



CONGLOMERADOS BACTERIANOS: BIOFILMS

PROF. ASOCIADO

NORA SILVA STEFFENS

DEPTO DE PATOLOGIA

AREA DE MICROBIOLOGIA

SEMESTRE-PRIMAVERA 2010

MICROBIOTA BUCAL

- *La cavidad bucal en el feto se encuentra libre de microorganismos, estos se instalan a partir del nacimiento.*
- *En la actualidad se han identificado más de 700 especies bacterianas, como integrantes de la microbiota bucal normal.*

MICROBIOTA BUCAL

- *Los microorganismos que residen en la cavidad bucal son componentes críticos del estado de salud-enfermedad.*
- *Es así que la alteración de la biomasa de microorganismos ha sido propuesta como un gatillante o un factor influyente en el curso de las enfermedades orales.*
- *PLoS Pathogens 2010.6: (Issue 1) 1-8*

MICROBIOTA BUCAL

- *La cavidad oral representa un ecosistema que es poblado por organismos fisiológicamente diferentes los cuales coexisten exitosamente gracias a mecanismos adaptativos.*
- *Esta compleja asociación de microorganismos da origen a los “ Biofilms” los que habitualmente proveen la interfase que inicia y perpetua las infecciones.*

- *Periodontology 2000.2010 ;52:53-67*
- *CAN J INFECT DIS.2002; 13(1): 34- 41*

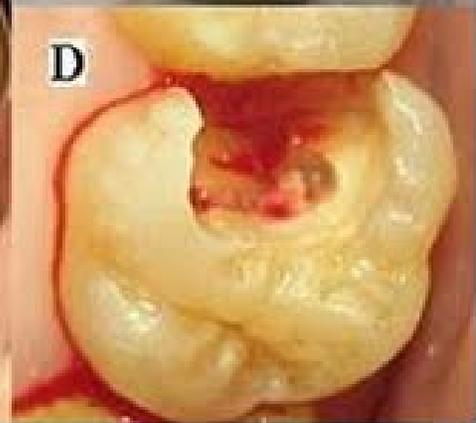
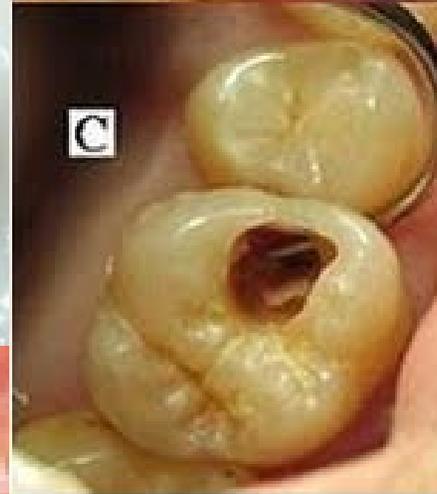
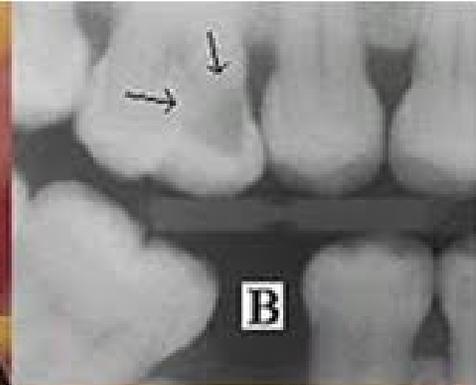
Table 1. Partial list of human infections involving biofilms.

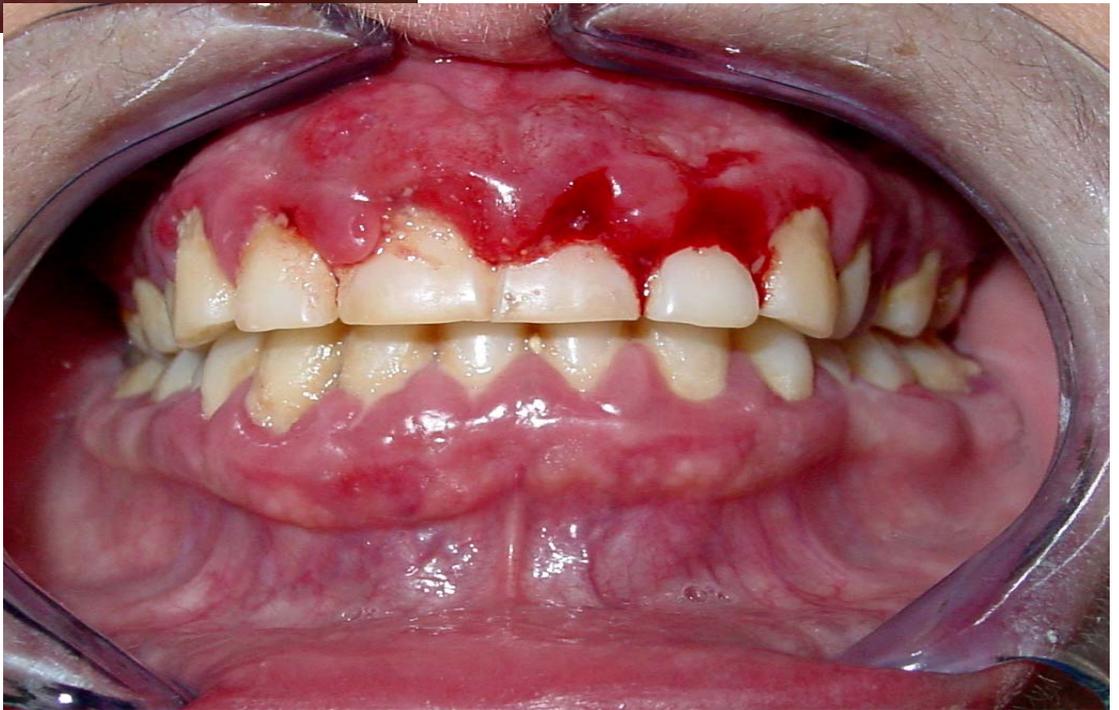
Infection or disease	Common biofilm bacterial species
Dental caries	Acidogenic Gram-positive cocci (e.g., <i>Streptococcus</i>)
Periodontitis	Gram-negative anaerobic oral bacteria
Otitis media	Nontypable strains of <i>Haemophilus influenzae</i>
Musculoskeletal infections	Gram-positive cocci (e.g., staphylococci)
Necrotizing fasciitis	Group A streptococci
Biliary tract infection	Enteric bacteria (e.g., <i>Escherichia coli</i>)
Osteomyelitis	Various bacterial and fungal species—often mixed
Bacterial prostatitis	<i>E. coli</i> and other Gram-negative bacteria
Native valve endocarditis	Viridans group streptococci
Cystic fibrosis pneumonia	<i>P. aeruginosa</i> and <i>Burkholderia cepacia</i>
Meloidosis	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Nosocomial infections	
ICU pneumonia	Gram-negative rods
Sutures	<i>Staphylococcus epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Exit sites	<i>S. epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Arteriovenous shunts	<i>S. epidermidis</i> and <i>S. aureus</i>
Schleral buckles	Gram-positive cocci
Contact lens	<i>P. aeruginosa</i> and Gram-positive cocci
Urinary catheter cystitis	<i>E. coli</i> and other Gram-negative rods
Peritoneal dialysis (CAPD) peritonitis	A variety of bacteria and fungi
IUDs	<i>Actinomyces israelii</i> and many others
Endotracheal tubes	A variety of bacteria and fungi
Hickman catheters	<i>S. epidermidis</i> and <i>C. albicans</i>
Central venous catheters	<i>S. epidermidis</i> and others
Mechanical heart valves	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>
Vascular grafts	Gram-positive cocci
Biliary stent blockage	A variety of enteric bacteria and fungi
Orthopedic devices	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>
Penile prostheses	<i>S. aureus</i> and <i>S. epidermidis</i>

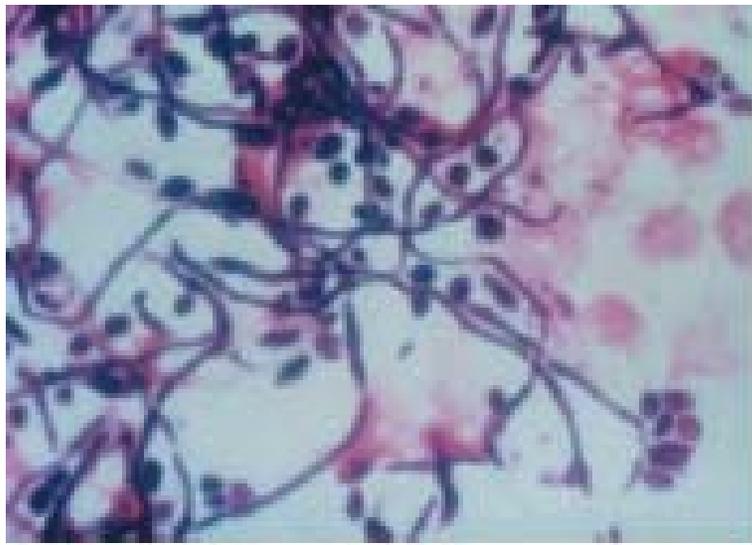
CAVIDAD BUCAL

- *Las infecciones más comunes en la cavidad bucal, como la caries y enfermedad periodontal, así como, las estomatitis por levaduras del género Candida, asociada al uso de prótesis de acrílico, resultan de la formación de “Biofilms”*

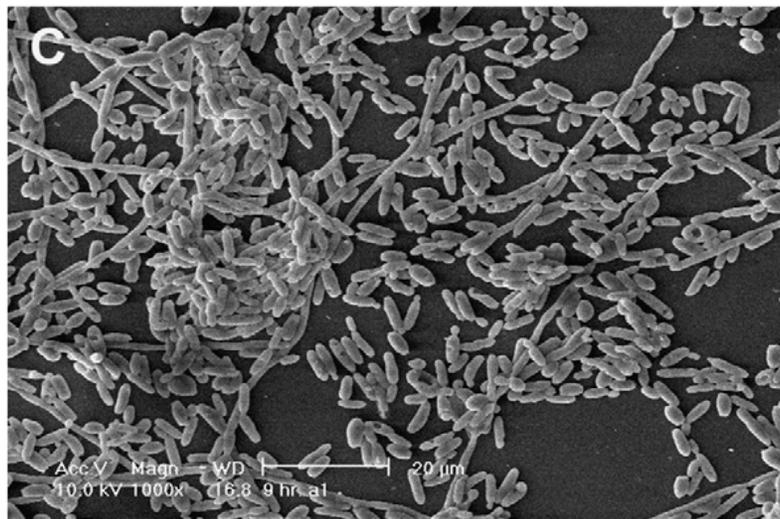
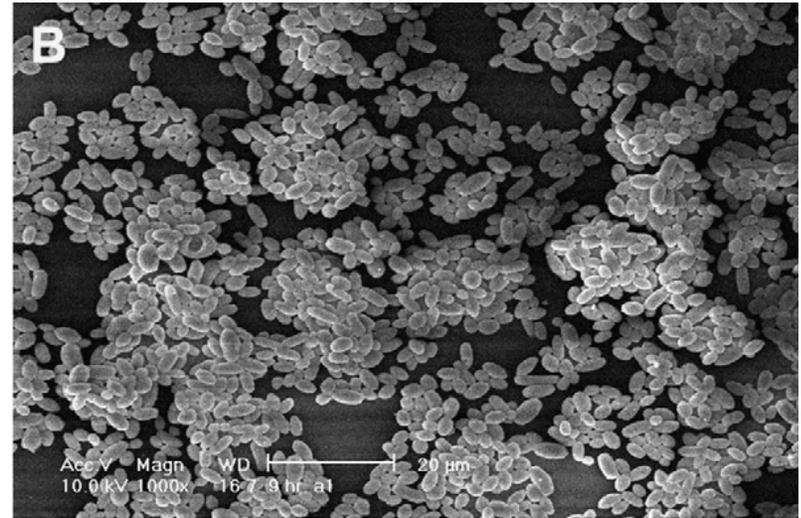
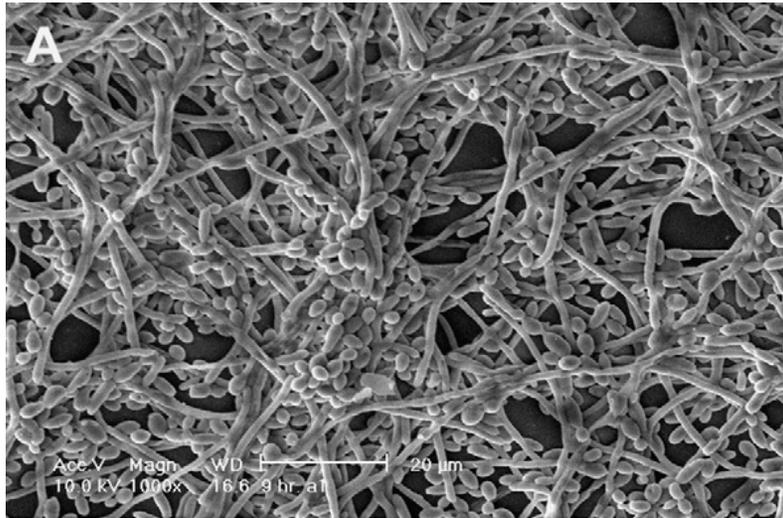




