

Infecciones asociadas a Biofilm supragingival III



Dra. Loreto Abusleme

15 de Noviembre de 2011

Para recordar

(....) La caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible, en la cual los microorganismos del grupo Mutans Streptococci (MS) son los agentes etiológicos más fuertemente asociados con esta patología.

La colonización de MS y otras bacterias cariogénicas a temprana edad puede ser un factor de riesgo esencial para el desarrollo del proceso de caries.

Es de vital importancia entonces establecer cuándo y por cuales mecanismos se produce la adquisición de MS.

Selwitz et al. Lancet 2007; 369 : 51-59.

Berkowitz R. Pediatr Dent 2006; 28:106 – 109.

Adquisición de microorganismos en la cavidad bucal

- Especies comienzan a colonizar la cavidad bucal inmediatamente desde el momento del nacimiento.
- *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus oralis* han sido identificados como los primeros y más dominantes microorganismos que integran el ecosistema bucal.
- Con la erupción de las piezas dentarias temporales el número y la complejidad de la microbiota va aumentando.

Adquisición de microorganismos en la cavidad bucal

- En los primeros meses de vida, los factores más importantes que determinan la sucesión microbiana son:
 - Transmisión persona-persona
 - Composición de la saliva
 - Modo de alimentación (lactancia materna o artificial)
 - Interacciones microbianas (*Microbial cross-talk*)

Adquisición de microorganismos en la cavidad bucal

- Las especies que colonizan después de la erupción de los dientes incluyen a *Streptococcus sanguis*, *Staphylococcus spp.*, *Veionella spp.*, *Neisseria spp.*, *Actinomyces spp.* y *Lactobacillus spp.*
- *Streptococcus* orales incluyendo *S. oralis*, *S. anginosus*, *S. gordonii* se encuentran fundamentalmente después del primer año de vida.

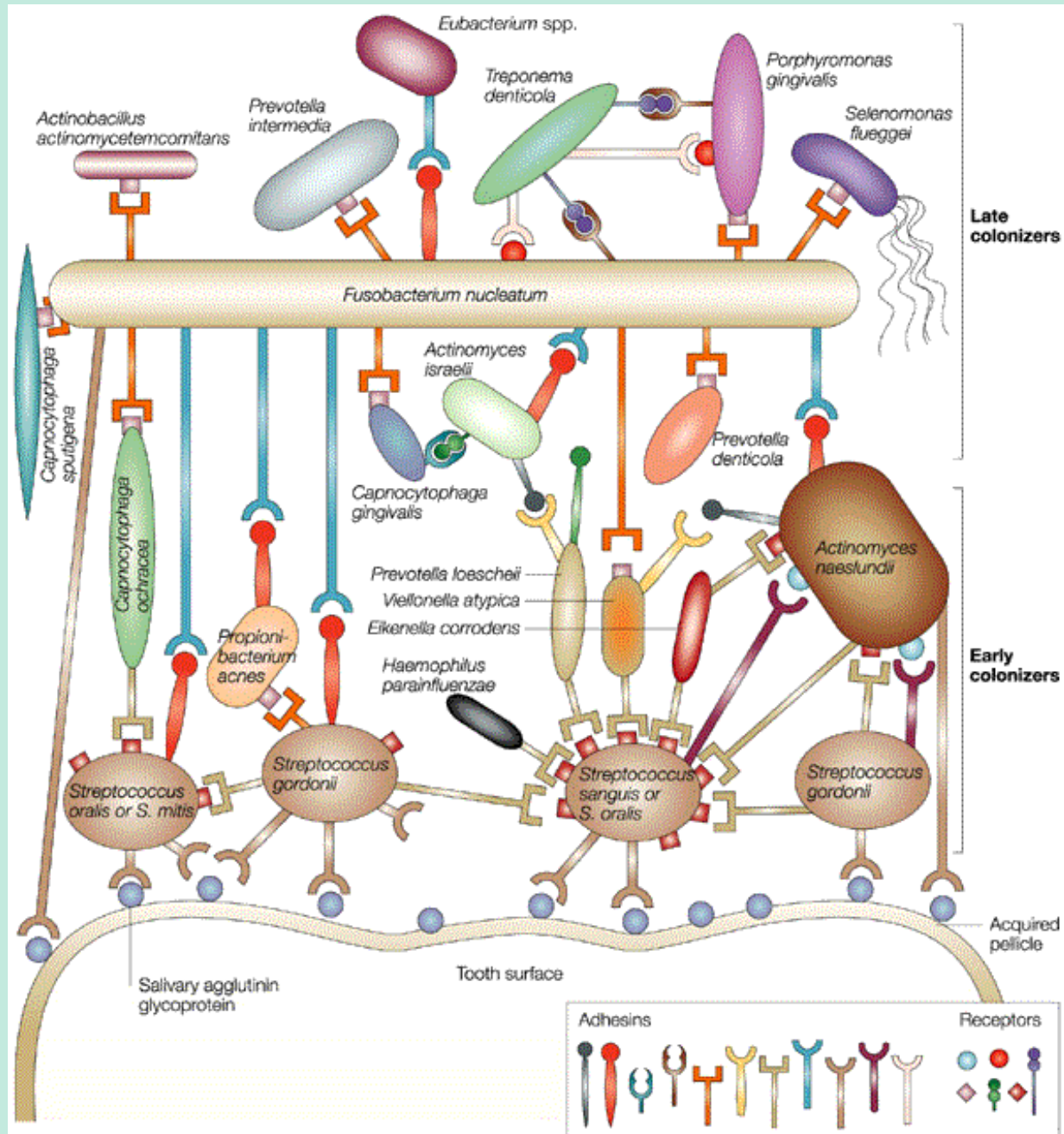
Adquisición de microorganismos en la cavidad bucal

