



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

ELDA GEORGINA CHÁVEZ CORTÉZ

DIRECTORA: MTRA. AMALIA CRUZ CHÁVEZ

MÉXICO D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres Magdalena y Armando

Gracias por su apoyo, amor y comprensión, por estar conmigo en todo momento, guiarme y darme lo mejor. Porque por ustedes he llegado hasta donde estoy. Los quiero mucho.

A mis hermanos:

Consuelo, Rodrigo, Armando y Cecilia. Por ayudarme y brindarme de su tiempo cuando más los necesitaba. Por aconsejarme en los momentos difíciles. Gracias por todo. Los admiro y quiero.

A mis profesores

Por sus enseñanzas y consejos, pero en especial a la Mtra. Amalia Cruz Chávez por su tiempo y dedicación para la elaboración de esta tesina.

A mis amigas

Por estar conmigo en toda la carrera.

ÍNDICE

	Pag.
INTRODUCCIÓN.....	5
CAPITULO 1. DIAGNÓSTICO PERIODONTAL	
1.1 Antecedentes históricos del diagnóstico periodontal...8	
1.2 Examen clínico periodontal.....10	
1.2.1 Sondeo periodontal.....13	
1.2.2 Radiografía en el diagnóstico periodontal.....16	
CAPITULO 2. AVANCES EN LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CONVENCIONALES	
2.1 Sondas estandarizadas de fuerzas controladas.....19	
2.1.1 Sonda Florida.....20	
2.1.2 Sonda Foster-Miller.....26	
2.1.3 Sondas Automática Toronto.....27	
2.1.4 Beneficios de las sondas.....28	
2.2 Diagnóstico radiográfico.....29	
2.2.1 Radiografía digital computarizada.....31	
2.2.1.1 Técnica directa.....33	
2.2.1.2 Técnica indirecta.....34	

2.2.2 Tomografía computarizada (CT).....	35
2.2.3 Tomografía computarizada de abertura adaptada (TACT).....	37
CAPITULO 3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	40
3.1 Cultivo bacteriano.....	43
3.2 Pruebas inmunológicas.....	46
3.3 Técnicas enzimáticas para identificación bacteriana....	49
3.4 Técnicas de biología molecular.....	54
3.4.1 Sonda de ácido desoxirribonucleico.....	54
3.4.2 Reacción en cadena de la polimeraza.....	58
3.5 Identificación de los componentes del fluido crevicular.....	65
CONCLUSIONES.....	71
FUENTES DE INFORMACIÓN.....	73

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico clínico de las enfermedades periodontales se basa principalmente en la historia clínica, signos de inflamación, pérdida de inserción del tejido, pérdida de hueso alveolar y presencia o ausencia de signos y síntomas (dolor, ulceración, sangrado, cantidad de placa y cálculo).

Para la evaluación de algunos de estos signos se usan principalmente el sondeo periodontal y las radiografías, que proporcionan datos acerca del estado periodontal. Estos hallazgos ayudan a determinar si existe o no enfermedad periodontal. Sin embargo, dichos datos no aportan información suficiente sobre la causa de la enfermedad, susceptibilidad y avance. Por lo que ha existido la necesidad de desarrollar nuevos métodos de diagnóstico que suministren la información adecuada para conseguir un diagnóstico certero.

La evaluación del estado periodontal es de gran importancia para diagnosticar correctamente las enfermedades periodontales, para dar un plan de tratamiento adecuado y un buen pronóstico.

En los últimos años se han creado pruebas de diagnóstico que permiten conocer que microorganismos causan la enfermedad, la susceptibilidad y su avance. Durante más de 20 años, las técnicas de cultivo han sido el método de identificación de los patógenos periodontales. Las pruebas inmunológicas son otro método empleado para la identificación de microorganismos.

El siguiente trabajo tiene como objeto principal estudiar y conocer los progresos recientes en los métodos de diagnóstico tradicionales y las

nuevas estrategias que existe para llegar a un diagnóstico certero y un pronóstico y tratamiento adecuado de las enfermedades periodontales.

CAPITULO 1

DIAGNÓSTICO PERIODONTAL

1.1 Antecedentes históricos del diagnóstico periodontal

El diagnóstico periodontal en el siglo diecinueve estaba limitado a las observaciones clínicas. La controversia sobre el origen local o sistémico de la enfermedad periodontal se confundía entre la diferencia de los trastornos periodontales y las enfermedades sistémicas con las manifestaciones periodontales. La supuración se consideraba como la principal característica de la enfermedad. A finales del siglo diecinueve, John Riggs y William Younger, en 1901, detallaron los cambios clínicos gingivales, la movilidad dental y la migración dental en la enfermedad en etapa avanzada.

La valoración de los cambios gingivales como el color, el tamaño, contorno, posición y la forma, han sido parte esencial en el examen clínico oral durante mucho tiempo. En 1915, G. V. Black delimitó, el grado de enrojecimiento y el aumento de tamaño gingival de leve a severo, áreas donde se impacta la comida, supuración, dolor y depósitos de cálculo. En el siglo veinte, particularmente después de 1920, este acontecimiento mejoró el diagnóstico clínico y ayudó a detectar la importancia de los cambios en el tejido gingival.

La sonda periodontal y su uso fué descrito por F. V. Simonton, de la Universidad de California, San Francisco, en 1925. Simonton define a la sonda periodontal como un "Periodontometer" y da crédito a W. H. Hanford y C. O. Patten por su invención. Había sondas calibradas para sitios de lado derecho e izquierdo. Simonton da las mediciones exactas de la sonda y las instrucciones detalladas de su uso. También, define los términos de bolsa periodontal y recesión. Luego explica cómo medir cada uno de estos parámetros y cómo capturar las mediciones en una tabla.¹

Simonton también, analiza los posibles orígenes del error en la medición de la bolsa periodontal y la confiabilidad del método. Insiste en que la única manera de determinar la existencia y la extensión de la piorrea es con la medición de la profundidad de la bolsa. La aprobación del sondeo periodontal rutinario en el diagnóstico fue lento. Los libros periodontales publicados en 1930 hacen mención breve de las investigaciones y sondeo.

La odontología fue la primera especialidad médica en asumir el uso de las radiografías. El primer uso de radiografías para el diagnóstico periodontal fue realizado por William Herbert Rollins en diciembre 1896. Rollins tenía un grado de médico en la universidad de Harvard y practicó la dentistería en Boston.¹

La capacidad para diagnosticar y evaluar correctamente la enfermedad periodontal ha merecido bastante atención desde muchos años atrás hasta la última década (Jeffcoat y Reddy, 1991; Paquette y Williams, 1994; Lamster y Grbic, 1995; Zambon y Haraszthy, 1995). De hecho, la mayor comprensión de la naturaleza, etiología y patogenia de este grupo heterogéneo de enfermedades ha exigido que se modifiquen las estrategias de diagnóstico para adaptarlas con más propiedad a los conceptos actuales sobre la enfermedad.²

1.2 Examen clínico periodontal

El examen clínico es esencial para determinar diagnóstico y pronóstico de la dentición del paciente y para formular un plan de tratamiento. Un examen periodontal completo incluye:

- Evaluación de los factores etiológicos posibles
- Extensión de inflamación gingival
- Cantidad de daño a las estructuras periodontales así como valoración de factores que afectan el éxito de la intervención terapéutica.³

En este se realizan los siguientes pasos:

- Examen clínico de los tejidos periodontales y registro de los mismos
- Examen radiográfico
- Relacionar los datos clínicos y radiográficos con los antecedentes del paciente
- Clasificar la enfermedad periodontal
- Realización del índice de placa y hemorragia
- Estudio oclusal
- Diagnóstico de las necesidades quirúrgicas
- Reevaluar al paciente en cada nueva visita.⁴

Las enfermedades periodontales son infecciones mixtas relacionadas con grupos inespecíficos de bacterias. En consecuencia, durante el examen periodontal es necesario evaluar el grado actual del control de placa del paciente e identificar las condiciones locales que

promuevan la colonización de los dientes con bacterias periodontopáticas. También, se registra cualquier situación que dificulte la remoción diaria de placa como dientes mal alineados o con coronas protésicas, afecciones de furcación y restauraciones con contornos deficientes.³

