

ESTUDIO MORFOLÓGICO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE *Mycoplasma spp.* DE ORIGEN BUCAL ADHERIDO A SUPERFICIE BIOCOMPATIBLE.

S.M. Vilotta^a, L. Somaglia^a, M.I. Bernat^a, N. Palacios^a, F. Rosmino^a, S.A. Dominguez^b, P.E. Reynoso Peitsch^b,
S. Molgatini^a, L.Turcot^{a*}

^a Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires. ^b Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA-Constituyentes).

*Autor de correspondencia: E-mail: lilianagturcot@hotmail.com. M.T.de Alvear 2142. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires.CP:1122. Congreso 1869. Haedo (CP.1706) Tlf: 0054 4964-1272.

Recibido: Abril 2012. Aprobado: Diciembre 2012.

Publicado: Enero 2013.

RESUMEN

Los micoplasmas son microorganismos carentes de pared celular y se caracterizan por ser los más pequeños capaces de replicarse por sí mismos. La placa dental alberga una amplia variedad de microorganismos, varios investigadores demostraron la presencia del género *Mycoplasma* en placa dental asociada con enfermedad periodontal. Los microorganismos residentes en la placa dental pueden acceder por maniobras odontológicas al torrente circulatorio e involucrarse en la infección de prótesis cardíacas ocasionando su posterior recambio. El nitinol es un material utilizado en especial en la confección de prótesis cardiovasculares. El objetivo del presente trabajo fue estudiar por microscopía electrónica de barrido (MEB) la morfología del género *Mycoplasma* adherido a superficies de nitinol. La cepa de *Mycoplasma spp.* utilizada fue aislada de placa subgingival de un sitio con periodontitis crónica. Veinticinco superficies de nitinol fueron suspendidas en caldo PPLO suplementado inoculado con una suspensión de *Mycoplasma spp.* e incubados en una atmósfera de 90% de H₂ y 10% de CO₂ a 37° C. durante 48 h. Luego las muestras fueron lavadas con agua destilada, fijadas en formol, deshidratadas en alcoholes y metalizadas para su visualización por MEB. Los micoplasmas se observaron adheridos a las superficies de nitinol en formas cocoideas, bacilares, acampanadas, anulares y filamentosas. Se concluye que el género *Mycoplasma* de origen bucal es capaz de adherirse a superficies biocompatibles de nitinol presentando el pleomorfismo característico de este género.

Palabras clave: Mycoplasma, placa dental, nitinol, adhesión.

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY: MORPHOLOGICAL STUDY OF ORAL *Mycoplasma spp.* ATTACHED TO A BIOCOMPATIBLE SURFACE.

ABSTRACT

Mycoplasmas are the smaller microorganism without wall capable of replicate themselves. Dental plaque contains a wide variety of microorganisms; researchers demonstrated the presence of *Mycoplasma* in dental plaque associated with periodontal disease. During odontological attention, microorganisms in dental plaque, can access to the bloodstream and be involved in cardiac prosthetic infection causing their future replacement. The nitinol is a material used especially in the cardiovascular prosthesis. The aim of this work was to study the morphology of oral *Mycoplasma spp.* adheres to surfaces of nitinol with electron microscopy. *Mycoplasma spp.* strain was isolated from subgingival plaque in a site with chronic periodontitis diseases. Twenty five nitinol surfaces were suspended in PPLO and inoculated with a suspension of *Mycoplasma spp.* They were incubated in an atmosphere of 90% hydrogen and 10% of carbon dioxide at 37 degrees for 48 hours. The samples were than washed with distilled water, fixed in formol, dehydrated in alcohols and metallic for viewing by electron microscopy. *Mycoplasma spp.* were observed attached to the nitinol with different forms (cocoidea, rod, bell like form, ring like form, branched filamentous). We conclude that oral *Mycoplasma spp.* can adheres to biocompatible nitinol surfaces and they present pleomorphism that is a characteristic of this microorganism.

Keywords: *Mycoplasma*, dental plaque, nitinol, adhesión.

INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas son las bacterias más pequeñas de vida libre, miden de 200 a 800 nm., carecen de pared celular y poseen un mecanismo de reproducción por fisión binaria asincrónica. Se consideran parásitos de superficie porque se adhieren firmemente a las células epiteliales. La íntima asociación entre los micoplasmas adheridos y las células del hospedador proveen un ambiente en el cual las concentraciones de metabolitos tóxicos excretados por el parásito causan daño tisular.