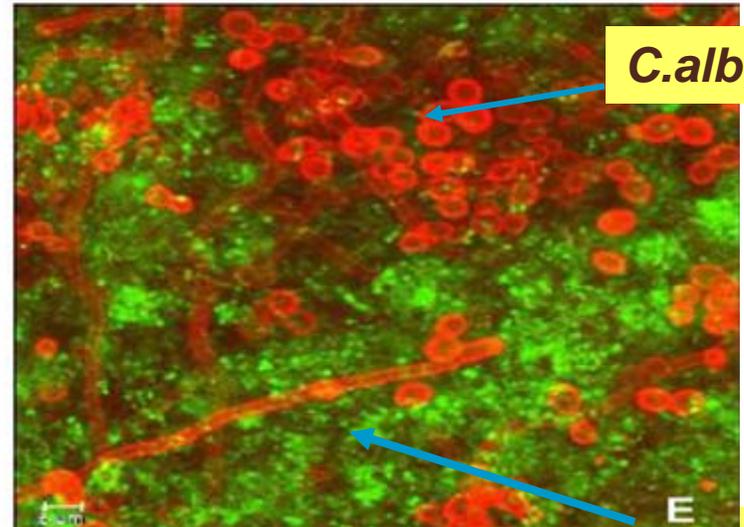
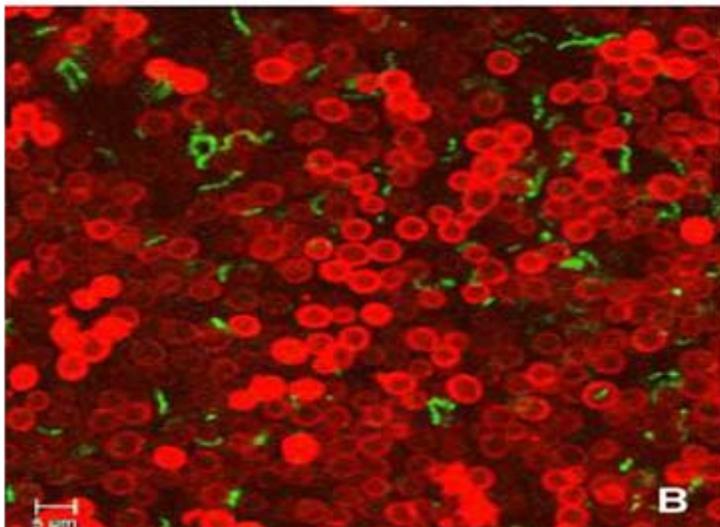
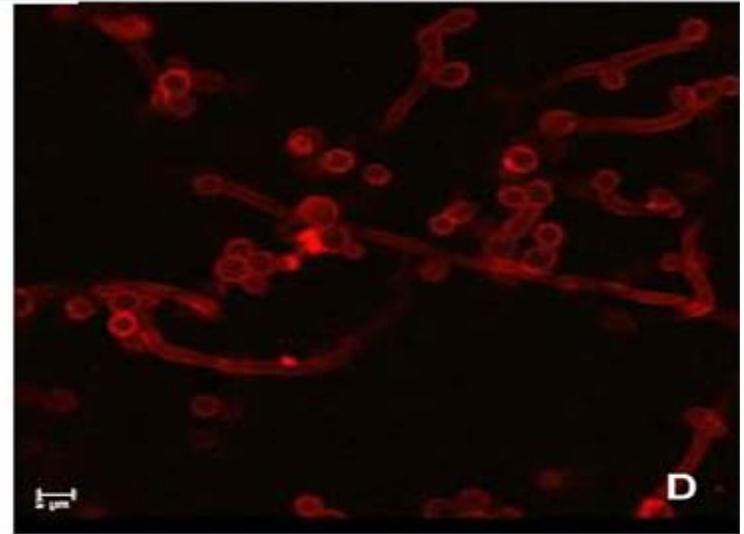
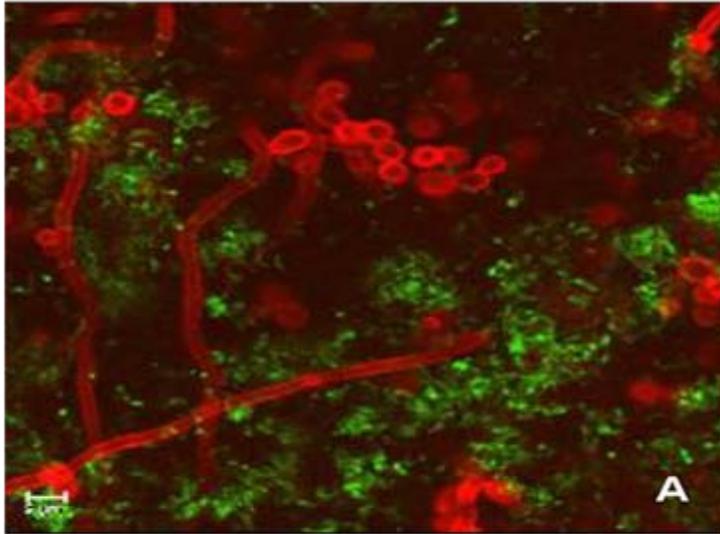




C. albicans, *C. krusei* en superficie de acrílico



C.albicans, S.mutans en biofilms sobre líneas celulares



C.albicans

S.mutans

BIOFILMS

- *Parsek y Singh propusieron 4 criterios para definir que el Biofilm es la causa etiológica del proceso infeccioso.*

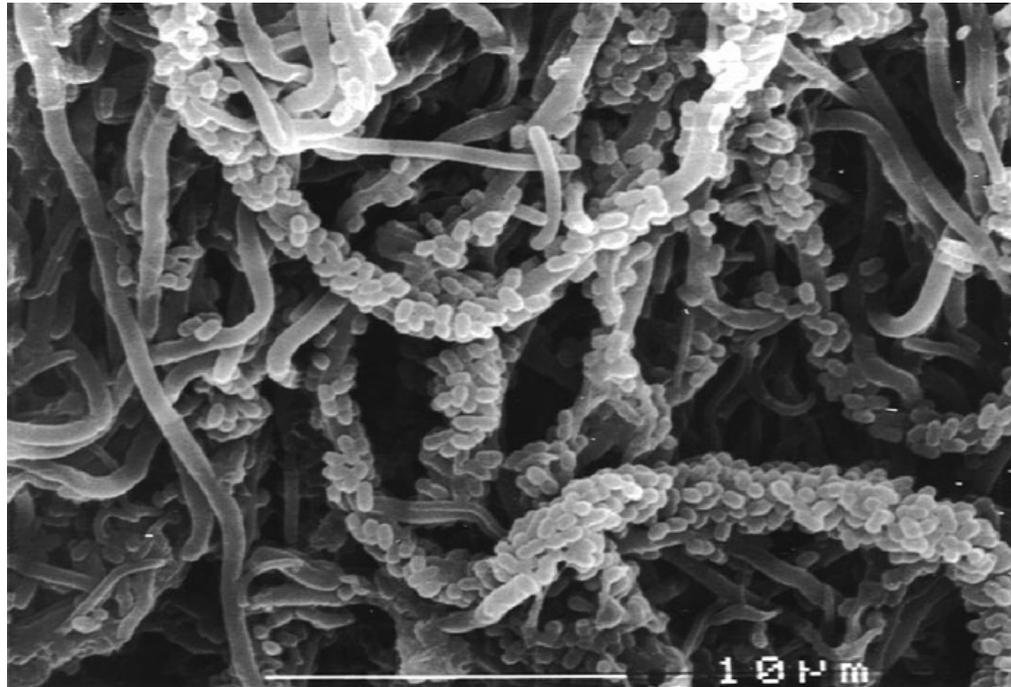
- *ANNU REV. MICROBIOL 2003; 57: 677-701*

BIOFILMS

- *1.-La bacteria patógena se asocia a una superficie o a un sustrato adherente.*
- *2.-El examen directo debe revelar que las bacterias están en cluster, en una matriz de origen bacteriano o del hospedero.*
 - *3.-La infección es localizada*
- *4.-La infección es resistente a los antibióticos, aun cuando las bacterias en planckton sean sensibles.*

CAVIDAD BUCAL

- *¿Cómo se establece la microbiota estructurada en Biofilm a nivel de la cavidad bucal?*



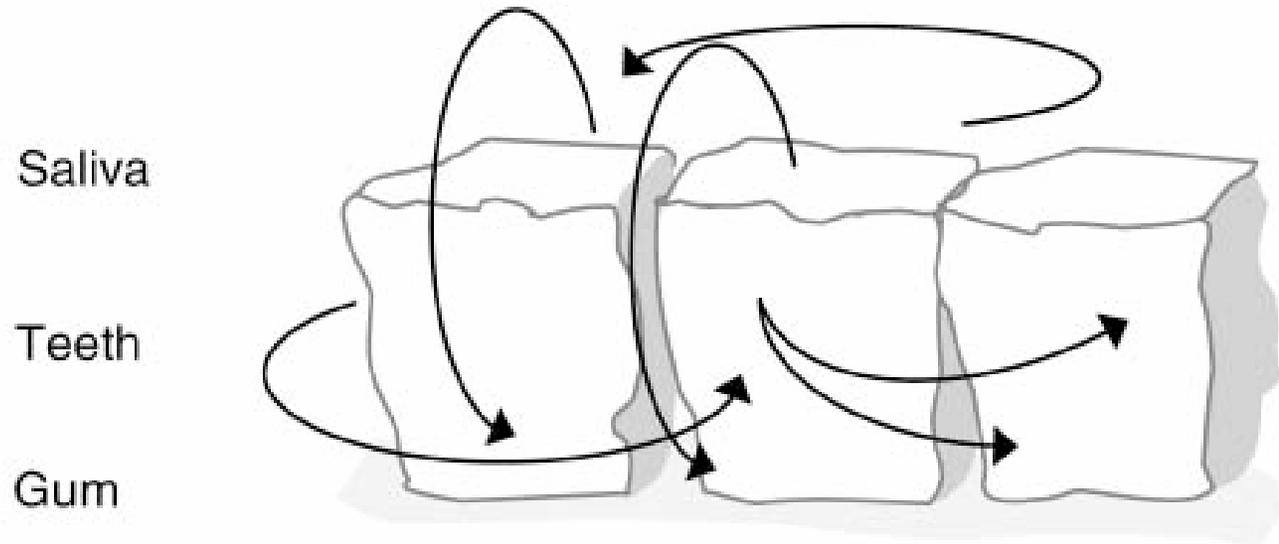
BIOFILMS

- *Se define como una comunidad microbiana, dinámica, estructurada que forma una alta densidad celular en la superficie dentaria y tejidos blandos en la cavidad bucal.*
- *Se encuentra incluida en una compleja matriz polimérica de origen microbiano o del hospedero, que permite la sobrevivencia de la comunidad como un todo.*

- *Periodontology 2000.2010;52:38-52*

BIOFILMS

A Surfaces for colonization and saliva flow



Tomado de J Dent Res .2010; 89(1): 8-18

La cavidad bucal presenta numerosas superficies para la colonización microbiana.

BIOFILMS

- *No solo colonizan superficies biológicas, sino también los materiales empleados en odontología.*
- *Se ha identificado Biofilms en superficies de titanio.*

• *CLIN ORAL IMPL RES .2008; 19:975-982*



¿Cuáles son los eventos para el establecimiento de biofilms a nivel de la cavidad bucal?