El examen periodontal debe ser sistemático se comienza en la región molar en el maxilar o en la mandíbula, y se prosigue alrededor del arco incluyendo todas las partes de la dentición. Así se evita dar mayor importancia de la que merecen hallazgos mas sobresalientes a expensas de otras lesiones menores que, son menos llamativas pero pueden tener la misma importancia. Debido a que la enfermedad produce alteraciones inflamatorias de la encía y una pérdida progresiva de ligamento periodontal y de hueso alveolar, el examen integral debe incluir mediciones que describan estas alteraciones patológicas.^{2, 5}

Los hallazgos periodontales se deben registrar en fichas periodontales (periodontograma), éstas sirven de guía para efectuar un examen minucioso y registrar el estado del enfermo. También sirven para valorar la reacción terapéutica y hacer comparaciones en las sesiones de mantenimiento.³

Signos clínicos de la encía

Los signos clínicos de inflamación gingival son cambios en el color y la textura del tejido marginal blando y una mayor tendencia a sangrar en el sondeo.²

Cuando los patógenos periodontales colonizan sitios subgingivales en número suficiente, el huésped presenta una respuesta inflamatoria que se observa clínicamente. En general, los sitios infectados muestran uno o

más de los cuatro signos de inflamación gingival: cambio de color, edema, hemorragia al sondeo ligero y fluido del surco gingival o exudado.

Los tejidos inflamados presentan cambios de color que consisten en matices rojos. El enrojecimiento se debe al aumento de aporte sanguíneo en el sitio inflamado. La tumefacción o edema es una característica frecuente en los tejidos gingivales inflamados; el agrandamiento se debe a la acumulación de líquidos en el tejido conectivo. El fluido es suero que emerge de los vasos sanguíneos con permeabilidad aumentada por la inflamación local.

La hemorragia al sondeo es un signo objetivo de inflamación gingival. Los tejidos gingivales inflamados sangran al sondeo debido a que el revestimiento epitelial de una bolsa infectada es delgado o tiene microulceraciones. El último signo es la presencia de fluido del surco gingival que emerge del orificio de la bolsa, este lo produce la pared del tejido blando inflamado de la bolsa y varía de líquido seroso claro a exudado purulento.³

Para evaluar la cantidad de tejido perdido en la enfermedad periodontal e identificar la extensión apical de la lesión inflamatoria, se deben registrar los parámetros de:

- Profundidad de la bolsa (profundidad de sondeo)
- Nivel de inserción (sondeo del nivel de inserción)
- Afección de la furcación
- Movilidad dentaria.^{2,4}

1.2.1 Sondeo periodontal

El objetivo principal del sondeo periodontal es registrar de manera sistemática la profundidad de la bolsa y la pérdida de inserción alrededor de cada diente.

Valoración de la profundidad de la bolsa

Las bolsas periodontales son surcos gingivales profundizados patológicamente que se desarrollan en sitios infectados y son importantes debido a que representan el hábitat subgingival potencial para bacterias periodontopáticas.

La profundidad de la bolsa (sondeo) es la distancia del margen gingival al fondo de la bolsa gingival, se mide por medio de una sonda graduada (fig 1). Se debe sondear la circunferencia completa del diente; el sondeo consisten en medir con la sonda alrededor del diente y registrar el punto más profundo en cada una de las seis superficies: distovestibular, vestibular, mesiovestibular, distolingual, lingual y mesiolingual.^{2,3}

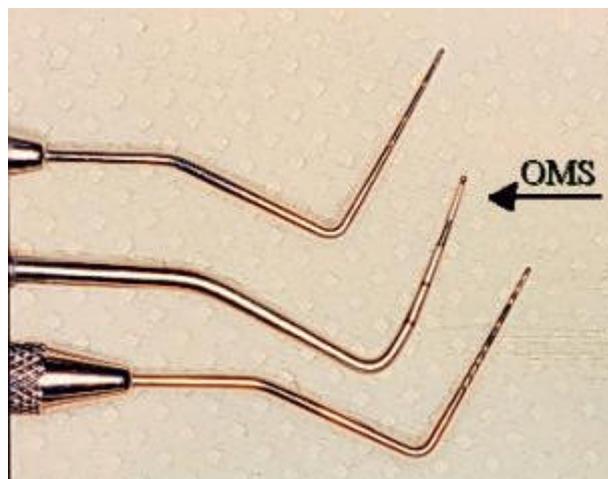


Figura 1. Sondas periodontales.⁶

Valoración del nivel de inserción

Las lecturas de pérdida de inserción son importantes debido a que son la mejor evaluación de la cantidad de daño que presenta el periodonto.

Los niveles de inserción pueden medirse con una sonda graduada y expresarse por la distancia en milímetros del límite cementoalveolar hasta el fondo de la bolsa gingival. Se registra la distancia mayor en cada superficie dentaria y se puede incluir en el esquema periodontal.²

Errores inherentes al sondeo periodontal

Existen diferentes factores que afectan el resultado de la medición. Estos factores son principalmente:

- Grosor de la sonda
- La mala ubicación de la sonda, debido a rasgos anatómicos, como la forma de la superficie dentaria
- Presión aplicada al instrumento durante el sondeo
- Grado de células inflamatorias infiltradas en el epitelio de unión y el tejido conjuntivo subyacente.
- Grado de destrucción de las fibras del tejido conjuntivo.⁴

Los dos primeros errores mencionados pueden ser evitados o reducidos mediante la elección del instrumento correcto y la manipulación cuidadosa en procedimiento. De lo contrario, son más difíciles de evitar los errores resultantes de las variaciones en la fuerza de sondeo y de la

extensión de las alteraciones inflamatorias de los tejidos. Ya que cuanto mayor sea la fuerza del sondeo, mayor será la penetración de la sonda en los tejidos. Con el fin de excluir este error se generaron las sondas sensibles a la presión. Cuando el tejido conectivo subyacente al epitelio de la bolsa está infiltrado por células inflamatorias, la sonda periodontal penetrará más allá de la terminación apical del epitelio dentogingival. Esto produce una sobreestimación de la profundidad real. A la inversa, cuando el infiltrado se reduce después de un tratamiento periodontal y se produce un depósito de tejido colágeno nuevo, el tejido dentogingival se hará más resistente a la penetración de la sonda, entonces la sonda no podrá llegar a la terminación apical del epitelio.²

1.2.2 Radiografía en el diagnóstico periodontal

Las radiografías son auxiliares para el diagnóstico periodontal, en éstas se puede detectar la enfermedad por una pérdida de moderada a avanzada de hueso alveolar. La radiografía revela alteraciones del tejido calcificado no indica actividad celular vigente, sino que muestra los efectos de la actividad celular previa en el hueso y las raíces.⁵

Utilidades

- Con una técnica correcta, en general es posible registrar en un plano la posición del septo óseo
- La radiografía actúa como una guía en el examen clínico, pudiendo confirmar una exploración, a pesar de que por sí sola no pueda ofrecer pruebas concluyentes
- El hueso alveolar, el proceso alveolar y el espacio periodontal de las caras mesiales, distales y apicales de la raíz se registran en la radiografía en un solo plano.⁷

Según Badela, la radiografía es útil en la determinación de las siguientes condiciones.

- Reabsorción del hueso alveolar: radioopacidad disminuida de la cresta (alteración de la cortical o del septo)

- Distribución de la pérdida ósea: extensión horizontal y vertical, furcas
- Pérdida de la lámina dura
- Alteración del trabeculado óseo
- Relación corona/raíz – nivel óseo alveolar
- Espacio peridontal y sus variaciones
- Afecciones periapicales.⁷

Las radiografías proveen información de la altura y configuración del hueso alveolar interproximal. La estructura como el hueso y dientes hacen difícil en ocasiones identificar apropiadamente el perfil de la cresta ósea alveolar vestibular y lingual. Es por ello que los análisis de la radiografías deben combinarse con una evaluación detallada de los datos de la profundidad de la bolsa y del nivel de inserción para llegar a un diagnóstico correcto de la pérdida ósea horizontal y vertical.²

CAPITULO 2

AVANCES EN LOS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CONVENCIONALES

2.1 Sondas estandarizadas de fuerzas controladas

En el sondeo periodontal convencional se presentan diversos problemas que hay que tomar en cuenta, en especial, los errores inherentes a la técnica de sondeo como son fuerza, diámetro de la sonda, presencia de cálculo subgingival, angulación y penetración en los tejidos. Todo ello demuestra una gran variación en el sondaje que varía entre 0.5 y 1.3 mm. Ante estos problemas han sido desarrolladas varias sondas automatizadas para superar algunas de las fuentes de error.

