



## **Identificación molecular de *Tannerella forsythensis* (Tf) en bolsa periodontal y en ateroma ulcerado trombosado de arteria femoral: reporte de un caso.**

**Tarquini C. A., Manfredi A. S., Ronda J. A., Tarquini Castorina C. G., Hidalgo Heredia M. F.**

**Área Pedagógica de Cirugía Vascular Periférica. Servicio de Cirugía de Tórax y Vascular Periférico. Hospital Central. Mendoza.**

**Palabras clave:** *Tannerella forsythensis*; ateroma; periodontitis; reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

**Key words:** *Tannerella forsythensis*; atheroma; periodontitis; polymerase chain-reaction (PCR).

### **Resumen**

En el presente caso clínico se demostró una relación directa entre la infección periodontal y el ateroma ulcerado con trombosis de arteria femoral común derecha. Por procedimientos moleculares, a través del método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se identificó *Tannerella forsythensis* (periodontopatógeno) en el biofilm subgingival y en el ateroma.

### **Abstract**

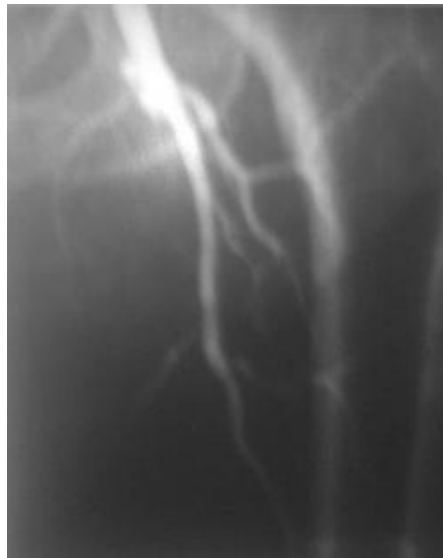
A direct relationship was demonstrated between the periodontal infection and the ulcerated atheromatous plaque with thrombosis of common right femoral artery in this case report. *Tannerella forsythensis* (periodontopathogenic) was identified by molecular procedures across the method of polymerase chain-reaction (PCR) in the subgingival biofilm as well as in the atheroma.

### **Introducción**

Paciente de sexo femenino, de 59 años de edad, argentina, del departamento de Tunuyán, provincia de Mendoza. Desde hace 20 años diabética tipo II con un tratamiento inconstante con insulina e hipertensa. Consulta el 23 de enero de 2004 por úlcera necrótica de talón de pie izquierdo. Se realiza limpieza quirúrgica ambulatoria de la zona afectada y se remite material para cultivo bacteriano y micológico con antibiograma que arroja una infección a *Staphylococcus aureus* meticilino sensible (SAMS) y se indica antibióticoterapia. Al examen clínico presenta pulso femoral izquierdo y ausencia de pulsos poplíteo y distales. Se solicitan angiografía de aorta y miembros inferiores que indica obstrucción de arteria femoral superficial en su nacimiento, poplíteo supraarticular permeable con salida distal a tres vasos (Fig. 1). Al diagnóstico odontológico presenta periodontitis crónica generalizada de moderada a severa (Fig. 2). Se realiza terapia básica periodontal para disminuir los niveles de infección oral y se toman muestras de biofilm subgingival. Se efectúa cirugía de revascularización consistente en tromboendarterectomía de cámara femoral izquierda con resección de placa posterior ulcerada y trombosada. By-Pass fémoro-poplíteo supraarticular protésico de Dacrón de 6 mm de diámetro por presentar vena safena interna no utilizable por dilataciones varicosas. Recuperación de los pulsos tibial posterior y pedio. Los especímenes tanto de la lesión arterial (Fig. 3) como de los sitios subgingivales se almacenan a  $-90^{\circ}$  hasta el momento de la deter-

minación molecular de bacterias periodontopatógenas por PCR. Alta hospitalaria a los diez días del postoperatorio. Reingresa de urgencia por flemón periprotésico distal de comienzo súbito. Se indica antibioterapia empírica con cefalotina 1g endovenoso cada 6 horas y metronidazol 500 mg endovenoso cada 8 horas respectivamente por 12 días con mejoría clínica.

