



# ***CONGLOMERADOS BACTERIANOS: BIOFILMS***

***PROF. ASOCIADO***

***NORA SILVA STEFFENS***

***DEPTO DE PATOLOGIA, AREA DE MICROBIOLOGIA***

***FACULTAD DE ODONTOLOGIA, UNIVERSIDAD DE CHILE***

***SEMESTRE PRIMAVERA 2011***





# OBJETIVOS DE APRENDIZAJE

- *CONCEPTOS DE:*
- *ADHESIÓN , COAGREGACIÓN, BIOFILMS, COMUNIDAD CLIMAX.*
- *CAMBIOS EN EL HABITAT QUE SE VAN GENERANDO EN LA ESTRUCTURACION DEL BIOFILM.*
- *CRITERIOS QUE HAN PERMITIDO ASOCIAR BIOFILM CON LA ETIOLOGIA DE CUADROS INFECCIOSOS.*
- *ETAPAS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE BIOFILM BUCAL*
- *MOLECULAS DE SEÑAL*
- *QUORUM SENSING*
- *VENTAJAS COMPARATIVAS DE LOS BIOFILMS*

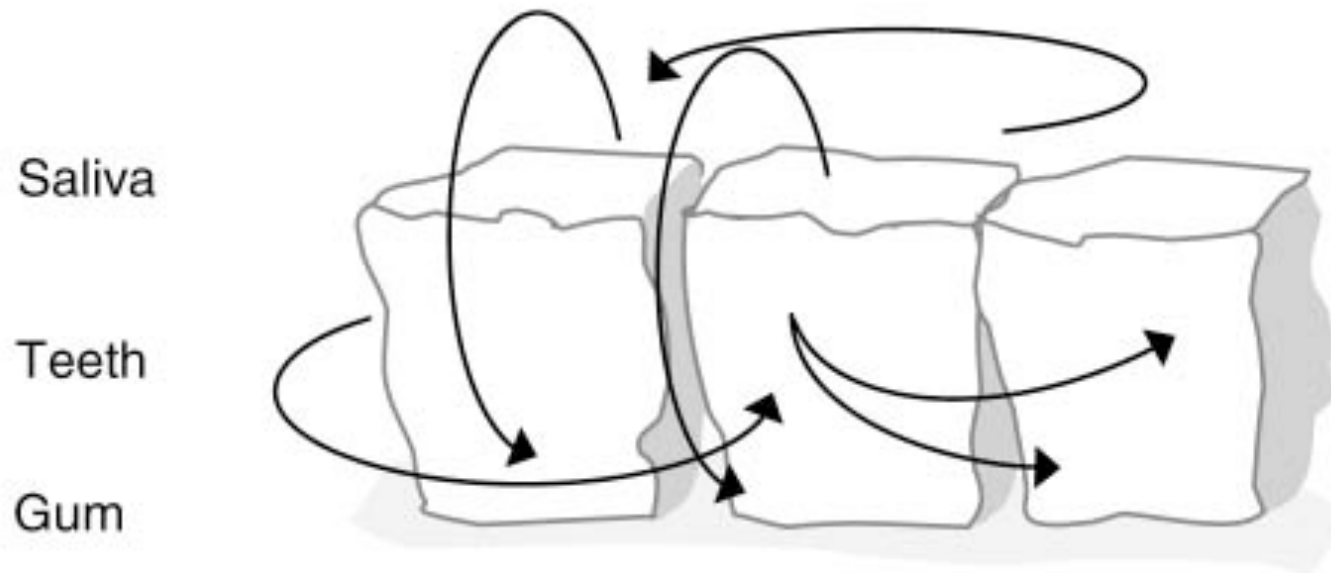
# ***BIOFILMS***

- ***La cavidad bucal ofrece múltiples superficies a las cuales se pueden adherir los microorganismos***



# BIOFILMS

## A Surfaces for colonization and saliva flow

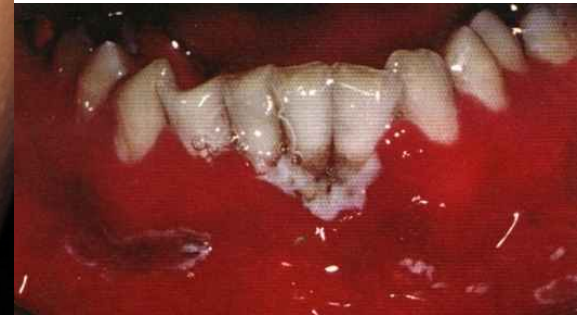


*Tomado de J Dent Res .2010; 89(1): 8-18*

***La cavidad bucal presenta numerosas superficies para la colonización microbiana.***



## LA CAVIDAD BUCAL OFRECE DIVERSOS HABITATS

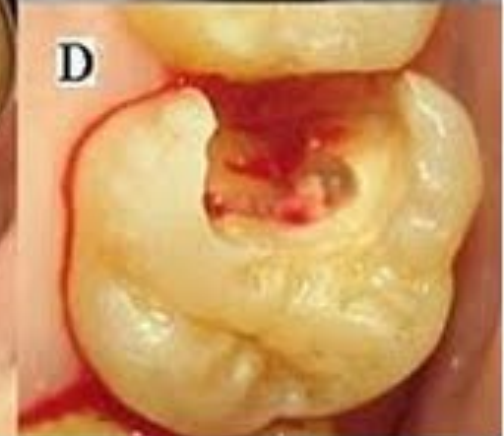
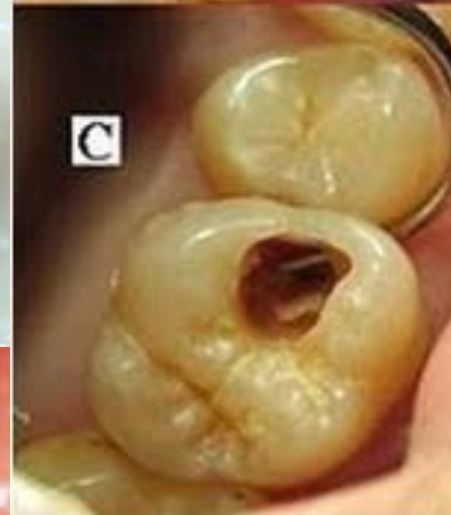
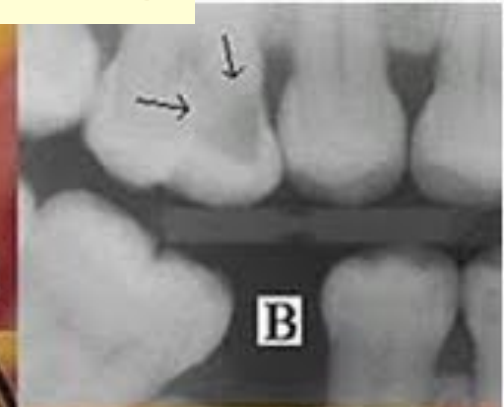




# BIOFILMS

- *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.*

## PATOLOGIAS BUCALES POR BIOFILMS







**ENFERMEDAD PERIODONTAL**

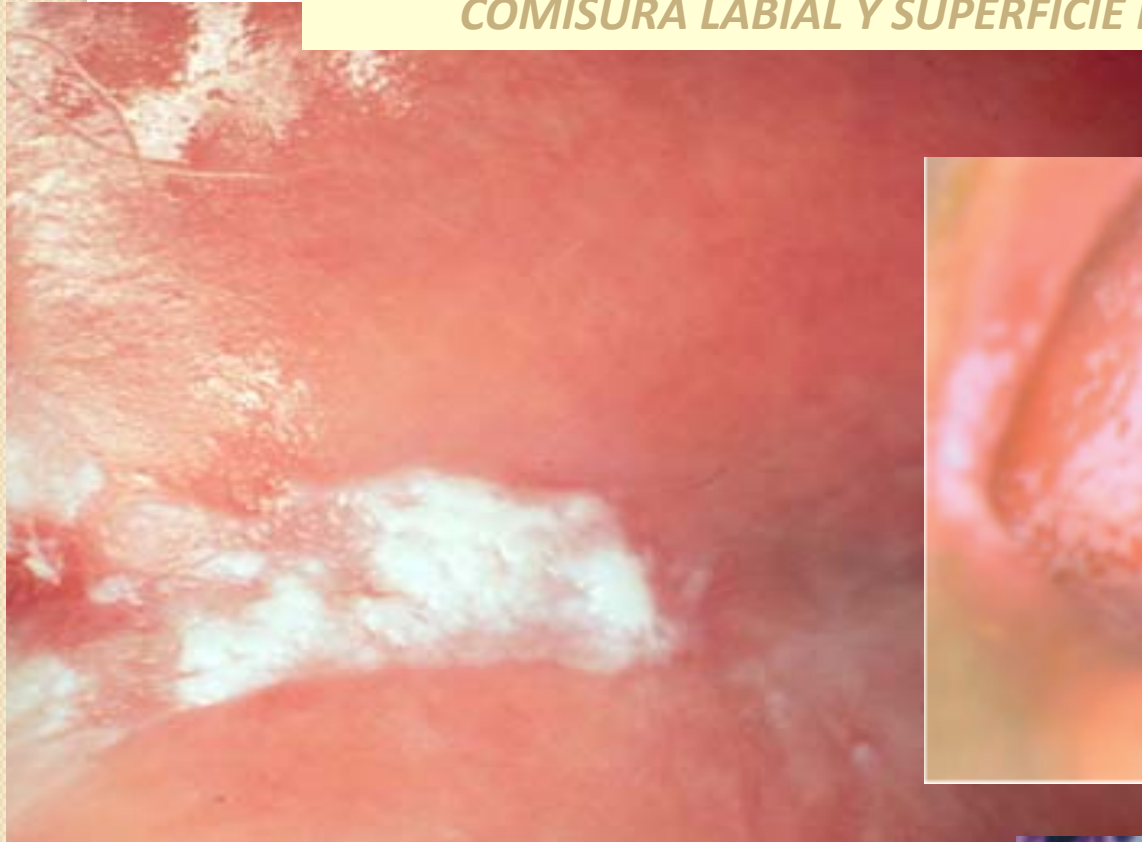
**PERDIDA DE DIENTES POR  
ESTA PATOLOGIA**