- *El grupo Mitis Streptococci es el primero en colonizar la cavidad bucal en recién nacidos*

Prevalence of streptococcal groups in the saliva of 50 infants during the first 2 years of life

| Percentage of infants with group at | | | | | |
|-------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Streptococcal group | 2 months (n=50) | 6 months (n=48) | 12 months (n=44) | 18 months (n=45) | 24 months (n=42) |
| Mitis | 98 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Salivarius | 46 | 69 | 70 | 44 | 60 |
| Anginosus | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Mutans | 0 | 0 | 2 | 7 | 5 |

Könönen et al. J Med. Microbiol. 2002



Adquisición de *S. mutans*

Tradicionalmente, se creía que MS colonizaban el medioambiente bucal sólo cuando existía la presencia de dientes y varios estudios describían que la colonización inicial ocurría sólo después de la erupción de los dientes temporales.

PW Caufield y su grupo, en 1993 a través de un estudio prospectivo describen que la adquisición inicial de MS era a la edad promedio de 26 meses, durante un período discreto de tiempo denominado **“Ventana de Infectividad”**.

(Caufield PW. J Dent Res 1993; 72: 37-45)

(Wan et al., J Dent Res 2003; 82(7): 504-508).

Initial Acquisition of Mutans Streptococci by Infants: Evidence for a Discrete Window of Infectivity

P.W. CAUFIELD, G.R. CUTTER¹, and A.P. DASANAYAKE¹

MS-Colonized Infants

n = 38

median age - 26 months
"window of infectivity"

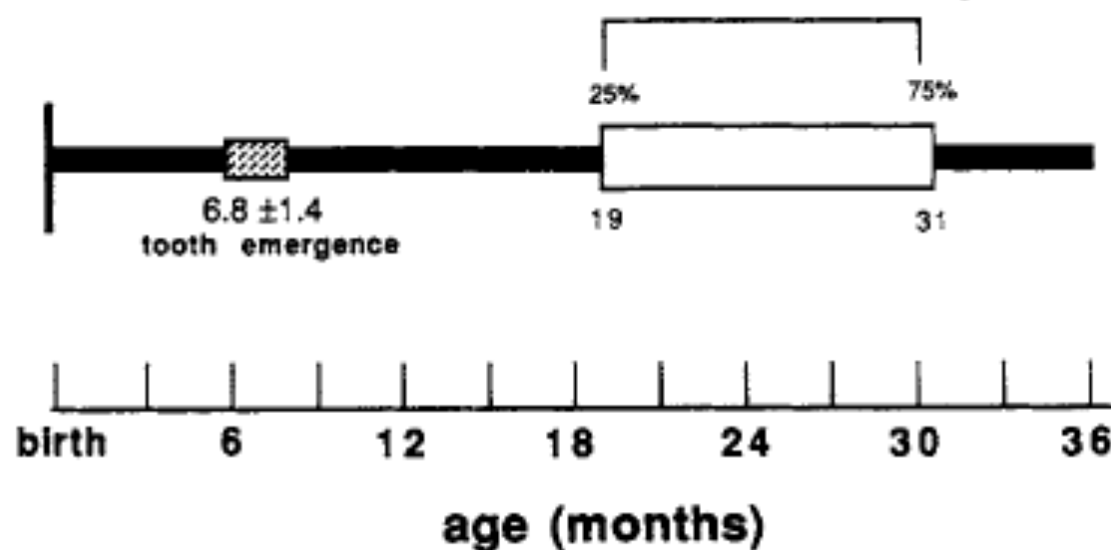


Fig. 1—The window of infectivity. The median time to initial acquisition of mutans streptococci for 38 infants is depicted as a function of infant age in months. The average age and standard deviation at emergence of the first primary tooth are also shown for these 38 infants.

Adquisición de *S. mutans*

En 2001, Wan y colaboradores, encontraron la presencia de *S. mutans* en infantes previo a la erupción dentaria.