- *1.- Formación de película salival*
- *2.- Adhesión*
- *3.- Coagregación*
- *4.- Sucesiones bacterianas*

FORMACION DE BIOFILM

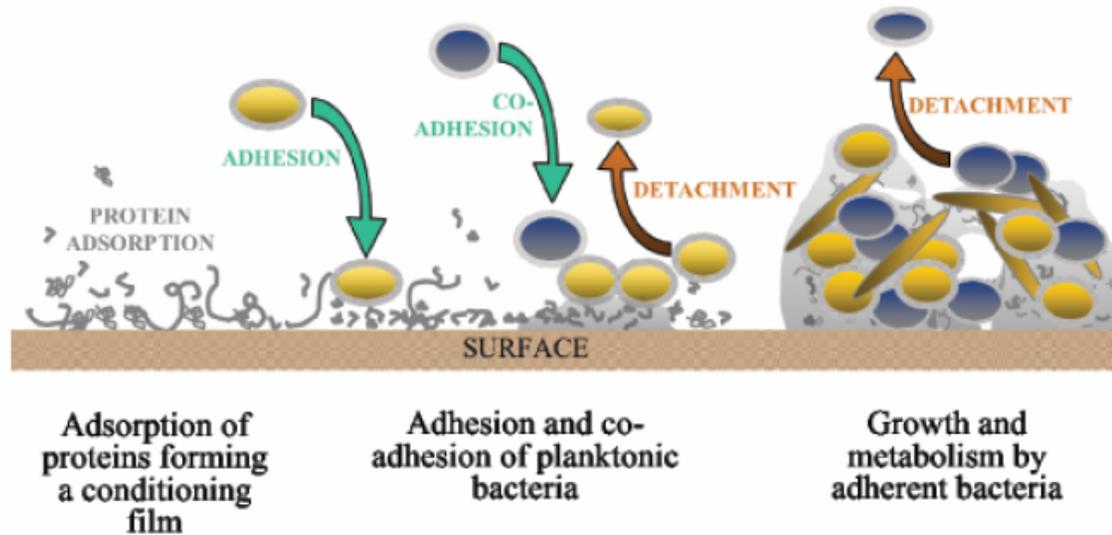


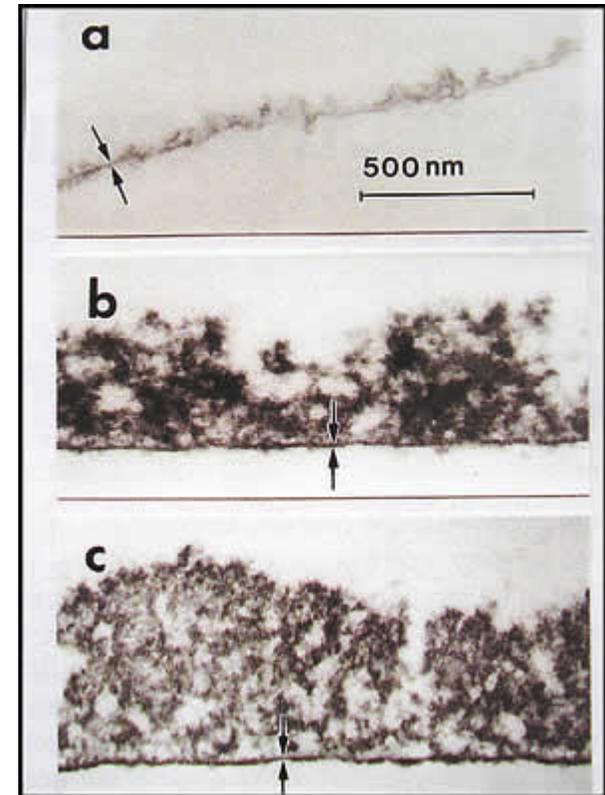
Fig. 1. Stages of biofilm formation.

FORMACIÓN DE LA PELÍCULA SALIVAL

1 Min.

2 hrs.

6 hrs.



ADHESIÓN

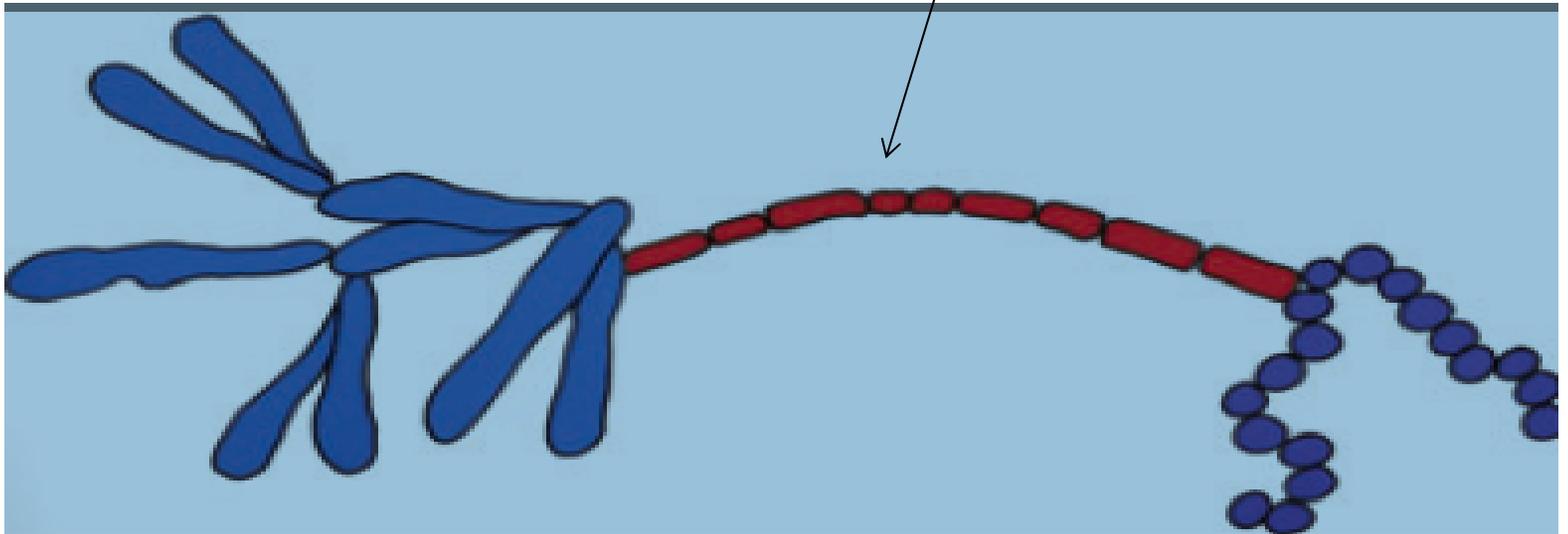
- *Microorganismos en suspensión(plankton) se unen a receptores de la biopelícula.*
 - *Es un proceso selectivo*
- *Las células bacterianas aumentan en número y se diseminan sobre toda la superficie dentaria*
 - *(COLONIZADORES PRIMARIOS)*

Estos son cruciales para la subsecuente coagregación con otros microorganismos .

COAGREGACIÓN

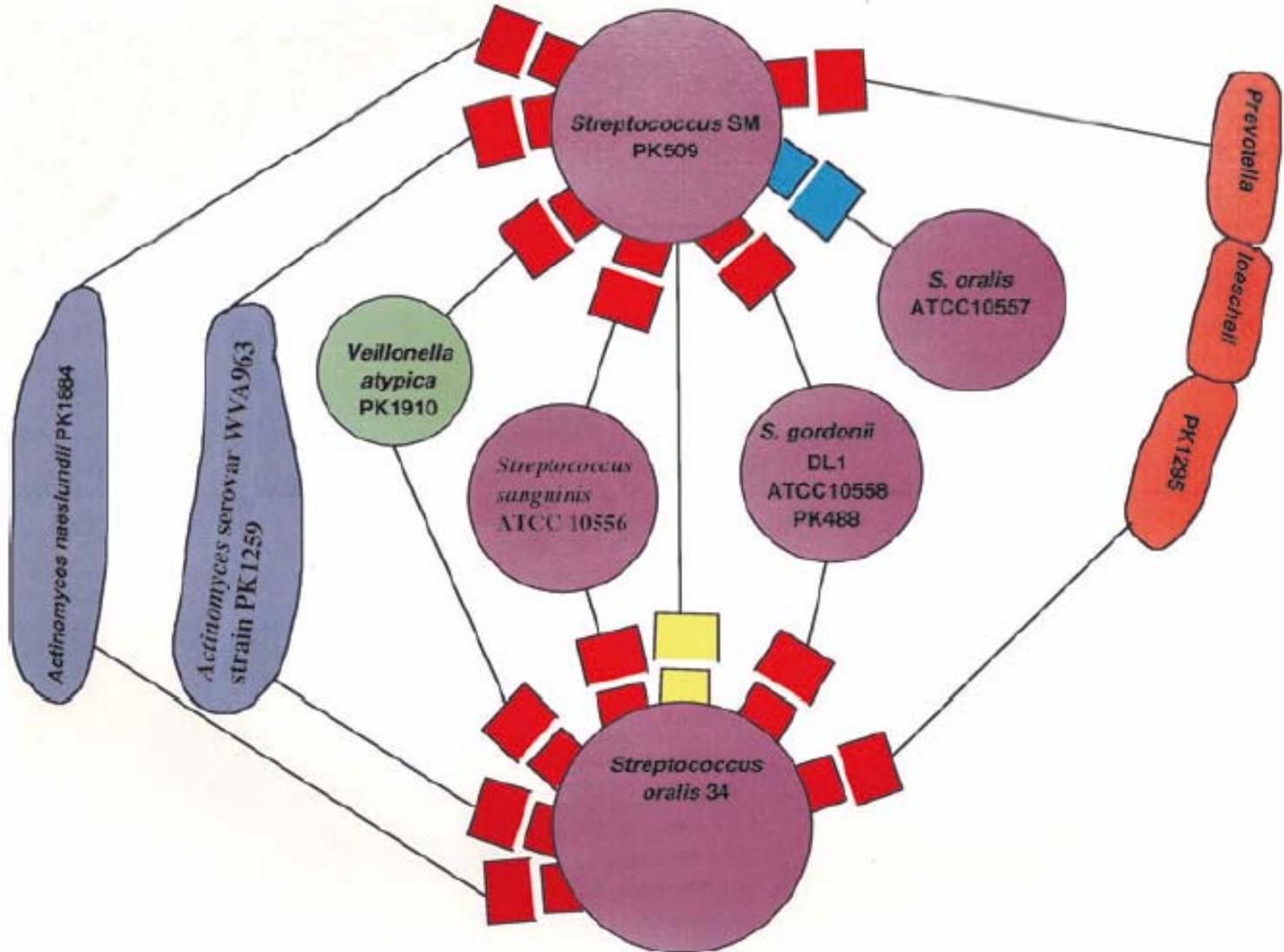
- *Se define como el reconocimiento y adhesión entre bacterias genéticamente diferentes.*
- *Las parejas coagregantes son claves en el desarrollo de la biodiversidad que tiene lugar en la estructuración del biofilm supra y subgingival.*

