



Microbiología Bucal
Semestre Primavera 2010

Factores de virulencia de patógenos periodontales (II)

Prof. Marta Gajardo R.

Agosto 23 de 2010

Periodontitis Crónica o Agresiva

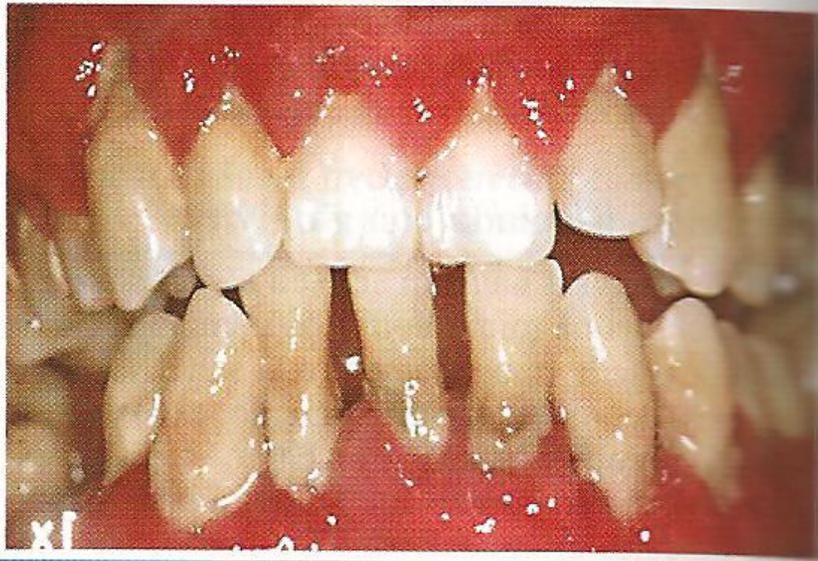
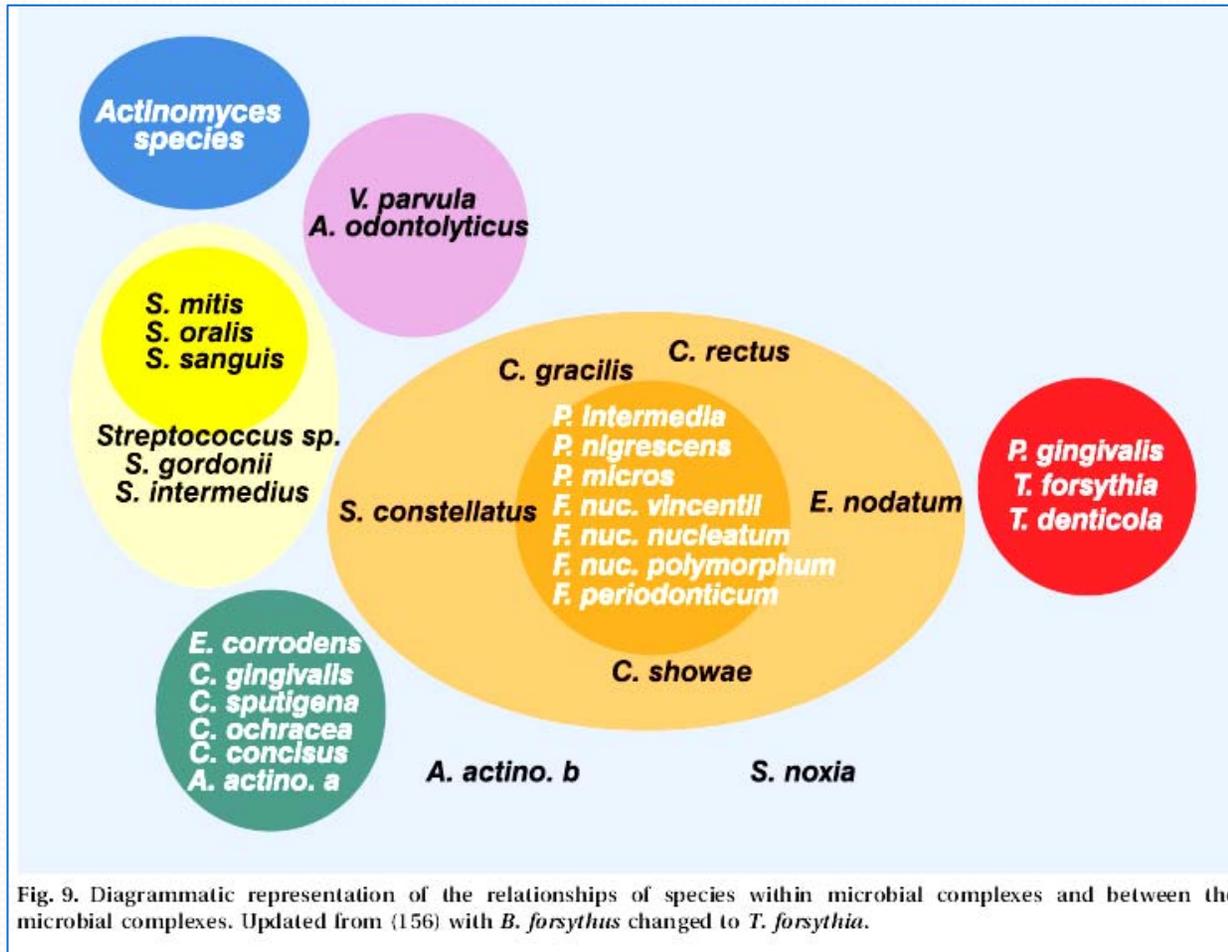