Resección de la prótesis de Dacrón y reemplazo con vena safena interna invertida contralateral. Evolución postoperatoria óptima con revascularización y pulsos presentes. Anticoagulación con dicumarínicos y continúa con medicación antibiótica con ceftriaxona y metronidazol. El cultivo de la prótesis y tejidos periprotésicos dio negativo a las bacterias de rutina que infectan una prótesis vascular. Alta voluntaria a los diecisiete días con tratamiento incompleto. Reingresa a los treinta días por presentar hematoma supurado en herida operatoria distal y absceso periodontal por lo que se deriva para su tratamiento odontológico. Se efectúa el drenaje del hematoma y toma de muestra para cultivo que dio positivo a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR). Terapia antibiótica con minociclina 200mg por día por diez días y se da el alta. A los tres años último control miembro inferior izquierdo By-Pass permeable, pulsos distales presentes y asintomática (Fig. 4).



**Figura 1.** Arteriografía placa ulcerada de cámara femoral y trombosis de arteria femoral superficial izquierda.



**Figura 2.** Imagen preoperatoria intraoral. Diagnóstico clínico: periodontitis crónica de moderada a severa generalizada. El motivo de la consulta de esta paciente es por dolor en miembro inferior izquierdo y no es conciente de su afección oral a pe-

sar de la presencia grosera de placa bacteriana supragingival y cálculo, empaquetamiento alimenticio en los espacios interproximales, raíces dentarias expuestas por la pérdida considerable de hueso periodontal y ausencia de múltiples piezas dentarias.

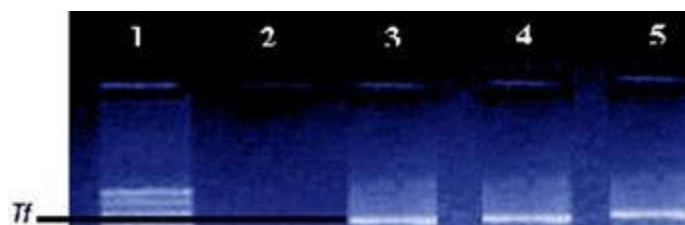


**Figura 3.** Procesamiento para la extracción de sitios de la muestra de ateroma en el laboratorio bajo flujo laminar para su posterior determinación microbiológica molecular.



**Figura 4.** Imagen Postoperatoria. Estado actual miembro inferior izquierdo.

La detección de *Tannerella forsythensis* de las muestras de biofilm subgingival y de placa de ateroma se realizó a través del método de PCR Multiplex (1). Se utilizaron primers conservados y especie-específicos pertenecientes al gen del 16S rRNA. El tamaño de los fragmentos amplificados fue 745pb para *Tannerella forsythensis* (Tf). El límite de detección para Tf fue de 1000 ufc/ml (2). A través de esta técnica molecular se identificó Tf en la muestra de biofilm subgingival y en el ateroma de la paciente (Fig. 5).



**Figura 5.** PCR de biofilm subgingival y placa de ateroma positivos a Tf. Columna 1: peso molecular. Columna 2: control negativo. Columna 3: control positivo. Columna 4: biofilm subgingival positivo a Tf. Columna 5: ateroma positivo a Tf.

Este caso clínico es parte de la muestra incluida en un proyecto de investigación aprobado por la Secretaría de Ciencia y Técnica UNCuyo, por el Comité de Docencia

e Investigación del Hospital Central de Mendoza y el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas UNCuyo. La paciente firmó el expreso consentimiento informado para su participación en dicho proyecto de investigación y autorizó la publicación de datos e imágenes.

## **Discusión**

La relación entre las bacterias periodontopatógenas y el desarrollo de aterosclerosis continúa en investigación. Existen pruebas que la inflamación crónica periodontal puede interpretarse como un factor adicional para la aterogénesis (3).