**AMBAS SON  
CAUSADAS POR  
BIOFILMS**

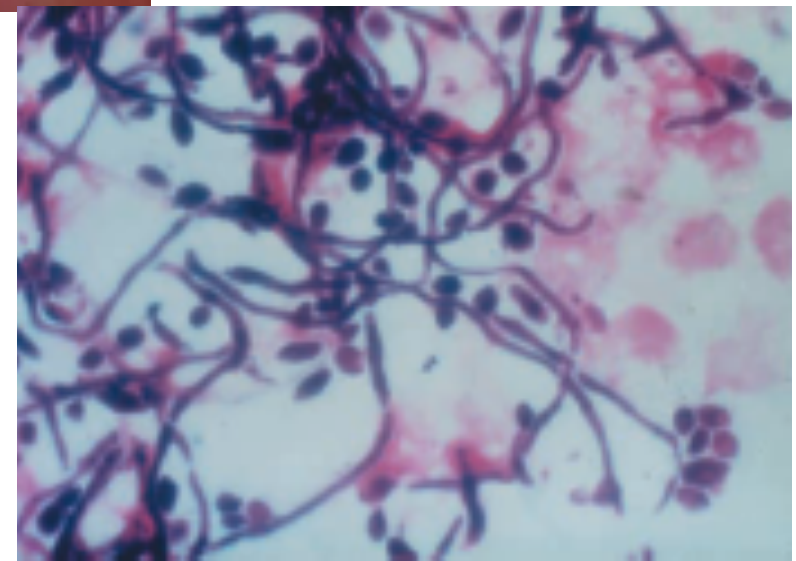
**GINGIVITS**



**CANDIDIASIS BUCAL, OBSERVE MANCHAS BLANCAS EN  
COMISURA LABIAL Y SUPERFICIE LINGUAL**

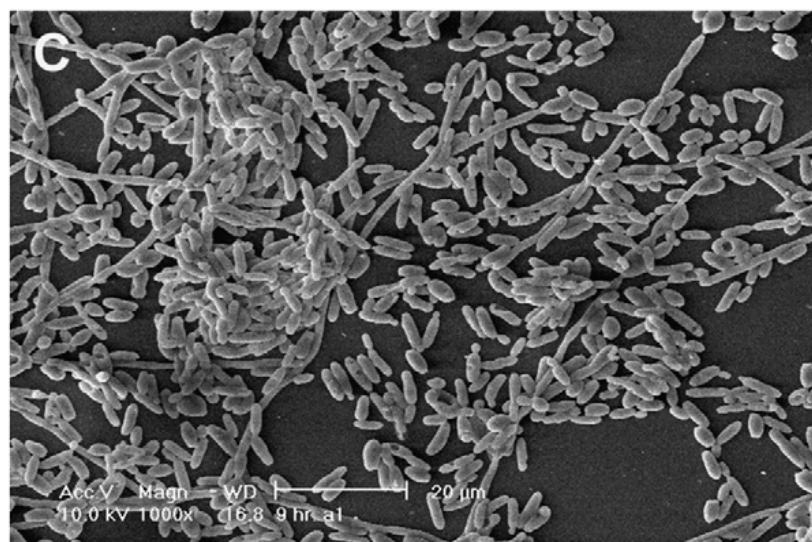
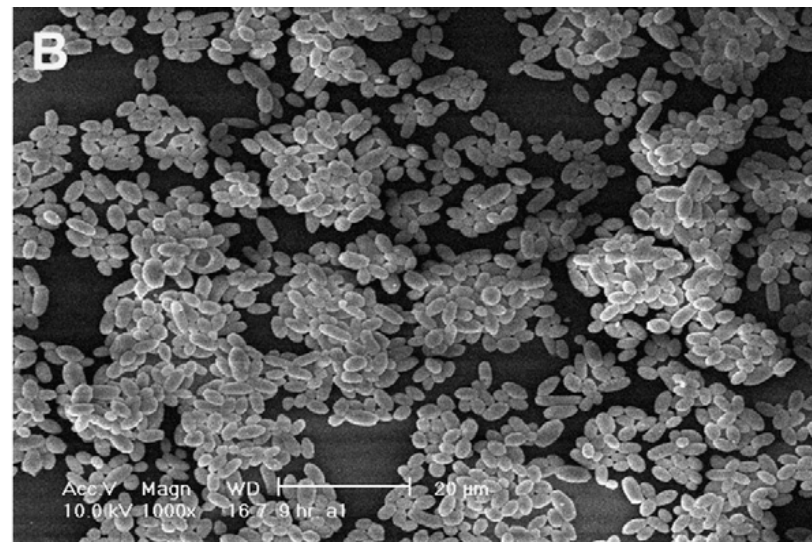
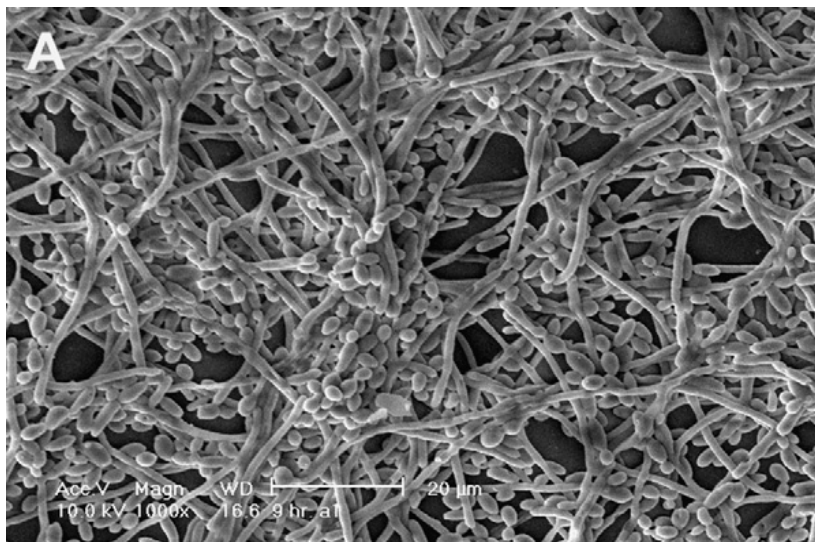


**MICROFOTOGRAFIA  
SE OBSERVAN HONGOS UNICELULARES  
QUE FORMAN PARTE EN ESTE BIOFILM**

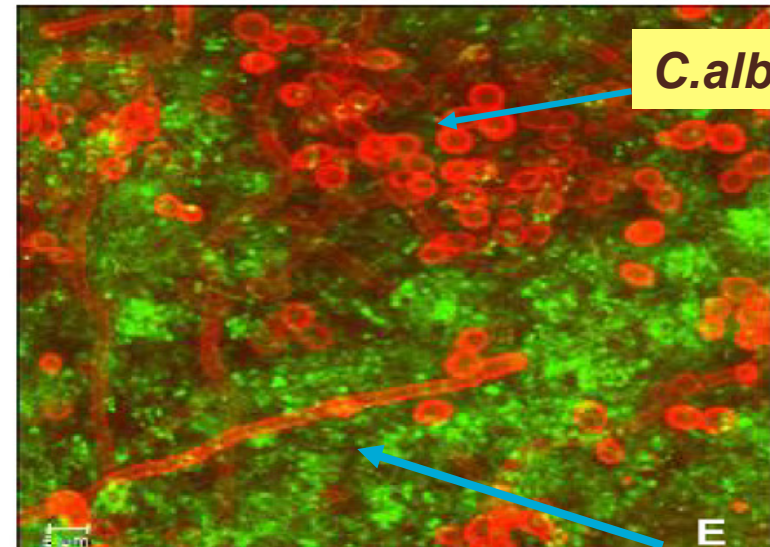
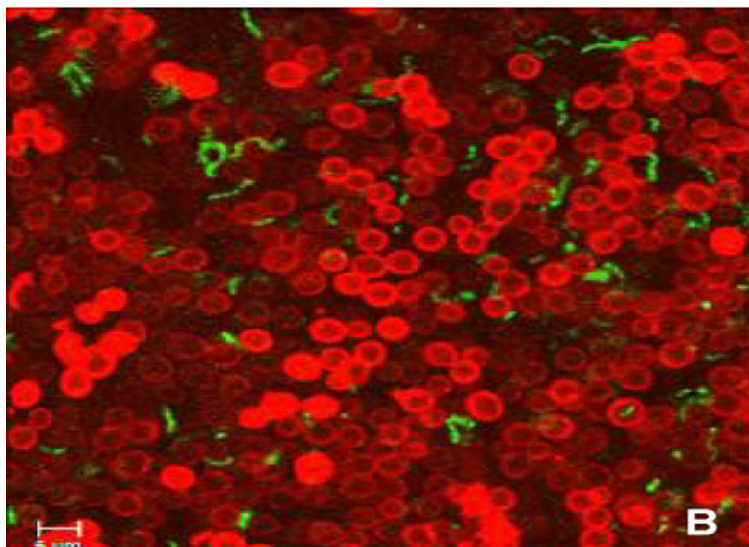
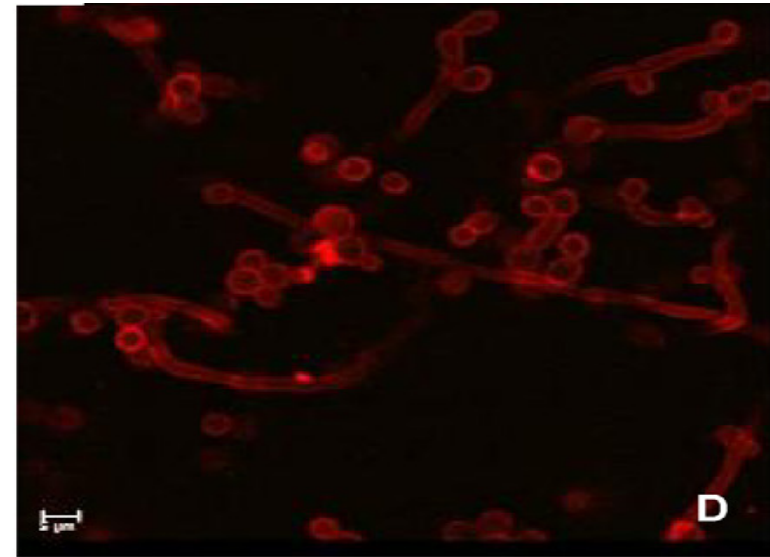
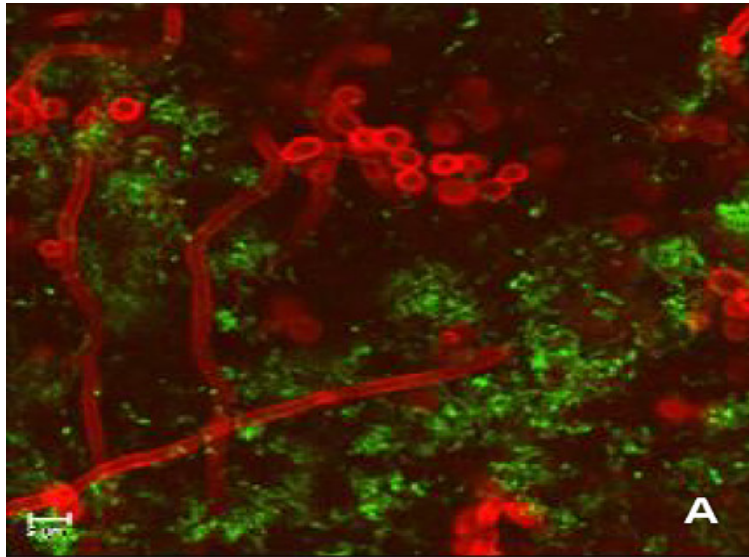




## *C. albicans*, *C. krusei* en superficie de acrílico



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



***C.albicans***

***S.mutans***



**FORMACIÓN DE BIOFILMS EN EL HOSPEDERO HUMANO  
ALGUNOS SE ASOCIAN AL USO DE DISPOSITIVOS PROTETICOS**

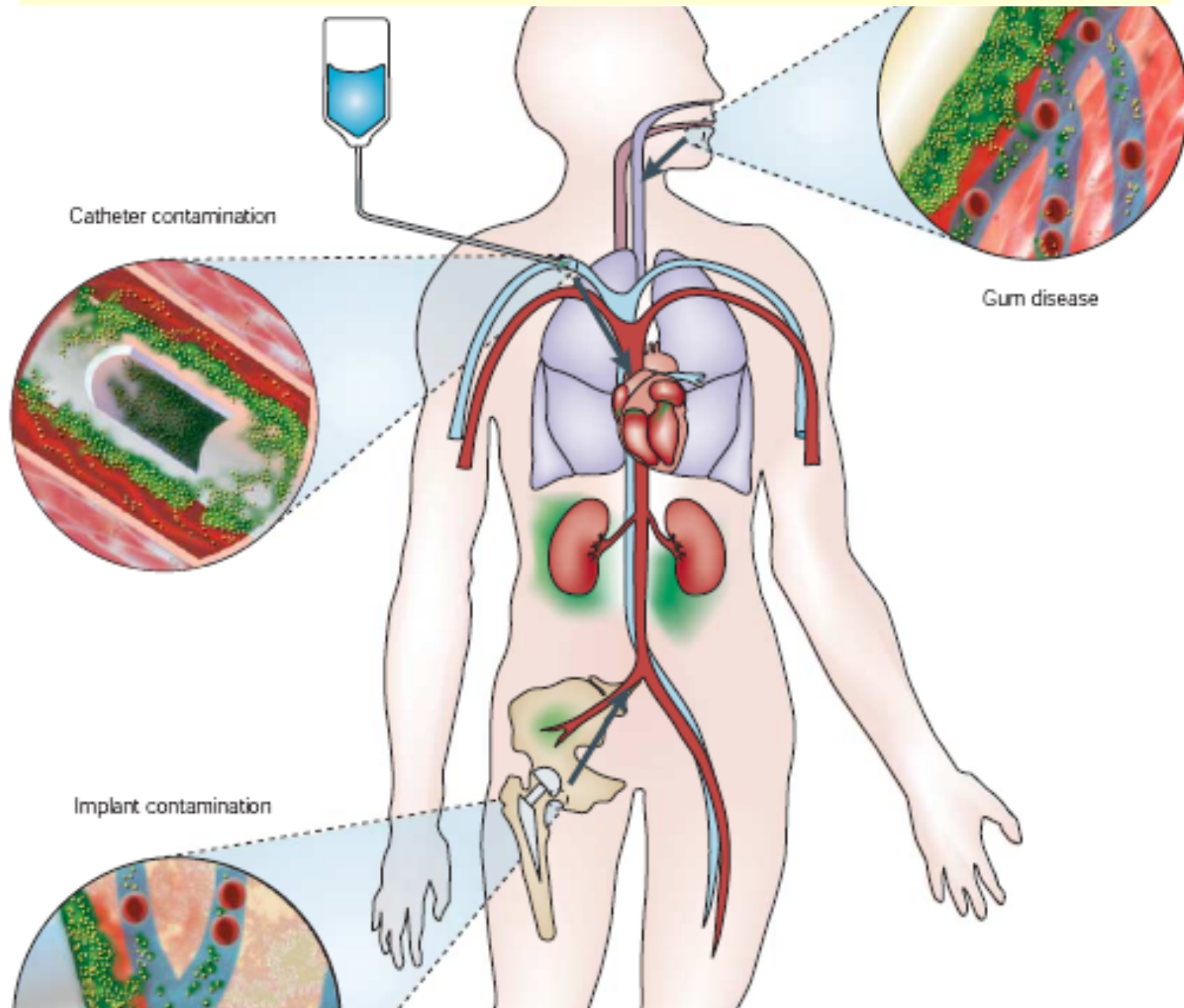




TABLE 1. Examples of common implant infections

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***

- **Algunas evidencias sugieren que el microbioma oral, cambia como la edad en humanos. Estas variaciones dificultan identificar un microbioma “típico” asociado a salud.**



• J. Microbiol, 2006.44: 572- 576.