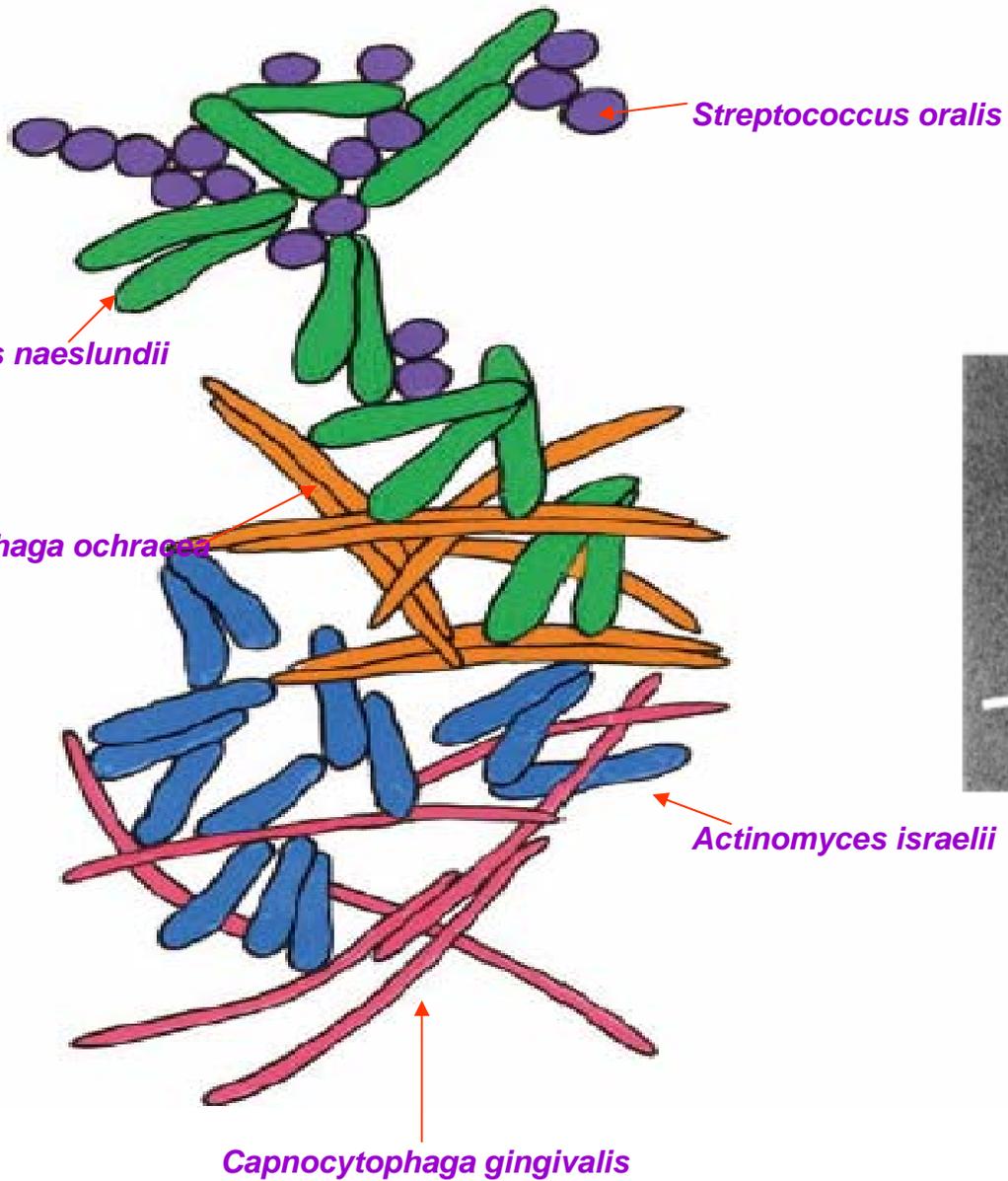
PREVOTELLAS



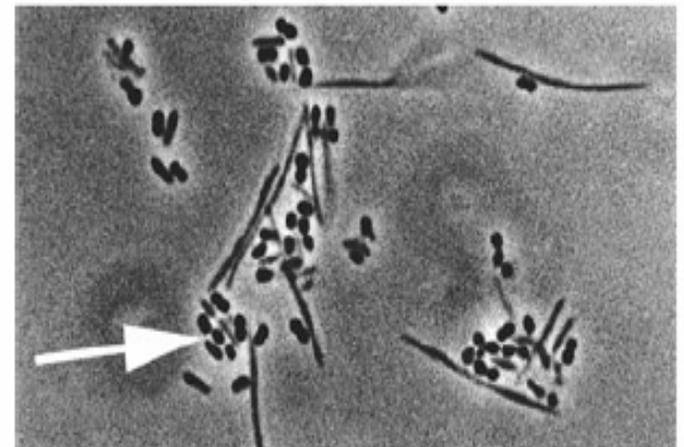
*PREVOTELLAS COAGREGAN CON
COCACEAS Y ACTYNOMICES*

COAGREGACIÓN

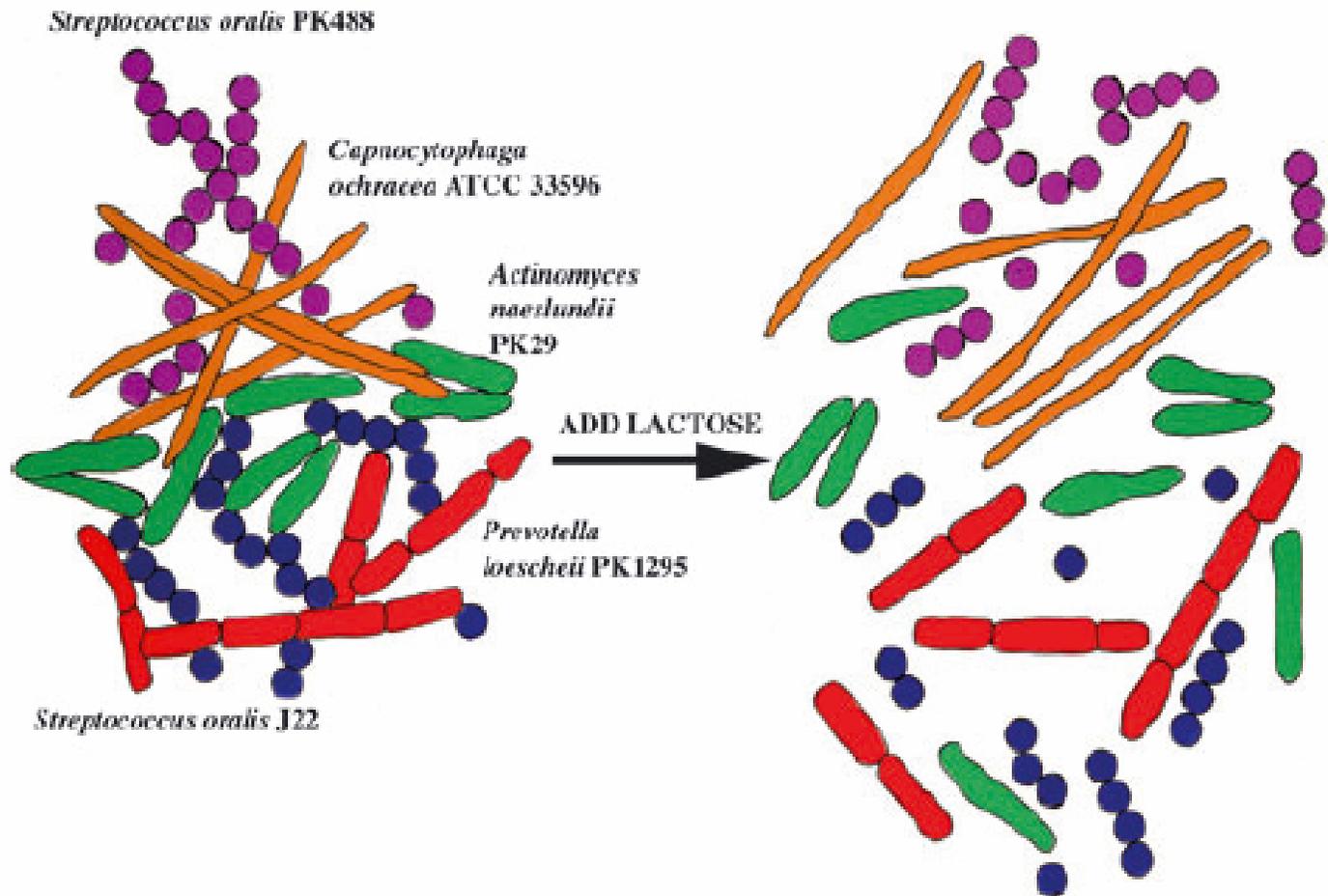


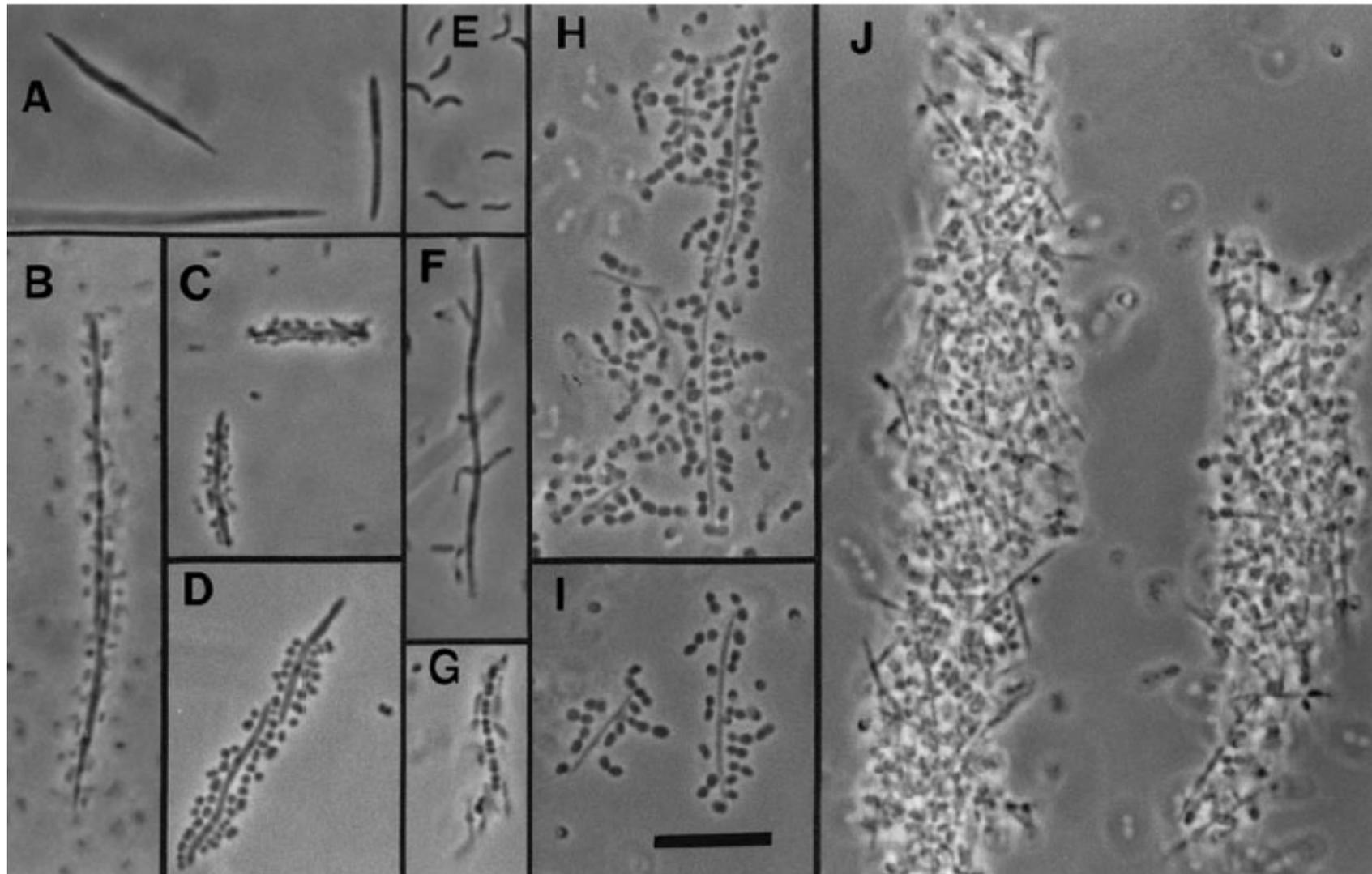


Mixed-Species Coaggregates



COAGREGACIÓN

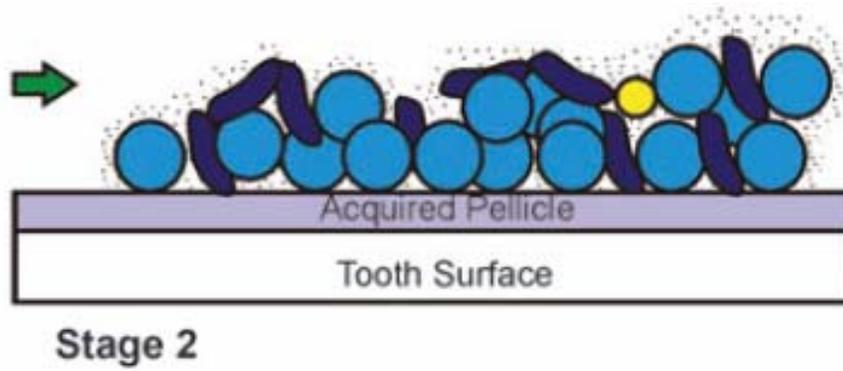
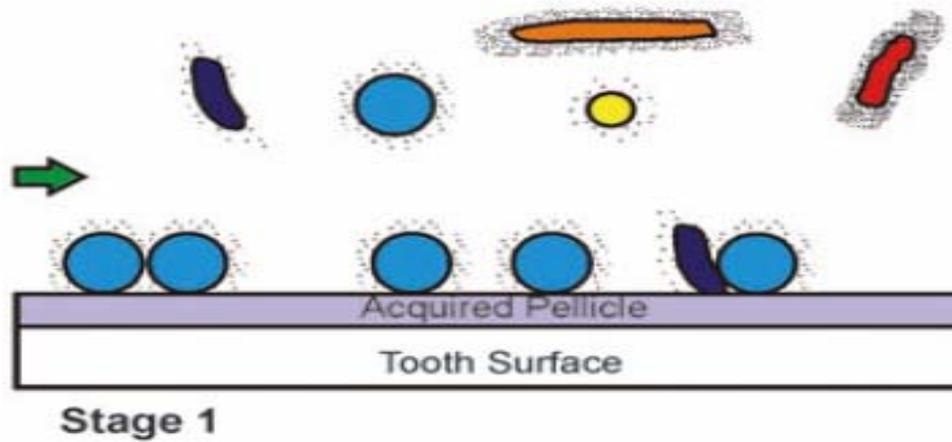
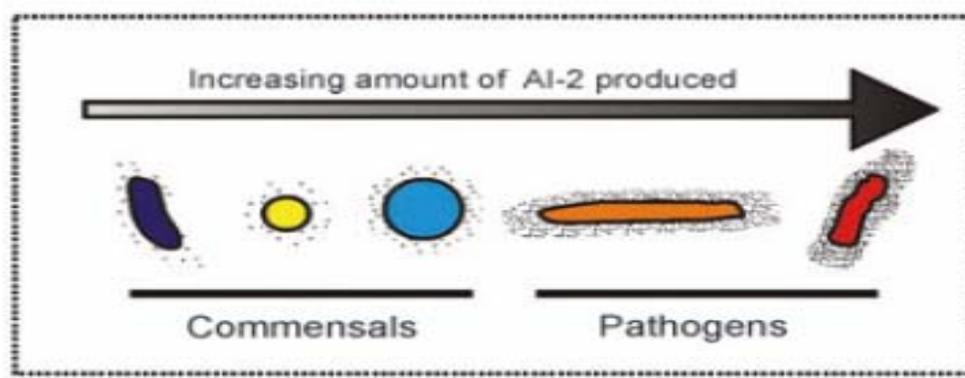