Fig. 20-9. Periodontitis crónica. Abundante biopelícula supragingival y en el subgingival predominan los complejos naranja, rojo y, en menor proporción, los complejos amarillo, púrpura, azul, verde.



Fig. 20-10. Periodontitis agresiva. Escaso biofilm supragingival.

Complejos Bacterianos en la Microbiota Bucal



Principales patógenos periodontales:

Sólo unas 20 especies pertenecientes principalmente a los complejos naranja y rojo de Socransky, más Aa serotipo b, no asociado a complejos

F.nucleatum

P.intermedia

P.nigrescens

P.micros

Campylobacter sp

E.nodatum

S.constellatus

P. gingivalis

T. forsythensis

T. denticola

Aa serotipo b

Criterios de Socransky para definir Patógenos periodontales (Socransky & Haffajee, 1992)

1. **Asociación:** Encontrarse más frecuentemente y en mayor número, asociado con periodontitis
2. **Eliminación:** Su eliminación debe detener el progreso de la enfermedad
3. **Respuesta del Hospedero:** Debe ser evidenciada mediante exámenes de laboratorio

4. **Mecanismos de patogenicidad:** Deben ser evidenciados mediante pruebas

5. **Reproducir la enfermedad en modelos animales:** Si es posible, debe ser demostrada.

Patógenos que cumplen todos estos requisitos son: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*

Evidencias de *A. actinomycetemcomitans* como un patógeno periodontal (Adaptado de Socransky, 1992)

Asociación	Nº elevado en sitios con PJ, algunos de PA, en sitios activos de PJI. Detectado en regiones apicales de sacos periodontales y en tejidos de PJI Bajo o ausente en sanos o en gingivitis
Eliminación	Supresión o eliminación permite resolución clínica. Presente en lesiones recurrentes
Respuesta del hospedero	Anticuerpos sistémicos y locales elevados en Periodontitis Juvenil vs. Salud periodontal
Factores de Virulencia	Leucotoxina, colagenasas, endotoxina, epiteliotoxina, factor que inhibe fibroblastos, factor que induce reabsorción ósea
Modelos Animales	Enfermedad inducida en ratas gnotobióticas

Evidencias de *Porphyromonas gingivalis* como un patógeno periodontal (Adaptado de Socransky, 1992)

Asociación	En N° elevado en sitios con periodontitis. Bajo o ausente en sanos o gingivitis
Eliminación	Supresión o eliminación permite resolución clínica. Presente en lesiones recurrentes
Respuesta del hospedero	Anticuerpos sistémicos y locales elevados en periodontitis vs. salud periodontal
Factores de Virulencia	Colagenasas, TLE, fibrinolisisina, enzimas degradantes de anticuerpos, otras proteasas, fosfolipasa A, fosfatasas, endotoxina, H ₂ S, amonio, ácidos grasos, otros que afectan la función de PMNN
Modelos Animales	Inicio de periodontitis correlacionado con la colonización, en monos Rol clave en infecciones mixtas

Factores de virulencia

Son los mecanismos por los que un microorganismo puede colonizar un nicho ecológico u hospedador, superar sus defensas e iniciar un proceso infeccioso:

- Componentes de pared celular, proteínas, vesículas de membrana externa, cápsula.
- Productos finales del metabolismo.
- Enzimas extracelulares y endo y exotoxinas

A mayor virulencia, mayor patogenicidad

Los factores de virulencia se pueden agrupar según función:

- Permitir adherencia e invasión
- Modular la inflamación: inmunosupresión
- Inducir destrucción y/o inhibir la reparación
 - Resistir el efecto de antimicrobianos

(Ebersole y Holt, 2005)

Factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

- Fimbrias Flp-1 y proteínas de genes *tad*: gran adherencia y capacidad de coagregar
- Produce la leucotoxina LtxA que forma poros en la membranas de PMNN, Monocitos y Linfocitos. Se une a LFA-1 (integrina β -2)
Colonias rugosas, adherentes, no secretan LtxA
Colonias lisas, no adherentes, si secretan LtxA