Estudiaron 172 niños (60 prematuros y 112 de término), de 6 meses de edad, encontraron:

- ❖ En el 50% de los niños nacidos prematuros se aisló *S. mutans*
- ❖ En el 60% de los niños de término se aisló *S. mutans*

Adquisición de *S. mutans*

Conclusiones estudio de Wan y cols.:

- A los tres meses de este hallazgo, nuevamente tomaron muestras y obtuvieron el cultivo positivo, demostrando persistencia de la infección.
- También reconocen que aislan *S. mutans* , pero en bajo número, lo que puede ser un reflejo de que todavía no hay dientes en la cavidad bucal.

Adquisición de *S. mutans*

- Estos mismos autores siguieron a los niños en una primera instancia hasta los 24 meses y después hasta los 72 meses de edad.
- A los 24 meses un 84% de los niños tenían *S. mutans* como parte de su biofilm supragingival.
- Además encontraron un aumento constante entre la tasa de infección por *S. mutans*, la edad de los niños y el número de dientes erupcionados.

Wan et al. J Dent Res 2003;82(7):504-508.

Law et al. Pediatr Dent 2006;28:58-65.

Adquisición de *S. mutans*

- *Por lo tanto podemos concluir que no existe un período discreto establecido para la colonización de S. mutans , éste puede ir desde el nacimiento hasta más allá de los tres años y preferentemente estar influida por la presencia de dientes.*
- Una colonización exitosa de MS depende de la presencia de un ambiente favorable en el biofilm supragingival.
- Una instalación temprana de MS, hará que tengan una ventaja ecológica sobre aquellas especies que llegan más tardíamente, promoviendo su persistencia en la boca.

Colonización por MS

Factores del Hospedero

- Hereditarios
- Superficies para adherencia microbiana
- Saliva
- Inmunológicos
- Higiene Oral

Factor Dieta

- Alto consumo de hidratos de carbono fermentables

Factores que aumentan la colonización por MS

Factores Bacterianos

A nivel de Transmisión

- Niveles aumentados en madres o contactos infectados con MS

A nivel de la Cepas Bacterianas

- Cepas más virulentas de MS

A nivel del Biofilm

- Poca competencia con otras especies
- Nichos ecológicos disponibles para la colonización

Transmisión de MS

Puede ser a través de dos mecanismos

- Transmisión Vertical

Madre-hijo(a) , Padre-hijo(a), Cuidadora-infante

- Transmisión horizontal

Entre niños

- ***La principal forma de transmisión vertical en que se adquieren estos microorganismos (MS) es la madre - hijo, a través de la saliva.***