13. Heteropole aggregations in the form of some species. Common configuration with a chain of C. or

SUCESIONES BACTERIANAS

- *La población crece en una comunidad o Biofilm:
SUCESIÓN PRIMARIA.*
- *El microambiente al interior de la comunidad
cambia.*



*MICROBIOTA
COMENSAL*

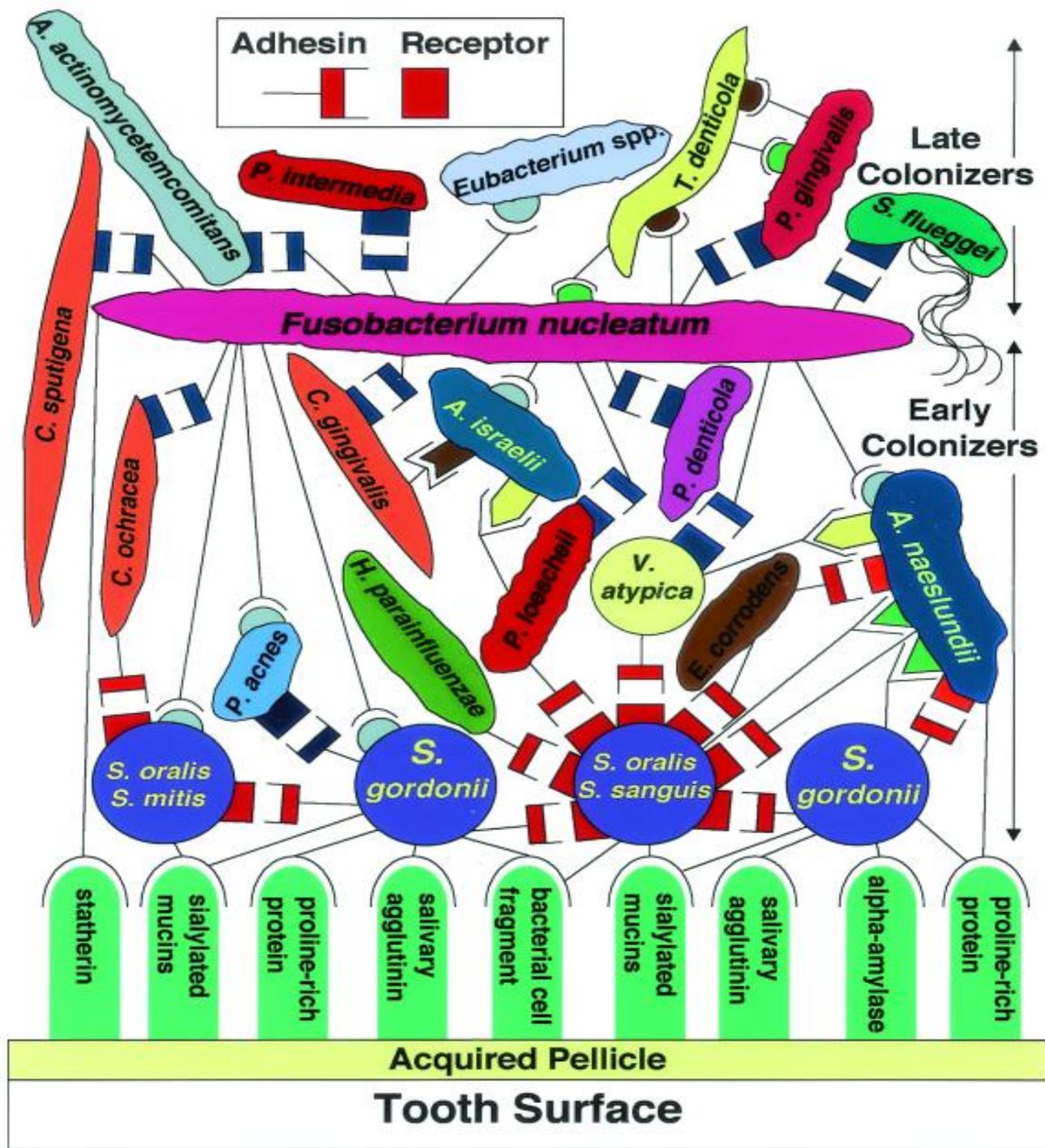
SUCESIONES BACTERIANAS

- *El nicho ecológico al interior cambia y la comunidad se re organiza:*
 - *SUCESIÓN SECUNDARIA.*
- *El micro ambiente sufre nuevos cambios.*

SUCESIONES BACTERIANAS

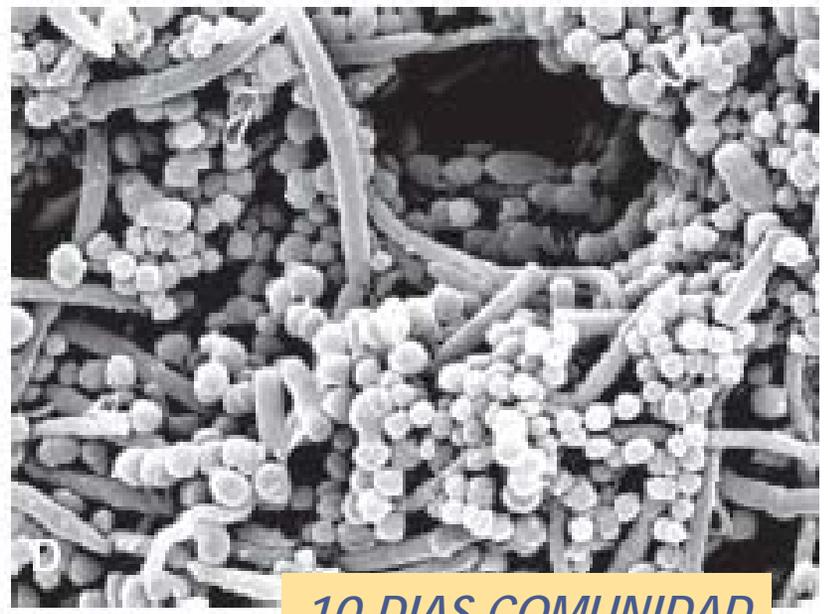
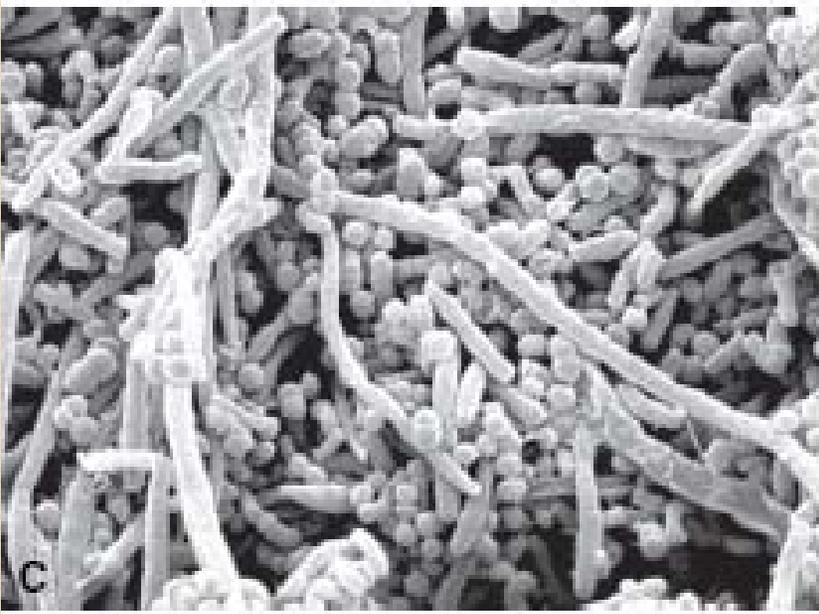
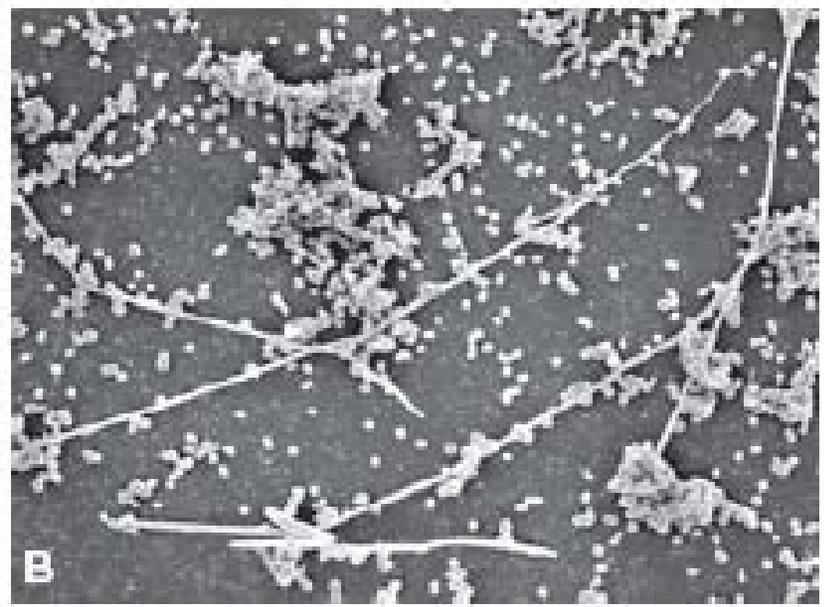
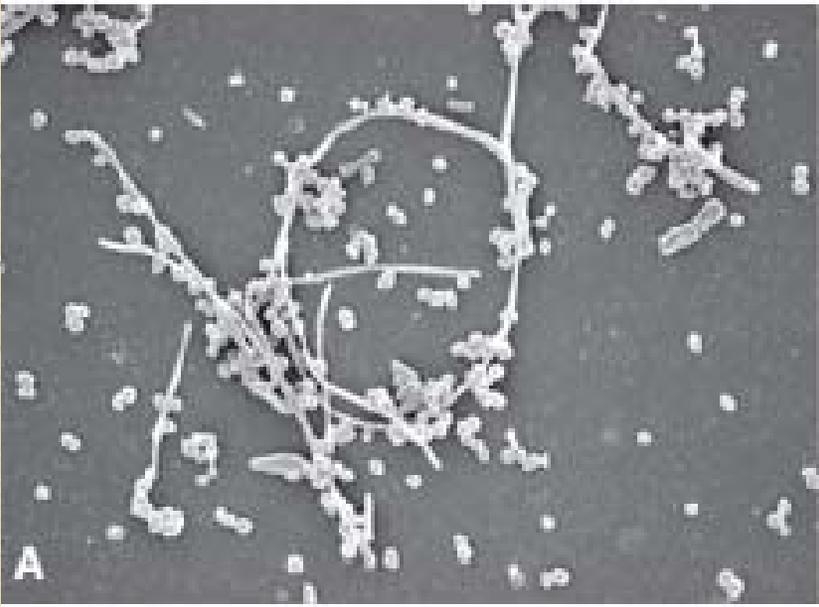
- *Tenemos una comunidad estable con un gran número de especies.*

COMUNIDAD CLIMAX.