La sonda periodontal es el instrumento de diagnóstico periodontal más utilizado para la evaluación clínica de la destrucción de tejido conectivo en la periodontitis. El aumento de la profundidad al sondeo y la pérdida de inserción clínica son patognomónicos de la enfermedad periodontal. Es por ello que, el sondeo es necesario y obligatorio en el diagnóstico.^{2, 4, 5}

La penetración de la sonda está íntimamente relacionada con la fuerza utilizada. Por ello se ha tratado de utilizar una sonda de presión controlada dado que parece ser que son 30 gr la fuerza necesaria y fuerzas superiores a 50 gr son las que diagnostican defectos óseos periodontales.⁴

2.1.1 Sonda Florida

La Sonda florida es un sistema de sondeo periodontal que incorpora las ventajas de la fuerza constante al sondeo, la medición electrónica precisa (para 0.1 mm) y el almacenamiento de los datos en computadora. Este sistema de sonda automática consta de una pieza de mano para la sonda, lectura digital, un pedal, una interfaz de computadora y una computadora (fig 2).⁸

La sonda Florida ha recibido múltiples usos, este sistema trabaja con una resolución in Vitro de 0.1 mm y es capaz de grabar niveles electrónicamente unidos. Varios estudios han comparado directamente la reproducción relativa de las medidas clínicas tomadas con la sonda Florida contra pruebas manuales convencionales. Algunos estudios indicaron que las medidas replicadas tomadas con la prueba Florida tenían una menor desviación estándar que aquellas que habían sido tomadas por métodos convencionales manuales.

Los resultados de dos de estos estudios solo indican una pequeña desviación estándar con la prueba Florida usándose doble vez. En este método los sitios son medidos dos veces y la diferencia entre el primero y el segundo es mayor de 1 mm, y en la segunda toma hay una variedad de solo 1 mm. Este proceso de verificación, intenta reducir la probabilidad de que suceda un error en la medición.⁹

Esta sonda se creó según los criterios del *National Institute of Craniofacial Dental Research* (NIDCR) para vencer las limitaciones del sondeo periodontal ordinario (fig 3).

Limitación	Sondeo ordinario	Criterios del NIDCR
Precisión	1mm	0.1 mm
Rango	12mm	10 mm
Fuerza de sondeo	No estandarizada	Constante y estandarizada
Aplicabilidad	No invasiva y de uso fácil	No invasiva de poco peso y uso fácil
Alcance	De fácil acceso a cualquier lugar alrededor del diente	De fácil acceso a cualquier lugar alrededor del diente
Angulación	Subjetiva	Un sistema guía para asegurar la angulación adecuada
Seguridad	Fácil esterilización Instrumento de acero inoxidable simple	Esterilización completa de todas las partes que entran en la boca No hay riesgo biológico por el material o descarga eléctrica
Lectura	Depende del dictado verbal y registro por escrito	Lectura electrónica directa e información de salida digital.

Figura 3. Criterios definidos por el National Institute of Craniofacial Research.⁵

Descripción de la sonda Florida

La sonda es similar a una sonda Michigan común con manchas como la sonda Williams. El extremo de la punta de la sonda mide 0.4 mm de diámetro. El vértice de la sonda tiene movimiento alternativo por medio de un manguito y el borde de éste brinda un punto de resistencia para hacer las mediciones. Las lecturas se toman electrónicamente y se

transfieren de modo automático a la computadora al pisar con el pie el pedal.⁸



Figura 2. Equipo de la sonda Florida.¹⁰

La sonda permite la realización de medidas de profundidad de bolsa y recesión, simultáneamente o en forma independiente.

Asimismo, y mediante el pedal de control es posible registrar en la ficha periodontal del paciente los siguientes parámetros:

- Profundidad de bolsa
- Hiperplasia
- Sangrado
- Supuración
- Localización de placa
- Grado y localización de la movilidad
- Grado y localización de la furca
- Adhesión gingival
- Dientes faltantes
- Dientes impactados
- Implantes
- Coronas.¹⁰

La fuerza constante de sondeo la proporcionan los resortes helicoidales que están dentro de la pieza de mano de la sonda y el lector digital. Esta técnica de sondeo combina las ventajas de la fuerza de sondeo constante con la medición electrónica precisa y el almacenamiento de datos en la computadora, lo cual elimina los errores potenciales relacionados con la lectura visual y la necesidad de un asistente para anotar las mediciones.^{5,8}

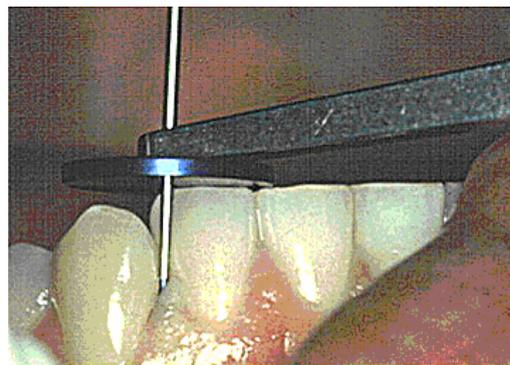


Figura 4. Sonda Florida.¹¹

En este sistema se requiere de un punto fijo que sirva de referencia para las mediciones del nivel de inserción. Se consideró como referencia la unión cemento-esmalte pero por su complicada ubicación subgingival no es ideal, además dificulta la colocación de la sonda en interproximal. En lugar de la unión cemento-esmalte se usa una férula oclusal. La férula oclusal no sólo es el punto de referencia también cuando se requiere volver a medir el mismo sitio ayuda al clínico a dirigir la punta de la sonda en la misma ubicación (fig 5).⁸



A



B

Figura 5. A y B, sonda automatizada Florida, con disco, con fuerza controlada, entrada directa a un ordenador y punto de referencia oclusal.^{2,10}

Badersten descubrió que la férula oclusal en comparación con la unión cemento-esmalte como referencia, mejoró la reproducibilidad de las mediciones del nivel de inserción. Las desviaciones de las mediciones repetidas fueron entre 0.77 mm a 0.92 mm para las férulas comparadas con 1.04 mm a 1.29 mm cuando la unión cemento esmalte fue usado como referencia.⁸

Estas sondas automáticas ofrecen muchas soluciones a los problemas del sondeo, pero introducen los propios. En varios estudios se ha observado que el uso del sistema de sondeo automático no ofrece ninguna ventaja en comparación con el sondeo tradicional, lo que daría un grado de reproducibilidad similar. Sin embargo, en otros estudios se demuestra que con operadores bien capacitados y si se aplica la técnica de la sonda de la “doble pasada”, las mediciones hechas con el sistema sonda Florida presentan variabilidad significativa menor (desviación estándar menor) que las obtenidas con sondas convencionales.⁵

Ventajas

- Reduce los errores de medición en comparación con una sonda periodontal manual
- Puede detectar una pérdida de inserción de menos de 1 mm con una fiabilidad del 99%
- Permite un diagnóstico y una intervención más temprana.²

Desventajas

- Se puede presentar subestimación de medidas profundas
- Los elementos de sondeo carecen de sensibilidad táctil, en su mayor parte debido a que su movimiento es independiente, por lo que fuerza al operador a predeterminedar un punto y una angulación de introducción.
- La aplicación de una fuerza fija en toda la boca, sin importar el sitio o el estado inflamatorio, genera mediciones inexactas o molestias al paciente.⁵

2.1.2 Sonda Foster-Miller

La sonda de Foster Miller es un sistema electrónico descrito por Jeffcoat y colaboradores. Esta sonda es capaz de reunir la medición de la profundidad de bolsa con la detección de la unión amelo cementaria con lo cual se detecta en forma automática el nivel de inserción clínica.⁹

Las mediciones del nivel de inserción, son hechas desde un punto de referencia fijo. Debido a que el punto de referencia fijo no se mueve, la medición del nivel de inserción no está afectada por los cambios en la ubicación gingival. Sin embargo, en investigaciones, las mediciones de nivel de inserción pueden ser hechas en comparación con una férula oclusal, una restauración o una marca anatómica natural como la unión cemento-esmalte.⁵