# ***BIOFILMS***

- ***NO SOLO COLONIZAN SUPERFICIES BIOLOGICAS, SINO TAMBIEN LOS MATERIALES EMPLEADOS EN ODONTOLOGIA.***
- ***SE HA IDENTIFICADO BIOFILMS EN SUPERFICIES DE TITANIO.***

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

# **BIOFILMS**

- **¿QUE CRITERIOS HAN PERMITIDO ESTABLECER QUE EL BIOFILM ES LA CAUSA ETIOLOGICAS DEL PROCESO INFECCIOSO?**
- **PARSEK Y SINGH PROPUSIERON 4 CRITERIOS PARA DEFINIR QUE EL BIOFILM ES LA CAUSA ETIOLOGICA DEL PROCESO INFECCIOSO:**

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

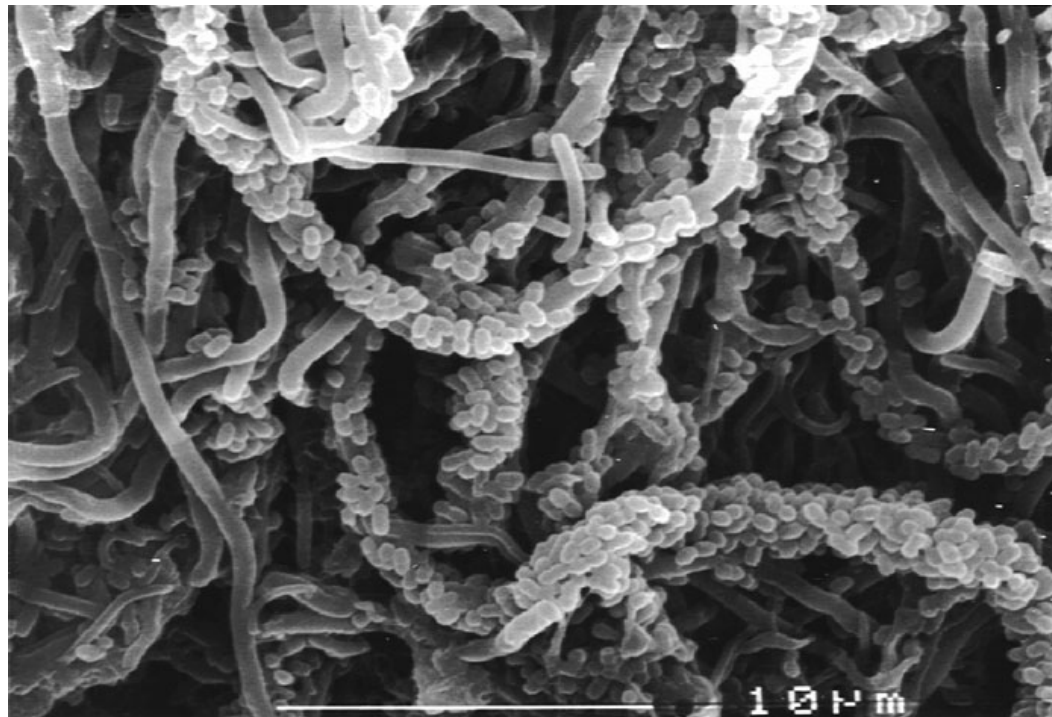



# BIOFILMS

- ***1.-LA BACTERIA PATOGENA SE ASOCIA A UNA SUPERFICIE O A UN SUSTRATO ADHERENTE***
- ***2.-EL EXAMEN DIRECTO DEBE REVELAR QUE LAS BACTERIAS ESTAN EN CLUSTERS EN UNA MATRIZ DE ORIGEN BACTERIANO O DEL HOSPEDERO.***
- ***3.-LA INFECCIÓN ES LOCALIZADA***
- ***4.-LA INFECCIÓN ES RESISTENTE A LOS ANTIBIOTICOS, AUN CUANDO LAS BACTERIAS EN PLACKTON SEAN SENSIBLES.***

# ***CAVIDAD BUCAL***

- ***¿COMO SE ESTABLECE LA MICROBIOTA A NIVEL DE LA CAVIDAD BUCAL?***





## ***¿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***

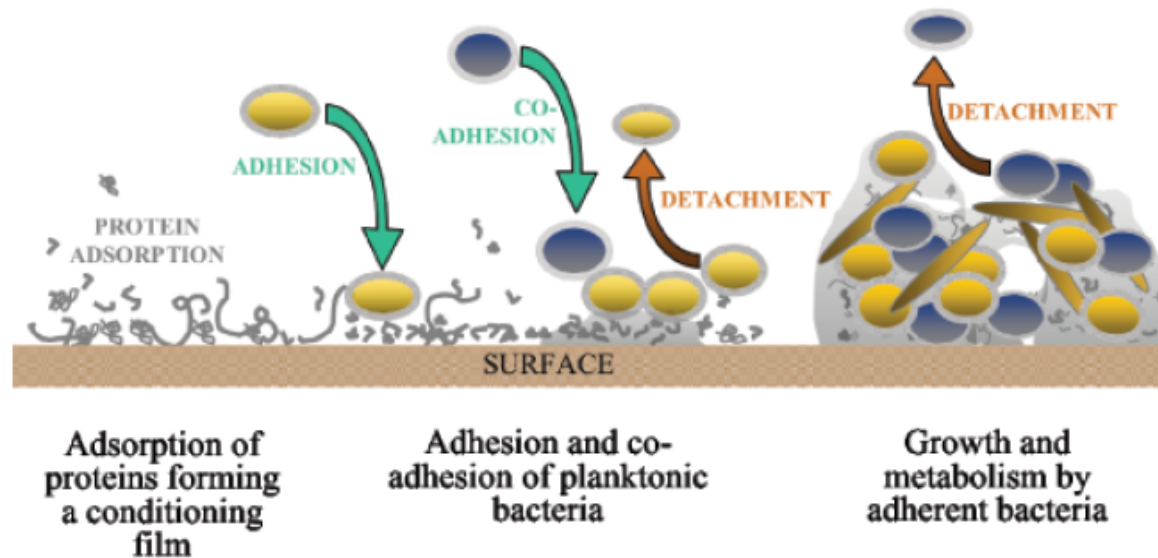
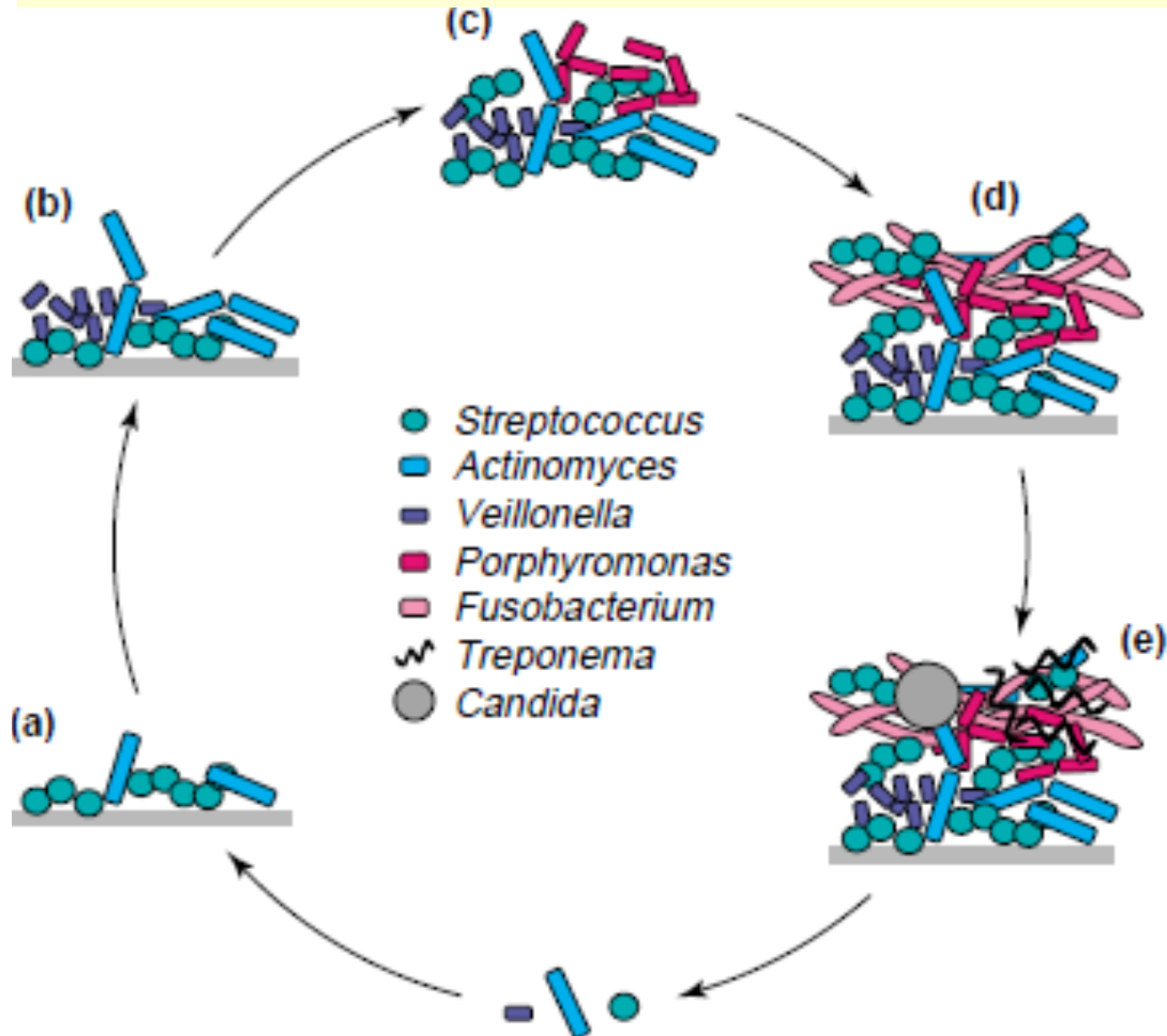


Fig. 1. Stages of biofilm formation.



## COMO SE ESTRUCTURA Y COMPLEJIZA UN BIOFILM



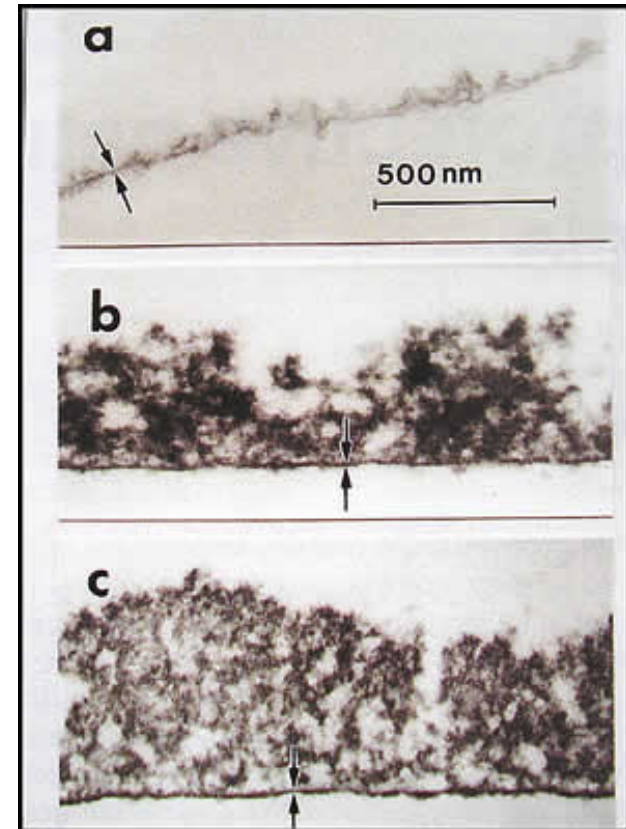
Tomado de: TRENDS in Microbiology Vol.13 No.12 December 2005

# ***FORMACIÓN DE LA PELÍCULA SALIVAL***

***1 Min.***

***2 hrs.***

***6 hrs.***





# BIOPELICULA SALIVAL

- **DEPOSITO DE PROTEINAS Y GLICOPROTEINAS PROVENIENTES DE LA SALIVA SOBRE LAS SUPERFICIES DENTARIAS.**
- **ESTAS PROVEEN DE RECEPTORES A LOS QUE SE ADHIEREN BACTERIAS QUE PRESENTEN LAS ADHESINAS ESPECIFICAS PARA ELLO.**