4-8 HRS

24- 48 HRS



5 DIAS

10 DIAS COMUNIDAD CLIMAX

SUCESIONES BACTERIANAS

- *La maduración del biofilm requiere de interacciones entre un amplio espectro de microorganismos.*

BIOFILM MADURO

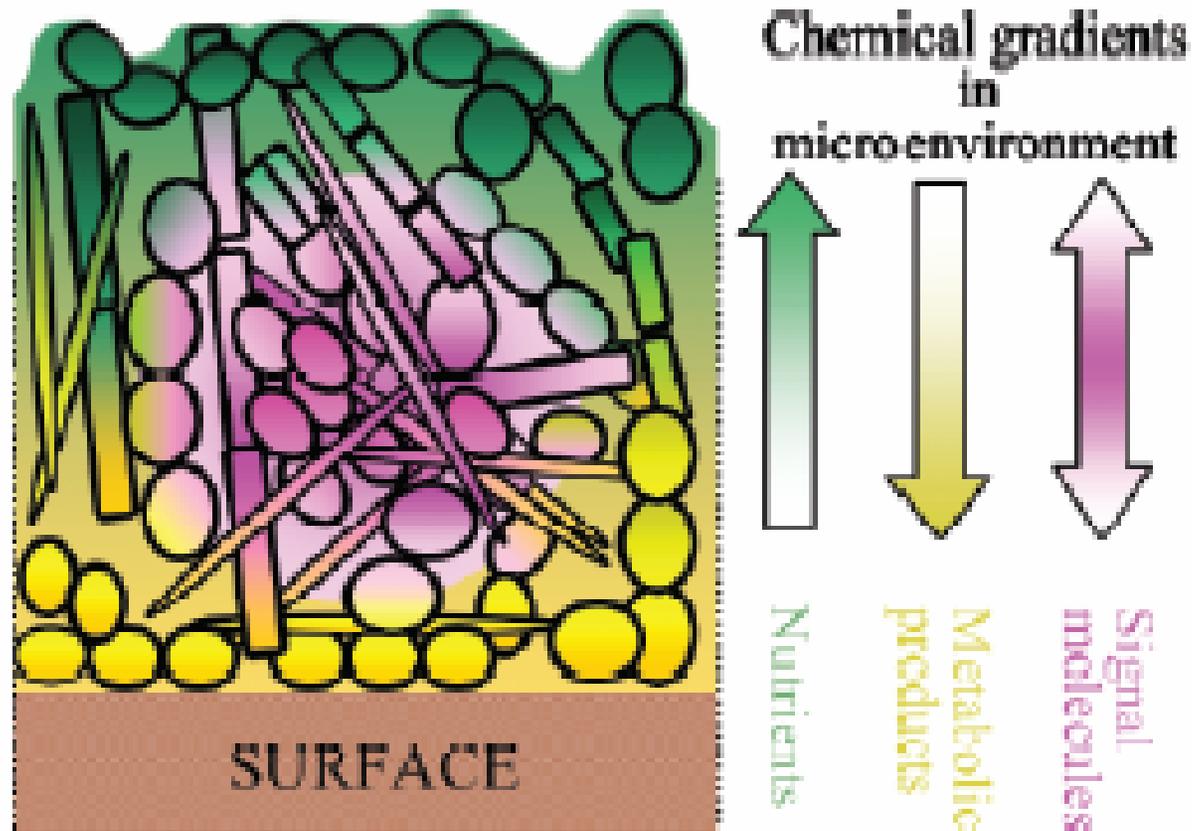
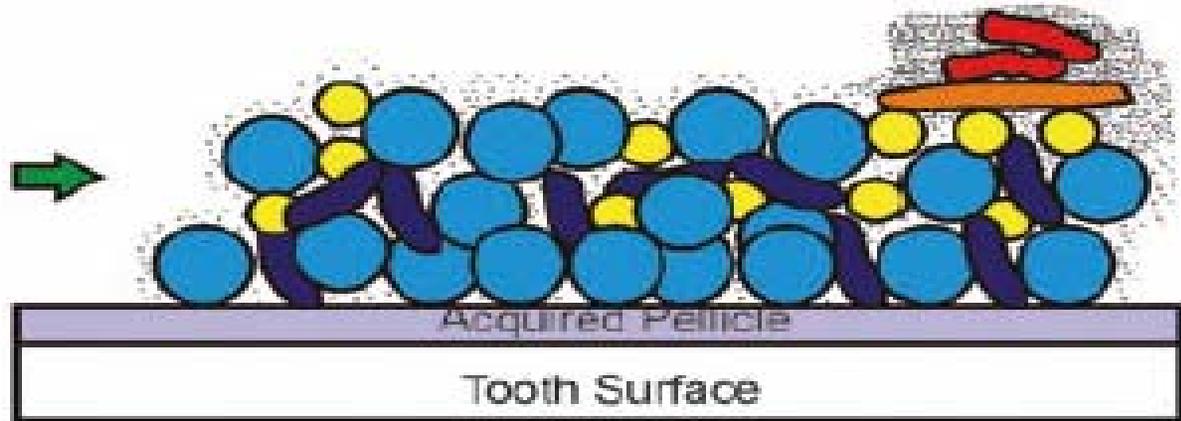


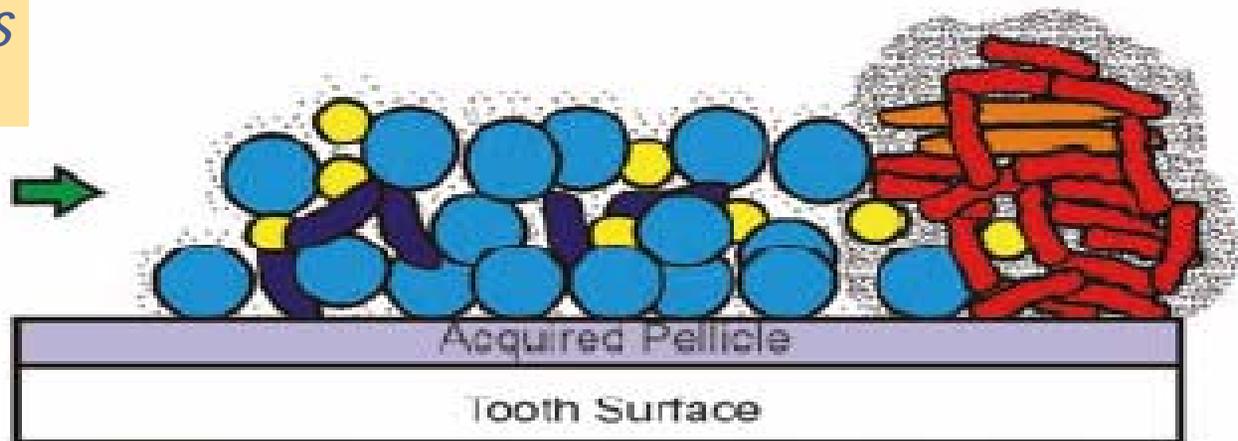
Fig. 2. The environmental conditions in biofilms might give rise to various phenotypes of different species.

BIOFILM MADURO

- *Esta comunidad clímax, constituye una especie de sistema circulatorio rudimentario, que puede cambiar por perturbaciones en el medio ambiente, lo que trae consigo cambios en la dinámica de la ecología bucal. Es dependiente de:*
 - *Genotipo del hospedero*
 - *Calidad de la respuesta inmune*
 - *Dieta*
 - *Hábitos de higiene*
 - *condiciones de salud general*



Stage 3



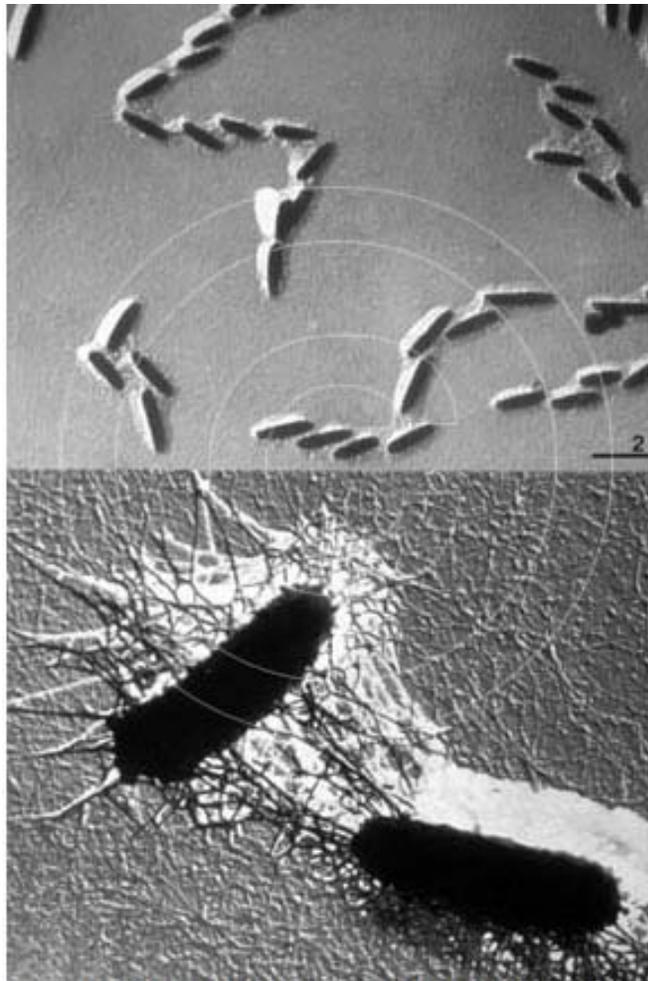
Stage 4

*COLONIZACIÓN E
INVASIÓN DE ESPECIES
PATOGENICAS*

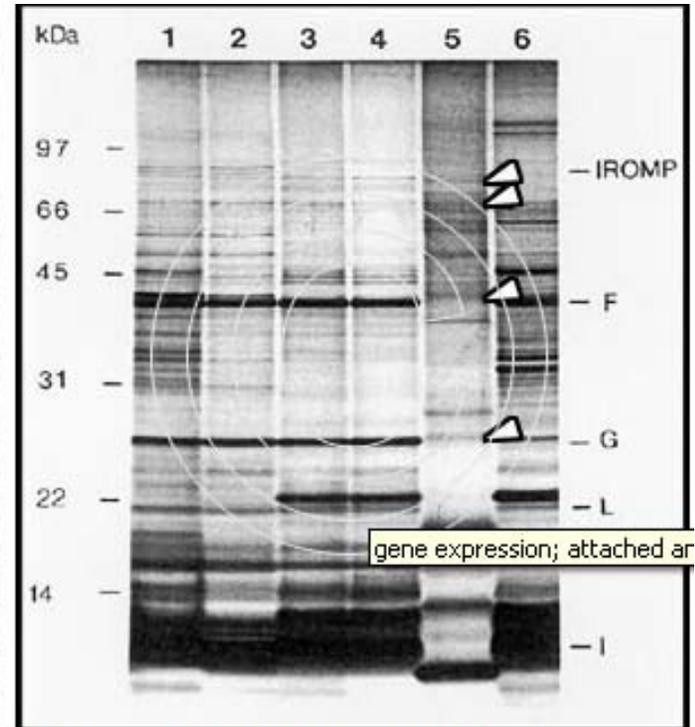
BIOFILMS

- *Los microorganismos presentan una serie de adaptaciones morfológicas y fisiológicas en respuesta a los cambios ambientales.*
- *ESTO IMPLICA LA REGULACIÓN DE UNA SERIE DE GENES.*

EXPRESION GÉNICA



Scanning Electron Micrograph (SEM) of bacteria attached to surface by means of self-produced