La carencia de pared celular les otorga una gran plasticidad que se manifiesta en su “pleomorfismo”, pueden presentarse como formas cocoideas, bacilares, acampanadas o piriformes, anulares y filamentosas [1]. Existe correlación entre forma, tamaño y fisiología bacteriana. Las variaciones morfológicas pueden estar asociadas a las diferentes etapas fisiológicas de crecimiento, por carencia de nutrientes esenciales, por la presencia de productos tóxicos derivados del propio metabolismo o de contaminantes ambientales y por antimicrobianos [2, 3]. La placa dental es una estructura infecciosa que se acumula sobre las superficies bucales y alberga una amplia variedad de microorganismos diferente [4]. Varios investigadores [5, 6, 7, 8] determinaron la prevalencia de *Mycoplasma salivarium* en biopelículas de placa dental asociadas con enfermedad periodontal. Asimismo, Crespo y col. y Ramella y col. demostraron la capacidad de adhesión de *Mycoplasma salivarium* a superficies dentarias y tejido gingival respectivamente [9, 10]. Los microorganismos residentes en la placa dental pueden acceder por una amplia variedad de maniobras odontológicas al torrente circulatorio e involucrarse en múltiples patologías sistémicas incluyendo las afecciones cardíacas y la infección de prótesis cardio-vasculares ocasionando su posterior necesidad de recambio [11, 12]. El nitinol es un material biocompatible utilizado ampliamente en el campo médico-odontológico, en especial en la confección de prótesis cardiovasculares [13]. Vilotta y

col. demostraron la adhesión de *Mycoplasma spp.* de origen bucal a superficies biocompatibles de nitinol [14]. El objetivo del presente trabajo fue estudiar por microscopía electrónica de barrido (MEB) la morfología del género *Mycoplasma* adherido a superficies de Nitinol®.

MATERIALES Y MÉTODOS

La cepa de *Mycoplasma spp.* utilizada fue aislada de placa subgingival de un sitio con periodontitis crónica. Veinticinco superficies de nitinol estériles fueron suspendidas en forma individual en caldo PPLO suplementado con suero y extracto de levadura e inoculados con una suspensión equivalente a la escala 0,5 de Mac Farland de *Mycoplasma spp.* e incubados en una atmósfera de 90% de H₂ y 10% de CO₂ a 37° C. durante 48 h. Al cabo de dicho lapso las muestras fueron lavadas repetidas veces con agua destilada estéril y fijadas en formol al 10% durante 24 h., deshidratadas en alcoholes ascendentes y metalizadas para su posterior visualización por microscopía electrónica de barrido (Microscopio FEI Quanta 200). Se realizaron los controles respectivos.

RESULTADOS

Las observaciones por microscopía electrónica de barrido demostraron la adhesión del *Mycoplasma spp.* a las superficies de nitinol en la totalidad de las muestras estudiadas (Fig. 1, 3).

Los micoplasmas se observaron con su pleomorfismo característico en formas cocoideas, cocobacilares, bacilares, acampanadas o piriformes, anulares y filamentosas, estas últimas en ocasiones con ramificaciones. También se observaron células micoplasmiales en estado de reproducción (Figs. 4, 5, 6, 7, 8).

Las formas cocoideas midieron 250-300 nm de diámetro, las bacilares de 900 nm - 1µm de longitud por 250-300 nm de espesor y las filamentosas 2 µm de largo por 300 nm de espesor.

Los controles respectivos de superficies de nitinol sin inocular no presentaron formas compatibles con micoplasmas (Fig. 2).

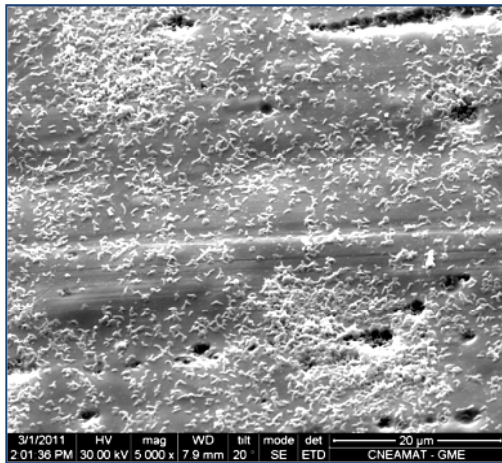


Fig.1. Superficie de nitinol inoculada durante 48 h. con un cultivo de *Mycoplasma spp.* (5000 X).