# **ADHESIÓN**

- **CELULAS PLANCTÓNICAS ( QUE SE ENCUENTRAN EN SUSPENSIÓN) SE UNEN A RECEPTORES DE LA BIOPELICULA.**
  - **LAS CELULAS AUMENTAN EN NÚMERO Y SE DISEMINAN SOBRE TODA LA SUPERFICIE DENTARIA  
( COLONIZADORES PRIMARIOS)**
- SON CRUCIALES PARA LA SUBSECUENTE COAGREGACION CON OTROS MICROORGANISMOS .**

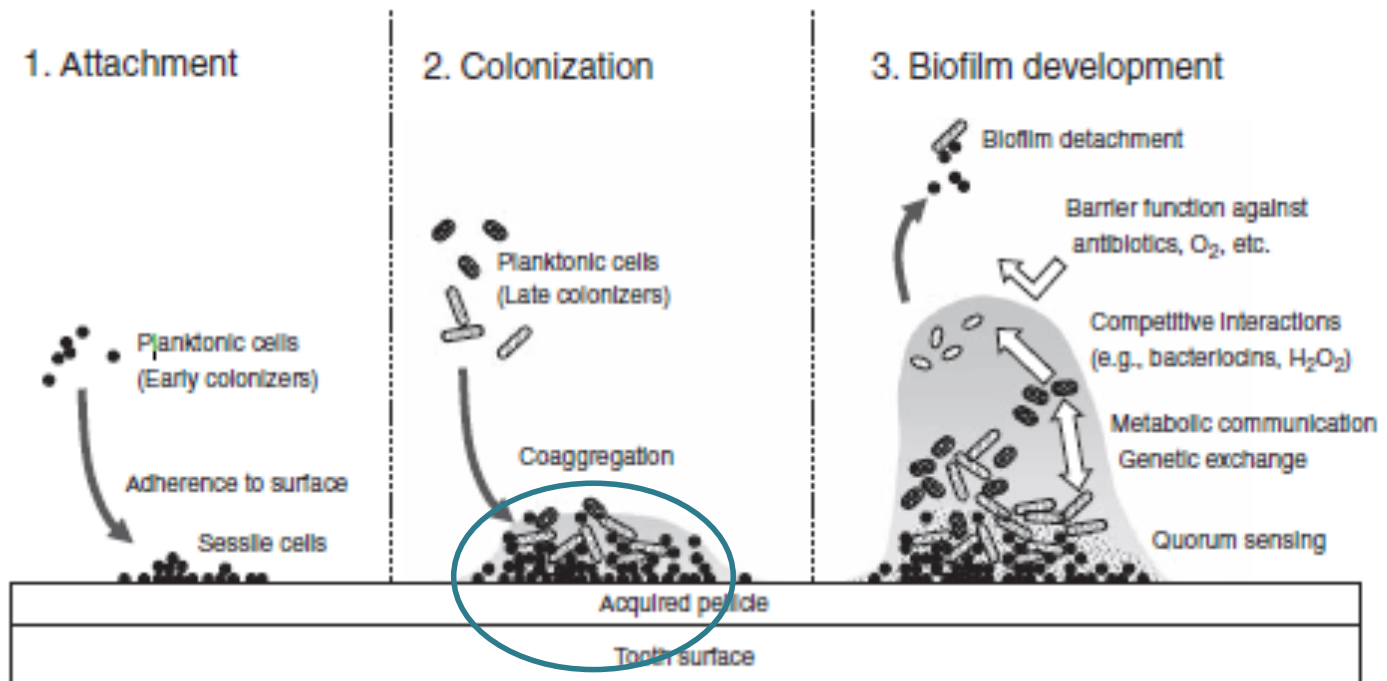


# ***COAGREGACIÓN***

- ***Se define como el reconocimiento y adhesión entre bacterias planctónicas que no pueden colonizar directamente la superficie dentaria, pero lo hacen vía receptores a la superficie de los colonizadores primarios adheridos.***

• *Caries Res. 2010.44: 485- 497*

# COAGREGACIÓN



*La coagregación es una interacción específica célula-célula que ocurre entre células bacterianas diferentes.*

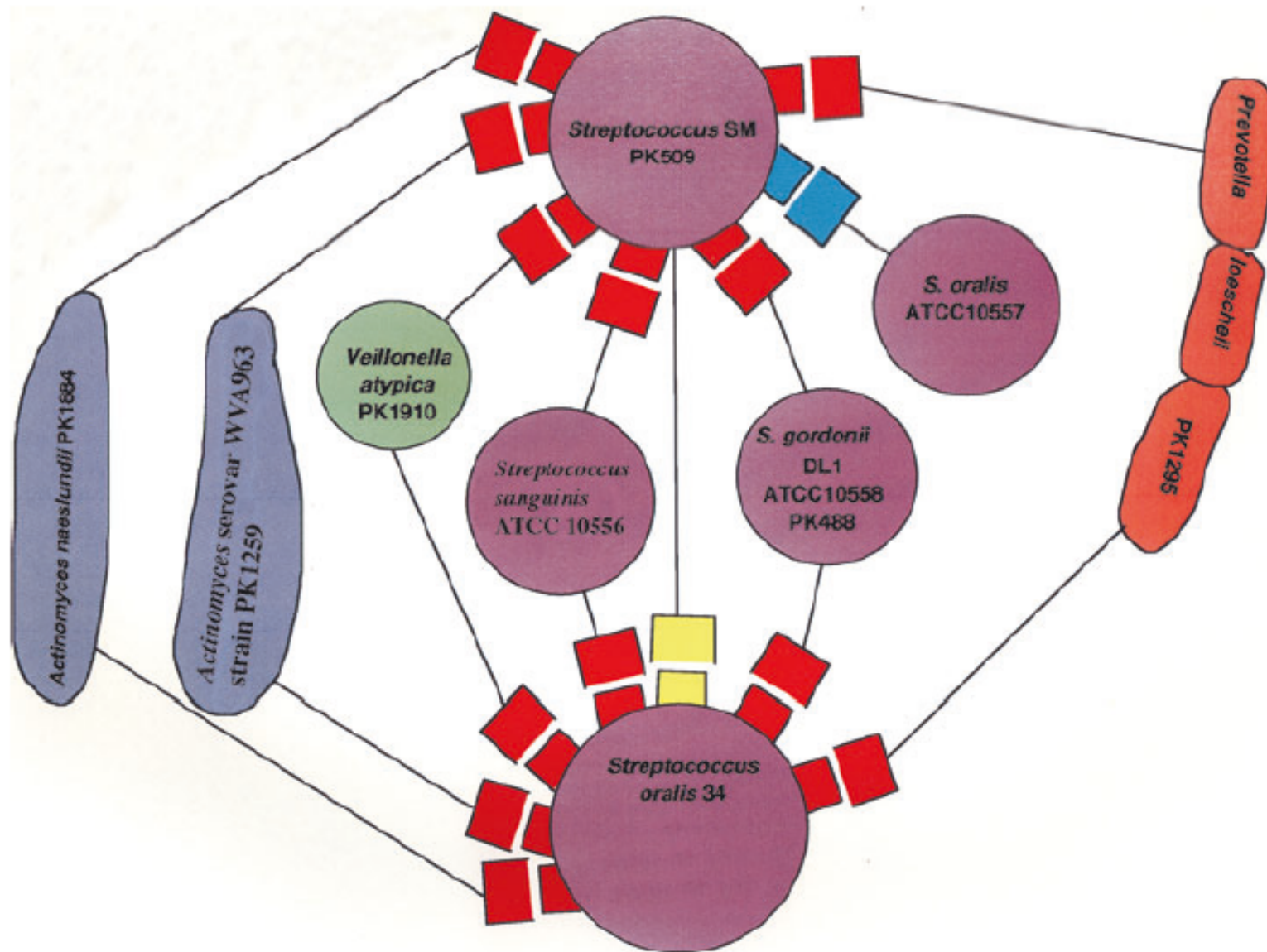


# ***COAGREGACIÓN***

- ***LAS PAREJAS COAGREGANTES SON CLAVES EN EL DESARROLLO DE LA BIODIVERSIDAD QUE TIENE LUGAR EN EL BIOFILM SUPRA Y SUB GINGIVAL.***