Así como en la actualidad es un hecho la endocarditis bacteriana con génesis en estreptococos orales; recientemente se han iniciado varias investigaciones, con fundamento en estudios epidemiológicos, que sostienen que la periodontitis puede ser un factor de riesgo para enfermedades sistémicas como diabetes, nacimientos prematuros, y aterosclerosis (4). Aunque esta relación entre periodontitis y aterosclerosis aún no se encuentra dilucidada (5), están bajo estudio los mecanismos moleculares intervinientes en la posible relación entre estas dos enfermedades (6). Los resultados obtenidos también sugieren que los periodontopatógenos podrían ser factores importantes en la agregación plaquetaria (7) y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (8), siendo estas dos últimas, situaciones que se asocian con la aterosclerosis. El efecto de la activación por bacterias periodontales de mediadores inmunológicos de la inflamación sobre las células endoteliales puede ser también relevante para el desarrollo de aterosclerosis (9, 10).

En este caso clínico por PCR se detectó la presencia simultánea de Tf en el biofilm subgingival y en la placa de ateroma lo que contribuye a sostener que la inflamación sea un factor importante en el desarrollo de la enfermedad de la pared arterial y sus complicaciones.

Las arteriopatías obliterantes en estadio IV-A implican un verdadero desafío para la conservación de un miembro, las que incluyen: intervenciones quirúrgicas, internaciones hospitalarias prolongadas –en este caso sesenta y nueve días– y costos elevados en los insumos que todos estos procedimientos implican. Si bien el resultado fue exitoso, un alto porcentaje de pacientes sufre la pérdida del miembro afectado y/o la vida.

Es probable que la periodontitis sea un factor más a agregar a los muchos que tratan de explicar la génesis del proceso aterosclerótico. La presencia de un periodontopatógeno en la estructura que conforma un ateroma marca la importancia de continuar con los estudios que puedan demostrar si los periodontopatógenos cumplen algún rol en la desestabilización y ruptura de la placa de ateroma y si la periodontitis puede ser un factor de riesgo prevenible de lesiones ateromatosas a distancia.

## **Bibliografía**

1. Tran SD, Rudney JD. Improved Multiplex PCR using conserved and species-specific 16SrRNA gene primers for simultaneous detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, and *Porphyromonas gingivalis*. *J. Clin. Microbiol* 1999; 37:3504-3508.
2. Fernández Canigia L, y col. Desarrollo de una reacción en cadena de la polimerasa para la detección de potenciales patógenos de enfermedad periodontal. *Anales de la Fundación A J Roemmers*. 2004; Vol XV, 163:169.
3. Haraszthy, V. I., Zambon, J. J., Trevisan, M., Zeid, M. & Genco, R. J. Identifica-

tion of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol* 2000; 71, 1554-1560.

4. Williams RC, Offenbacher S. Periodontal medicine: the emergence of a new branch of periodontology. *Periodontol* 2000 2000; 23:9-12.
5. Hujoel PP, Drangsholt M, Spiekerman C, DeRouen TA. Periodontal disease and coronary heart disease risk. *J Am Med Assoc* 2000; 284:1406-1410.
6. Kang I-C, Kuramitsu HK. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by *Porphyromonas gingivalis* in human endothelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 1456:1-7.
7. Loubakos A, Yuan YP, Jenkins AL, Travis J, Andrade-Gordon P, Santalli R, et al. Activation of protease-activated receptor by gingipains from *Porphyromonas gingivalis* leads to platelet aggregation: a new trait in microbial pathogenicity. *Blood* 2001; 97:3790-3797.
8. Miyakawa H, Honma K, Qi M, Kuramitsu HK. Interaction of *Porphyromonas gingivalis* with low-density lipoproteins: implications for a role for periodontitis in atherosclerosis. *J Periodontal Res.* 2004; 39:1-9.
9. Kang I-C, Kuramitsu HK. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by *Porphyromonas gingivalis* in human endothelial cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 1456:1-7.
10. Nassar H, Chou HH, Khlgatian M, Gibson FC 3rd, van Dyke TE, Genco CA. Role for fimbriae and lysine-specific cysteine proteinase gingipain K in expression of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein in *Porphyromonas gingivalis* infected endothelial cells. *Infect Immun* 2002; 70:268-276.