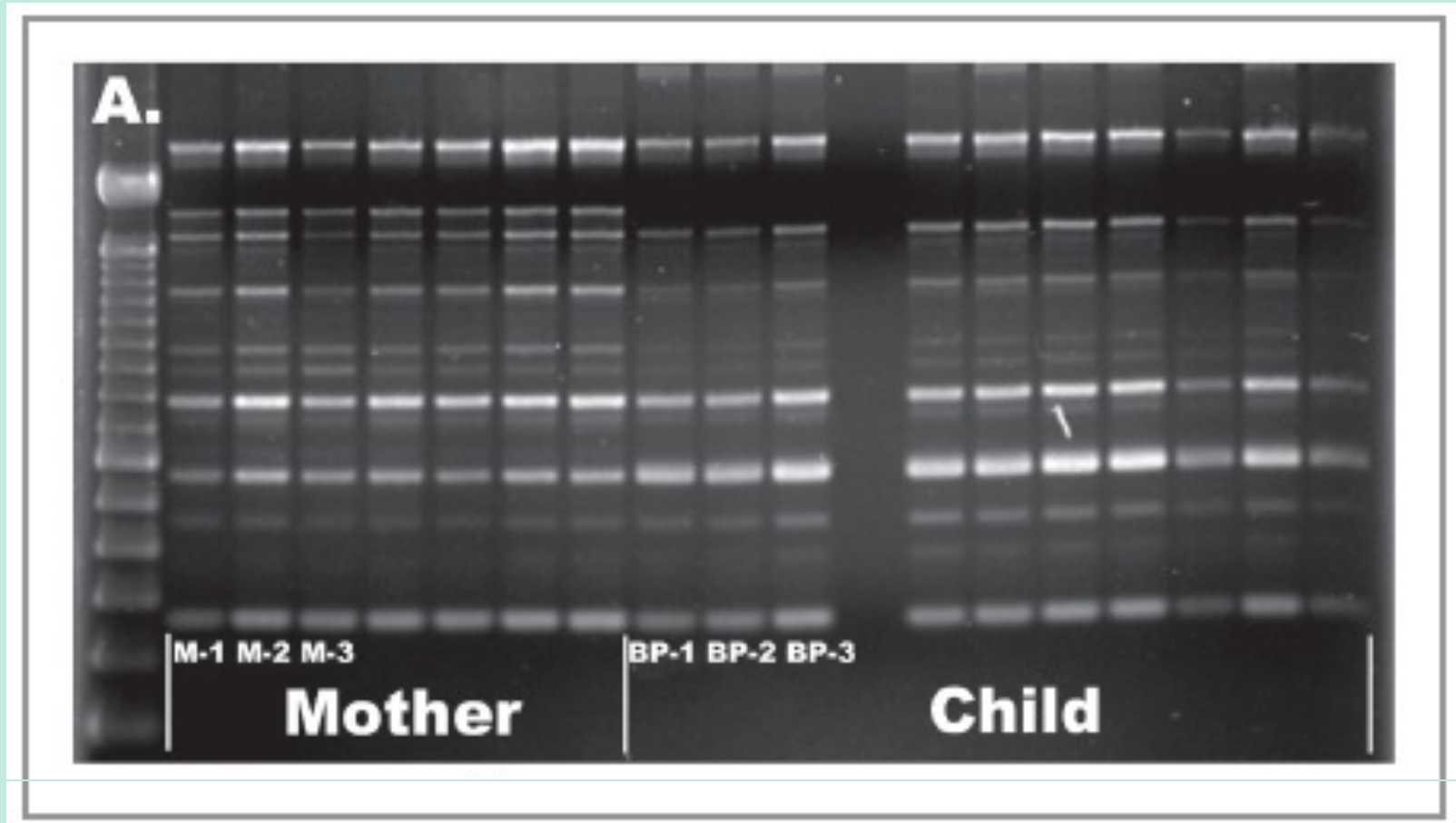


Transmisión de MS

Table 1. EVIDENCE FOR MOTHERS AS THE MUTANS STREPTOCOCCI SOURCE IN CHILDREN YOUNGER THAN 6-YEARS-OLD

| Paper | Country | Mother-child pairs (N) | Technique | Children with ≥ 1 phenotype/genotype identical to their mother % (N) |
|--|---------|------------------------|---------------------------|---|
| Berkowitz et al (1975) ¹³ | USA | 4 | Bacteriocin typing | 100 (4) |
| Berkowitz et al (1985) ¹⁴ | USA | 20 | Bacteriocin typing | 100 (20) |
| Caufield et al (1989) ¹⁵ | USA | 3 | Genotyping | 100 (3) |
| Li et al (1995) ¹⁶ | USA | 34 | Genotyping | 71 (24) |
| Alaluusua et al (1996) ¹⁷ | Finland | 12 | Serotyping and ribotyping | 67 (8) |
| Emanuelsson et al (1998) ¹⁸ | Sweden | 11 | Genotyping | 55 (6) |
| Redmo Emanuelsson et al (1998) ¹⁹ | China | 11 | Genotyping | 55 (6) |
| De Soet et al (1998) ²⁰ | Holland | 21* | Genotyping | 38 (8) |
| Kozai et al (1999) ²¹ | Japan | 19 | Serotyping and genotyping | 84 (16) |
| Li et al (2000) ²² | China | 38 | Genotyping | 45 (17) |
| Tedjosongko et al (2002) ²³ | Japan | 19 | Genotyping | 33 (6) |
| Kohler et al (2003) ²⁴ | Sweden | 16 | Ribotyping | 85 (14) |
| Ersin et al (2004) ²⁵ | Turkey | 8 | Genotyping | 100 (8) |
| Lindquist et al (2004) ²⁶ | Sweden | 10 | Genotyping | 70 (7) |
| Klein et al (2004) ²⁷ | Brazil | 16 | Genotyping | 81 (13) |
| Li et al (2004) ²⁸ | USA | 37 | Genotyping | 89 (33) |
| Hames-Kocabas et al (2006) ²⁹ | Turkey | 25 | Genotyping | 24 (6) |

Transmisión Vertical de MS



Gel de AP-PCR (*Arbitrarily primed - polimerase chain reaction*)

Transmisión Horizontal de MS

- Se produce más principalmente a edades tempranas (2 a 4 años)
- A esta edad comparten con mayor frecuencia utensilios o juguetes
- Se describe también a los 5-6 años, pero es menos prevalente.



Etiología de la Caries dental

- Los MS han sido los más estudiados como los microorganismos con mayor potencial cariogénico a nivel del biofilm supragingival.
- Sin embargo la ocurrencia de caries en ausencia de MS, desafía a la hipótesis de placa específica propuesta por W. Loesche.
- Entonces, al surgir la hipótesis de placa ecológica postula un cambio ecológico dependiente en el balance de la microbiota residente hacia microorganismo que sean ácidotolerantes y que produzcan ácido en grandes cantidades participando en el proceso de caries.

Marsh PD. BMC Oral Health 2006; 6(suppl1):S14.

Klinke et al. Caries Res 2009; 43:83-91

Etiología de la Caries dental

* MS son probablemente las bacterias mejor adaptadas al medioambiente cariogénico, pero cualquier especie con características favorables en la producción de ácido puede contribuir al proceso de la enfermedad.