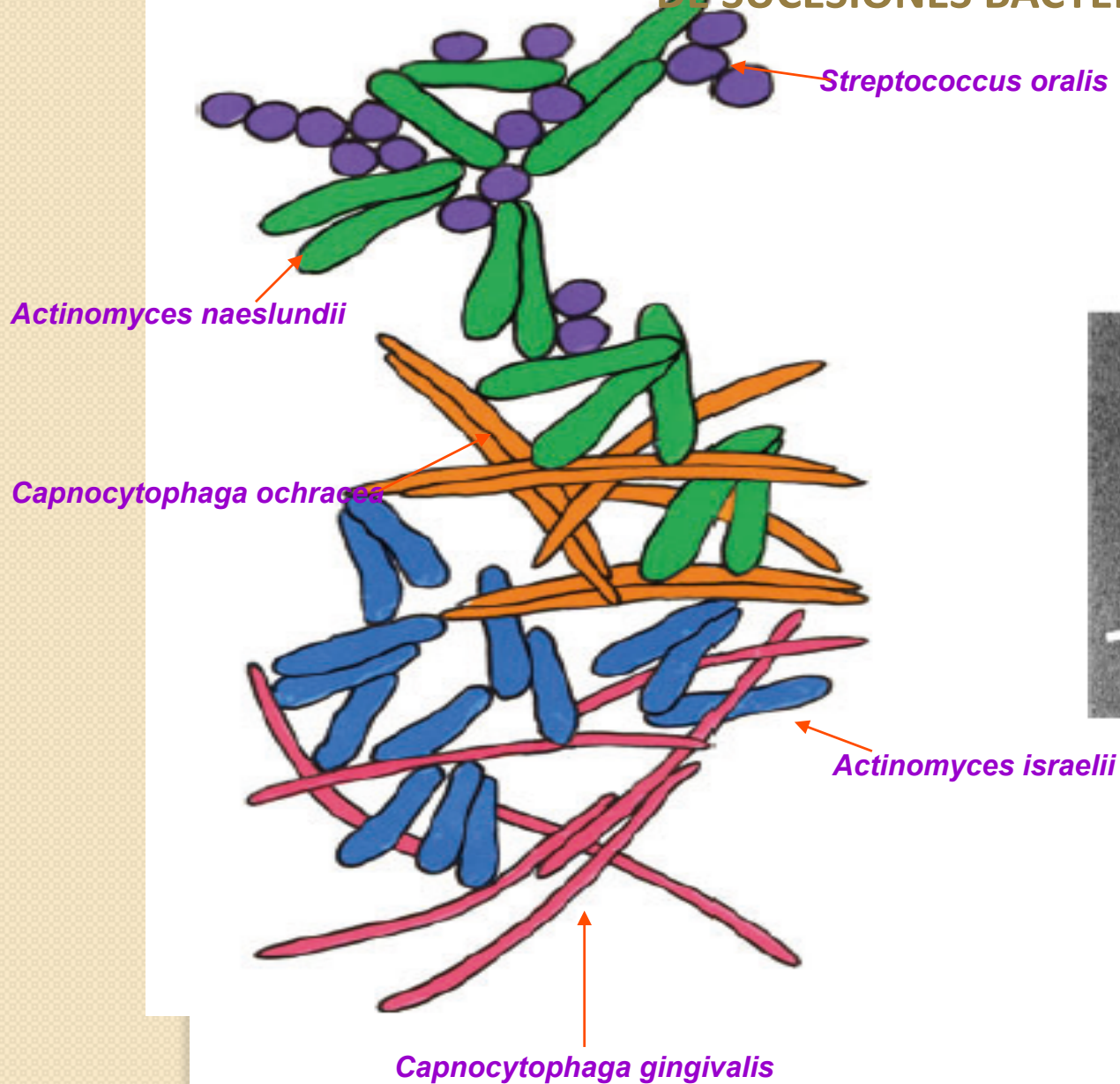


# COAGREGACIÓN

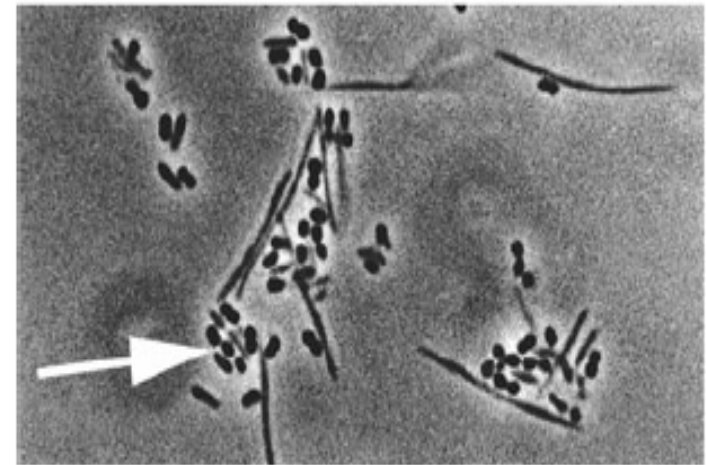




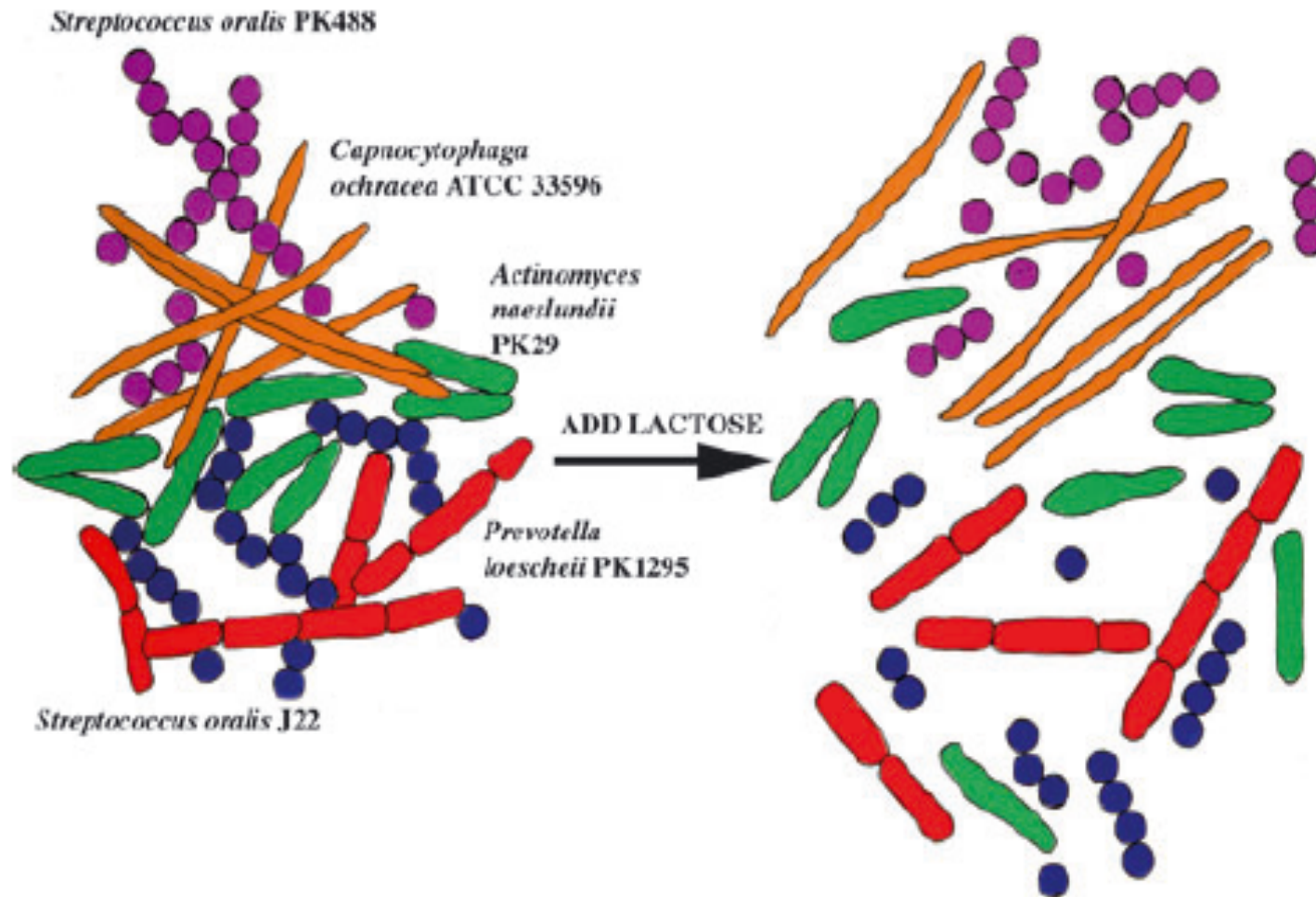
PARA LA FORMACIÓN DE ESTE CONGLOMERADO  
NECESARIAMENTE OCURRE UNA SERIE  
DE SUCESIONES BACTERIANAS



Mixed-Species Coaggregates

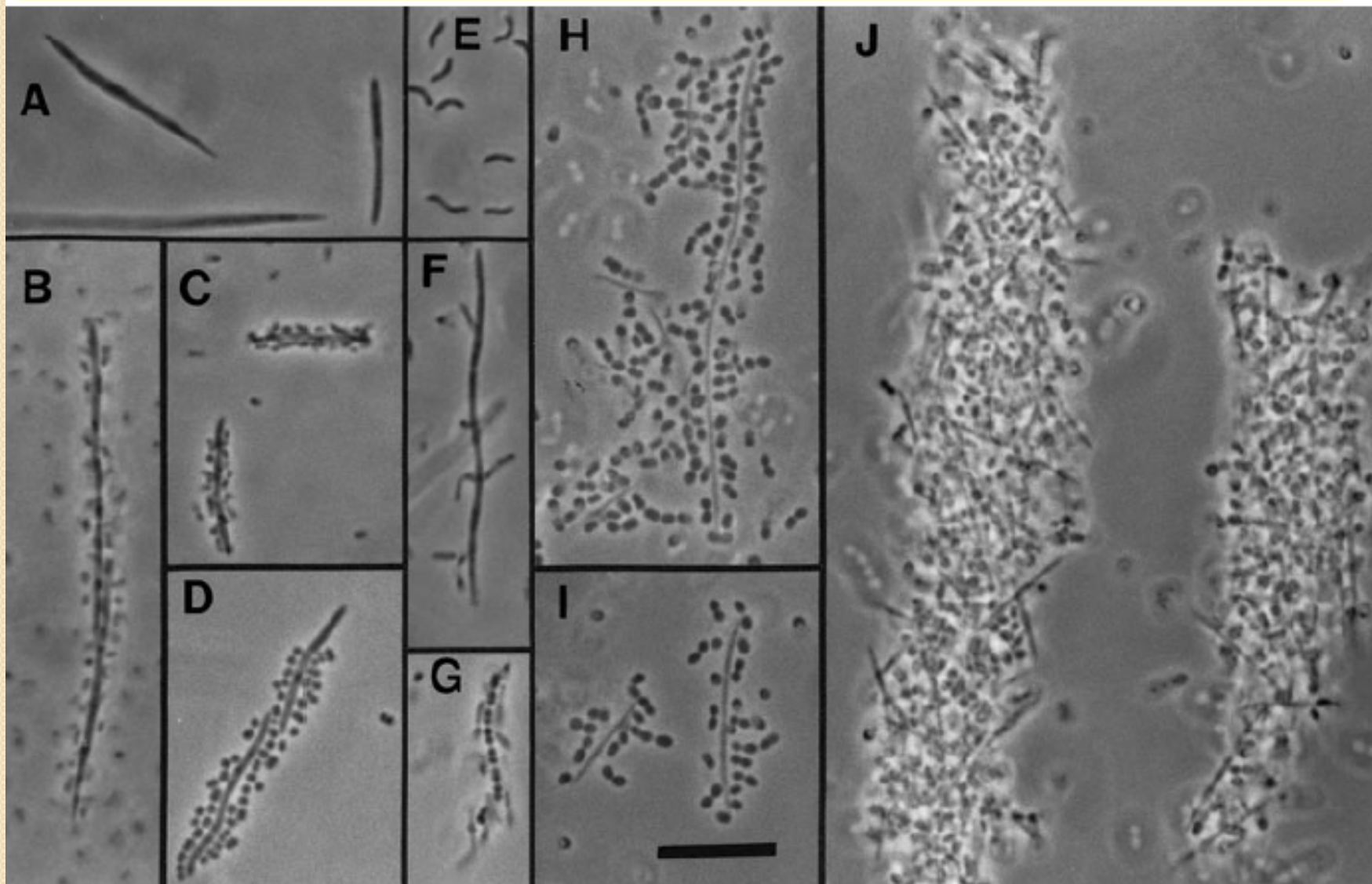


# COAGREGACIÓN



SE EJEMPLIFICA LA ADICIÓN DE UN SUSTRATO QUE IMPIDE LA COAGREGACIÓN BACTERIANA

***MICROFOTOGRAFIA DE FASE CONTRASTADA QUE PERMITE EVIDENCIAR  
PRESENCIA DE CONGLOMERADOS***



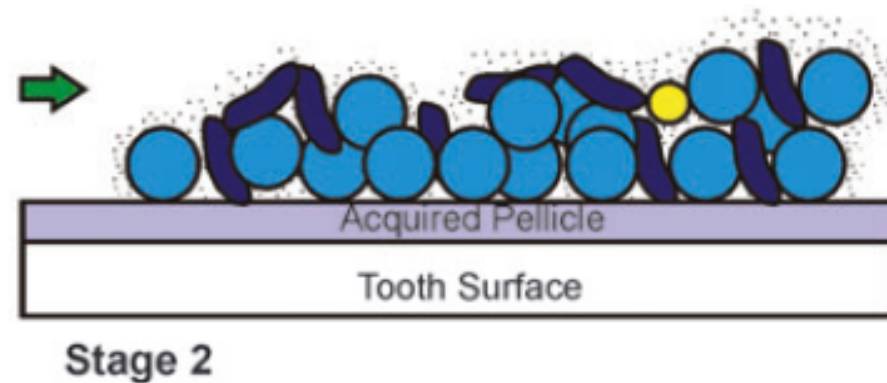
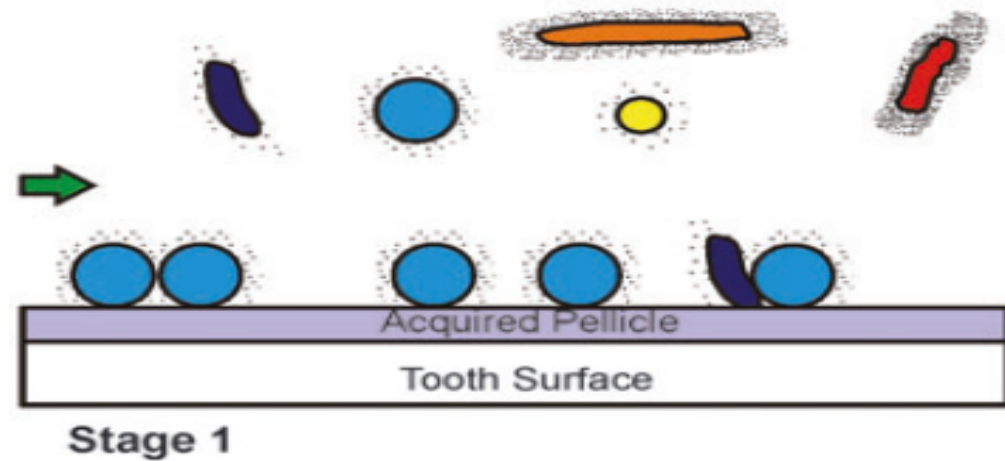
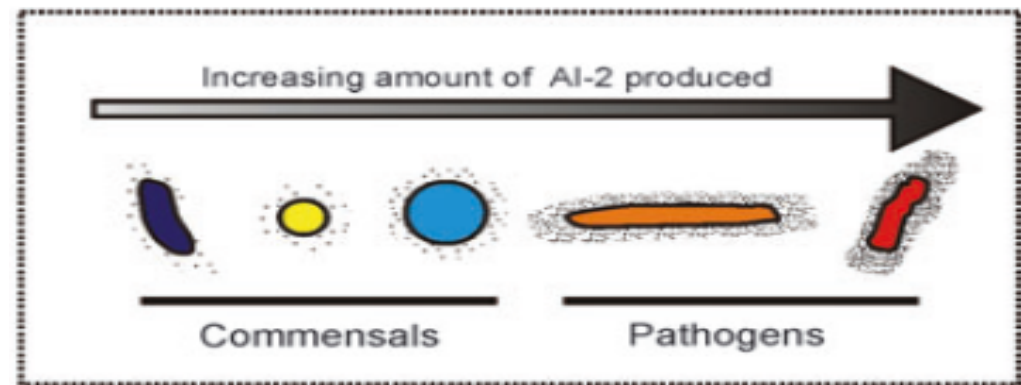


# ***SUCESIONES BACTERIANAS***

- ***LA POBLACIÓN CRECE EN UNA COMUNIDAD O BIOFILM: **SUCESIÓN PRIMARIA.*****
- ***EL MICROAMBIENTE AL INTERIOR DE LA COMUNIDAD CAMBIA.***