La respuesta a LtxA es apoptosis de leucocitos e inmunosupresión

- Produce colagenasas que degradan el colágeno del tejido conectivo subepitelial, ligamento periodontal y hueso alveolar
- Sintetiza proteasas y factores inhibidores de función leucocitaria: inmunosupresores
- Toxina CDT (cytolethal distending toxin): se cree que actúa como nucleasa que detiene el ciclo celular de linfocitos
- Produce un inhibidor de la quimiotaxis de PMNN a FMLP
 - Invade células, se divide intracelularmente y se disemina entre células: Evade respuesta del hospedero

Factores de virulencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

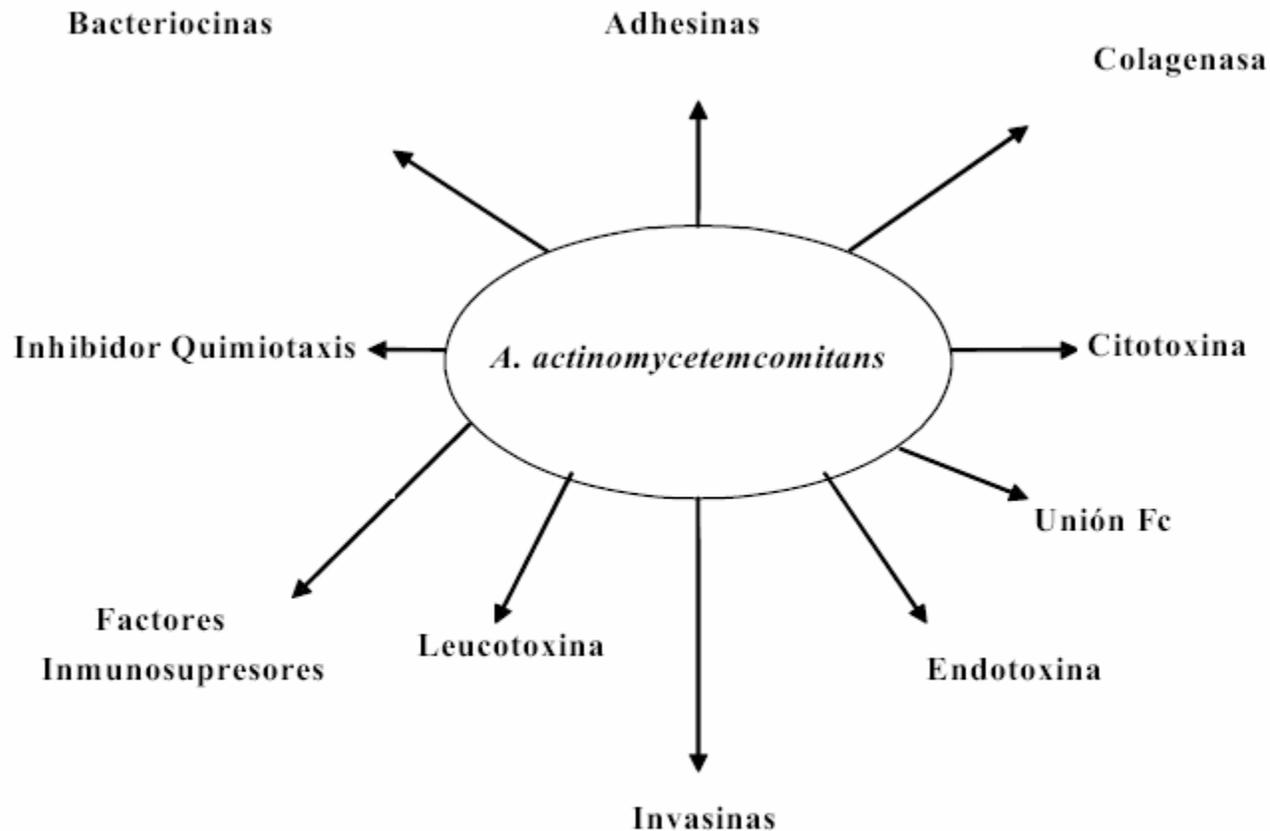
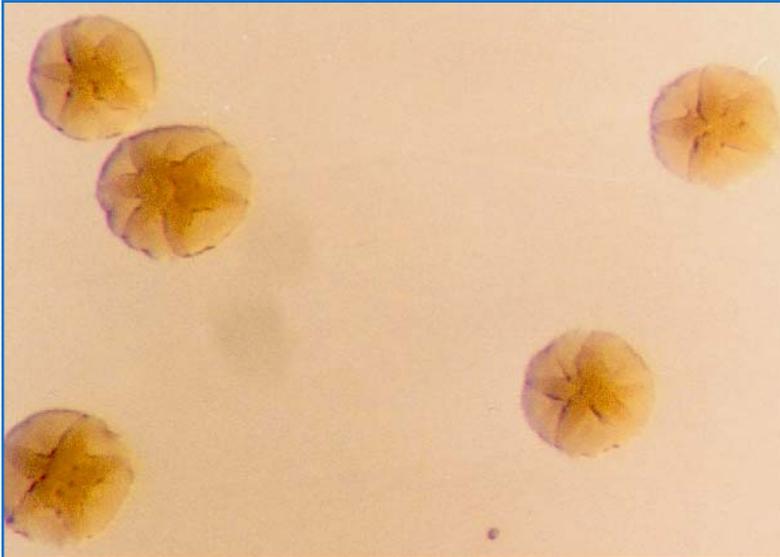
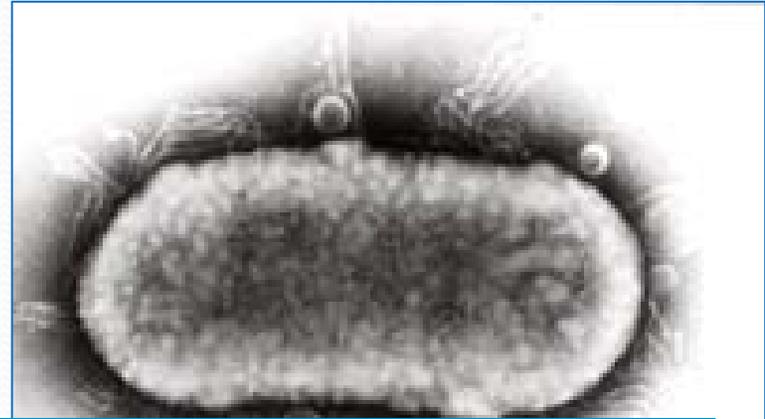