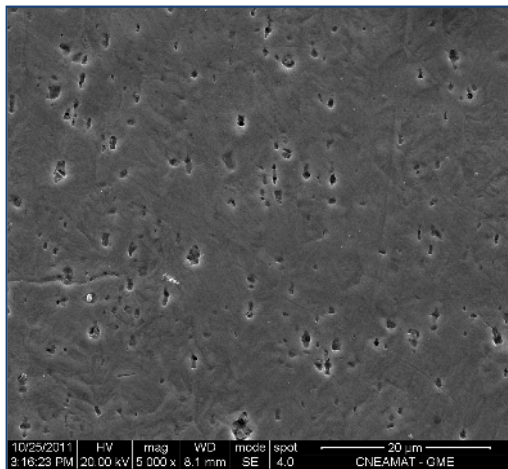


Fig.2. Superficie de nitinol control sin inocular (5000 X).

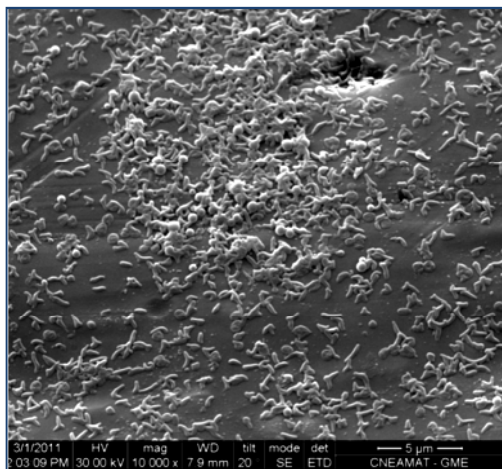


Fig.3. *Mycoplasma spp.* de origen bucal adherido a una superficie de nitinol (10.000 X).

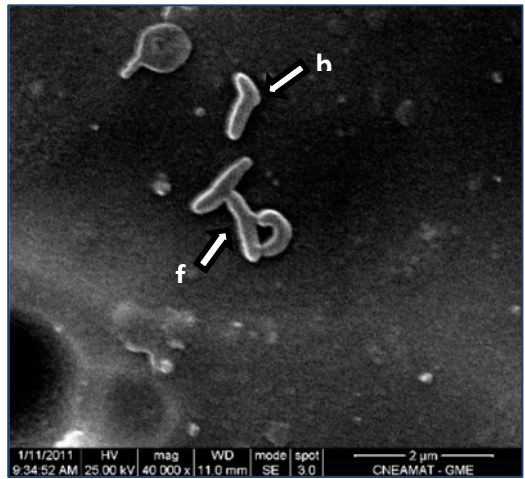


Fig.4. *Mycoplasma spp.* de origen bucal adherido a superficie de nitinol. Se observan formas filamentosas ramificada (fr) y bacilares (b) (40.000 X).

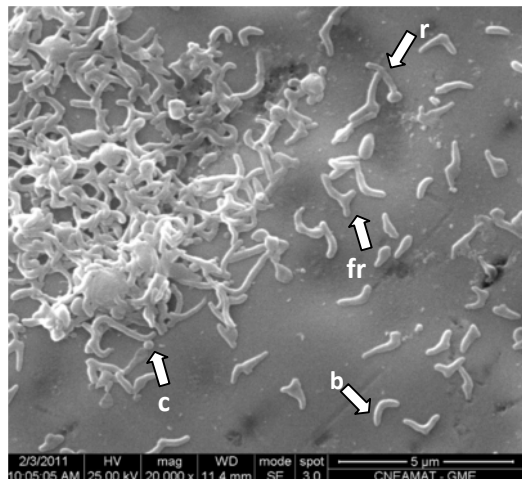


Fig.5. Formas cocoideas (c), bacilares (b), filamentosas ramificadas (fr) y en reproducción (r) de *Mycoplasma spp.* de origen bucal adherido a una superficie de nitinol (20.000X).