Para determinar el nivel de inserción sin la ayuda de una férula o restauraciones, se necesitan dos mediciones. La distancia del la unión cemento-esmalte a el margen gingival es restada de la distancia del margen gingival a la base de la bolsa pero, existen errores de medición así que la exactitud del cálculo de nivel de inserción se ve afectada.¹²

En un estudio in vitro en dientes montados en odontotipos se observó que este tipo de sonda puede determinar niveles de inserción clínica con una repetibilidad de 0.2 mm.^{2, 5}

En estudios clínicos esta sonda promete mejorar la exactitud y proporcionar datos valiosos. La exactitud de las mediciones puede hacer posible detectar los cambios más pequeños en el nivel de inserción. En el uso clínico, la exactitud de la nueva sonda proporciona la habilidad de detectar tempranamente la progresión de la enfermedad.¹²

2.1.3 Sonda Automática Toronto

La Sonda Automática Toronto usa la superficie oclusal o el borde incisal para medir los valores clínicos relativos de la inserción. El surco se sondea con un alambre de níquel y titanio de 0.5 mm que se prolonga con presión de aire. Controla las discrepancias angulares mediante un sensor inclinado de mercurio que limita la angulación entre $\pm 30^\circ$, pero exige la posición reproducible de la cabeza del paciente y no puede medir con facilidad los segundos o terceros molares.⁵

También se hallan en el mercado los sistemas de sondeo electrónico como el **Sistema Intreprobe** y **Sistema Perioprobe**. Estos sistemas proporcionan fuerza de sondeo constante, almacenamiento de información mediante computadora y tratamiento electrónico preciso de la inflamación resultante. No obstante, las evaluaciones clínicas de estos sistemas dan a conocer sólo una leve mejoría en la reproductibilidad cuando se compara con el sondeo tradicional, si bien no significativo desde el punto de vista clínico.⁵

2.1.4 Beneficios de las sondas

La capacidad de la sonda automatizada para detectar con exactitud cambios mucho menores entre dos sondeos secuenciales permite un diagnóstico y una intervención más tempranos. Ya que el sondeo convencional manual requiere de 2-3 mm en el nivel de inserción de sondeo antes de identificar una pérdida activa de inserción.

El sondeo manual identifica sólo el 2% de los sitios afectados con pérdida de inserción activa y la sonda automatizada detecta una incidencia mayor del 29% (considerando como cambio real un umbral de 0,4 mm). La capacidad para detectar cambios significativos en semanas o meses en vez de años es una mejora sobre el sondeo convencional.²

2.2 Diagnóstico radiográfico

Las radiografías dentales son el método tradicional utilizado para evaluar la destrucción de hueso alveolar relacionada con la periodontitis. Éstas proporcionan información útil acerca de la altura ósea interproximal, pero para que se detecte un cambio de altura ósea en las radiografías se tiene que perder más del 30% de la masa ósea en la cresta alveolar. Por consiguiente, las radiografías ordinarias son muy específicas pero carecen de sensibilidad.⁵

Por otro lado, la detección de pequeñas cantidades de pérdida de hueso a lo largo del tiempo requiere la comparación de radiografías secuenciales así como de examinación de las mismas y esto demanda una alta calidad de las tomas radiográficas.¹³

Este método a pesar de que es muy específico es poco indicativo debido principalmente al componente de subjetividad en el diagnóstico radiológico ya que intervienen aspectos diferentes como es la angulación de los rayos X, la calidad de la película, la exposición, el tiempo de revelado así como distintas proyecciones de estructuras anatómicas.⁴

Es por ello, que se necesitan técnicas radiográficas mejoradas para diagnosticar pérdidas o ganancias pequeñas en el hueso alveolar, que permitan determinar expeditivamente si un sitio particular necesita intervención o no. O establecer si un proceso regenerativo a tenido un efecto favorable o no.²

La obtención de radiografías es una técnica la cual ha mejorado y facilitado la detección y la visualización de pequeños cambios en hueso durante un periodo de tiempo. Para tener el éxito en la obtención

de radiografías, la proyección geométrica deberá ser reproducible, y el brillo y el contraste deberá estandarizarse.¹³

Usos clínicos

Tugnait, ha revisado la literatura para determinar el papel de las radiografías en el diagnóstico periodontal y el manejo en el tiempo de las terapias inicial, correctiva y de mantenimiento. Los artículos publicados evidencian la utilidad clínica de las radiografías convencionales. Los autores concluyen que, el sondeo periodontal combinado con las radiografías puede ayudar para obtener un diagnóstico periodontal y la creación de un plan de tratamiento completo. Las radiografías permiten localizar estructuras retentivas de placa, caries dental y patologías periapicales no detectadas por la evaluación clínica.

Las características radiográficas de las lesiones periapicales también tienen una influencia en la elección de la técnica quirúrgica, aún si el contorno óseo definitivo de una lesión periodontal es visible radiográficamente, solamente después del levantamiento del colgajo y la remoción del tejido de granulación se verá su extensión.¹⁴

Weems y colaboradores compararon los planes de tratamiento que se basaban tanto en la sola examinación clínica o en conjunto con radiografías periapicales intraorales. Un beneficio periodontal con el uso de las radiografías se notó en el 15 % de los casos.¹⁵

2.2.1 Radiografía digital computarizada

Las modificaciones en la calidad de la imagen debidas a las variables inherentes de la radiografía ordinaria se reducen mediante el uso de la radiografía intrabucal digital. La radiografía digital permite usar imágenes computarizadas, las cuales se guardan, manipulan y se corrigen mediante sobreexposición o subexposición. Los detectores digitales han estado en el mercado por casi 15 años y la evolución de esta tecnología ha hecho a la imagen digital en la odontología una alternativa viable a la imagen basada en películas.^{5,16}

Con la radiografía digital se consiguen imágenes cuyas propiedades son casi iguales a las radiografías ordinarias, pero manteniendo el almacenamiento y revelado se mejora la información diagnóstica.⁵



Figura 6. Imagen radiográfica digital con las áreas de pérdida pintadas en rojo.²

Las radiografías intraorales obtenidas con un sensor digital o una película rápida pueden proporcionar importante información detallada de las estructuras periodontales y son un componente esencial de una examinación periodontal completa.

La investigación de técnicas de imagen más sensitivas y la búsqueda para un cuadro tridimensional de los sitios periodontales ha llevado a grandes esfuerzos dentro del desarrollo de nuevas metodologías como la imagen digital. Sin embargo, el método tradicional de obtener una imagen no ha cambiado dramáticamente: de acuerdo con Mol, parece no existir evidencia de que las lecturas digitales y mediciones radiográficas lineales, sean más exactas que las lecturas análogas. La eficacia diagnóstica de la imagen digital y la película obtenida por radiografías parece ser similar.¹⁴

Para la aplicación de obtención digital, las radiografías deberán estar convertidas a un formato que pueda ser guardado en una computadora. Una imagen digital procesada en un software apropiado es utilizado para convertir la radiografía análoga tradicional a imágenes digitales.

Para obtener la imagen, la primera radiografía (la imagen de referencia) es digitalizada, se convierte en una imagen positiva y se almacena en la computadora. El software después permite la alineación en tiempo real de la segunda radiografía en la video cámara. Un micromanipulador (Klinger) permite a la segunda radiografía ser rotada y la imagen se verá espacialmente alineada a la imagen de referencia. Cuando la alineación es completada la segunda radiografía se redigitaliza.¹³

Las radiografías obtenidas con una exposición geométrica idéntica y una perfecta alineación producirán una imagen precisa. Después de

darle el brillo y contraste adecuado, la computadora subtrae la escala de grises en cada píxel para obtener la imagen adecuada.¹³

La imagenología digital ofrece un número de ventajas comparadas con la película:

- La eliminación del procesamiento químico se considera uno de los principales beneficios
- Corto tiempo de exposición para mostrarla
- El procesamiento de la imagen puede usarse para mejorar la calidad percibida, tanto para restaurar la calidad subjetiva de la imagen así como para mejorar una región seleccionada en la imagen para una prueba específica diagnóstica.

Los beneficios de la imagen digital son obtenidos junto con una reducción en la exposición de la radiación, aunque la cantidad de la reducción de la exposición es dependiente del tipo de receptor.¹⁶

Dos sistemas de radiografía digital se basan en el sensor; las técnicas directas e indirectas.