**SUCESIONES BACTERIANAS, SE  
INSTALA UNA MICROBIOTA  
COMENSAL**

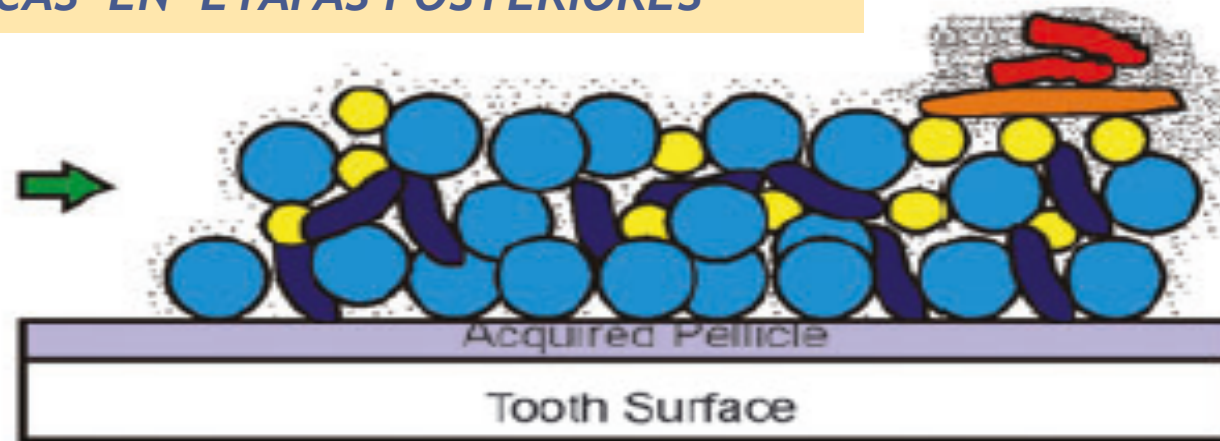




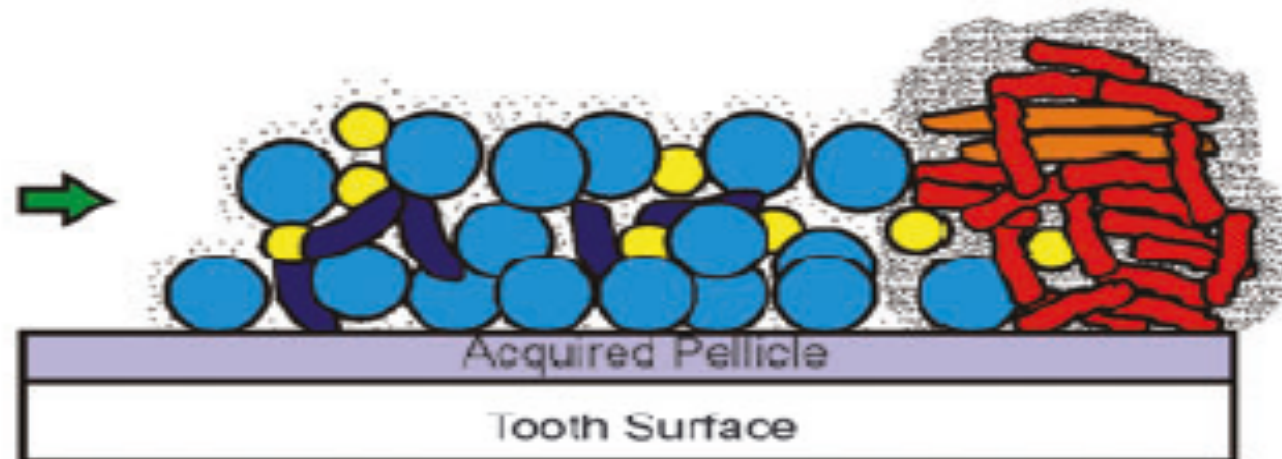
# ***SUCESIONES BACTERIANAS***

- ***EL NICHOS ECOLÓGICO CAMBIA Y LA COMUNIDAD ES REORGANIZADA: **SUCESIÓN SECUNDARIA.*****
- ***EL MICROAMBIENTE SUFRE NUEVOS CAMBIOS.***

*COLONIZACIÓN E  
INVASIÓN DE ESPECIES  
PATOGENICAS EN ETAPAS POSTERIORES*



**Stage 3**



**Stage 4**



# ***SUCESIONES BACTERIANAS***

- ***TENEMOS UNA COMUNIDAD ESTABLE CON UN GRAN NÚMERO DE ESPECIES.***

***COMUNIDAD CLIMAX.***

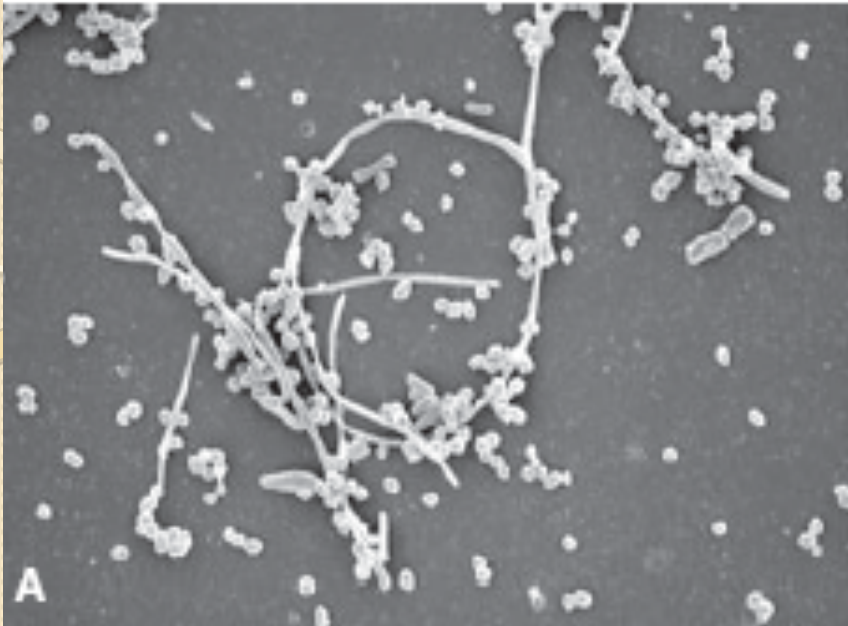




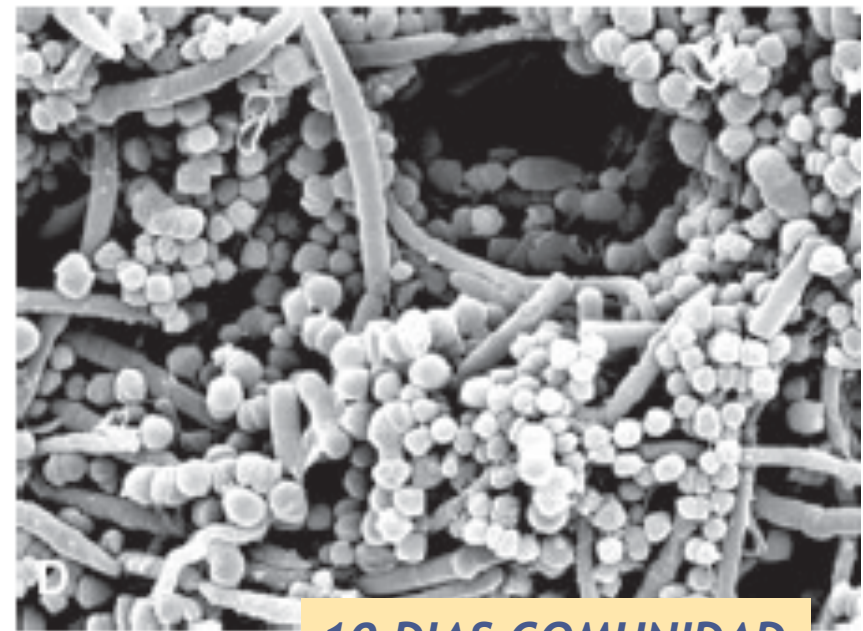
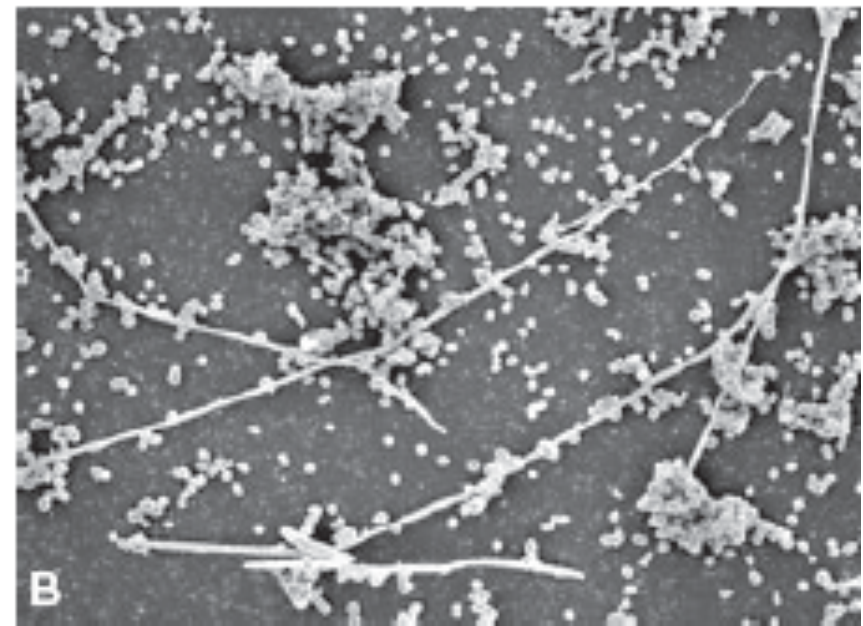
# ***SUCESIONES BACTERIANAS***

- ***LA MADURACION DEL BIOFILM REQUIERE DE INTERACCIONES ENTRE UN AMPLIO ESPECTRO DE MICROORGANISMOS***

**4-8 HRS**



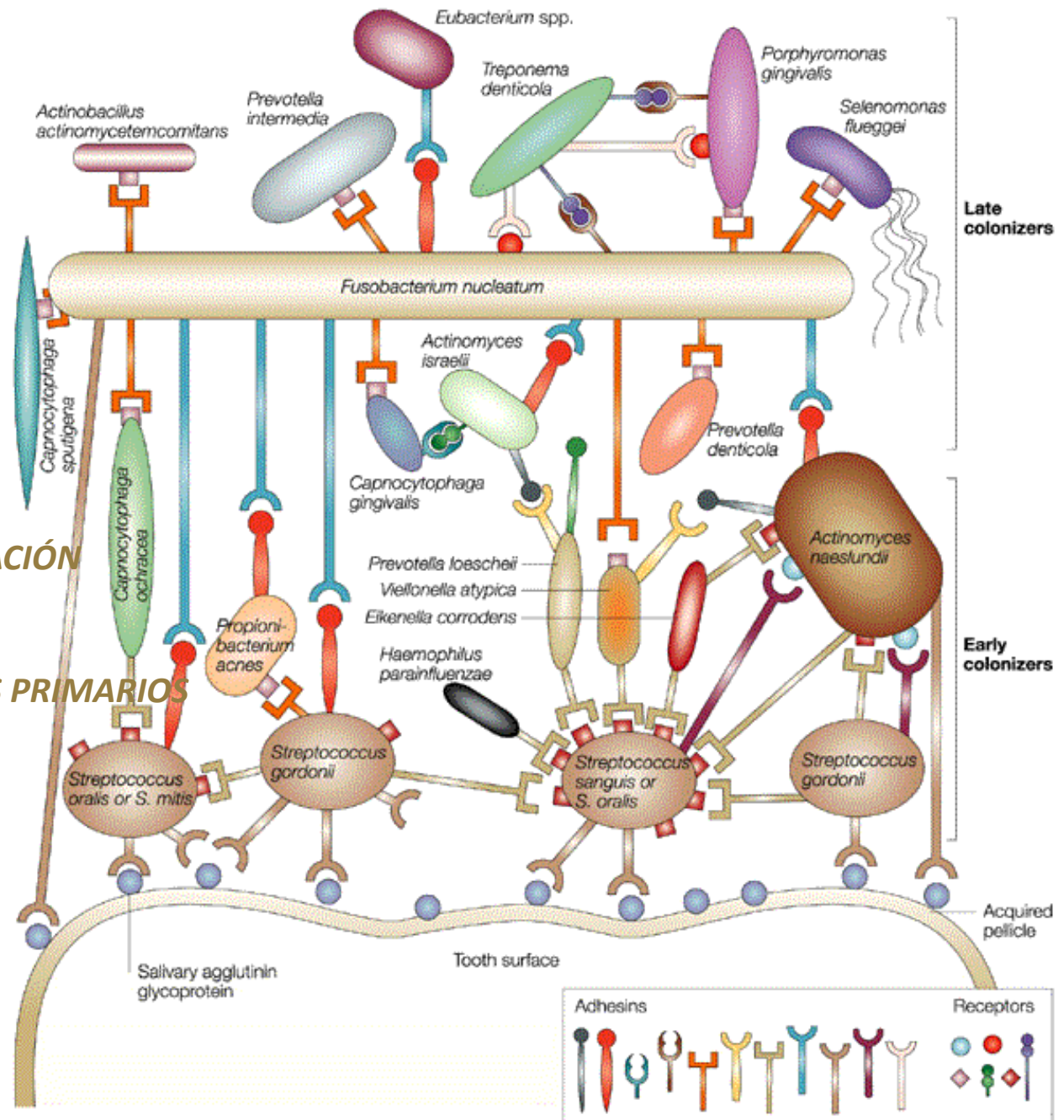
**24- 48 HRS**



**5 DIAS**

**10 DIAS COMUNIDAD  
CLIMAX**

ESQUEMA QUE MUESTRA  
COMO SE VAN SUCEDIENDO  
LOS DISTINTOS TIPOS  
BACTERIANOS EN LA ESTRUCTURACIÓN  
DE LA COMUNIDAD CLIMAX  
A NIVEL BUCAL  
CABE DESTACAR COLONIZADORES PRIMARIOS  
COLONIZADORES TARDIOS