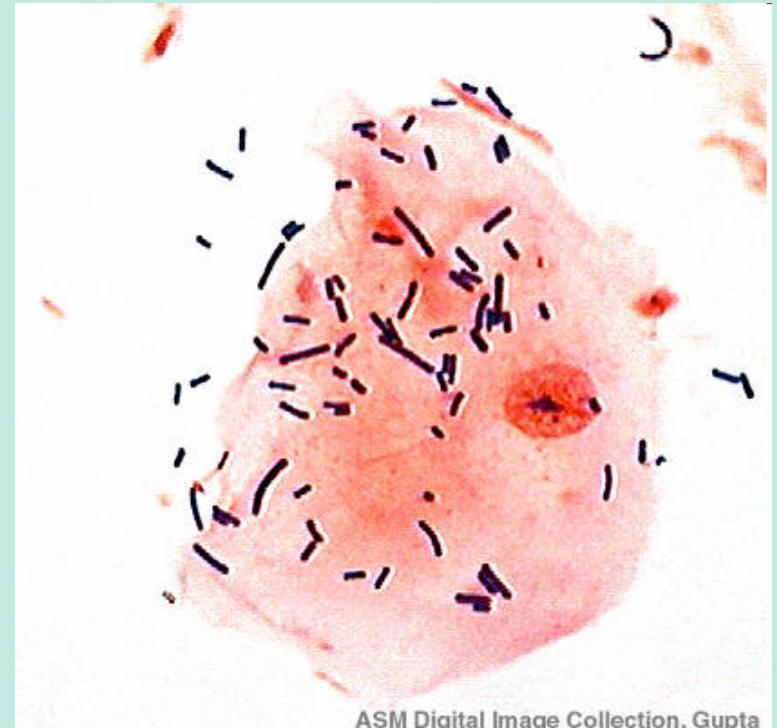


- En este contexto *Lactobacillus spp.* y *Actinomyces spp.* han sido históricamente vinculadas al proceso de caries.

Lactobacilli

- Algunas especies pueden formar parte de la microbiota del tracto gastrointestinal, la cavidad bucal y el tracto urogenital femenino.
- También se encuentran de manera habitual en alimentos fermentados y en probióticos.

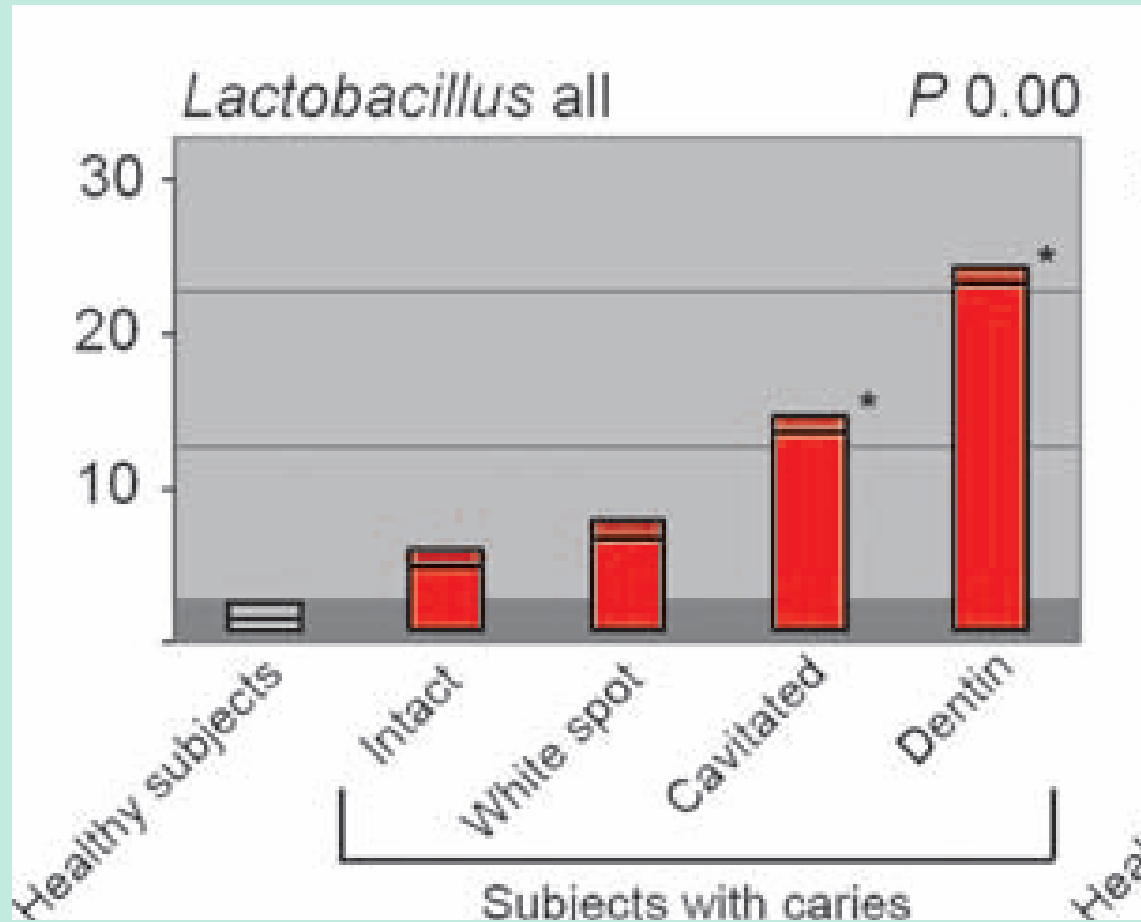
- * Bacilos Gram+
- * Anaerobios facultativos