Figura 2.2.13. Esquema de los posibles factores de virulencia de *A. actinomycetemcomitans*: Bacteriocinas [76] [77], adhesinas [46] [78], colagenasa [75], inhibidores de la quimiotaxis [79] [80], citotoxina [81] [82], factores inmunosupresores [83] [84] [85], leucotoxinas [70] [72], invasinas y endotoxinas [86] [87].

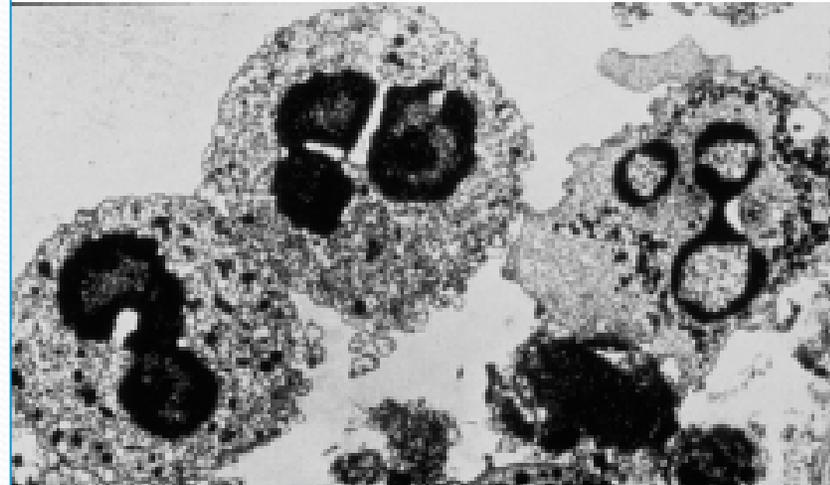
Aggregatibacter actinomycetemcomitans



Colonias de *A. actinomycetemcomitans*
(Foto: M. Gajardo. Laboratorio de Microbiología
Facultad de Odontología Universidad de Chile)



Leukotoxin



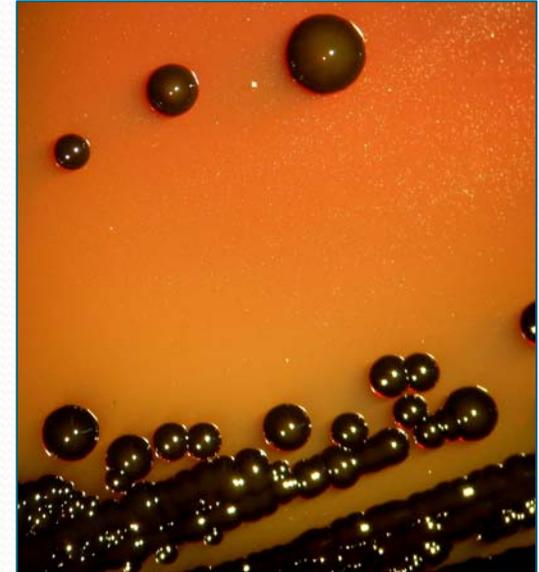
Factores de virulencia de *Porphyromonas gingivalis*

Productos finales del metabolismo:

- ácidos grasos volátiles de cadenas cortas: succinato, propionato, butirato, isobutirato, isovalerato

- productos sulfurados: H₂S y metilmercaptanos

Todos son citotóxicos para PMNN Macrófagos, LT, fibroblastos gingivales y células del ligamento periodontal.