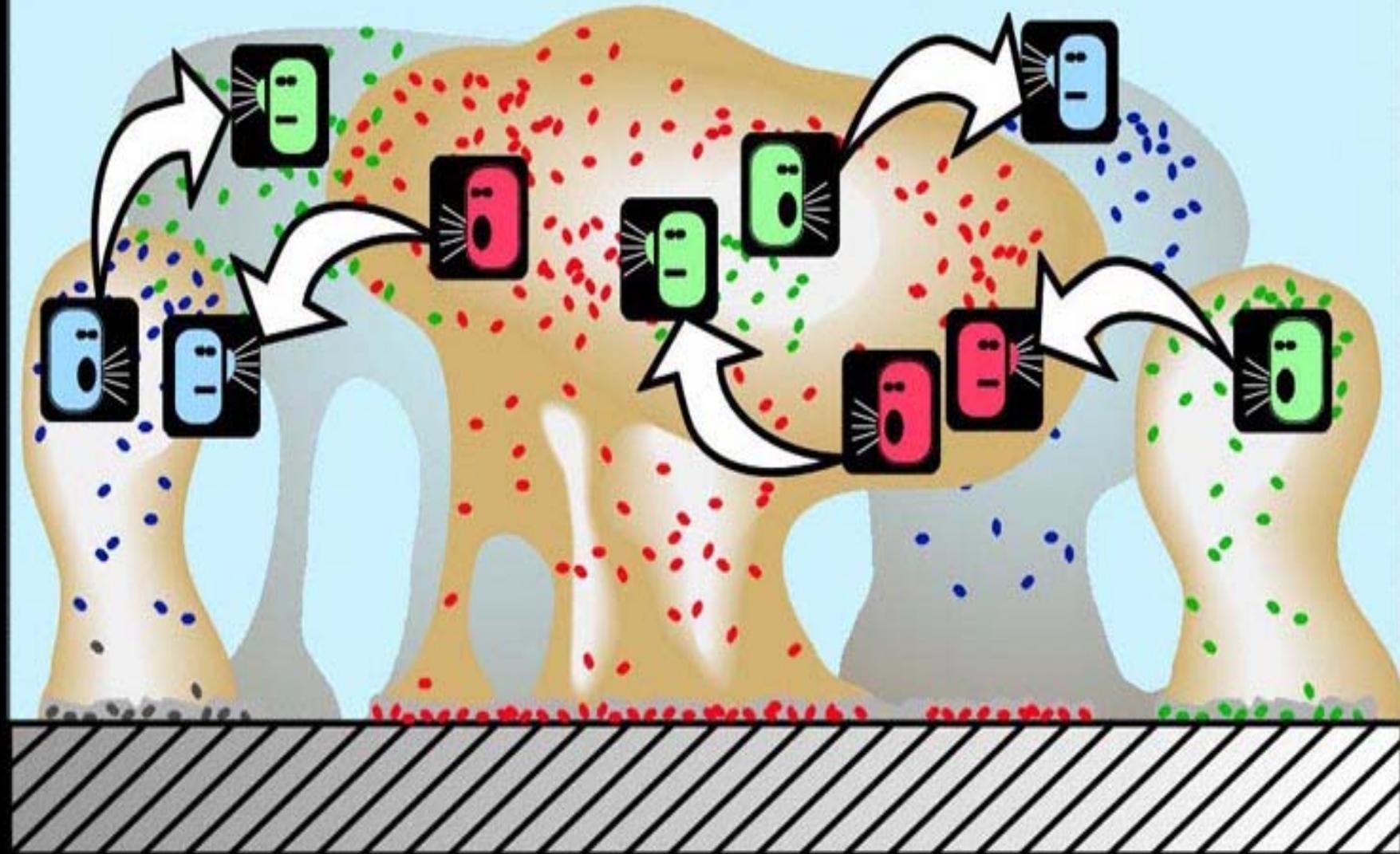


A protein gel showing differences in gene expression between planktonic (free-floating) bacteria and attached bacteria (Lane 5) of the species *Pseudomonas aeruginosa*. Each dark band represents proteins produced as a result of gene activity. The smaller proteins are able to migrate through the matrix faster; thus they are at the bottom of the gel. Larger proteins appear at the top (scale on left). Darker bands indicate higher concentrations of proteins.

BIOFILMS

- *¿ COMO SE MANTIENE ESTA ESTRUCTURA?*
 - *¿ QUE FACTORES LA REGULAN?*

Cell-Cell Communication



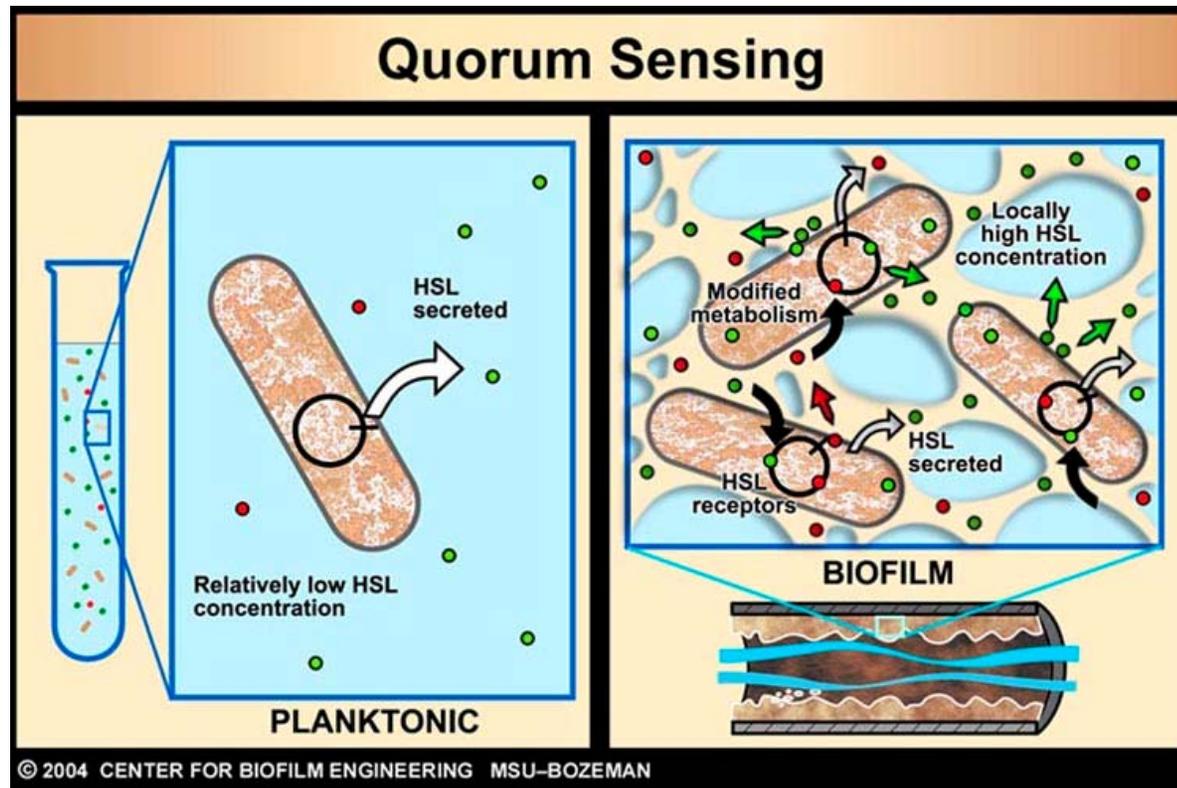
QUORUM SENSING

- *Es el termino que se utiliza para describir un fenómeno biológico relacionado con sistemas de señales, que constituye según algunos autores, la forma de comunicación de las bacterias.*

- *CURRENT SCIENCE, VOL 90,Nº 5,10 MARCH 2006*

QUORUM SENSING

- *Se trata de señales químicas que tienen impacto en la regulación de genes, en periodos de alta densidad celular.*



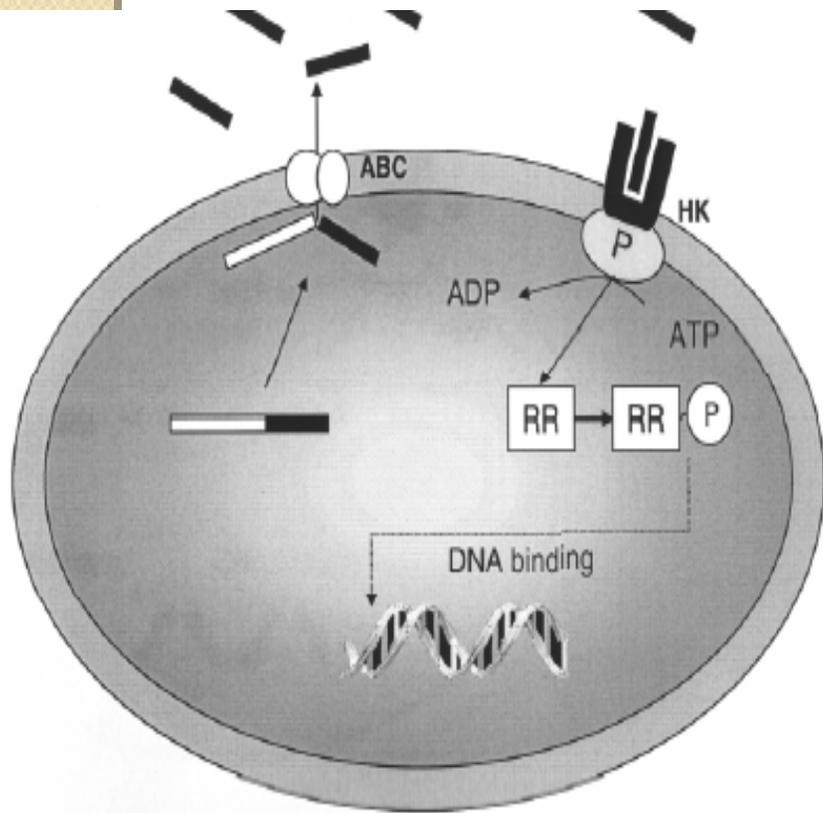


Figure 3a. Quorum-sensing systems in Gram-positive micro-organisms. The oligopeptide signal precursor (—■) is processed and exported by ABC-transporters. When a threshold level is reached, the extracellular peptides (—■) bind to a histidine kinase receptor (HK) in the cell membrane, resulting in autophosphorylation of the histidine phosphotransferase domain. The phosphate (P) is transferred to the cognate response regulator (RR), which can then bind to target DNA and alter gene expression.

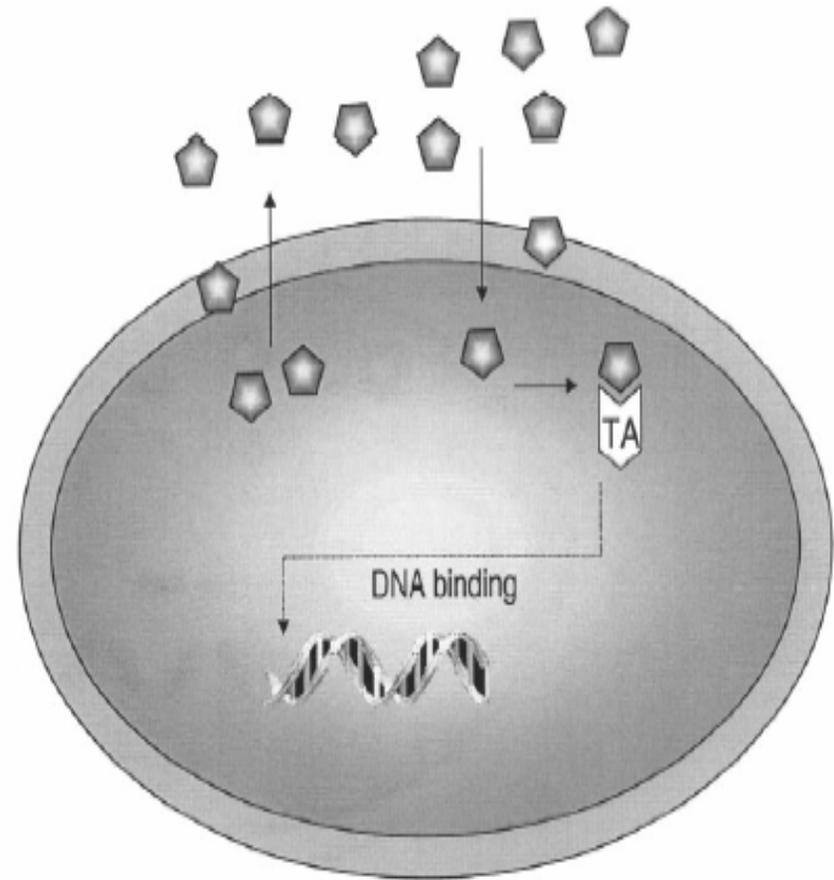
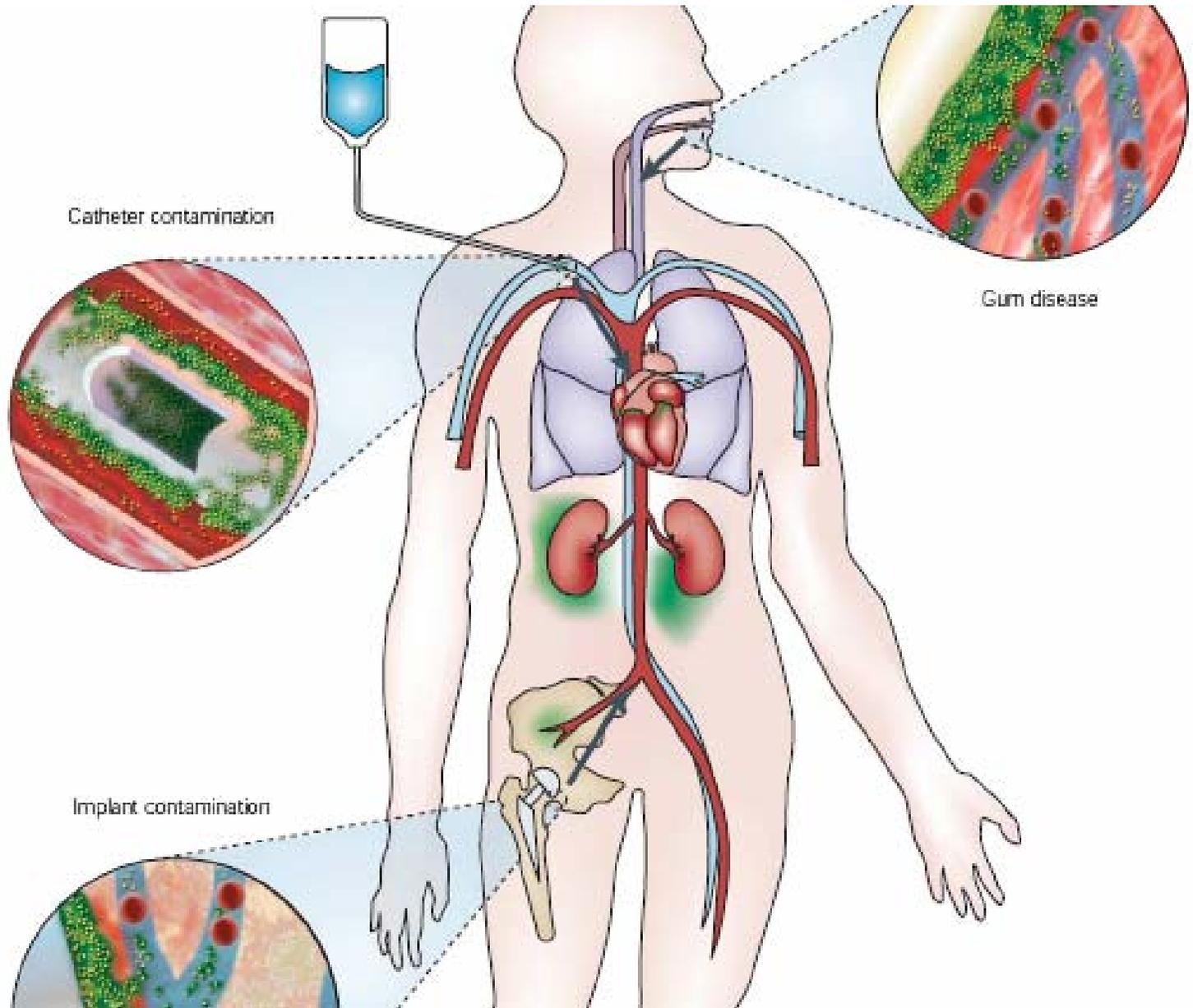