2.2.1.1 Técnica directa

En la técnica directa se requiere un sensor de cupla de carga unido, que conecta una fibra óptica u otra conexión al sistema de computadora. Esta radiografía obtiene imágenes en tiempo real, por lo que proporciona una mejor visión del periodonto mediante la manipulación y comparación de imágenes con otras almacenadas antes.

Ventajas

- Reducción de la dosis de exposición (entre a y $\frac{1}{2}$ de reducción de la dosis comparado con las radiografías ordinarias)
- Ofrece una mejor visión de los tejidos periodontales
- Obtención de imágenes reales o casi reales

Desventajas

- Superficie limitada del sensor (sólo abarca uno o dos dientes)
- Rigidez del sensor
- Difícil esterilización.⁵

2.2.1.2 Técnica indirecta

En la técnica indirecta (Digora system) se utiliza una placa luminiscente de fósforo, la cual es un sensor de energía radiante similar a una película flexible que se coloca dentro de la boca y se expone a un tubo de rayos X. Un escáner láser lee las placas. Éstas pueden ser mejoradas guardadas y comparadas con imágenes anteriores.

Ventajas

- Película flexible y de tamaño accesible para la cavidad bucal
- Es posible utilizar sin dificultad la técnica paralela con portapelículas
- Imágenes reales o casi reales.⁵

Contrariamente a cierta publicidad de los fabricantes, las imágenes digitales no mejoran la eficacia diagnóstica o la radiografía dental. La evidencia actual sugiere que no existe una mejoría o una reducción en la eficacia diagnóstica. Esto refleja el uso de la película de acuerdo con las recomendaciones del fabricante para el almacenamiento y procesamiento. Si los procedimientos clínicos actuales para el procesamiento de la película están por debajo del estándar, la imagen digital verdaderamente mejora la calidad de imagen y la realización del diagnóstico. La película permanece técnicamente igual, sino es que superior, a los receptores digitales. La imagen digital en su forma actual no cambia fundamentalmente al modelo de formación de imagen tradicional. Todavía existen limitaciones en la transmisión de la radiografía. Por lo tanto, la decisión de mejorar la imagen digital parece basarse principalmente en bases funcionales así como en la preferencia individual.¹⁶

2.2.2 Tomografía Computarizada

Con el objeto de obtener una información tridimensional (3-D) se ha explorado el valor de la Tomografía Computarizada (TC) para la determinación de la altura ósea. La TC es una técnica radiográfica especializada que permite la visualización de planos o fragmentos de interés, a diferencia de la tomografía convencional la cual borra todas las imágenes de interés, la tomografía computarizada actualmente remueve las estructuras que no nos interesan resultando una imagen clara, con una visualización de la porción de órgano u órganos en estudio.¹¹

Las máquinas de TC utilizan un haz rotatorio para tomar una fina porción de imagen del paciente en determinado tiempo, por lo general, en una orientación axial. Las modernas máquinas de TC usan una tabla de movimiento continuo durante la adquisición de la imagen resultando en un

patrón de formación de la imagen espiral o elíptica. Una vez que se ha generado el volumen de la imagen, las plantillas de la imagen pueden reconstruirse en varias orientaciones a través de un proceso llamado multi-planar reformateado (MPR). Además, la mayoría de las aplicaciones de software son capaces de dar superficies y volúmenes 3-D, permitiendo al clínico estudiar varios tejidos en una manera mas intuitiva. Una cantidad de compañías han creado un software reformateado específicamente para aplicaciones dentales.

Aunque el nivel del detalle de la imagen permanece considerablemente bajo que en la imagen intraoral convencional, estos avances en la tecnología de la TC satisfacen casi todas las imágenes periodontales necesarias para obtener posiblemente un diagnóstico. Los estudios han demostrado que la determinación de la TC para la determinación de la altura del hueso alveolar y las bolsas intraóseas es razonablemente exacta y precisa.¹⁶

Sin embargo, a pesar de estas características atractivas, y el optimismo de los investigadores, la aplicación de la imagen por TC para diagnóstico periodontal parece tener un costo-beneficio desfavorable. Además de que el equipo de TC es muy caro y el procedimiento carga con una alta cantidad de radiación hacia el paciente, su uso deberá ser reservado para cuestiones que no pueden ser contestadas por examinación clínica o por radiografía convencional. Por ejemplo la TC es bien utilizada cuando se quiere saber cuanto espacio existe entre el canal mandibular para recibir un implante dental, o cuando hay un lugar ocupado por una lesión en la región maxilofacial.¹¹

Los estudios han demostrado que la dosis efectiva de TC para la mandíbula y el maxilar es mucho mas alto que con la radiografía convencional.¹⁶

2.2.3 Tomografía computarizada de abertura adaptada (TACT)

Actualmente para diagnosticar cambios periodontales destructivos se incluye la prueba periodontal de tejidos gingivales y exámenes radiográficos para evaluar la estructura ósea. Los signos radiográficos para diagnosticar la periodontitis incluyen: la pérdida de hueso horizontal, rarefacción intra radicular y defectos intra óseos y alveolares de sentido vertical, en adición a esto una simple examinación radiológica provee información limitada de los eventos así como de la progresión de la enfermedad o puede ser medida la actividad de la misma usando solo 2 exámenes radiológicos separados por un periodo de tiempo. La imagen longitudinal puede añadir una oportuna detección de la actividad de la enfermedad antes de una destrucción significativa del hueso.¹⁷

Los sistemas de imagen que se utilizan en periodoncia, son limitados a sistemas bidimensionales, estos incluyen la radiografía convencional y la radiografía digital con el uso de un sensor digital para llevar a cabo la captura de la imagen. El problema inherente de los sistemas de doble dimensión es que la anatomía en tercera dimensión es colapsada solo a 2 espacios resultando en superposición las estructuras haciéndolas mas oscuras y haciendo menos sensible y específico el diagnóstico. Así pues, continúa siendo una necesidad el uso de herramienta radiográfica con una perspectiva en tercera dimensión 3D, para el tratamiento previo y posterior a los defectos periodontales.¹⁸

La TACT fué descrita por Webber y colaboradores, es un sistema 3D con un potencial muy alto que existe en los sistemas de imágenes dentales. Es una técnica relativamente nueva que transforma la

correlación entre las imágenes en dos dimensiones y las de tres dimensiones.

La TACT se construyó basada en conceptos de tomosíntesis y de la teoría de apertura óptica, usando radiografías bidimensionales periapicales obtenidas por diferentes ángulos e imágenes base, la TACT permite el manejo de la generación retrospectiva de diapositivas tomográficas longitudinales (TACT-S) enfocándose en el área de interés.^{16,19}

La eficacia diagnóstica de la TACT para la imagen del hueso alveolar se ha probado en números estudios. La TACT ha demostrado que mejora la capacidad de los observadores de detectar defectos óseos alrededor de implantes. La posibilidad de usar TACT como una alternativa para la imagen preoperatoria en el sitio del implante también se ha investigado. Los resultados de los estudios que prueban a la TACT y TACT de substracción para detección y localización de los cambios óseos en el hueso cresta son alentadores.¹⁶

La TACT es una alternativa muy prometedora para el uso de la radiografía intraoral así como para beneficiar la habilidad de localizar las estructuras de interés mientras se reduce la superposición de estructuras adyacentes.¹⁹

CAPITULO 3

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Desde el siglo pasado se han acumulado una cantidad de evidencias sobre la etiología de la periodontitis, pero pocos microorganismos han sido hasta ahora denominados patógenos periodontales, los cuales, están relacionados con la iniciación y progresión de la enfermedad. Aunque hay más de 300 especies que se aíslan en los sacos periodontales, solo un pequeño porcentaje de ellas se consideran etiológicamente importantes. El grupo de Bacilos Anaerobios Gram Negativos mayormente relacionados en la etiología de la enfermedad periodontal comprende los géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*, los cuales están ubicados dentro de la familia *Bacteroidaceae*, según Bergey's Manual of Systemic Bacteriology (1994). La clasificación de estas bacterias ha sido difícil y por ello a lo largo de los años han emergido numerosas reclasificaciones taxonómicas, que posiblemente continúen en el futuro.²⁰

La periodontitis es una enfermedad de origen bacteriano que debe entenderse como enfermedad infecciosa a pesar de las diferencias que parece presentar con otras patologías de este tipo. Tiene en común con todas ellas el hecho de estar obligatoriamente asociada a la presencia de las bacterias que colonizan el nicho subgingival, sin embargo la periodontitis tiene ciertas características que la hacen única. Pero no son las bacterias las únicas contribuyentes a este cuadro. Recientemente, se han publicado estudios que ponen de manifiesto la asociación entre determinadas familias de virus y las enfermedades periodontales.²¹

Como las bacterias bucales subgingivales son los principales factores causales de la enfermedad periodontal es importante su detección en la periodontitis mediante pruebas microbiológicas. Estas

pruebas sirven de base para el diagnóstico de diversas formas de enfermedad periodontal, como indicadores de la iniciación y progresión de la enfermedad. También se utilizan para vigilar el tratamiento periodontal orientado a la suspensión o erradicación de microorganismos periodontopatógenos.

