

Capítulo 1

Placa bacteriana. Su papel en las enfermedades de la encía. Factores que modifican la acción de la placa bacteriana

Jorge Serrano Granger, David Herrera González
y Rubén León Berríos

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la vida las superficies del cuerpo están expuestas a la colonización por microorganismos. En la boca, los dientes aportan superficies duras, donde no existe descamación, lo que permite el desarrollo de depósitos bacterianos. Estos depósitos se organizan en forma de biofilms, que son los responsables de las enfermedades periodontales. La mayoría de las enfermedades infecciosas son causadas por distintos agentes cuando éstos penetran en los tejidos. Sin embargo, en las enfermedades periodontales los agentes infecciosos se encuentran fuera de los tejidos: en la superficie del diente y en la bolsa periodontal.

CONCEPTO DE PLACA DENTAL O BIOFILM DENTAL

Las bacterias que se encuentran en la cavidad oral pueden estar organizadas de dos maneras: por una parte, las que se encuentran en la saliva suspendidas en la fase líquida, adoptando una forma que se denomina planctónica (forma de crecimiento de las bacterias cuando flotan suspendidas en un medio líquido); o bien, las bacterias que se encuentran sobre una superficie dura (diente, reconstrucciones, prótesis e implantes) formando una película gelatinosa adherente: la placa dental (Fig. 1). La placa dental es el principal agente etiológico de las caries y de las enfermedades periodontales.

El concepto y la imagen de la placa dental han ido variando a lo largo de la historia dependiendo de los medios técnicos disponibles para su estudio. Así, con la aparición del microscopio óptico, Anthony van Leeuwenhoek, en 1683, observó que la placa dental estaba compuesta por «depósitos blandos con microbios y restos de comida». Posteriormente Black, en 1898, definió la placa dental como «placas blandas gelatinosas». En 1965, Egelberg et al. observaron los estadios en la formación de la placa dental. Estos autores definieron:

- Un primer estadio o fase I, en la que se formaría una biopelícula sobre la superficie limpia del diente. Esta biopelícula estaría compuesta fundamentalmente por glicoproteínas y anticuerpos. Esta película modifica la carga y la energía libre de la superficie dentaria, lo que favorece una posterior adhesión bacteriana (Fig. 2A-C).
- Un segundo estadio o fase II. En esta fase se observa la adhesión a la biopelícula, previamente formada, de unos tipos bacterianos específicos. Se ha observado que estos primeros colonizadores pertenecen al género *Streptococcus* (cocos gram-positivos anaerobios facultativos, siendo la especie más destacada *Streptococcus sanguis*). Posteriormente se suman diferentes especies de



Figura 1. Placa dental.

bacilos gram-positivos, los cuales aumentarán en número, superando a las formas cocoides. Además se producen interacciones bacterianas, formándose estructuras en forma de mazorca de maíz (Fig. 3A-B).

- Fase III. En esta fase se produce la multiplicación bacteriana. En esta etapa predominan las formas filamentosas gram-positivas, sobre todo *Actinomyces* sp (Fig. 4A).
- Fase IV. Debido a la multiplicación bacteriana de la fase anterior y a la aparición de nuevas condiciones, se produce la coagregación de nuevas especies bacterianas. Se produce la adhesión de *Veillonella* sp., *Fusobacterium* sp. y otras bacterias gram-negativas (Fig. 5A-B).

En el congreso de Edimburgo en 1970 se definió que la placa dental estaba compuesta por microorganismos más polisacáridos extracelulares; además esta placa dental estaba recubierta por leucocitos, células epiteliales y restos de comida.

En los años 90, gracias al desarrollo y perfeccionamiento del microscopio confocal de láser (Fig. 6), se ha llegado a un mejor conocimiento de la placa dental y de su estructura, desarrollándose el modelo de la placa dental como biofilm. Un biofilm es una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un sustrato o superficie

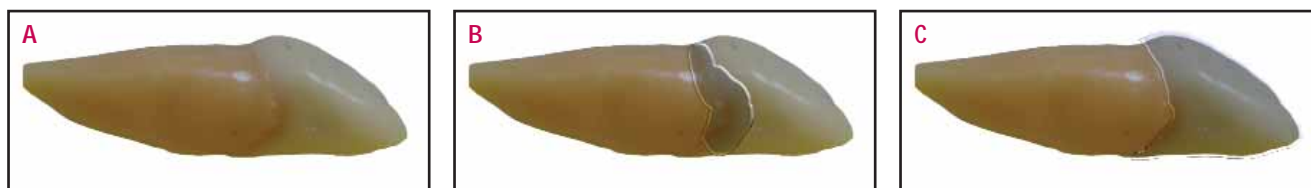


Figura 2. A. Superficie dental completamente limpia. B. Inicio de formación de la biopelícula. C. Diente recubierto por la biopelícula. Se produce un cambio en la carga y energía libre de la superficie, lo que favorece la adhesión bacteriana.