Figure 3b. Quorum-sensing systems in Gram-negative micro-organisms. The signal molecules (●) produced by the cells diffuse freely through the cell envelope. When a threshold level is reached, the signal molecules bind to and activate the transcriptional activator (TA). The signal-TA complex binds to target DNA and alters gene expression.

QUORUM SENSING

- *La importancia radica en parte, en que diversos procesos infecciosos están regulados mediante estas señales.*



Catheter contamination

Gum disease

Implant contamination

TABLE 1. Examples of common implant infections

Implant	Organism(s) found	Associated disease or consequences
Prosthetic valve	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. sanguis</i>	Prosthetic valve endocarditis
Contact lenses	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i>	Keratitis
Intravascular catheters	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i>	Septicemia, endocarditis
Total artificial heart	<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i>	Septicemia, device failure
Urinary catheters	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Proteus mirabilis</i>	Bacteriuria
Joint replacement	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i>	Septicemia, device failure
Endotracheal tube	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i>	Pneumonia
Voice prostheses	<i>Streptococci staphylococci</i>	Prosthesis failure

*Tomado de MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS,
Dec. 2000, p. 847-867*

BIOFILMS

*QUE VENTAJAS BRINDA EL ESTAR ORGANIZADOS
EN BIOFILMS?*

SE HAN PROPUESTO ALGUNAS HIPÓTESIS:

*1.-Las superficies proveen un espacio que es
ocupado, brindando estabilidad a los
microorganismos en los ambientes.*

NATURE REVIEWS; 2004, VOL 2 : 95-108

BIOFILMS

- *Los canales que se presentan en el Biofilm, han sido comparados con un sistema circulatorio primario.*
- *Ellos proporcionan un medio eficaz para el intercambio de nutrientes y metabolitos en la fase acuosa, mejorando la disponibilidad de metabolitos y la eliminación de aquellos potencialmente tóxicos.*

BIOFILMS

- *2.- Adquisición de nuevos rasgos genéticos.*
 - *La transferencia genética es de gran importancia para evolución y diversidad de las comunidades microbianas.*

BIOFILMS

3.-Brindan protección contra un amplio rango de cambios ambientales tales como:

LUV, TOXICIDAD DE METALES. EXPOSICIÓN A ÁCIDOS, DESHIDRATACIÓN, SALINIDAD, FAGOCITOSIS Y DIVERSOS ANTIBIOTICOS Y AGENTES ANTIMICROBIANOS.

Por lo tanto el tratamiento de las patologías ocasionadas por Biofilm, implica un nuevo enfoque terapéutico.

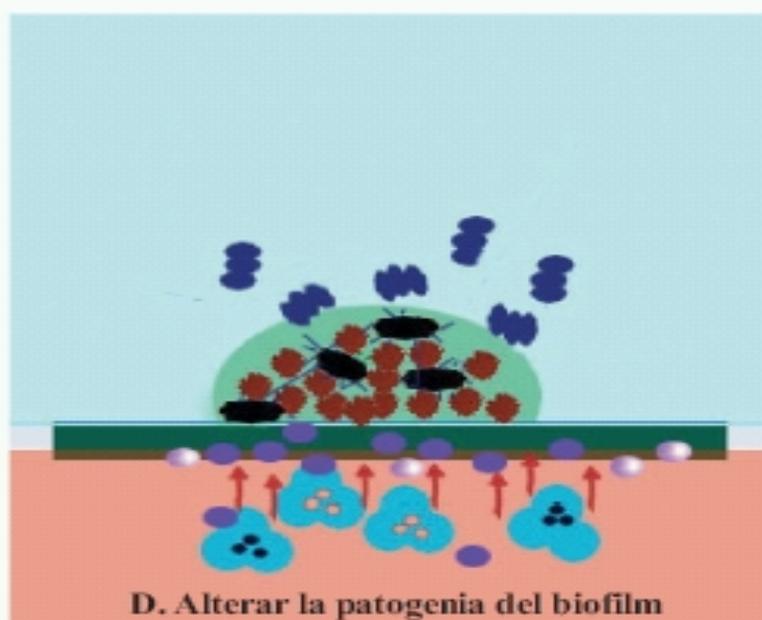
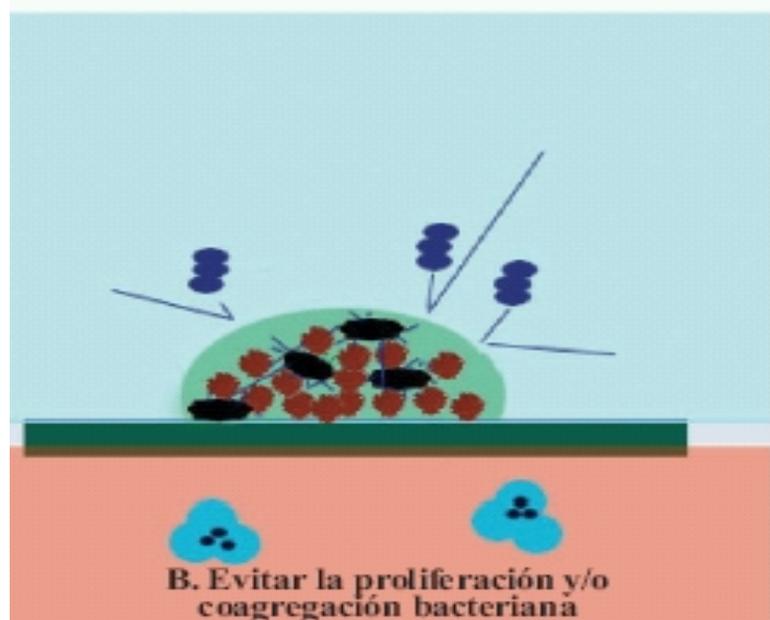
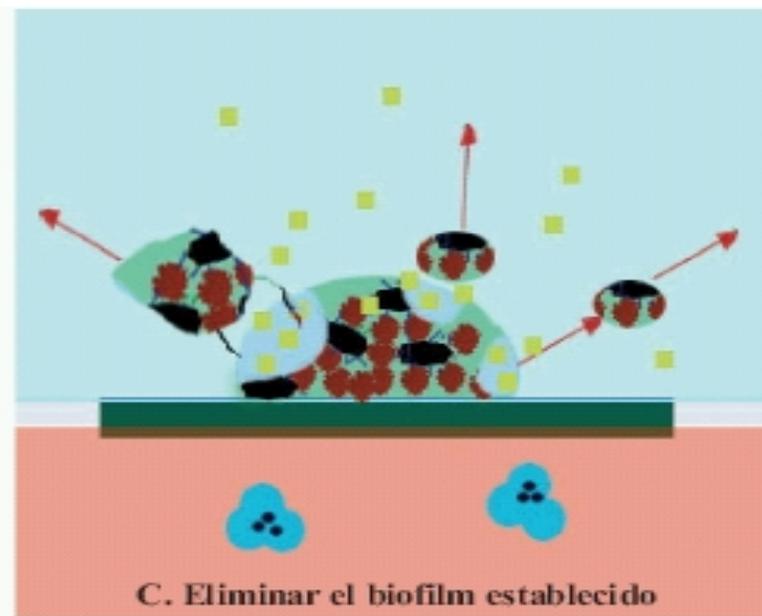
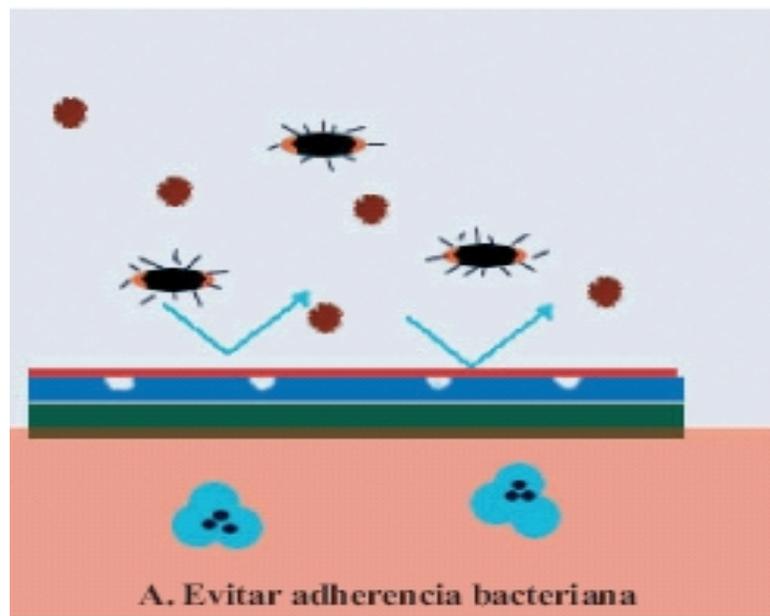
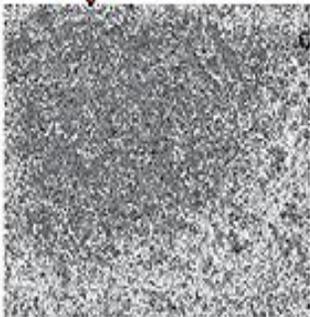


Figura 3. Mecanismos de actuación de los colutorios sobre los biofilms.

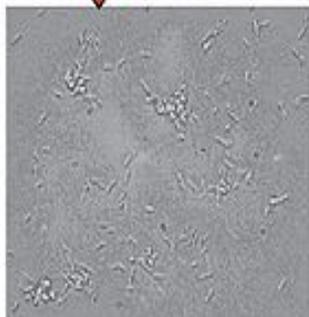
FIN



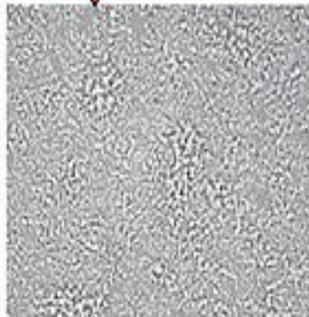
1



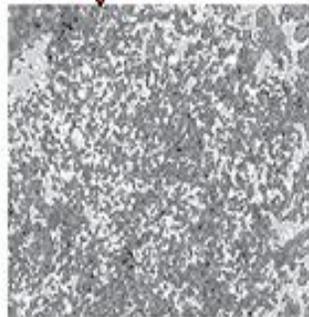
2



3



4



5