Colonias de *P.gingivalis*.
Foto: M.Gajardo
Laboratorio de Microbiología.
Facultad de Odontología
Universidad de Chile

- 
- Contribuyen como fuente nutricional de otras bacterias del biofilm
 - Estimulan la liberación de citoquinas proinflamatorias
 - Todos son moléculas pequeñas: pueden penetrar fácilmente en los tejidos periodontales y contribuir al daño

Enzimas proteolíticas extracelulares

- Familia de gingipaínas

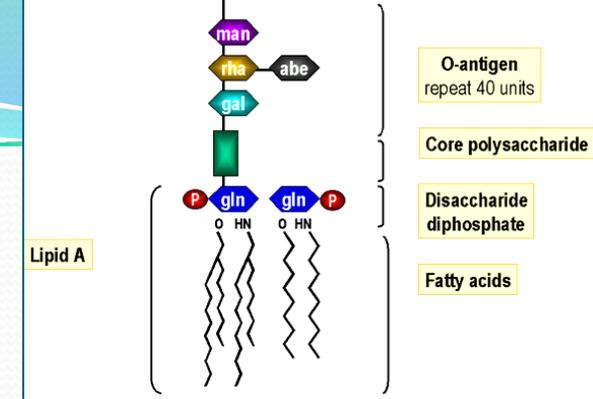
- 85% de la actividad proteolítica y 100% de actividad TLE
- Inhiben la activación de PMNN
- Degradan proteínas (criptotopos)
- Activan proenzimas (prekalicreína y kininógeno)
- Degradan proteínas séricas (Igs, C3 y C5) y Proteínas de la ME (fibrinógeno y laminina).
- Activan citoquinas (TNF-alpha e IL-6).
- Participan en la adherencia y colonización.

- Familia de collagenasas:

- destruyen tejido conectivo

Endotoxina: LPS

Lípido A tiene actividad endotóxica:



- estimula la respuesta inflamatoria indirectamente mediante citoquinas producidas por el hospedero
- Estimula a monocitos/macrófagos
- Produce agregación plaquetaria
- Induce coagulación intravascular
- Es citotóxico para fibroblastos: inhibe crecimiento

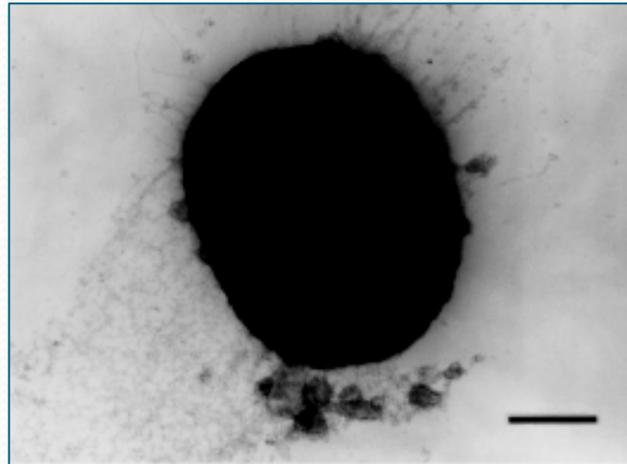
Cápsula

- Formada por polisacáridos (heteropolímero) sobre la membrana externa de la bacteria
- Forma una barrera físico química para proteger de la opsonización y fagocitosis
- Permite la interiorización de *P.gingivalis* en las células del saco periodontal y sobrevivir en esa área

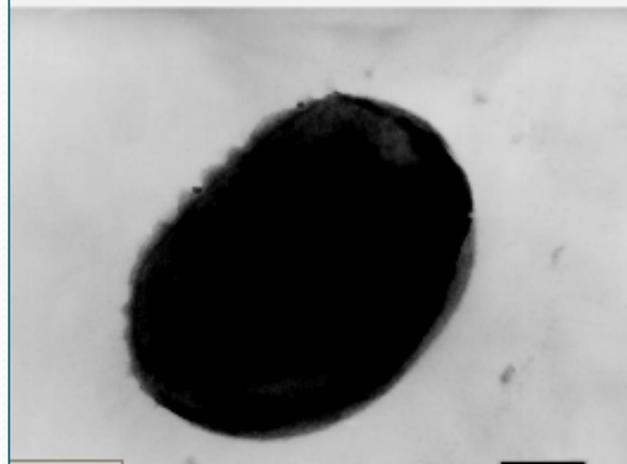
Fimbrias

- Filamentos compuestos de fimbrilina, proteína muy antigénica (inducen IgA e IgG séricas)
- Su principal papel es la adherencia al epitelio bucal, fibroblastos gingivales, células endoteliales, otras especies bacterianas, proteínas de la matrix extracelular y proteínas salivales
- Inducen la producción de citoquinas por macrófagos, contribuyendo a la reabsorción de hueso alveolar