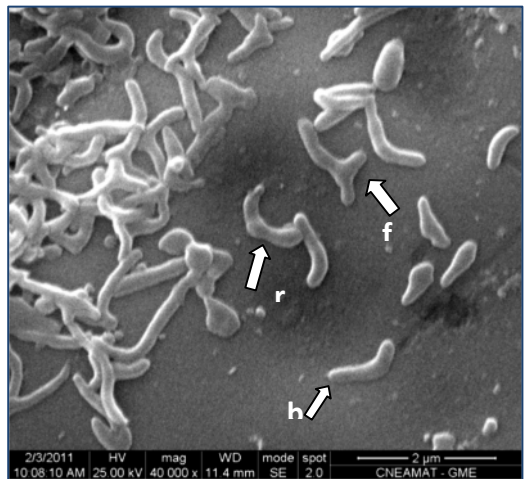


Fig.6. Magnificación de la Fig. 5. Se observan formas bacilares (b), filamentosas ramificadas (fr) y en reproducción (r) de *Mycoplasma spp.* (40.000 X).

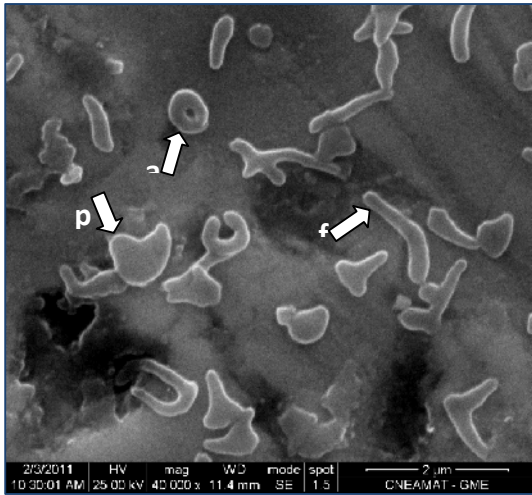


Fig.7. Formas piriformes (p), anulares (a) y filamentosas (f) de *Mycoplasma spp.* adherido a superficie de nitinol (40.000X).

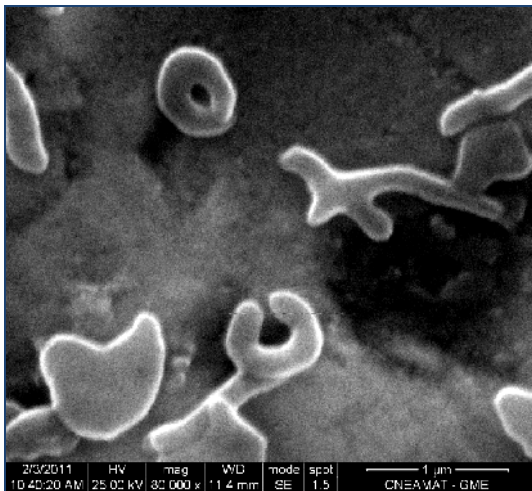


Fig.8. Magnificación de la Fig. 7 (80.000 X).

DISCUSIÓN

Varios trabajos han determinado que las modificaciones morfológicas observadas en los micoplasmas se pueden deber a diferentes etapas en su desarrollo y/o a modificaciones fisiológicas producidas por el medio que habitan. Para algunas especies la carencia de lípidos induce células redondeadas multinucleadas, las formas filamentosas aparecen por alteraciones en la síntesis proteica y la inhibición de la síntesis de ADN genera células ramificadas [2, 3].

Debido a que en este trabajo se pudo observar que la cepa de origen bucal en estudio presentó formas cocoideas,

bacilares, anulares, filamentosas y piriformes se deberían realizar experiencias utilizando diferentes tiempos de desarrollo y diferente composición en los medios de cultivo para determinar si la diversidad de formas encontradas representan diferentes etapas de desarrollo o se deben a alteraciones producidas por el medio utilizado. Teniendo en cuenta que los microorganismos de la cavidad bucal pueden diseminarse sistémicamente y producir enfermedades a distancia incluyendo la infección de prótesis cardio-vasculares y que el Nitinol® es un material utilizado en la realización de estos dispositivos, se eligió esta superficie biocompatible para estudiar la adhesión y desarrollo del género *Mycoplasma*, microorganismo presente en placa dental.

