

# **TEMA 6.**

# **DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO**

## ***Autores:***

García-De La Fuente AM, Estefanía-Fresco R, Aguirre-Zorzano L A

OCW-2017

## DESCRIPCIÓN

La evidencia científica (*Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997*) ha propuesto que el uso de los test microbiológicos pudiera estar indicado:

1. Determinar la presencia y proporción de determinadas especies.
2. Determinar la respuesta de la flora ante determinados antibióticos

La identificación de la flora de la bolsa periodontal puede ofrecer información al clínico sobre los patógenos verdaderos o potenciales que están presentes y sobre los antibióticos que pueden ser más eficaces

De todas formas, sabemos en que medida estos test ayudan al clínico para establecer el tratamiento periodontal?

## Uso de antibióticos en la terapia periodontal

Tratamiento mecánico

Puede reducir la masa bacteriana supra y subgingival

Algunos patógenos importantes pueden resistir este tratamiento

*(Mombelli y cols 1994 a, 1994 b, 1996, Simonson y cols 1992, Chaves y cols 2000, Haffajee y cols 1997.)*

AA, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *T. forsythia*

Por la capacidad de invadir los tejidos  
*(Christersson et al 1987)*

Por la incapacidad del instrumental de acceder a los sitios más profundos  
*(Caffesse y cols 1986, Walker & Ash 1976)*

Pequeña proporción de pacientes refractarios a la terapia básica inicial

Uso de agentes antimicrobianos como auxiliares de la instrumentación mecánica

Suprimir o reducir de forma significativa el nivel de patógenos importantes

Beneficio clínico adicional para el paciente *(Rams y cols 1990)*

- Existe evidencia de un posible aumento de las resistencias bacterianas debido al uso de antibióticos sistémicos. *(Walker 1996)*
  - Sin embargo, la mayoría de los clínicos considera que su uso está justificado cuando un paciente no responde favorablemente a la terapia convencional
- A pesar de que el uso de antibióticos es relativamente frecuente, el uso de tests microbiológicos para seleccionar el antibiótico más adecuado no lo es; es decir su uso no es habitual
- Evidencia → ¿Cuándo se usarán los antibioticos sistémicos?
  - Periodontitis agresivas
  - Condiciones médicas que predispongan a la periodontitis (alteraciones en la respuesta del huésped)
  - Periodontitis refractarias
  - Lesiones agudas como los abscesos (con manifestaciones sistémicas concomitantes)
  - Formas necrosantes de gingivitis y periodontitis

*(Haffajee y cols 2003, Herrera y cols 2002, Walker & Karpinia 2002, Slots 2004)*

## Patógenos periodontales asociados con la enfermedad

- **Socransky et al (1998)** subdividieron a los principales patógenos en complejos:

### Complejo rojo:

*P. gingivalis*  
*T. forsythia*  
*T. denticola*

### Complejo naranja:

*C. rectus*  
*E. nodatum*  
*F. nucleatum*  
*P. intermedia*

### **Diferencian la salud de la enfermedad**

*(Socransky & Haffajee 2005)*

- La presencia de AA se ha asociado a periodontitis agresivas (*Zambon y cols 1983*)

Estas bacterias están presentes en individuos sanos (*Lamell y cols 2000*)



Su cantidad es lo que parece marcar la diferencia

Los sujetos con periodontitis muestran recuentos mayores de dichas bacterias (*Colombo y cols 1998, Socransky & Haffajee 2005*)



## **Rams et al (1996):**

“La mera presencia de las principales especies patógenas (AA, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *P. micros*) no significa que la periodontitis se haya reactivado”

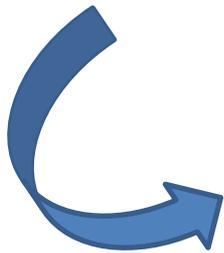
no era un factor pronóstico significativo de la recurrencia de periodontitis



Patógenos oportunistas:

La interacción entre su presencia/proporciones y el huésped sería la que dictaría el inicio y la progresión de la enfermedad.