Fimbrias de *P. gingivalis* por microscopía electrónica de transmisión



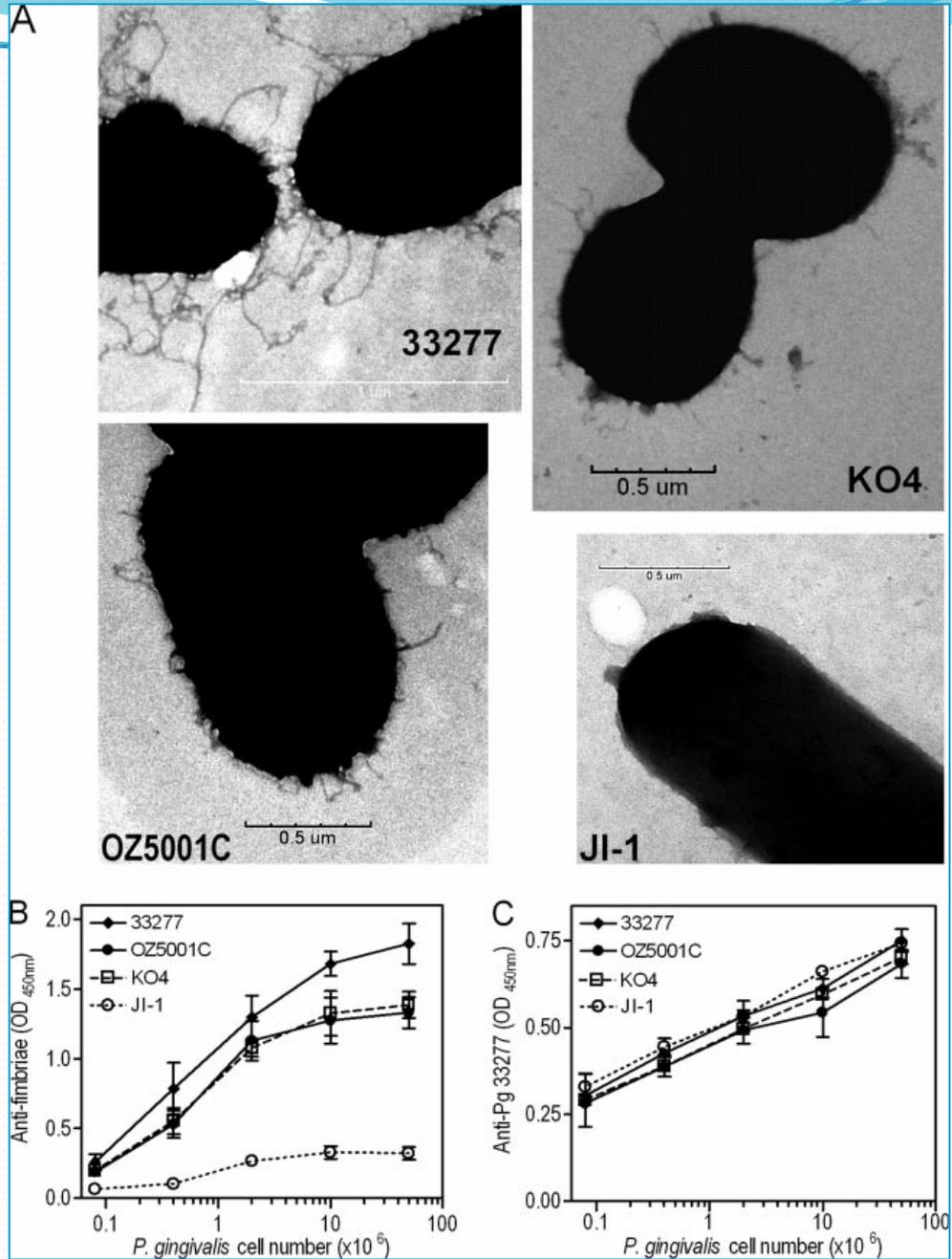
Cepa 381



Mutante MT10

Barra = 0.2 μ m

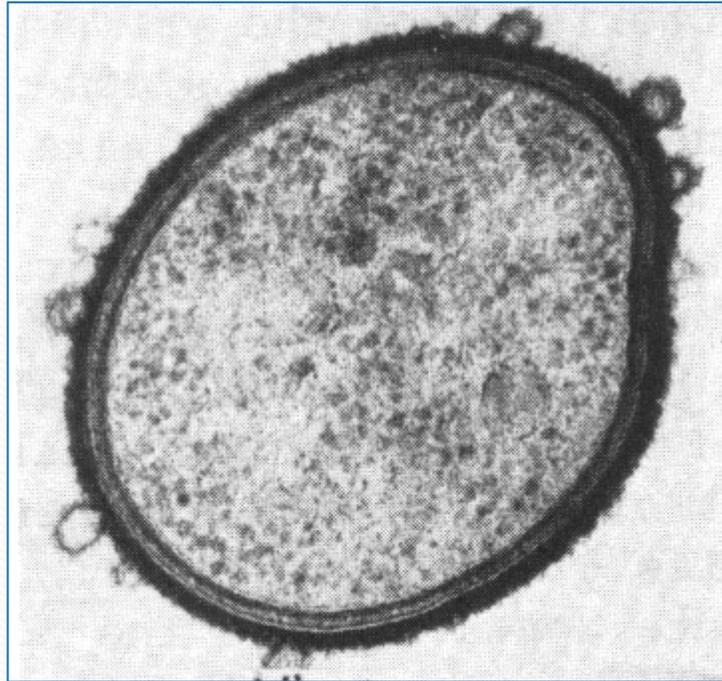
Fimbrias de diferentes aislados de Pg y reactividad con anticuerpos anti=fimbrias



Vesículas de membrana externa (OMV)

- La mayoría de las bacterias GN forman pequeñas estructuras en la superficie de la membrana externas llamadas OMV
- Son liberadas durante el crecimiento
- Pueden contener varios factores de virulencia, incluyendo gingipaínas, colagenasas y LPS

Vesículas de Membrana externa y *fimbrias* de *Porphyromonas gingivalis*

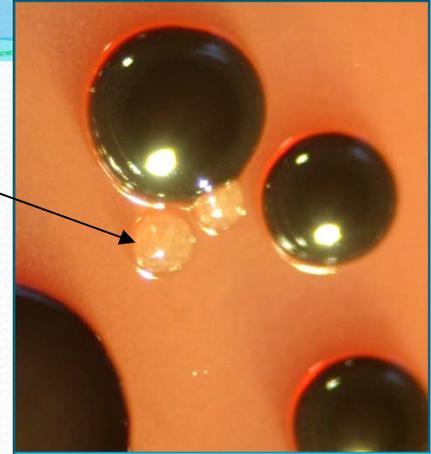


Proteínas principales de membrana externa

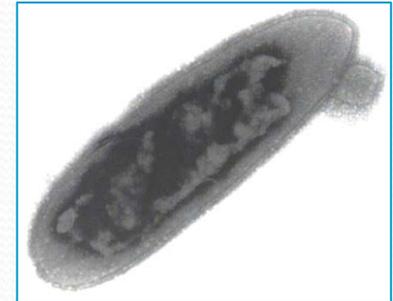