En el presente trabajo se determinó la adhesión del género *Mycoplasma* a superficies de nitinol con las mismas características morfológicas y de reproducción demostradas por Crespo y col. a superficies dentarias y por Ramella y col. superficies de explantes gingivales.

La capacidad de adhesión por parte de los microorganismos es un factor de virulencia esencial que posibilita la colonización de los mismos a las superficies del hospedador, para los micoplasmas se ha demostrado que intervienen en este proceso adhesinas de membranas; se deberían encarar trabajos posteriores para establecer los mecanismos de adhesión de los micoplasmas a las superficies de nitinol.

CONCLUSIONES

Debido a lo expuesto se concluye que el género *Mycoplasma* de origen bucal adherido a superficie de Nitinol® presenta el pleomorfismo característico de otras especies de su género adheridos a superficies naturales y biocompatibles.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Servicio de Microscopía Electrónica de CNEA por su valiosa colaboración técnica. Financiamiento: Subsidio UBACyT 20020090200489.

REFERENCIAS

- [1] Razin S and Jacobs E. (1992) "Mycoplasma adhesion" *Journal of General Microbiology*.138: 407- 422.
- [2] Robertson J, Gomersall M, Gill P. (1975) "Mycoplasma hominis: Growth, Reproduction, and Isolation of Small Viable Cells" *Journal of Bacteriology* 124 (2): 1007-1018.
- [3] Seto S, Miyata M. (1999) "Partitioning, Movement, and Positioning of Nucleoids in *Mycoplasma capricolum*" *J.Bacteriol* 181(19):6073-6080.
- [4] Socransky S Haffajee A. (2005) "Periodontal microbial ecology" *Periodontology* 2000 38: 135-187.
- [5] Crespo JD, Sá Fleitas MJ, Negroni M, Somaglia L, Santoro N, Turcot L, NASTRI A. (1974) "Aislamiento y estudio de cepas locales de *Mycoplasma* de enfermedad periodontal y de grupos controles normales" *Rev. A. M. A.* 87:43-7.
- [6] Engel D, Kenny G. (1970) "*Mycoplasma salivarium* in human gingival sulci" *J. Periodont. Res.* 5: 163 – 171.
- [7] Forest N. (1979) "Caracterisation de *Mycoplasma salivarium* dans les paradontopathies" *Jour. Biol. Buccale.* 7: 321- 330.
- [8] Kwek HSN, Wilson M, Newman HN. (1990) "*Mycoplasma* in relation to gingivitis and periodontitis" *J. Clinical Periodontol.* 17: 119-122.
- [9] Crespo JD, Turcot L, Ramella MR, Fucci M, Trica A. (1982) "Adhesión de *Mycoplasma salivarium* a superficies dentarias" *Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.* 3(2):17-22.
- [10] Ramella MR, de Crespo JD, Turcot L, Somaglia L, Ubios AM, Trica AM, Fucci M. (1985) "Scanning electron microscopic study of human gingival explants inoculated with *Mycoplasma salivarium*" *Acta Odontol. Latinoam.* 2(1): 10-4.
- [11] Beck J D, Elter J R, Heiss G, Couper D, Mauriello S M, Offenbacher S. (2001) "Relationship of periodontal disease to carotid artery intima-media wall thicknes" *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 21:1816.
- [12] Buhlin K, Gustafsson A, Pockley AG, Frostegard J, Klinge B. (2003) "Risk factors for cardiovascular disease in patients with Periodontitis" *Eur heart J.* 24 (23):2099-2107.
- [13] Domingo S, Puértolas S, Sanchez F, Garcia- Villa L, Puértolas JA. (2002) "Aplicación de la superelasticidad del NiTi a los stents: consideraciones termomecánicas" *Libro de Publicaciones del VIII Congreso Nacional de propiedades mecánicas de sólidos.* Gandia. pp. 417-24.
- [14] Vilotta SM, Somaglia L, Bernat M I, Palacios N, Rosmino F, Molgatini S, Turcot L.(2011) "Adhesión a superficies biocompatibles de nitinol de *Mycoplasma* bucal" *Libro de Reúmenes de la XLIV Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Odontológica . Res. N° 44.*