***Lactobacillus spp.* en lesiones de caries**

- A nivel de cavidad bucal hay un predominio de especies del grupo *casei*, destacándose la presencia de *L.rhamnosus*, *L. casei* , *L. fermentum* y *L.salivarius*.
- Son aislados más frecuentemente desde lesiones de caries dentinarias establecidas, que desde muestras de placa supragingival o de saliva.
- Se les vincula con la progresión de la lesión de caries más que con la iniciación del proceso.

***Lactobacillus* spp. en lesiones de caries**



Mecanismos de virulencia Lactobacillus

- Tienen componentes que reconocen colágeno tipo I mediando el proceso de adhesión

Esto puede ser un factor importante para la colonización de sitios que contienen colágeno en la cavidad bucal



Superficies radiculares expuestas



Lesiones cariosas establecidas

Mecanismos de virulencia

Lactobacillus

- La propiedad que más determina su potencial cariogénico es su capacidad para producir ácido y su habilidad para crecer y sobrevivir al ambiente ácido.
- Tienen un metabolismo fermentador de azúcares, pudiendo ser homoláctico o heteroláctico.
- Independiente del tipo de fermentación, resulta en una acidificación del pH del biofilm supragingival, disminuyendo incluso a valores más bajos que 4,5.
- Son ácidos tolerantes, pudiendo sobrevivir en ambientes con pH superior a 2,2.

Determining the genetic diversity of lactobacilli from the oral cavity

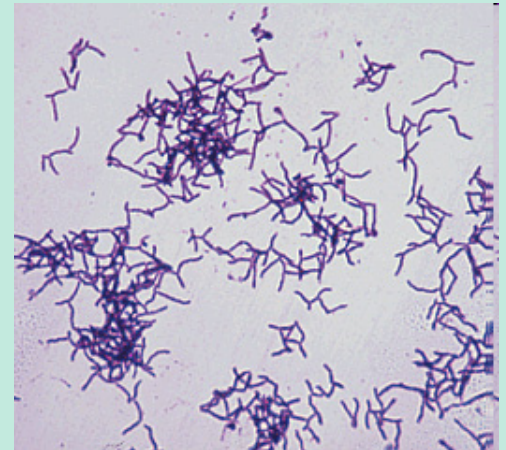
R. Yang ^{a,b}, S. Argimon ^a, Y. Li ^a, X. Zhou ^b, P.W. Caufield ^{a,*}

Journal of Microbiological Methods 82 (2010) 163–169

- Determinaron a través de cuatro métodos distintos de biología molecular, la presencia de 7 especies a nivel de la cavidad bucal.
- Plantean la relevancia de que en la selección de cepas de *Lactobacillus* para la elaboración de probióticos se excluyan aquellas especies o genotipos asociados con la patogénesis del proceso de caries.

