

DETECTION OF PORPHYROMONAS GINGIVALIS AND STREPTOCOCCUS INTERMEDIUS IN CHRONIC PERIODONTITIS PATIENTS BY MULTIPLEX PCR

Myriam A. De La Garza-Ramos¹, Luis J. Galán-Wong¹, Raúl G. Caffesse², Francisco González-Salazar³, Benito Pereyra-Alfárez¹

¹Instituto de Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

²University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, Texas, USA.

³North-East Biomedical Research Center, Mexican Institute of Social Security, Monterrey, Nuevo León, México.

ABSTRACT

A Multiplex PCR assay for the detection of Porphyromonas gingivalis and Streptococcus intermedius in chronic periodontitis is presented. A total of 180 samples from 65 adults with untreated periodontitis and 17 healthy volunteers were taken and processed in a simple boiling step. Cell lysates were used as DNA source for multiplex PCR assays. Primers were designed from 16S rRNA gene sequences from the GenBank-EMBL database showing specificity for target pathogens.

This multiplex PCR system could detect 8.2 P. gingivalis and S. intermedius cells. In untreated periodontitis patients, only

78.5% were positive for one or both bacteria; 37% were positive for P. gingivalis only, 17% for S. intermedius and 24.5% for both. P. gingivalis was detected in 23.5% of healthy volunteers, while S. intermedius was not detected in the same patients.

The distribution of these bacteria was related to the periodontal probing depth, while 95.23 % of patients with pockets with 6 to 7 mm deep were positive for either or both, only 70.45 % of them with 4 to 5 mm pockets were positive.

Key words: periodontitis, periodontal pocket, polymerase chain reaction, porphyromonas gingivalis, Streptococcus intermedius.

DETECCIÓN DE PORPHYROMONAS GINGIVALIS Y STREPTOCOCCUS INTERMEDIUS EN PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA USANDO PCR MULTIPLEX

RESUMEN

Se muestra la utilización del ensayo de polimerasa en cadena (PCR) múltiplex para la detección de Porphyromonas gingivalis y Streptococcus intermedius en pacientes con periodontitis crónica. Se analizaron un total de 180 muestras de 65 adultos con periodontitis no tratada y 17 voluntarios sanos, las células se procesaron inicialmente colocándolas a baño María durante 10 min. El lisado celular fue usado como fuente de ADN para los ensayos del PCR múltiplex. Los primers fueron diseñados a partir de secuencias génicas de fracciones 16 rRNA obtenidas de la base de datos GenBank-EMBL y que mostraron especificidad para los patógenos mencionados. El sistema PCR múltiplex fue diseñado para identificar 8.2 células de P. gingivalis y S. intermedius. De los pacientes con periodontitis, sólo el 78.5 % fueron positivos

para una o ambas bacterias. En el 37% se identificó únicamente P. gingivalis, en el 17% S. intermedius y en un 24.5% ambos. P. gingivalis fue detectada en el 23.5% de los voluntarios sanos, mientras que, S. intermedius no se detectó en ese grupo de pacientes.

La distribución de la identificación de estas bacterias está relacionada con la profundidad de las bolsas periodontales. Mientras que el 95.23 % de los pacientes con bolsas de 6 a 7 mm fueron positivas para ambas bacterias, mientras que sólo el 70.45 % de ellos fue positivo cuando las bolsas tenían de 4 a 5 mm de profundidad.

Palabras clave: periodontitis, bolsas periodontales, reacción en cadena de la polimerasa, Porphyromonas gingivalis y Streptococcus intermedius.