Varias son las técnicas empleadas para detectar patógenos periodontales en muestras subgingivales. Todas comparten la necesidad común de que haya una muestra apropiada de placa subgingival. La selección del sitio adecuado y la toma adecuada de la muestra son elementos esenciales en la microbiología periodontal (fig 7).⁵

En los últimos años, numerosos avances relacionados con el estudio microbiológico de la placa bacteriana se están llevando a cabo, con el objetivo de optimizar los recursos terapéuticos y ofrecer a los pacientes una atención clínica predecible basada en la evidencia científica. Los avances de la ciencia hacen posible el reconocimiento de esta patología, así como de sus agentes causales. Las técnicas empleadas hoy para el diagnóstico microbiológico permiten acotar cada vez más las bacterias implicadas en cada caso de periodontitis, sin embargo, todavía no se conoce la manera en que cada una de ellas interactúan con el hospedador para dar paso a la enfermedad y, al mismo tiempo, todavía hoy existen especies bacterianas que no pueden ser diagnosticadas por los métodos de rutina.

Aunque el diagnóstico clínico y radiológico han sido durante mucho tiempo las técnicas rutinarias para plantear el manejo de los pacientes con periodontitis, la posibilidad de que los tejidos periodontales estén colonizados por bacterias de origen exógeno cambia mucho el plan de tratamiento, ya que introduce la necesidad de combinar el tratamiento convencional con el tratamiento antibiótico, lo cual hace necesaria la

incorporación de las técnicas de diagnóstico microbiológico para así saber a qué especies bacterianas se enfrenta n.²¹



A



B



C



D

Figura 7. Muestreo microbiano de microflora subgingival A y B se seca el diente y se retira la placa subgingival del sitio del muestreo. C, se coloca el cono de papel en la zona subgingival hasta el fondo de la bolsa. D, se coloca el cono de papel en un medio anaerobio que se transporta de inmediato al laboratorio para analizarlo.¹¹

3.1 Cultivo bacteriano

Las técnicas de cultivo han sido, durante más de 20 años, el método primario de identificación y estudio de los presuntos patógenos. A pesar del avance de otras técnicas, el cultivo sigue siendo el método de referencia (gold standard) para el diagnóstico microbiológico, ya que sirve para determinar la presencia de las diferentes especies bacterianas, así como para valorar las susceptibilidades de éstas a los distintos

antibióticos. Por otra parte, esta técnica permite estimar el número total de bacterias aisladas.^{5,21}

De entre todas las bacterias existen tres que tienen una relevancia especial en el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal, son *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) y *Bacteroides forsythus* (Bf). El origen de estas especies es exógeno; no forman parte de la flora habitual y el tratamiento debe tener como objetivo su eliminación total. La presencia de estas bacterias puede determinarse inicialmente por medio del cultivo, que ha sido la técnica de elección durante muchos años.²¹

Generalmente, las muestras de placa se cultivan en un medio anaerobio. El cultivo selectivo implica el uso de medios restringidos a ciertos gérmenes, mientras que los medios no selectivos consiguen el máximo desarrollo y captan una flora cultivable predominante (fig. 8). Sin embargo, todos los medios ejercen presiones selectivas de desarrollo, en cierta medida.



Figura 8. Medio de agar sangre no selectivo para cultivar la flora predominante de zonas subgingivales.²

Como medios de cultivos primarios para el aislamiento se recomiendan: Agar Base Shaeldeker, Agar Base Wilkins Chanlgren, Agar Base Columbia, Agar Base Brucella y Agar Base Tripticasa, suplementados con ácido nalidíxico y vancomicina, además de, sangre, hemina y vitamina K, los cuales favorecen el crecimiento de especies de Bacteroides, Fusobacterim y Prevotella. No obstante, debido a la dificultad de cultivar y recuperar todos los microorganismos periodontopatógenos en los medios de cultivos, y al tiempo prolongado de las pruebas, aproximadamente de tres semanas para obtener los resultados; varios investigadores han probado otras técnicas microbiológicas que permiten identificar y cuantificar bacterias específicas en los diferentes tipos de periodontitis.²²

Ventajas:

- Es posible obtener recuentos absolutos y relativos de las especies cultivadas
- Es la única técnica *in vitro* capaz de valorar sensibilidad antibiótica de los microorganismos

Desventajas:

- Sólo pueden hacer proliferar bacterias vivas por lo que son esenciales el muestreo riguroso y las condiciones de transporte
- Ciertos patógenos como Treponema y Bacteroides forsythus son difíciles de cultivar
- La sensibilidad de las técnicas de cultivo es bastante baja, por lo que no es posible detectar cantidades bajas de un patógeno específico de una bolsa
- Consume demasiado tiempo y es costoso

- Como aspectos negativos cabe destacar la dificultad para mantener la viabilidad de las bacterias tras la toma de muestras, sin la cual se hace imposible el cultivo
- Se requiere un equipo refinado y personal experimentado.^{2, 5,21}

Debido a estos problemas se desarrollaron, como alternativas para los métodos de cultivo, otras técnicas más rápidas y rentables, como los ensayos de ADN, inmunológicos y enzimáticos.²

3.2 Pruebas inmunológicas

Los ensayos inmunológicos, también son usados para la detección de periodontopatógenos específicos. Estos incluyen la utilización de anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos bacterianos o factores de virulencia, que solo reaccionan con la especie bacteriana "blanco". Estas pruebas comprenden técnicas de microscopía inmunofluorescentes (immunofluorescent assays, IFA), citometría de flujo, prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzimas (enzyme-linked immunoabsorbent assay, ELISA), prueba de membrana y aglutinación de látex.²⁰

La IFA directa utiliza tanto anticuerpos monoclonales como policlonales conjugados a un marcador de fluoresceína que se une con el antígeno bacteriano para formar un complejo inmunitario fluorescente detectable al microscopio.

En la IFA indirecta se emplea un anticuerpo secundario conjugado con fluoresceína que reacciona con el complejo antígeno-anticuerpo

primario. La IFA se utiliza para detectar *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis*.⁵

La microscopía inmunofluorescente, parece ser fiable para detectar niveles bacterianos de sólo 10^4 (Gmür y Guggenheim, 1990). Zambon y colaboradores revelaron que ésta técnica se compara con el cultivo bacteriano en su capacidad de identificar a estos patógenos en muestras de placa dental subgingival. De hecho, es más probable que la microscopía inmunofluorescente los detecte en muestras clínicas por que ello no requiere células bacterianas viables.^{2,5}

Estudios comparativos revelan que la sensibilidad de estas pruebas varía entre 82 y 100% para la detección de *A. actinomycetemcomitans* y entre 91 y 100% para la detección de *P. gingivalis*, con valores de especificidad de 88 a 92 % y entre 87 y 89 %, respectivamente.

El ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), produce una reacción colorimétrica secundaria a la unión de anticuerpos y a la actividad enzimática. En ésta, se recogen muestras bacterianas con curetas, se hace una suspensión en solución tampón y se añade a pocillos individuales con anticuerpos monoclonales. Se enjuagan los pocillos y se tratan con un segundo anticuerpo monoclonal conjugado a una enzima, como peroxidasa de rábano o fosfatasa alcalina. Después de otro lavado, se añade sustrato reactivo enzimático que libera un derivado coloreado, que puede ser expresado cuantitativamente.²

En ésta prueba la intensidad del color depende de la concentración del antígeno y se lee mediante un fotómetro para conseguir una cuantificación óptima. La prueba ELISA se utilizó sobre todo para detectar anticuerpos séricos a periodontopatógenos; pero ya se usa también en

estudios de investigación para cuantificar patógenos específicos en muestras subgingivales.⁵

Los niveles medios de *T. dentícola* medidos con ELISA, según se ha publicado, se reducen significativamente después de la tartrectomía y alisado radicular, y se correlacionan con una respuesta favorable al tratamiento en los pacientes con periodontitis, como lo indican las reducciones de las profundidades de las bolsas.

La prueba de aglutinación rápida de látex, basada en la unión antígeno-anticuerpo, parece ser fiable para la identificación de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia* en la placa subgingival.²

La aglutinación de látex es una prueba inmunológica simple basada en la unión de proteínas al látex. Esferas de látex se cubren con anticuerpos de especies específicas, y cuando las esferas comienzan a entrar en contacto con los antígenos de la superficie celular microbiana o extractos de antígenos se produce la unión cruzada. La aglutinación o agrupación se ve entre 2 y 5 minutos después.⁵

Hay dos clases de pruebas de aglutinación de látex: la prueba indirecta y la prueba de inhibición. La prueba directa es la prueba de aglutinación de látex más común para bacterias. El anticuerpo se une al látex. Cuando la suspensión de la placa se une con el látex sensibilizado y agitado con suavidad entre 3 y 5 minutos, la aglutinación que se consigue indica un resultado positivo para la bacteria que está en estudio.

La prueba de inhibición se basa en el principio de inhibir la reacción de aglutinación esperada entre un antígeno conocido y un anticuerpo conocido como resultado de la competencia. Por su simplicidad y rapidez,

éstas pruebas poseen gran potencial para la detección de patógenos periodontales en el consultorio.

En la citofluorografía o citometría de flujo para la identificación rápida de bacterias bucales se marcan las células bacterianas de una muestra de placa del paciente con el anticuerpo específico de especies y un segundo anticuerpo conjugado con fluoresceína. A continuación, la suspensión se introduce en un citómetro de flujo, el cual separa las células bacterianas en una suspensión formada por células únicas mediante un flujo laminar a través de un tubo estrecho. El refinamiento y el costo de ésta técnica impiden que se difunda su uso.⁵

3.3 Técnicas enzimáticas para identificación bacteriana

La prueba de BANA (N-benzoil-DL-arginina-2-naftilamida) se usa en los frotis de lengua o en la placa subgingival para detectar tres bacterias anaerobias que también son relacionadas con periodontitis a menudo: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, y *Bacteroides forsythus*.²³

Debido a que la actividad enzimática proteolítica ha sido considerada un factor clave en la destrucción del tejido periodontal, Loesche (1986), propuso la utilización de la reacción BANA (N-benzoil-D-L-arginina-2-naftilamida), que mide directamente la actividad de la enzima tripsina en muestras de placa subgingival, producida por *B. forsythus*, *P. gingivalis*, *T. denticola* y especies de *Capnocytophaga*. La actividad de dicha enzima se mide al observar la hidrólisis del sustrato N-

benzoilo-D-L-arginina-2-naftilamida, que sirve como marcador de riesgo en el desarrollo de la enfermedad periodontal.²⁴

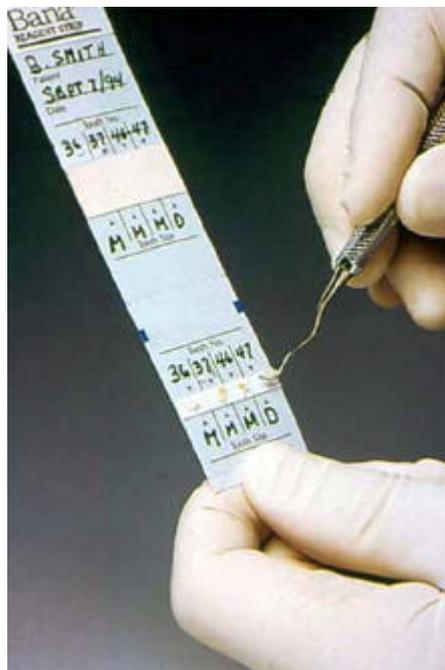
La prueba de hidrólisis BANA aprovecha la síntesis de una enzima tripsinoide por tres patógenos posibles: *P. gingivalis*, *B. forsythus* y *T. denticola*. Esta enzima tripsinoide no sólo degrada las proteínas de la matriz extracelular del huésped, sino que también es capaz de hidrolizar el péptido sintético BANA. Aunque BANA es incolora, su hidrólisis libera el cromóforo, β -naftilamida, que puede unirse con la anilina negra Evans y leerse por cambio de color en una tarjeta reactiva de la prueba.²

El BANA péptido sintético fue desarrollado para detectar la presencia de la enzima. Cuando las muestras contienen algunas de las tres bacterias y son puestas sobre una tira de prueba impregnada por BANA, se produce una reacción de hidrólisis y la tira cambia a un color azul característico. El color azul oscuro, indica que hay más organismos presentes. La sangre y saliva no producen reacción de hidrólisis con BANA, por lo tanto, no se interfieren en la prueba, sin embargo, la presencia de sangre en la muestra, puede oscurecer la visualización del color azul.²³

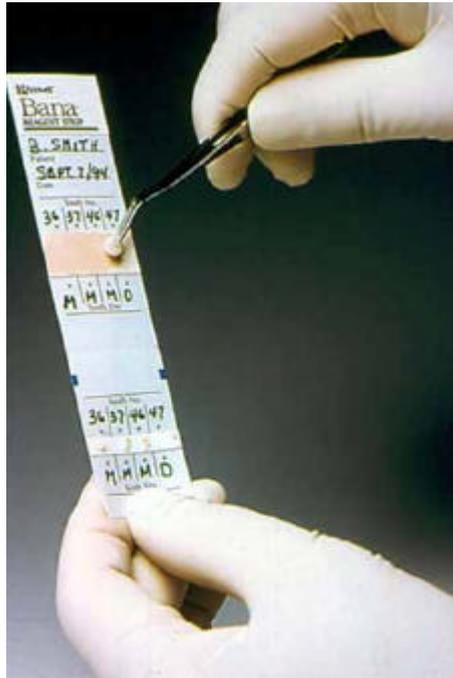
Loesche y colaboradores propusieron el uso de de esta reacción BANA en muestras de placa subgingival para detectar la presencia de cualquiera de estos patógenos periodontales y servir así como activador de la actividad de la enfermedad. Cuando se utilizó la profundidad de bolsa como medida de morbilidad periodontal comprobaron que bolsas poco profundas presentaban solo 10% de reacción BANA positivas, en tanto que las bolsas profundas (7mm) presentaban 80 a 90% de reacciones BANA positivas.⁵

Procedimiento

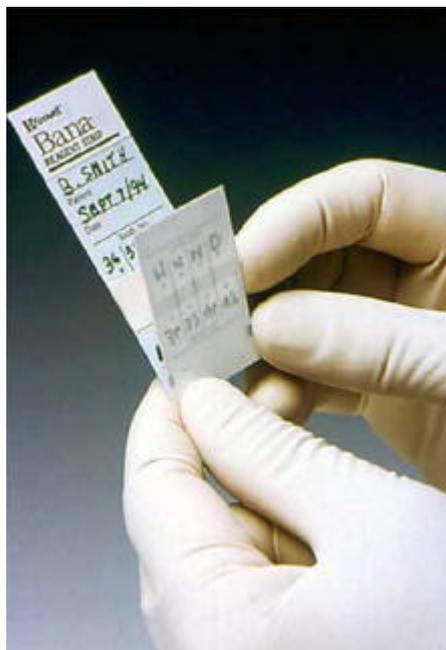
1. Se retira placa supragingival antes de la muestra
2. Con una cureta se toma una muestra de placa subgingival
3. Aplique la muestra sobre una tira de la tarjeta reactiva BANA
4. Se incuban 15 minutos a 55 °C y se evalúan visualmente los cambios de color. ²³



A



B



C



Figura 9. A y B toma y colocación de la muestra en la tarjeta reactiva, C y D incubación de la muestra ²³

Beck y colaboradores usaron la prueba BANA como indicador de riesgo para pérdida de inserción periodontal. Tomados en conjunto, los resultados que utilizan esta técnica diagnóstica sugieren que los resultados con BANA positivos son un buen indicio de que *T. denticola*, *P. gingivalis* o las dos se hallan en los sitios muestreados.