- La evidencia científica:
  - Filotipos: Racimos de bacterias que no se habían identificado previamente y que estarían asociadas con la periodontitis . (*Paster y cols 2001*) (*Kumar y cols 2003, 2005*)
  - Existe una cepa muy leucotóxica de AA, presente sobre todo en africanos, que estaría asociada con la periodontitis agresiva(*Haubek y cols 1996, 1997*)



Se debe seguir estudiando a los patógenos periodontales y su susceptibilidad ante los diferentes medicamentos

- Por otra parte, el huésped juega un papel fundamental
- El biofilm subgingival varía en su composición entre individuos

–Distintos huéspedes pueden ser colonizados por distintas especies y en distintas cantidades



–Se debe estudiar el perfil bacteriano asociado con salud y enfermedad teniendo en cuenta estas variaciones individuales

## Susceptibilidad de los patógenos periodontales a los antibióticos

**Al analizar la susceptibilidad a los diferentes antibióticos, existe una serie de limitaciones a tener en cuenta:**

- **Diferentes cepas de un mismo microorganismo presentan distinta susceptibilidad ante los antibióticos**
- **La concentración subgingival de cada antibiótico varía entre pacientes**

# Susceptibilidad de los patógenos periodontales a los antibióticos

## ***Cepas diferentes del mismo microorganismo :***

**Diferentes cepas de un mismo microorganismo presentan distinta susceptibilidad ante los antibióticos**

*(Pajukanta y cols 1993)*

## ***Concentración subgingival individual del antibiótico:***

**varía en función de cada paciente**

- ***Solución??: Antibióticos locales tras el tratamiento periodontal***  
***(Concentración más alta en el sitio de la infección)***
- **Hoy en día no existe evidencia científica que los antibióticos sean eficaces ó no; sobre todo, frente a los patógenos que tienen la capacidad de invadir los tejidos (A.A. y *P. gingivalis*)**

- Las bacterias son susceptibles a más de un antibiótico, pero **NO** hay un único antibiótico que sea eficaz frente a todas las especies de la bolsa periodontal
- Los valores de susceptibilidad bacteriana de los estudios se basan en resultados obtenidos en cultivos puros
  - Las bacterias en biofilms son hasta 500 veces más resistentes a los antibióticos *(Sedlacek & Walker 2007)*



Debemos *romper la estructura del biofilm* ANTES DE USAR UN ANTIBIÓTICO

## Guía para seleccionar un antibiótico cuando sabemos que bacterias están presentes:

	AA	Complejo rojo ( <i>P. gingivalis</i> , <i>T. forsythia</i> , <i>T. denticola</i> )	Complejo naranja ( <i>P. intermedia</i> , <i>F. nucleatum</i> )	<i>E. corrodens</i>
<b>Patogenicidad</b>	Alta	Alta	Moderadamente alta	Moderada
<b>Amoxicilina</b>	Sí	No*	No*	No
<b>Clindamicina</b>	No	Sí	Sí	No
<b>Doxiciclina</b>	Sí**	Sí	Sí	No
<b>Minociclina</b>	Sí**	Sí	Sí	No
<b>Azitromicina</b>	Sí	No	No	Sí
<b>Ciprofloxacino</b>	Sí	No	No	Sí
<b>Metronidazol</b>	No	Sí	Sí	No
<b>Amoxicilina + Metronidazol</b>	Sí	Sí	Sí	Sí

\* No indicada la amoxicilina por la gran probabilidad de producción de beta-lactamasas

\*\* Puede no ser eficaz por el aumento de resistencias a la tetraciclina de esta especie

## MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

El Diagnóstico microbiológico lo realizaremos mediante la toma de una muestra de la bolsa periodontal, con el objetivo de identificar el microorganismo implicado.

Objetivos:

1. Determinar la presencia y proporción de periodontopatogenos concretos.
2. Determinar como influyen dichos periodontopatógenos a la microbiota subgingival,
3. Ambos.

