. *ZM*, 01-02: 44-49.
4. Jentsch, H.; Cachovan, G.; Guentsch, A.; Eickholz, P.; Pfister, W.; Eick, S. (2012): Characterization of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* strains in periodontitis patients in Germany. *Clinical Oral Investigations*, 16: 1589-1597.
5. Jockel-Schneider, Y.; Pretzl, B.; Ehmke, B.; Schlagenhaut, U. (11/2028): S3-Leitlinie: Adjuvante systemische Antibiotikagabe bei subgingivaler Instrumentierung im Rahmen der systematischen Parodontistherapie. AWMF-Registernummer: 083-029.
6. Kilian, M.; Chapple, I.L.C.; Hannig, M.; Marsh, P.D.; Meuric, V.; Pedersen, A.M.L.; Tonetti, M.S.; Wade, W.G.; Zaura, E.; (2016): The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *British Dental Journal*, 221: 657-666.
7. Kirst, E.; Li, E.C.; Alfant, B.; Chi, Y.-Y.; Walker, C.; Magnusson, I.; Wang, G.P. (2015): Dysbiosis and alterations in predicted functions of the subgingival microbiome in chronic periodontitis. *Appl Environ Microbiol* 81 : 783-793.
8. Lamont, R.J.; Koo, H.; Hajishengallis, G. (2018): The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*, 16(12): 745-759.
9. Socransky, S.S.; Haffajee, A.D.; Cugini, M.A.; Smith, C.; Kent, R.L. (1998): Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(2): 134-144.
10. Umeda, J.E.; Longo, P.L.; Simionato, M.R.L.; Mayer, M.P.A. (2013): Differential transcription of virulence genes in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotypes. *Journal of Oral Microbiology*, 5: 1-8.

PadoBiom®

Il nuovo metodo per la diagnosi
delle tasche gengivali

Ordinate adesso il vostro
kit per il test diagnostico PadoBiom®:

Numero verde gratuito

00800 32 32 62 62

www.institut-iai.ch | www.padobiom.ch