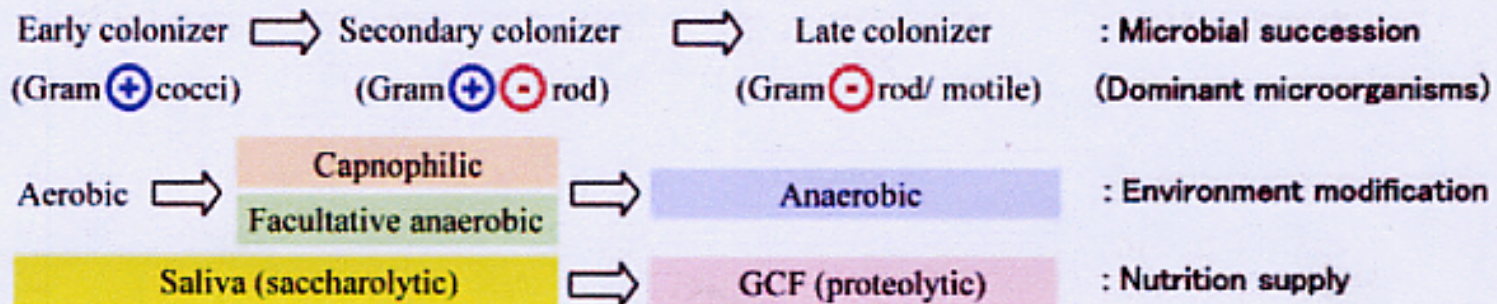
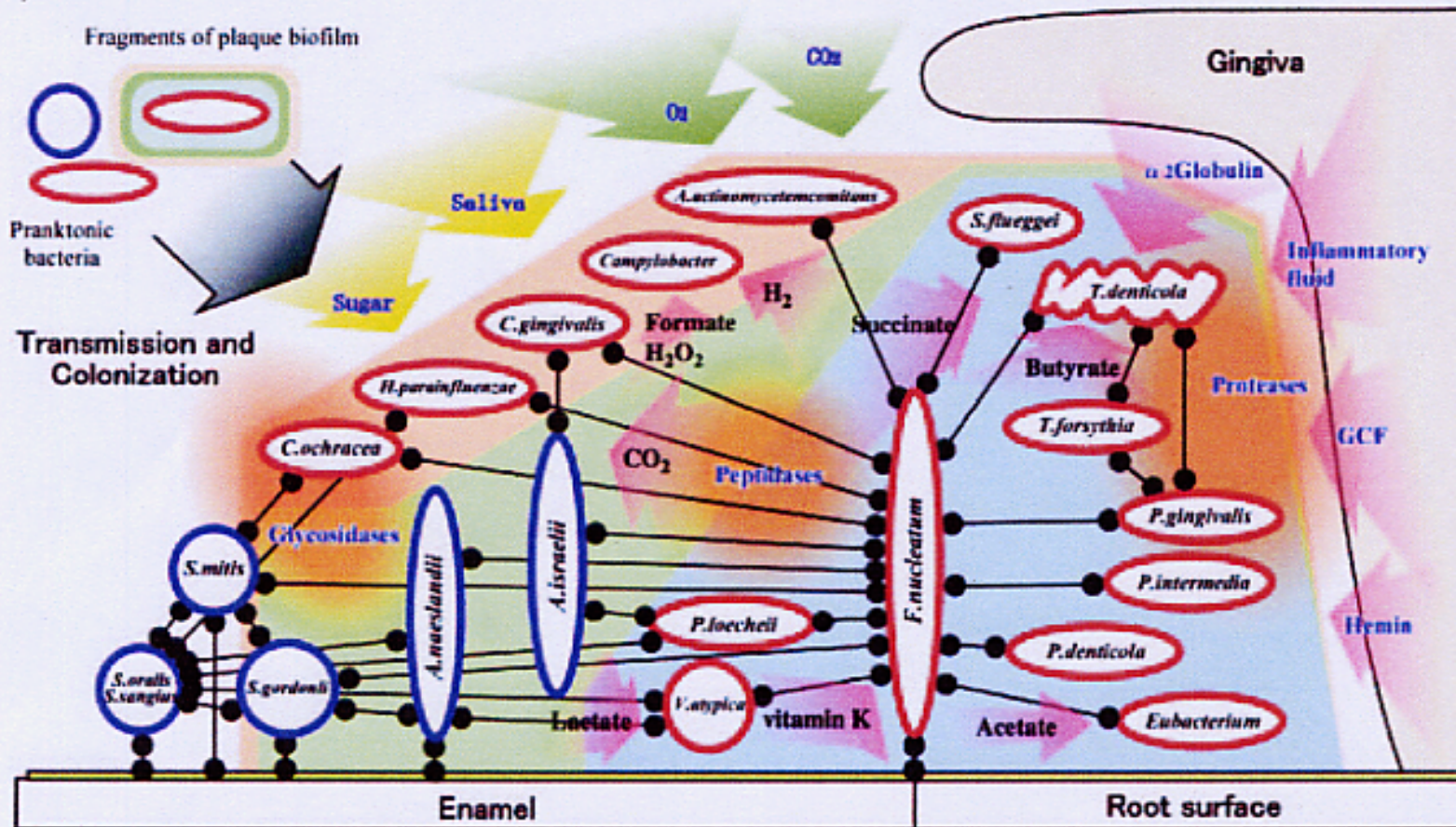


Fig. 2. Microbial ecology of subgingival plaque as a pathogenic biofilm.

## BIOFILM BUCAL Y SU UBICACIÓN TOPOGRAFICA

# BIOFILM MADURO

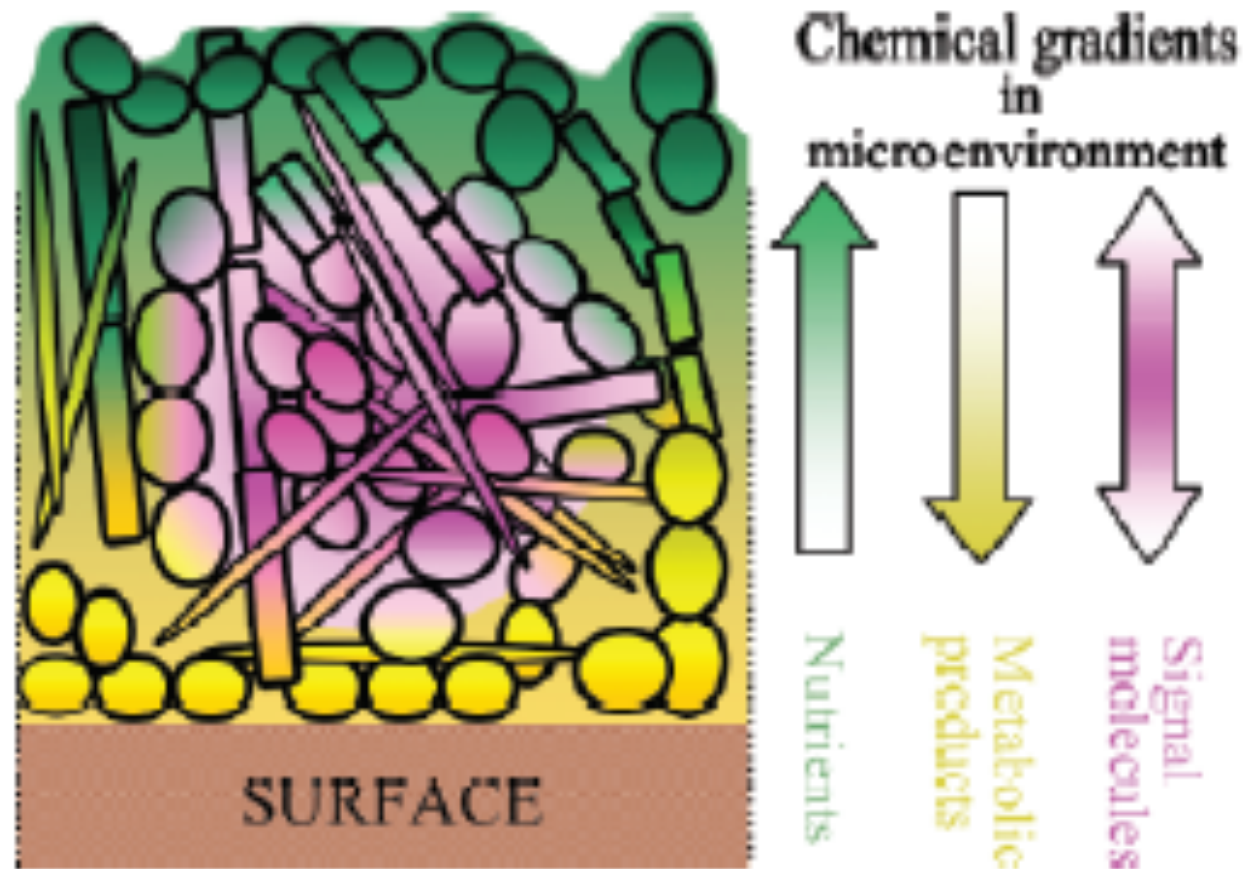


Fig. 2. The environmental conditions in biofilms might give rise to various phenotypes of different species.





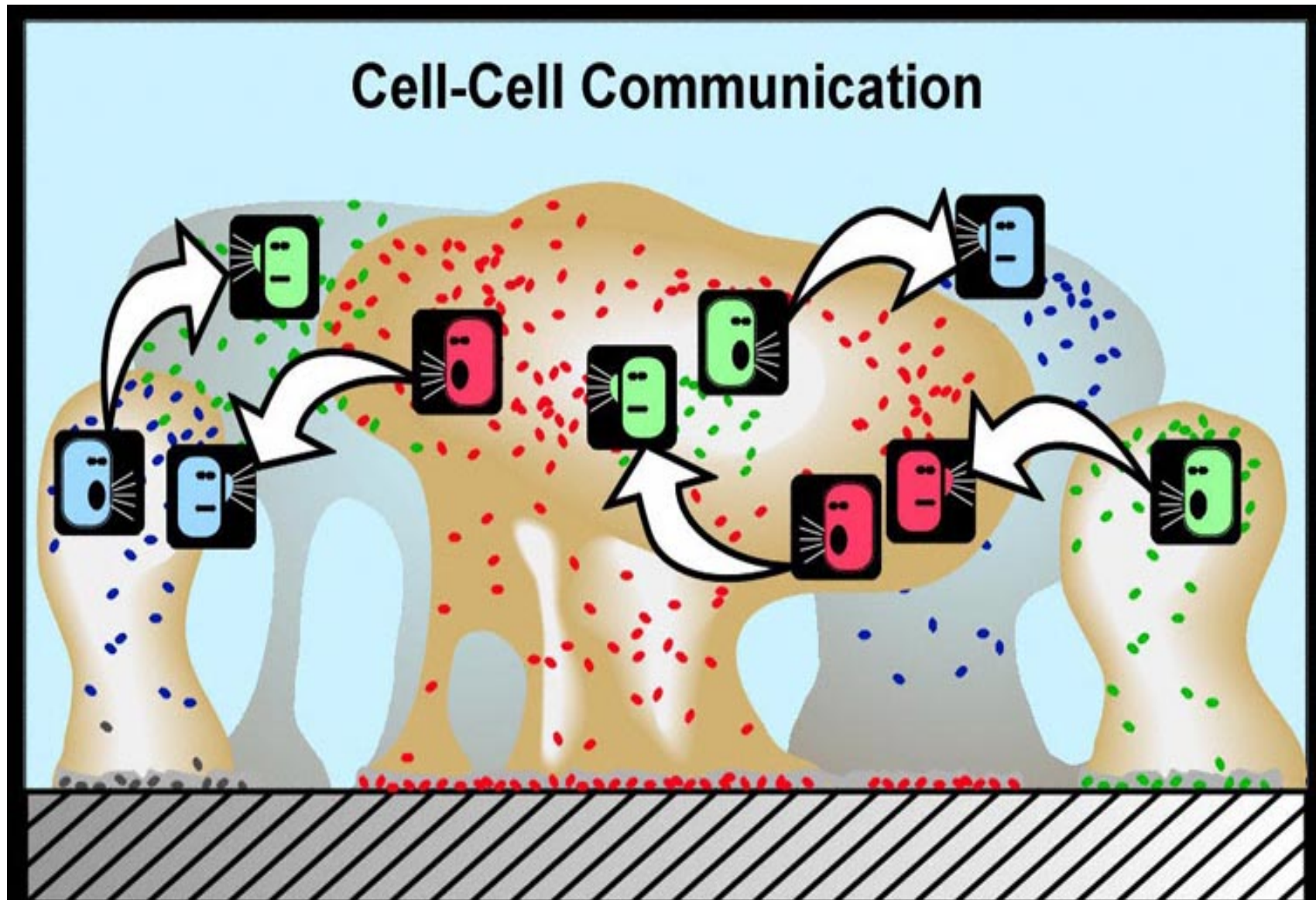
# ***BIOFILMS***

- ***LOS MICROORGANISMOS PRESENTAN UNA SERIE DE ADAPTACIONES MORFOLOGICAS Y FISIOLÓGICAS EN RESPUESTA A LOS CAMBIOS AMBIENTALES.***
- ***ESTO IMPLICA LA REGULACIÓN DE UNA SERIE DE GENES.***