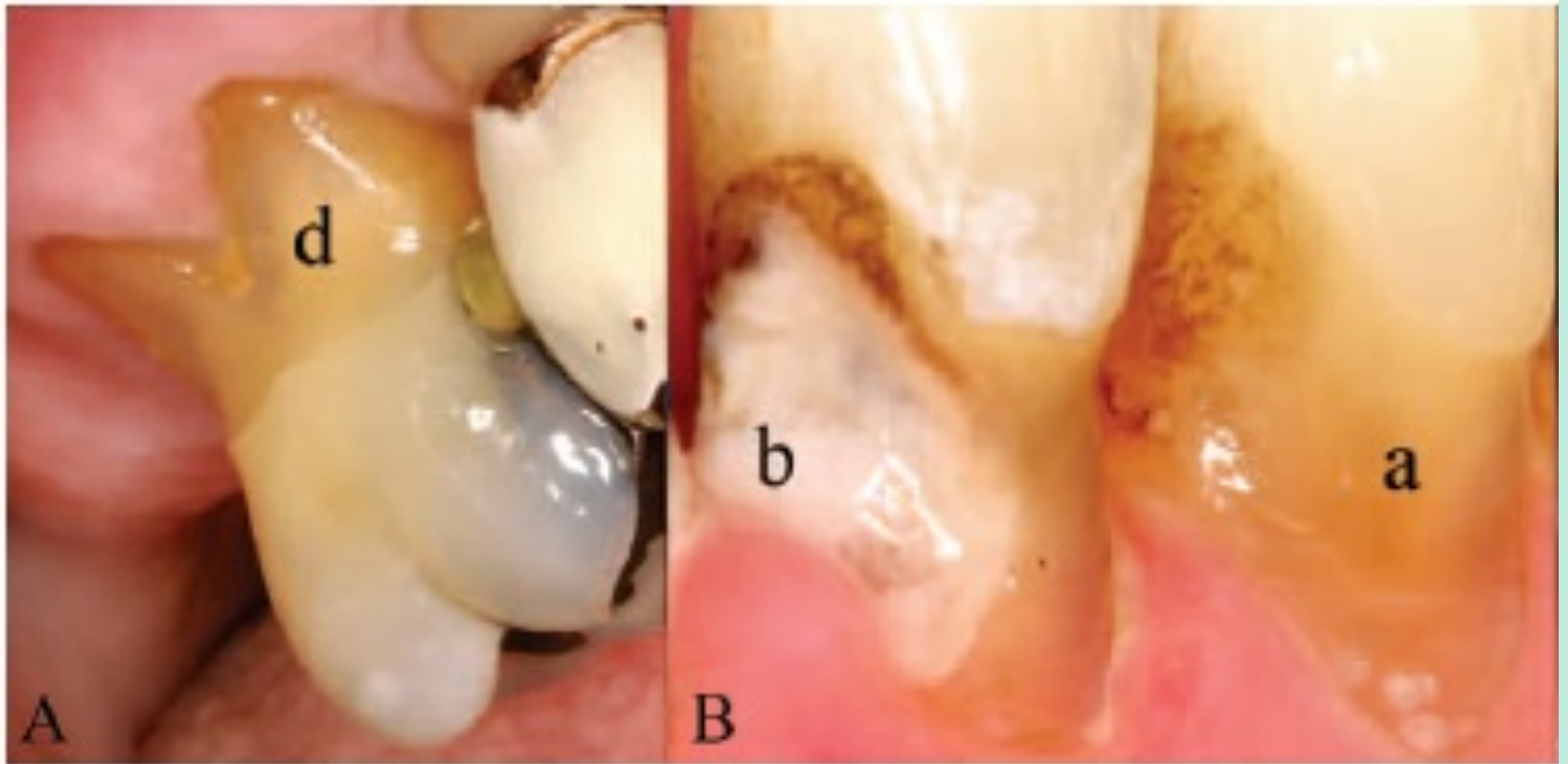
Actinomyces

- Estos microorganismos se encuentran formando parte de la microbiota comensal de la cavidad bucal y del tracto urogenital.
- Son bacilos Gram+, anaerobios facultativos, no - móviles y no esporiformes.
- *A. naeslundii* (genoespecies 1y 2) y *A. odontolyticus* son algunas de las primeras especies bacterianas en colonizar la cavidad bucal después del nacimiento.



Actinomyces

- Tradicionalmente la presencia de éstas bacterias han sido vinculadas con el desarrollo de caries radicales.
- Sin embargo, actualmente no existe evidencia de que *Actinomyces spp.* tengan un rol específico en la lesión de caries radicular, sino que pueden estar asociadas a la generación de lesiones de caries en distintas localizaciones.



Bacterial Profiles of Root Caries in Elderly Patients^{▽†}

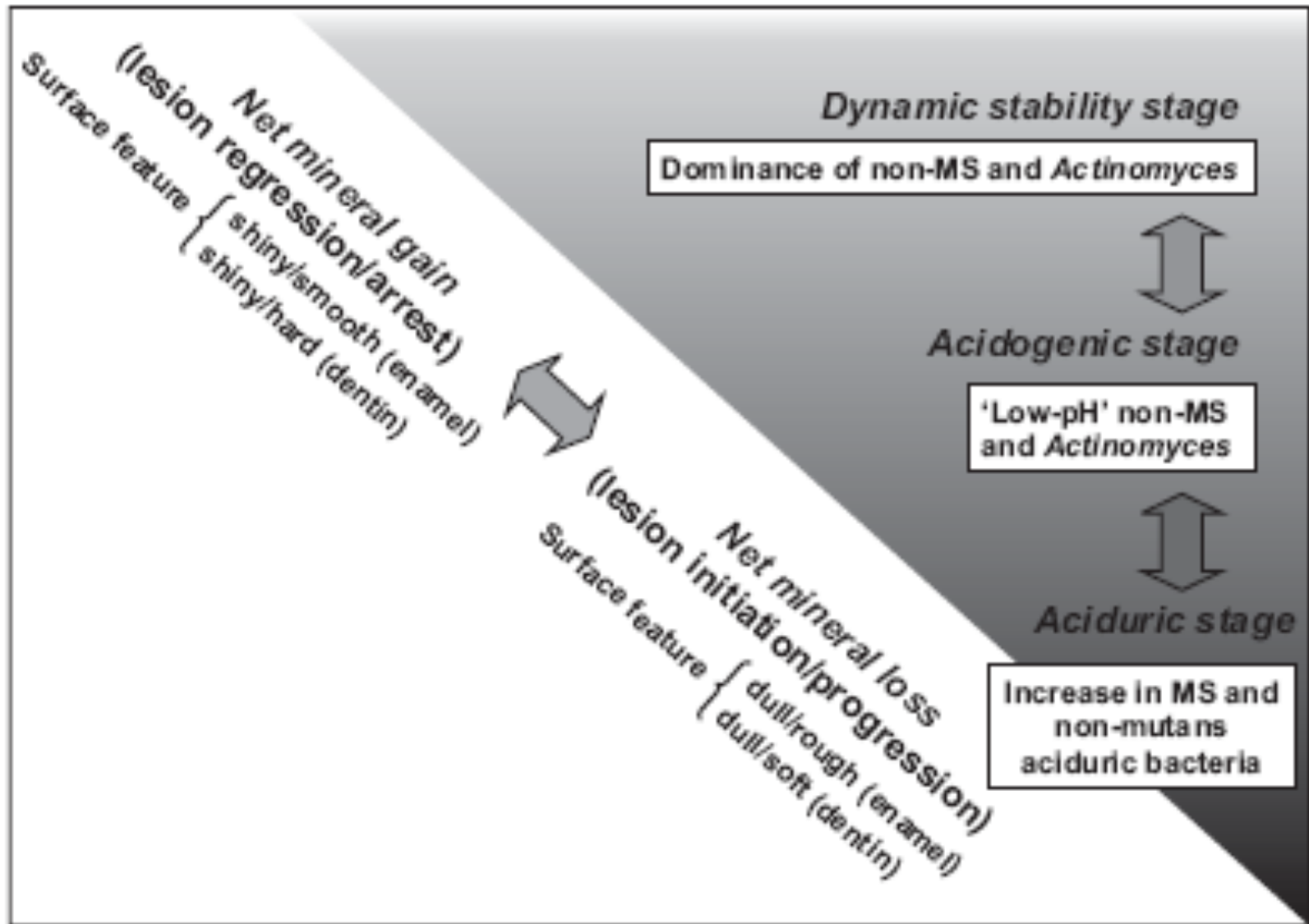
Dorita Preza,^{1*} Ingar Olsen,¹ Jørn A. Aas,¹ Tiril Willumsen,¹ Bjørn Grinde,^{1,4} and Bruce J. Paster^{2,3}