- Capacidad de internalización en las células del epitelio gingival: crítico para protegerse de la fagocitosis
- Capacidad hemaglutinante y hemolizante

Tannerella forsythensis

- Produce metabolitos tóxicos para el hospedero
- Tiene LPS
- Sintetiza proteasas (TLE): degradan colágeno
- Sintetiza proteinasas que podrían inducir apoptosis de linfocitos



Colonia de *T. forsythensis*
Foto. M. Gajardo
Lab. de Microbiología
Fac. Odontología
Universidad de Chile



Treponema denticola

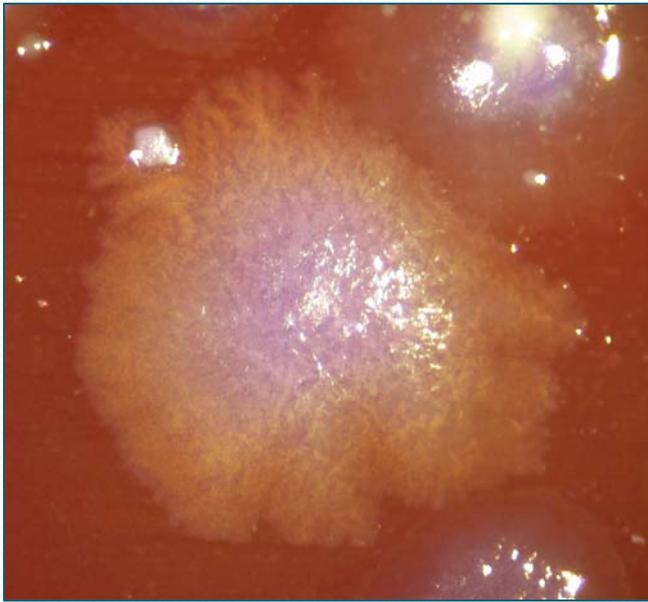
- Es una especie de bacterias con forma espirilar, móvil
- Al igual que *P.gingivalis* y *Tannerella forsythia*, es productora de TLE
- Componentes lipídicos de la membrana externa, no LPS, inducen reabsorción ósea y activación de citoquinas inflamatorias