# ***BIOFILMS***

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



LAS BACTERIAS MANTIENEN ESTA ESTRUCTURADA COMUNIDAD, LOS BIOFILMS, GRACIAS A LA SINTESIS DE MOLECULAS DE SEÑAL QUE SON SINTETIZADAS POR LOS MICROORGANISMOS Y CUYA SINTESIS DEPENDE DE LA DENSIDAD CELULAR.





# ***QUORUM SENSING***

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

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



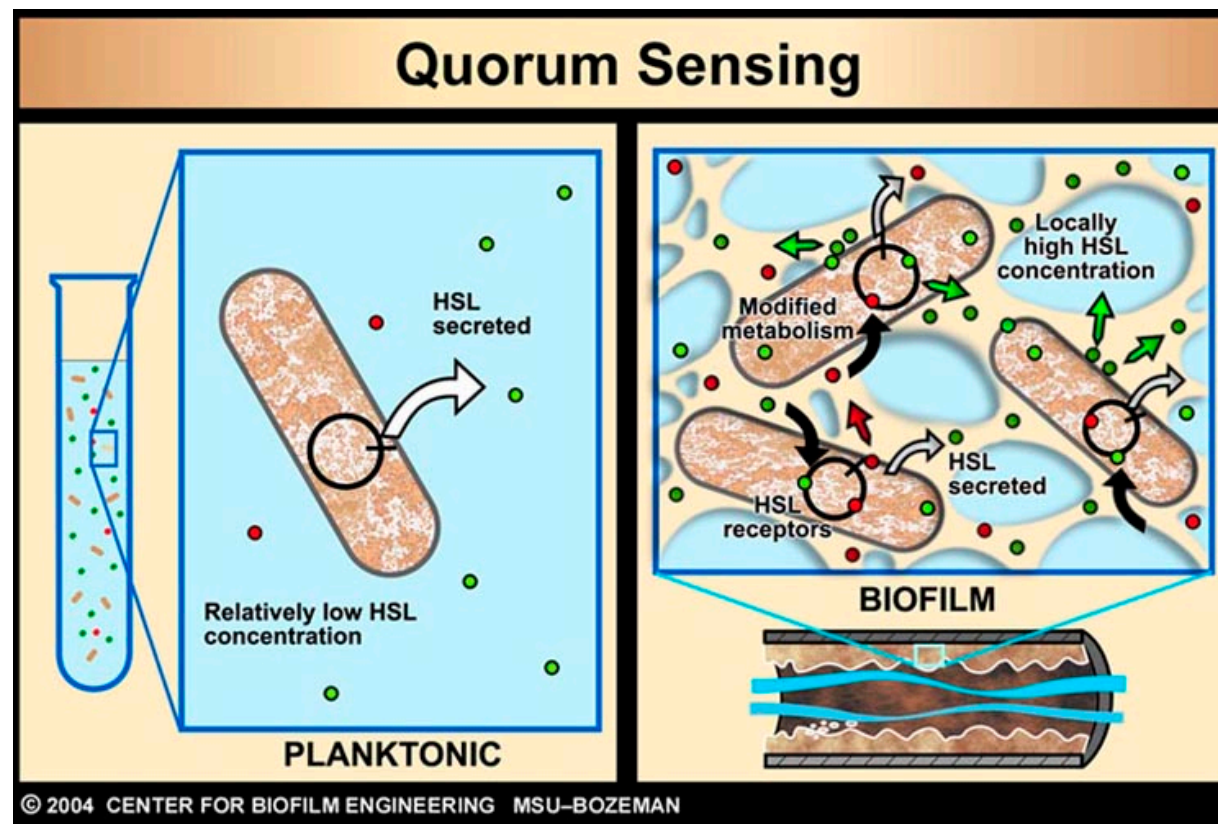
# ***QUORUM SENSING***

- Se define como como una regulación génica en respuesta a la densidad celular , la cual influencia varias funciones ,por ej. Virulencia, tolerancia al ácido y formación de biofilm.

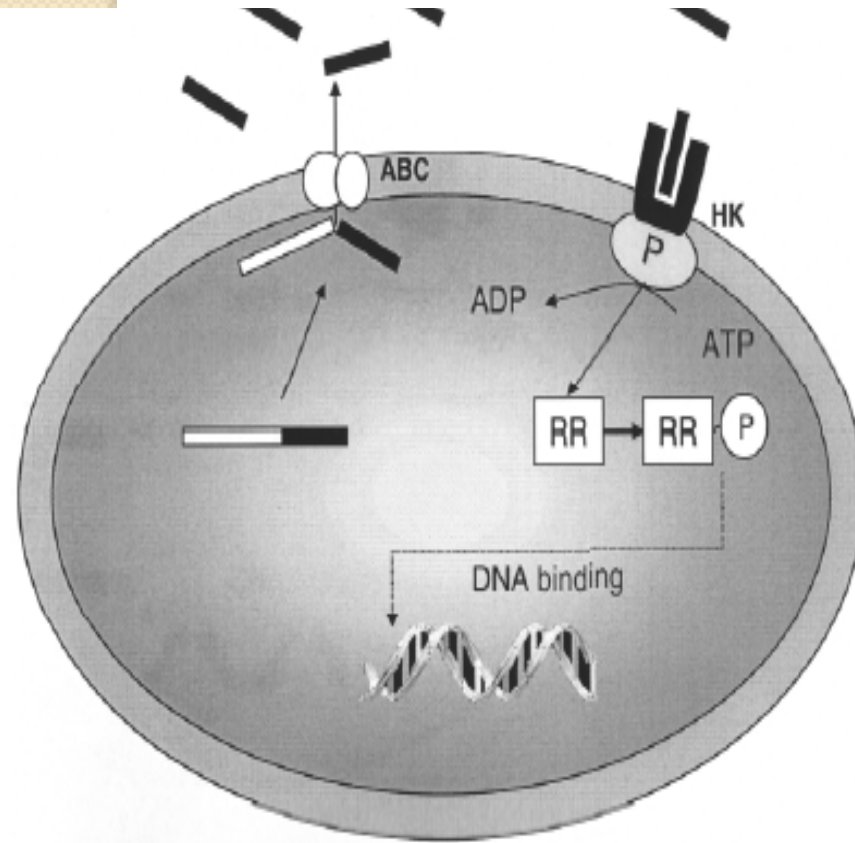
- J. Dent Res 2009.88 (11): 982-990

# QUORUM SENSING

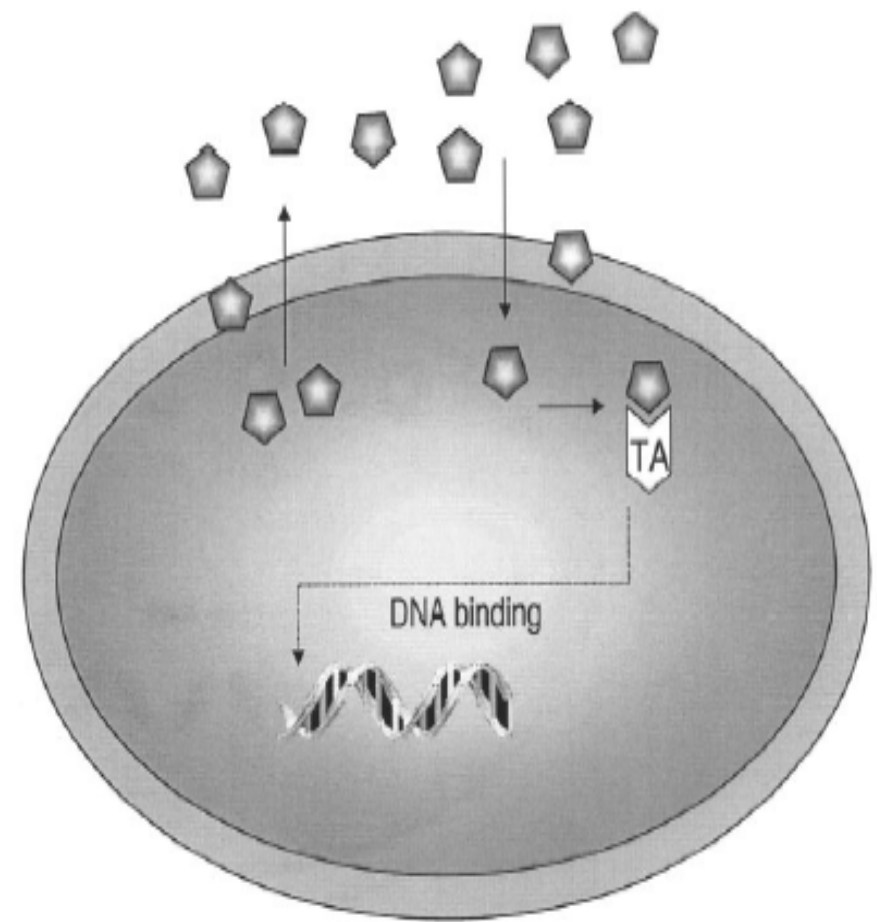
- *SE TRATA DE SEÑALES QUIMICAS QUE TIENEN IMPACTO EN LA REGULACIÓN DE GENES , EN PERIODOS DE ALTA DENSIDAD CELULAR.*



LA FIGURA EJEMPLIFICA COMO SE PRODUCEN Y ACTUAN LAS MOLECULAS DE SEÑAL, SON AUTOINDUCTORES



**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.



# ***MOLECULAS DE SEÑAL***

- El sistema AI-2 es una de las moléculas de señal mas conocidas asociadas con quórum sensing.
- CSP ( Competence Stimulating Peptide ) es otro tipo de moléculas de señal, median las señales de comunicación bacteria-bacteria.

- J. Dent Res 2009.88 (11): 982-990



# ***MOLECULAS DE SEÑAL***

- ***S.mutans* sintetiza péptidos (CSP), que aumentan la tolerancia al ácido e inducen la competencia genética en las células vecinas de la misma especie.**

- Oxford UK: Blackwell Munksgaard 2008.163-187.



# ***MOLECULAS DE SEÑAL***

- CSP esta asociado a la producción de bacteriocinas , virulencia y formación de biofilm. Este tipo de señales aumenta la competencia genética, para el transporte de DNA exógeno hacia la célula.
- En *S.mutans* se ha reportado la producción de bacteriocinas, específicamente mutacina IV, la que generaría cambios a nivel genético en otras especies de *Streptococci* , como *S.gordonii* que viven en el mismo nicho ecológico.





# QUORUM SENSING

- LA IMPORTANCIA RADICA EN PARTE, EN QUE DIVERSOS PROCESOS INFECCIOSOS ESTAN REGULADOS MEDIANTE ESTAS SEÑALES.



# **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 antibióticos y agentes antimicrobianos.***



# ***BIOFILMS***

- De acuerdo a los datos reportados por Sedlacek en 2007 , la concentración de antibióticos para inhibir el crecimiento de cepas bacterianas en biofilms, fue aproximadamente 250 veces más, comparado con la requerida cuando la misma cepa se encuentra en plackton.

- Oral Microbiol Immunol. 2007.22:333-339



# ***BIOFILMS***

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