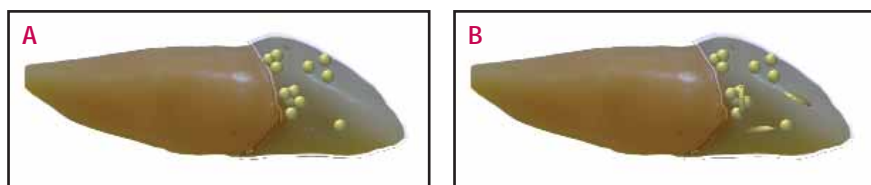


Figura 3. A. Adhesión de bacterias a la biopelícula: cocos. B. Adhesión de bacterias a la biopelícula: cocos y bacilos.

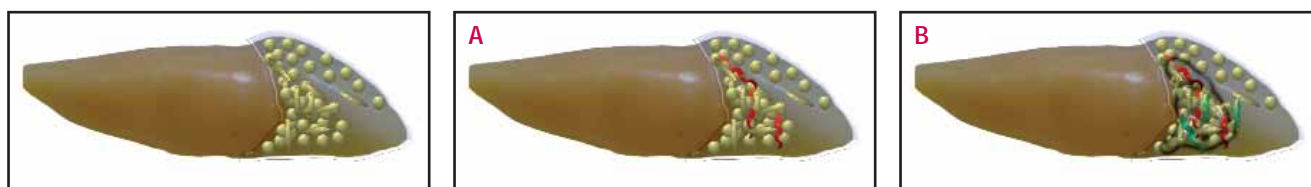


Figura 4. Multiplicación bacteriana.

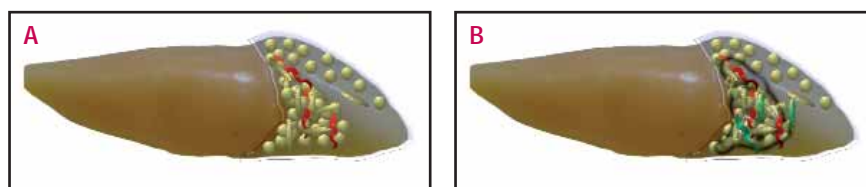


Figura 5. A. Coagregación de nuevas especies bacterianas. B. A lo largo del tiempo se produce un aumento en la diversidad bacteriana y en la maduración de la placa.