Fusobacterium nucleatum

- Especie de BGN, delgados, fusiformes, anaeróbicos y proteolíticos
 - Pertenece al complejo naranja de Socransky
 - Importante como puente para colonizadores tardíos
- Produce ácido a partir de hidratos de carbono y de alcoholes
 - Posee LPS, cápsula, fimbrias y proteínas de adhesión
- Produce factores de inhibición quimiotáctica para leucocitos
 - Tiene capacidad para invadir el epitelio

Fusobacterium nucleatum



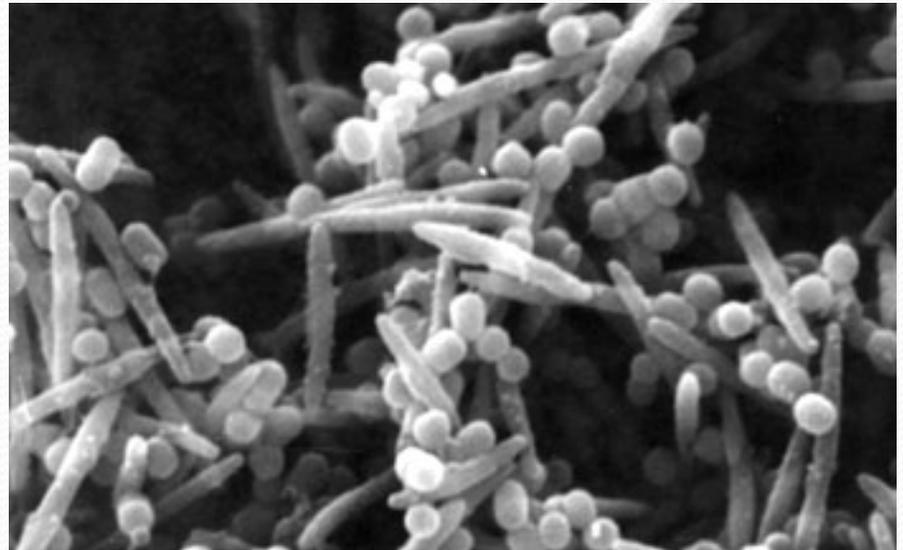
Colonia de *Fusobacterium nucleatum*

Foto: M.Gajardo

Lab. Microbiología Bucal

Fac. Odontología

Universidad de Chile



Fusobacterium nucleatum cells coaggregating with *Porphyromonas gingivalis* cells.

Susan Kinder Haake and [Human Genome](#)

Daño patológico causado por patógenos en tejidos periodontales

- Inflamación de encías
- Destrucción del ligamento periodontal
 - Reabsorción del hueso alveolar

Resultado: posible pérdida de piezas dentarias

Transmisión de patógenos periodontales

- Hay transmisión de un lugar a otro de la boca y de una persona a otra.
- Se ha comprobado la transmisión vertical de Aa y Pg.
- Estudios epidemiológicos moleculares destacan una cierta correlación en el estado periodontal dentro de una familia.

- La aparición de formas agresivas de periodontitis PA en niños de corta edad, asociada a Aa, se produce por contacto con un padre previamente infectado.
- Por métodos moleculares se ha demostrado la transmisión horizontal de Pg entre parejas: no siempre desarrollan la enfermedad.

Microbiota asociada con periodontitis

- De las más de 700 especies identificadas en el biofilm bucal, sólo 10 a 30 jugarían un papel crítico en la patogénesis de la Periodontitis: complejos naranja y rojo más Aa serotipo b.
- Los mecanismos por los cuáles se inicia, se mantiene o progresa la Periodontitis aún no se conocen completamente, como tampoco el papel específico de cada especie.



- A pesar de los avances en la comprensión del biofilm de placa subgingival, de las propiedades patogénicas de determinadas especies bacterianas y de su papel patogénico, la terapia actual es en gran medida inespecífica:

- Tratamientos utilizados, principalmente medidas de higiene bucal, debridamiento y alisado radicular o enjuagatorios, se orientan a reducir la acumulación de placa e el diente

- 
- En el futuro, se espera que mediante la **prevención**, se impida la colonización, el crecimiento y el establecimiento de una microbiota patógena en este microambiente bucal.

FIN