*(Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997)*

## Uso de los test microbiológicos:

- Determinar la presencia y proporción de periodontopatogenos concretos.
- Determinar como influyen dichos periodontopatógenos a la microbiota subgingival,

## Uso de los test microbiológicos:

- Determinar como responde dicha microbiota a un **antibiótico concreto** (*Sakellari y cols 2000*)
- Determinar que antibióticos son los mas **efectivos** frente a la enfermedad periodontal.
- Cepas diferentes del mismo microorganismo pueden tener una **susceptibilidad diferente** frente la antibiótico (*Pajukanta y cols 1993*)

(*Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997*)

## Uso de los test microbiológicos:

- Test microbiológicos son muy efectivos para elegir un **antibiótico concreto** :
  - En los casos donde no se responde a la terapia inicial
  - Casos donde se ha usado anteriormente antibioticoterapia.
  - Periodontitis Refractaria
  - Periodontitis Agresiva

**Si son**  
**necesarios**

*( Slots & Rams 1990, Slots & Ting 2002, Walker & Karpinia 2002, Zambon 1997)*

## Métodos para indentificar periodontopatógenos:

- 1.- Métodos de cultivo e inmunológicos. Muestran la relación que existe entre estas bacterias y los parametros clínicos.
2. Sondas DNA y PCR
- 3.- Pruebas específicas para identificar periodontopatógenos. Se basan en una característica específica de las bacterias (test BANA)

- **Hace unos años:**

- **Cultivos microbiológicos (CM):**

- Existen **CM** selectivos y no-selectivos

- **Hoy en día:**

- **Sondas DNA:** Detectar especies bacterianas específicas *(Socransky y cols 2004)*

- **Análisis del rRNA 16S en los genes conservados:**

- Detección muy precisa de especies muy relacionadas entre sí
    - Identificación de bacterias no cultivables hoy en día *(Paster y cols 2001, Sakamoto y cols 2000, 2004)*

- **Reacción en cadena de la polimerasa:**

- Determinación de gran cantidad de especies bacterianas subgingivales:

- **Presencia**

- **Proporción**

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Determinación de las bacterias asociadas con la enfermedad en determinados sitios/individuos	Limitación de las técnicas en la detección de todos los colonizadores de la bolsa
Ayuda en la selección de los antibióticos más apropiados	La presencia de determinadas especies no tiene por qué indicar enfermedad o actividad
Evita la prescripción arbitraria de antibióticos y un posible aumento en las resistencias bacterianas	Limitaciones de la efectividad del medicamento: <ul style="list-style-type: none"><li>- Diferentes concentraciones en el fluido crevicular</li><li>- Diferentes respuestas al tratamiento según factores del huésped</li></ul>
Determinación de la reducción/eliminación bacteriana tras el tratamiento para correlacionarlo con la progresión/resolución de la enfermedad	Problemas en recogida y transporte de las muestras
Detección de la aparición de cepas resistentes post-tratamiento	Falta de estudios controlados que demuestren el beneficio real durante la terapia

## Bibliografía

Caffesse RG, Sweeney PL, Smith BA(1986). Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. J Clin Periodontol 13: 205–210.

Chaves ES, Jeffcoat MK, Ryerson CC, Snyder B. (2000). Persistent bacterial colonization of Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in periodontitis and its association with alveolar bone loss after 6 months of therapy. J Clin Periodontol 27: 897–903.

Christersson LA, Wikesjö UME, Albin B, Zambon JJ, Genco RJ. (1987). Tissue localization of Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontitis. J Periodontol; 58: 540–545.

Colombo AP, Haffajee AD, DeWhirst FE, Paster BJ, Smith CM, Cugini MA, Socransky SS. (1998) Clinical and microbiological features of refractory periodontitis subjects. J Clin Periodontol; 25: 169–180

Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC.(2003). Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. Ann Periodontol; 8: 115–18

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL, Socransky SS.(1997)Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planing. J Clin Periodontol; 24: 767–776.