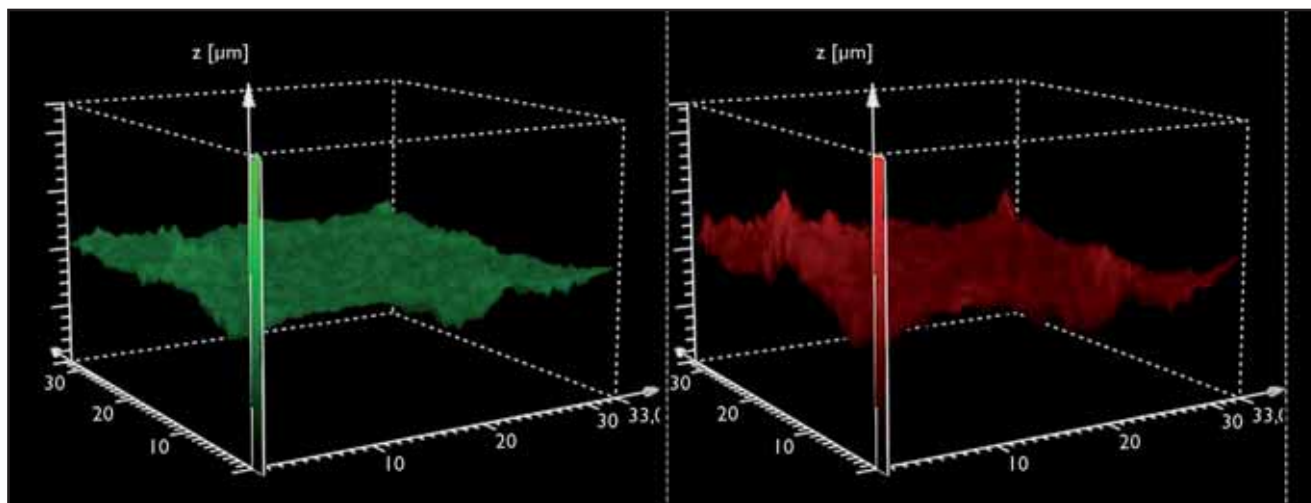


Figura 6. Análisis utilizando microscopía confocal, para la determinación de células vivas y muertas, de un biofilm formado in vitro. Las células vivas aparecen teñidas de verde, mientras que las células muertas aparecen teñidas en rojo. Las especies bacterianas estudiadas son: *Streptococcus oralis*, *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*.

o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o a la expresión de sus genes.

FORMACIÓN DEL BIOFILM

Los biofilms se pueden desarrollar por medio de dos tipos de procesos.

A partir de una célula planctónica: algunas especies bacterianas poseen la capacidad para desarrollar estructuras en su superficie que favorecen su adhesión a diferentes sustratos. Entre estas estructuras tenemos las fibrillas y fimbrias de los colonizadores primarios tales como algunas especies del género *Actinomyces* o especies de *Streptococcus*, como por ejemplo *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguis* y *Streptococcus mitis*. Otros factores que

favorecen la adhesión de las bacterias a una superficie serían:

- La capacidad que muestran algunas especies bacterianas para el movimiento como, por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *Escherichia coli*.
- La expresión de ciertas proteínas en la superficie celular, denominadas adhesinas.

En la figura 7 se observan otros factores que afectan la adhesión de las bacterias a las superficies sólidas.

Una vez que las bacterias están adheridas a una superficie sólida se produce un cambio en el patrón de expresión génica, diferenciándolas de las células que se mantienen planctónicas; posteriormente, se produce la multiplicación bacteriana y la coagregación con otras especies bacterianas. Esta asociación de especies dentro del biofilm no sería aleatoria, sino que existirían asociaciones específicas entre las distintas especies que componen el biofilm.

A partir de otro biofilm: los biofilms también se pueden desarrollar a partir de células sueltas desprendidas de un biofilm o de partes del propio biofilm. En cualquier caso, estas células desprendidas mantendrían todas las propiedades del biofilm del cual proceden. También se han descrito fenómenos de movimiento del biofilm sobre la superficie a la que se encuentra fijado.

ESTRUCTURA DEL BIOFILM

Cuando se observa un biofilm mediante el microscopio confocal de láser, pueden observarse las distintas comunidades bacterianas (dentro de las cuales pueden presentarse vacíos) organizadas en forma de seta o torre y separadas entre sí por microcanales de agua (Fig. 8).

El biofilm está compuesto por bacterias, que representan un 15-20% del volumen, y una matriz o glicocalix, que representaría un 75-80% del volumen del

biofilm. Esta matriz está compuesta por una mezcla de exopolisacáridos, proteínas, sales minerales y material celular. Los exopolisacáridos representan el componente fundamental de la matriz y son producidos por las propias bacterias del biofilm. Los exopolisacáridos participan de forma fundamental en el desarrollo del biofilm, pues su intervención mantiene la integridad del todo. Esta estructura abierta permite una mejor circulación de distintas moléculas en el biofilm. Sin embargo, debido a la matriz de exopolisacáridos se crea un entorno complejo que no permite predecir con seguridad la capacidad de determinadas moléculas de penetrar y distribuirse en el biofilm.

Debido a la dificultad de acceso, el biofilm subgingival es difícil de estudiar, por lo que la información sobre su estructura es limitada. Los estudios realizados mediante microscopio convencional en cortes histológicos del biofilm subgingival sugieren una organización compleja con un tipo de biofilm adherido a la superficie del diente, otro tipo de biofilm adherido a las células epiteliales y una zona de menor densidad presente entre estos dos. Estos biofilms podrían diferir en su composición microbiana y en su respuesta frente a los tratamientos antimicrobianos.