- Estos autores encontraron que la microbiota asociada a esta patología no sólo se vincula con *S. mutans*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*, existen especies adicionales como *Atopobium spp*, *Olsnella spp*, *Propionibacterium sp*.
- Por otro lado existe gran variación en la microbiota asociada a las lesiones de caries entre los sujetos estudiados, impidiendo la caracterización de un perfil único para este tipo de lesión.

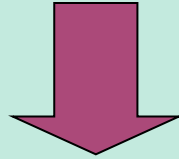
Mecanismos de virulencia

Actinomyces

- Tienen adhesinas que median la interacción con las superficies dentarias .
- Son capaces de producir ácido a partir de varios azúcares.
- Sintetizan polisacáridos intracelulares y extracelulares.
- Utilizan el lactato como fuente de carbono para su crecimiento.
- Pueden adaptarse gradualmente al ácido, pudiendo sobrevivir en el biofilm con pH ácido.



En relación a los microorganismos revisados como agentes que participan en la generación de la caries



Se ha descrito que hay diferencias en su virulencia o habilidad de generar lesiones de caries, dentro de una misma especie, existiendo cepas más virulentas que otras.

Clonalidad



Esto se evidencia a través de la caracterización de los distintos genotipos

Distintos genotipos...



Variación entre distintos clones de S. mutans

- Gracias a la evolución de las técnicas de biología molecular, se ha podido demostrar que existe gran heterogeneidad dentro de esta especie.
- Esto ha ocurrido principalmente por fenómenos de recombinación desde otras especies que se encuentran formando parte del biofilm.



Gel de AP-PCR

Tomado de Tabchory et al. J. Appl Oral Sci.
2008;16(6):403-407.

Variación entre distintos clones de S. mutans

- A nivel de características críticas para la virulencia, presentan diferencias en:
- Patrones en la fermentación de azúcares
- Polisacáridos antigénicos
- Capacidad de producir ácidos
- Adherencia dependiente de la sacarosa
- Interacción con componentes de la película salival adquirida
- Habilidad de inducir proceso de caries en modelos animales

Variación entre distintos clones de S. mutans

- El hecho de que existan distintos clones de este microorganismo puede explicar que se encuentre *S . mutans* en pacientes libres de lesiones de caries, ya que los factores de virulencia pueden diferir , estando más atenuados en esos individuos.

Nuevos microorganismos vinculados con el proceso de caries

- ***“Scardovia wiggsiae”***
- Nueva especie propuesta que ha sido vinculada con lesiones de caries temprana de la infancia, aislándose en un alto porcentaje
- Se encuentra en baja proporción en niños libres de lesiones de caries
- Se ha aislado en lesiones de caries, en presencia y en ausencia de *Streptococcus mutans*

Gracias al advenimiento de nuevas tecnologías y a la búsqueda de microorganismos que no han sido clásicamente vinculados con el proceso de caries, actualmente se genera conocimiento que apunta a distintos agentes etiológicos y otorga nuevas perspectivas en la ecología microbiana.