*Haubek D, Poulsen K, Westergaard J, Dahlén G, Kilian M. (1996) Highly toxic clone of Actinobacillus actinomycetemcomitans in geographically widespread cases of juvenile periodontitis in adolescents of African origin. J Clin Microbiol 34: 1576–1578.*

*Haubek D, Dirienzo JM, Tinoco EM, Westergaard J, Lopez NJ, Chung CP. (1997) Racial tropism of a highly toxic clone of Actinobacillus actinomycetemcomitans associated with juvenile periodontitis. J Clin Microbiol 35: 3037–3042.*

*Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. (2002) A systematic review on the effect of systemic antibiotics as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. J Clin Periodontol : 29: 136–159.*

*Lamell CW, Griffen AL, McCellan DL, Leys EJ. (2000) Acquisition and colonization stability of Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in children. J Clin Microbiol 38: 1196–1199.*

*Kumar PS, Griffen AL, Moeschberger ML, Leys EJ. (2005) Identification of candidate periodontal pathogens and beneficial species by quantitative 16S clonal analysis. J Clin Microbiol: 43: 3944–3955.*

*Kumar MS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ. (2000) New bacterial species associated with chronic periodontitis. J Dent Res 82: 338–344.*

- Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alauusua S, Jousimies-Somer H.(1993) In vitro antimicrobial susceptibility of different serotypes of Actinobacillus actinomycetemcomitans. Scand J Dent Res: 101: 299–303.*
- Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE.(2001) Bacterial diversity in human subgingival plaque. J Bacteriol 183: 3370–3783.*
- Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. (1994) Actinobacillus actinomycetemcomitans in adult periodontitis.I. Topographic distribution before and after treatment. J Periodontol: 65: 820–826.*
- Mombelli A, Gmur R, Gobbi C, Lang NP. (1994) Actinobacillus actenomycetemcomitans in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. J Periodontol 65: 827–834.*
- Mombelli A, Van Winkelhoff AJ. (1996) The systemic use of antibiotics in periodontal therapy: Second European Workshop in Periodontology. Berne, Switzerland: Quintessence, 1996.*
- Rams TE, Listgarten MA, Slots J. (1996) Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. J Clin Periodontol 23: 346–354.*
- Sakamoto M, Umeda M, Ishikawa I, Benno Y.(2000) Comparison of the oral bacterial flora in saliva from a healthy subjects and two periodontitis patients by sequence analysis of 16S rDNA libraries. Microbiol Immunol 44: 643–652.*

- Sedlacek M, Walker C. (2007). Antibiotic resistance in an in vitro subgingival biofilm model. Oral Microbiol Immunol : 22: 333–339.*
- Simonson LG, Robinson PJ, Pranger RJ, Cohen ME, Morton HE. (1992) Treponema denticola and Porphyromonas gingivalis as prognostic markers following periodontal treatment. J Periodontol 63: 270–273.*
- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL.(1998) Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol 25: 134–144.*
- Socransky SS, Haffajee AD. (2005)Periodontal microbial ecology. Periodontol 2000 ; 38: 135–187*
- Slots, J., & Rams, T. E. (1990). Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. Journal of clinical periodontology, 17(s1), 479-493.*
- Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G, Chen C. (1995) Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. Clin Infect Dis 20: S304–S307*

Slots, J., & Ting, M. (2002). Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 28(1), 106-176.

Slots J. *Systemic antibiotics in periodontitis. J Periodontol* 2004; 75: 1553–1565.

Walker SL, Ash MM. (1976). A study of root planing by scanning electron microscopy. *Dent Hyg* 50: 109–114.

Walker CB. (1996) *The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. Periodontol* 2000 ; 10: 79–8

Walker C, Karpinia K. (2002) *Rational for the use of antibiotics in periodontics. J Periodontol* 73: 1189–1197.

Zambon JJ, Christerrsson LA, Slots J. (1983) *Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. J Periodontol* 54: 707–711.

Zambon JJ. (1997) *Principles of the evaluation of the diagnostic value of subgingival bacteria. Ann Periodontol* 2: 138–148