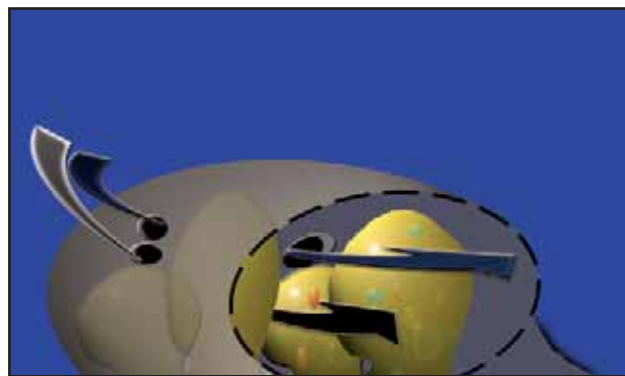


Figura 8. Estructura del biofilm.

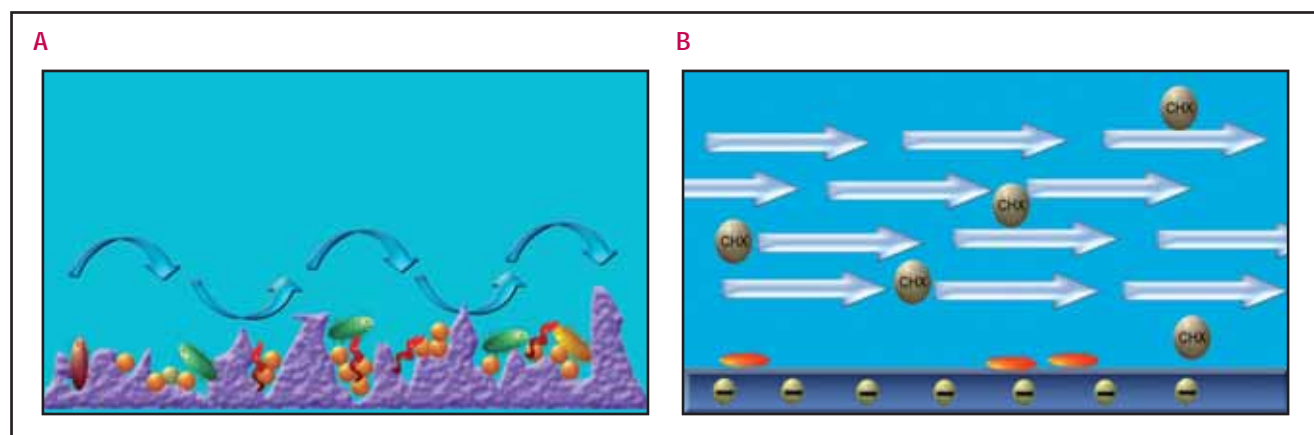


Figura 7. Factores que afectan a la adhesión de las bacterias a una superficie sólida. A. Factores físicos y químicos de la superficie, como la rugosidad de la superficie y la composición química de la misma. B. Factores del medio líquido en el que se desarrolla, como la velocidad del flujo y la composición química del mismo.

CARACTERÍSTICAS DEL BIOFILM

Los biofilms presentan una serie de características que les confieren sus propiedades relevantes.

Heterogeneidad fisiológica: dentro del biofilm se puede observar un rango muy amplio de micronichos, separados unos de otros por mínimas distancias; se pueden encontrar ambientes muy diferentes en cuanto al contenido de nutrientes del medio, tensión de O₂, tensión de CO₂, pH, etc. Por lo tanto, células de la misma especie bacteriana pueden presentar estados fisiológicos muy diferentes y también se pueden encontrar especies bacterianas con distintas necesidades fisiológicas (anaerobias, aerobias, microaerobias), separadas entre sí por sólo 10 µm. Esta heterogeneidad fisiológica explica, en parte, la mayor resistencia de las bacterias cuando crecen en un biofilm, pues podemos encontrar bacterias en forma quiescente (bacterias en estado latente o «dormidas»), que son muy poco susceptibles a la acción de los distintos antimicrobianos. En la figura 9 aparecen diferentes tipos de células bacterianas organizadas en un biofilm.

Fenotipos en el biofilm: las bacterias, cuando crecen en el biofilm —es decir, en forma sésil (adheridas a una superficie sólida)—, manifiestan un fenotipo diferente respecto del que manifiestan cuando crecen en forma planctónica (suspendidas en un medio líquido). Los fenotipos de las bacterias que crecen en los biofilms son más resistentes frente a diversos antimicrobianos y mantienen esta resistencia incluso cuando se desprenden del biofilm.

Señales en el biofilm: las bacterias dentro del biofilm tienen capacidad para comunicarse entre ellas por medio de señales químicas y mediante transferencia de material genético.

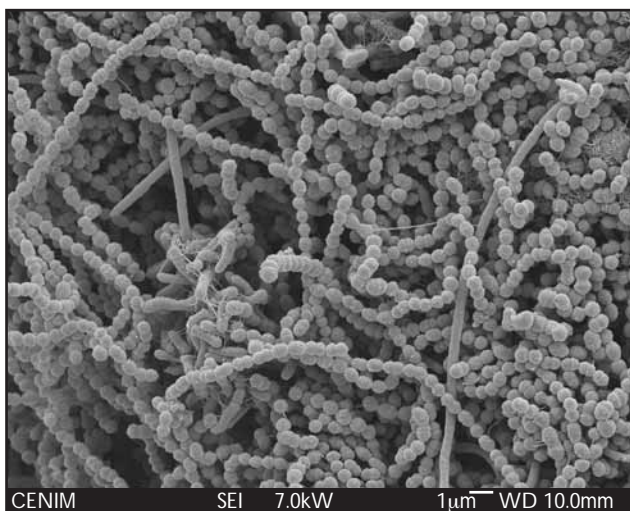


Figura 9. Microscopía electrónica de barrido que muestra un biofilm formado in vitro con las especies bacterianas: *Streptococcus oralis*, *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*.

Esta capacidad de comunicarse entre las bacterias tiene influencia en la resistencia bacteriana frente a los antimicrobianos, la producción de factores de virulencia o en la estructura del propio biofilm.

Capacidad adaptativa: los biofilms deben mantener un equilibrio entre el crecimiento en condiciones favorables de aporte de nutrientes y de medio ambiente y el mantenimiento de la estructura del mismo.

En condiciones desfavorables, el biofilm puede involucionar a estadios anteriores, pero en casi todas las situaciones se mantiene parte del mismo unido a la superficie, pudiendo volver a desarrollarse cuando las condiciones mejoran.

Las bacterias en el biofilm presentan un metabolismo más eficiente que en forma planctónica, siendo capaces de degradar moléculas complejas cuando crecen en forma de biofilm.

Resistencia frente antimicrobianos: dentro de estas ventajas que presentan las bacterias cuando crecen en forma de biofilm destaca la mayor resistencia frente a distintos antimicrobianos, y esta mayor resistencia puede deberse a que:

- Los antimicrobianos llegan en menores concentraciones (concentraciones no efectivas frente a las bacterias) a las zonas profundas del biofilm.
- Las bacterias, cuando son atacadas con dosis subletales, tienen capacidad para desarrollar resistencia frente a los antimicrobianos (entrenamiento de resistencia con dosis subletales).
- Las bacterias, cuando crecen en forma sésil, activan genes que proporcionan mayor resistencia frente a los antimicrobianos, en comparación a las formas planctónicas.
- En zonas profundas del biofilm, que tienen un menor aporte de nutrientes, las bacterias estarían en forma quiescente, que es un estado bacteriano no susceptible a los antimicrobianos.
- Las bacterias, estarían protegidas por la matriz de exopolisacáridos frente a los antimicrobianos.
- Las bacterias presentes en el biofilm son capaces de sintetizar productos (enzimas, etc.) que inactivan antimicrobianos dirigidos contra bacterias de distinta especie residentes en el biofilm (patogenicidad indirecta).
- La edad del biofilm puede ser un factor para una mayor resistencia frente a los antimicrobianos. Se ha descrito que los biofilms instaurados durante un período de tiempo más prolongado son más resistentes frente a los antimicrobianos.

Esta mayor resistencia de las bacterias cuando crecen en biofilm se traduce en que se deben multiplicar hasta por mil las concentraciones necesarias del antimicrobiano para que sea efectivo. Esto explicaría, en parte, por qué a veces no concuerdan los resultados clínicos con los resultados obtenidos *in vitro* sobre células planctónicas.

PAPEL DEL BIOFILM EN LAS ENFERMEDADES DE LAS ENCÍAS

Las enfermedades periodontales están causadas por los biofilms orales (supra y subgingivales). Los biofilms orales cumplen los criterios propuestos por Socransky y Haffajee para considerar un determinado agente como causa de enfermedad en el ámbito periodontal. Estos criterios son los de asociación, eliminación, repuesta del huésped, factores de virulencia, estudios en animales y análisis de riesgo.

1. **Criterio de asociación:** la especie causante de la enfermedad debe hallarse con mayor frecuencia y en mayores cantidades en los individuos enfermos con respecto a los individuos sanos o con otras enfermedades.
2. **Criterio de eliminación:** la eliminación de la especie debe asociarse a la remisión de la enfermedad. La evaluación de este criterio presenta una serie de dificultades, puesto que la terapia normalmente no es lo suficientemente selectiva como para eliminar una sola especie.
3. **Criterio de la respuesta del huésped:** cuando una especie es capaz de producir daños en el organismo, parece plausible que el huésped deba producir bien anticuerpos específicos contra aquella, o bien una respuesta celular inmune dirigida contra el agente dañino.
4. **Criterio de los factores de virulencia:** la especie en cuestión debe manifestar mecanismos adecuados para colonizar el huésped, eludir sus defensas y provocar daño tisular, bien directamente, bien mediante la producción de metabolitos dañinos.
5. **Criterio de estudios en animales:** la implantación de la especie en modelos animales debe reproducir la enfermedad.
6. **Criterio de análisis de riesgo:** los estudios prospectivos deben demostrar el riesgo que supone para la progresión de la enfermedad la presencia de la especie.

La mayoría de las enfermedades infecciosas son causadas por distintos agentes cuando éstos penetran en los tejidos. Sin embargo, en las enfermedades periodontales los agentes infecciosos se encuentran presentes fuera de los tejidos (en la superficie del diente y en la bolsa periodontal), lo que condiciona la respuesta del huésped frente a la agresión producida por los mismos.

Los microorganismos presentes en el biofilm dental son los responsables de la iniciación de la respuesta inflamatoria en los tejidos periodontales. Sin embargo, una respuesta inmune adecuada debería controlar los antígenos potencialmente dañinos de estos microorganismos. Por el contrario, una respuesta inmune deficiente puede derivar en un balance positivo para los microorganismos, resultando en pérdida de inserción.

De la misma forma, una respuesta inmune exagerada puede llevar a la sobreproducción de citoquinas y otros mediadores inflamatorios, cuyo resultado es una progresiva pérdida de inserción periodontal. En las periodontitis, la presencia del biofilm dental produce una reacción defensiva en el huésped que es perjudicial para él mismo, puesto que esta reacción defensiva pone en marcha una serie de mecanismos inflamatorios e inmunitarios que se extienden en el tejido conectivo de inserción, afectando incluso al hueso de soporte alveolar. Esto causa la destrucción de los mismos mientras no se produzca la eliminación del biofilm mediante el tratamiento periodontal, ya que el organismo por sí mismo es incapaz de eliminarlo.

FACTORES QUE MODIFICAN LA ACCIÓN DE LA PLACA BACTERIANA

El grado de afectación y la progresión de la enfermedad va a depender de:

- **Tipo y virulencia de las bacterias que forman el biofilm** (Tabla 1). Se han descrito distintos factores de virulencia en diversas bacterias (material de la pared bacteriana, lipopolisacáridos, proteasas, toxinas, etc.) que potencian la destrucción de los tejidos. Así, se ha encontrado que *Porphyromonas gingivalis* es capaz de producir proteasas implicadas directamente en la destrucción tisular y en el aumento de la permeabilidad vascular, es capaz de invadir las células epiteliales y también de eludir las defensas del huésped; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es capaz de invadir las células epiteliales, produce leucotoxinas, etc. Las bacterias tendrían unos efectos directos sobre las células defensivas estimulando directamente la respuesta celular para la producción de citoquinas, quemoquinas, etc., y también efectos indirectos al activar determinados tipos celulares que secretarían una serie de sustancias que actúan sobre otras células o tipos celulares.

Tabla 1
Factores asociados al biofilm que modifican la acción de la placa bacteriana

	<i>Ciertos</i>	<i>Probables</i>
Gingivitis	Cantidad de biofilm	Calidad del biofilm (tipo y virulencia de las bacterias que forman el biofilm) Edad del biofilm (tiempo de instauración del biofilm)
Periodontitis	Cantidad de biofilm Calidad de biofilm (tipo y virulencia de las bacterias que forman el biofilm)	Edad del biofilm (tiempo de instauración del biofilm)

- **Tipo de respuesta del huésped y factores asociados al mismo** (Tabla 2). Existen factores inherentes al huésped que condicionan su respuesta inmune e inflamatoria ante una agresión externa, produciéndose una mayor destrucción tisular. Dentro de estos factores se podrían incluir: polimorfismo genético (por ejemplo, el polimorfismo de la interleuquina1_β), diversas enfermedades como la diabetes mellitus, obesidad mórbida, osteoporosis y otros como la raza, etnia, sexo y edad. Si se consideran las enfermedades gingivales inducidas por placa, éstas pueden estar modificadas por factores sistémicos, asociadas al sistema endocrino o asociadas a discrasias sanguíneas.
- **Factores externos que modifican la respuesta inmune e inflamatoria del huésped, o los mecanismos de reparación tisular, modificando el curso de la enfermedad** (Tabla 3). Dentro de

estos factores se incluyen el tabaco, las infecciones por distintos virus, el consumo excesivo de alcohol y, en menor medida, el estrés y el nivel socioeconómico. Las enfermedades gingivales inducidas por placa pueden resultar modificadas por ciertos medicamentos; así se describen agrandamientos gingivales asociados a medicamentos y gingivitis asociadas a la ingesta de ciertos medicamentos. También pueden resultar modificadas por malnutrición, como en el caso de la gingivitis por déficit de ácido ascórbico.

BIBLIOGRAFÍA

Bernimoulin JP. Conceptos recientes sobre formación de placa. *J Clin Periodontol*, 2003; 30 (suppl. 5):7-9.

Chen C. Periodontitis as a biofilm infection. *J Calif Dent Assoc*, 2001; 29(5):362-369.

Costerton JW. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol*, 1994; 176:2137-2142.

Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol*, 1987; 41:435-464.

Donlan y Costerton. Biofilms: survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 2002; 167-193.

Egelberg J. Local effect of diet on plaque formation and development of gingivitis in dogs. 3. Effect of frequency of meals and tube feeding. *Odontol Revy*, 1965; 16:50-60.

Fine DH. Mouthrinses as adjuncts for plaque and gingivitis management. A status report for the American Journal of Dentistry. *Am J Dent*, 1988; 1(6):259-263.

Lang NP, Mombelli A, Attström R. Placa dental y sarro. En: Lindhe J, Karring T, Lang NP (eds.). *Periodontología clínica e implantología odontológica*. Lindhe J: Editorial Médica Panamericana, 2000; 102-137.

Marsh PD. Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv Dent Res*, 1997; 11(1):176-185.

Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 (suppl. 6):7-15.

Marsh PD, Bradshaw DJ. Dental plaque as a biofilm. *J Ind Microbiol*, 1995; 15(3):169-175.

Millward TA, Wilson M. The effect of chlorhexidine on *Streptococcus sanguis* biofilms. *Microbios*, 1989; 58(236-237):155-164.

Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol*, 2000; 1997; 14:9-11.

Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol*, 1995; 22(1):1-14.

Roldán S, Herrera D. *Tratamiento, Mantenimiento y Prevención en Periodoncia*. Barcelona: Grupo Ars XXI de Comunicación, SL, 2005.

Socransky and Haffajee. Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles. *Periodontol*, 2000; 2003; 3:12-55.

Xu KD, McFeters GA, Stewart PS. Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiology*, 2000; 146:547-549.

Tabla 2
Factores asociados al huésped que modifican la acción de la placa bacteriana

	Ciertos	Probables
Gingivitis	Discrasias sanguíneas Alteraciones del sistema endocrino Alteraciones del sistema inmune Factores locales (condiciones del desarrollo)	Depresión
Perio-dontitis	Diabetes mellitus Alteraciones del sistema inmune Polimorfismos genéticos Anomalías congénitas o hereditarias Factores locales (condiciones del desarrollo)	Depresión Osteoporosis Sexo Raza, etnia Obesidad

Tabla 3
Factores externos que modifican la acción de la placa bacteriana

	Ciertos	Probables
Gingivitis	Medicamentos (agrandamientos gingivales) Malnutrición (déficit de ácido ascórbico)	Estrés
Perio-dontitis	Tabaco Factores locales (márgenes mal adaptados)	Estrés Infecciones por virus Nivel socioeconómico Consumo de alcohol en exceso Dieta