Una de las dificultades posibles de esta prueba es que puede ser positiva en sitios sanos y queda por comprobar si esta prueba es capaz de detectar sitios que sufren destrucción periodontal. Además, como sólo detecta un número limitado de microorganismos patógenos, su resultado negativo no descarta la presencia de otros patógenos periodontales importantes. ⁵

3.4 Técnicas de biología molecular

Además de las pruebas microbiológicas convencionales, enzimáticas e inmunológicas antes mencionadas, existen otros métodos para la detección de periodontopatógenos a través de fragmentos específicos de ADN de las bacterias. Estas pruebas incluyen, Hibridización de Sondas de ADN y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP). Las pruebas que utilizan fragmentos de ADN para la detección de periodontopatógenos, son pruebas rápidas, sensibles y específicas, en comparación con la utilización de los medios de cultivos, sin embargo, de acuerdo a la revisión realizada, se encuentran disponibles sólo para unos cuantos patógenos, no permiten conocer la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos y requieren de equipos muy costosos, por lo que se utilizan principalmente en laboratorios especializados de investigación.²⁰

Los principios de estas técnicas se basan en el análisis del DNA o el RNA. Se aísla la cadena de DNA de una muestra de placa y se amplifica. Tras su extracción y purificación, pueden emplearse diferentes técnicas para su identificación (sondas DNA y PCR), para lo cual es necesario identificar la especie bacteriana que posee el DNA aislado.²¹

3.4.1 Sonda de ácido desoxirribonucleico

La necesidad de una prueba microbiológica rápida y sensitiva se ha vuelto necesaria tanto para la investigación como para propósitos de diagnóstico. La tecnología de sondas de DNA provee una prueba sensitiva y específica y aligera la preocupación de transportar a los microorganismos.

El procedimiento de la sonda de DNA incluye (1) interrupción de las células bacterianas con la desnaturalización del DNA, (2) inmovilización del DNA en un filtro de nitrocelulosa, (3) el bloqueo desatado de nitrocelulosa con DNA no específico, (4) hibridización del filtro con sonda marcada, (5) lavado y detección de la sonda unida.²⁵

Las pruebas con sondas de ácido-nucleico, se atienen a su única estructura doble-standart de molécula de DNA para detectar al microorganismo específico con una alta especificidad. Cada especie contiene segmentos únicos de DNA y es posible construir sondas de ácido nucleico que hibridizan estas secuencias. La detección de los microorganismos específicos por lo tanto, esta basado en la unión de las sondas de ácido nucleico con las tiras complementarias de ácido nucleico en estas regiones únicas.²⁶

Tipos de sondas

Las sondas de ácido nucleico pueden ser de diferentes tipos, toda genómica, sondas clonadas u oligonucleótidas.

- La sonda toda-genómica está construida con todo el genoma del microorganismo que se busca. Este tipo de sonda tiene varias ventajas sobre las otras sondas de ácido nucleico. Es mas fácil construir y menos cara de producir. Cuando se usan técnicas tradicionales de hibridización DNA_DNA, todas las sondas genómicas son mas sensitivas debido a que todo el genoma se usa para la posible hibridización de los sitios. Sin embargo, como es probable que especies genéticamente similares de bacterias estén presentes en los especimenes de la placa, es necesario considerar reacciones cruzadas.

- Para evitar las reacciones cruzadas, se han usado otros dos tipos de sondas de ácido nucleico. Las sondas clonadas son secuencias aisladas de DNA que no muestran una reactividad cruzada y son producidas en cantidad por clonaje en un vector plasmido dentro de microorganismos temporales en el hospedero tal como la *Escherichia coli*. Las sondas clonadas pueden aproximarse a la sensibilidad encontrada con las sondas de todo-genoma y evitan a las especies con reacción cruzada conocidas.
- El tercer tipo de sonda es la sonda oligonucleótida. Las secuencias de las sondas oligonucleótidas se obtienen de regiones únicas variables de RNA ribosomal de un microorganismo específico. Las sondas oligonucleótidas para las especies orales son relativamente insensitivas detectando solamente el 10^6 de células comparadas con las sondas clonadas y todo-genoma, las cuales rutinariamente pueden identificar 10^3 células específicas. Para aumentar la sensibilidad de estas sondas relativamente pequeñas, la mayoría de las sondas oligonucleótidas usan RNA como marcador. La presencia de múltiples copias de RNA dentro de las células bacterianas ocasiona una señal amplificada. Sin embargo, debido a que el marcador en la sonda oligonucleótida es el RNA, un estimado del número total de microorganismos específicos dentro de un espécimen es difícil debido a que el RNA puede variar 1000 veces de una célula a otra.²⁵

Antes de la introducción de una sonda a un espécimen inmovilizado para la hibridación, la sonda debe ser marcada para la detección y la cuantificación más tarde. La sonda puede ser marcada en varias maneras.

El método más comúnmente usado es la incorporación de ^{32}P dentro de los componentes de fosfato de la molécula de DNA, dando una buena sensibilidad con una señal de rebote relativamente baja. Por lo general es necesario una exposición de 1-3 días para detectar, con una sensibilidad apropiada, la incorporación de la marca en el filtro. La película radiográfica resultante puede interpretarse por examinación visual o análisis densitométricos de cada espécimen comparados con las cantidades conocidas de células control tomadas en cada filtro.

Los métodos de la sonda DNA permiten la examinación de una gran cantidad de sujetos para probar hipótesis que son difíciles de explorar con técnicas de cultivo tradicionales.

El advenimiento de la sonda DNA para la enumeración del *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ha permitido la asociación de la edad con el patógeno periodontal a ser investigado.

Ventajas:

- Son más sensitivas que los métodos de cultivo
- No requieren de microorganismos viables para la enumeración de las bacterias de la placa dental
- Evitan la necesidad de una bacteria viva para la enumeración de especies específicas
- Permiten la colección en el sitio de especímenes, menos materiales de transporte
- Mayor flexibilidad en el diseño de los estudios.

3.4.2 Reacción en cadena de la polimerasa

En Abril de 1983, Kary Mullis dio a conocer la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR que es una técnica para la síntesis "in Vitro" de secuencias específicas de DNA.²⁷

La Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) es una técnica biológica molecular que permite la amplificación de las cadenas específicas de ácidos nucleicos.²⁸

El análisis del PCR en muestras de placa es un método relativamente nuevo de nucleótidos ácido-base para la detección de patógenos putativos. Entre las diferentes pruebas de ácido nucleico, la reacción en cadena de la polimerasa demuestra los mejores límites de detección: tan sólo cinco a diez células, y no tiene reactividad cruzada en condiciones de amplificación.^{5, 11}

Desarrollo de la PCR

La técnica se basa en la replicación del ADN en los organismos eucariotas realizada por el DNA polimerasa. Estas enzimas realizan la síntesis de una cadena complementaria de DNA en el sentido 5' -> 3' usando un molde de cadena sencilla, pero a partir de una región de doble cadena. Para crear esta región doble cadena se usan los denominados iniciadores (primers). Son una pareja de oligonucleótidos sintetizados de manera que sean complementarios a cada uno de los extremos 3' del fragmento de DNA que se desea amplificar.²⁹

Partiendo de este principio, la reacción en Cadena de la Polimerasa se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas:

- 1ª Desnaturalización del ADN doble cadena
- 2ª Hibridación de los iniciadores a la zona 3' específica de cada una de las hebras
- 3ª Extensión del cebador por actuación de la DNA polimerasa

1. Desnaturalización

En la primera etapa la doble hélice de ADN se separa en dos hebras. Para ello se realiza una incubación de la muestra a altas temperaturas (93-97°C). La renaturalización se producirá cuando la temperatura disminuya.

2. Hibridación

En el segundo paso los cebadores se unen a las zonas 3' complementarias que flanquean el fragmento que se quiere amplificar. Se realiza gracias a que la temperatura baja (50-65° C).

En este caso, la temperatura y el tiempo van a depender de 3 factores relacionados con los oligonucleótidos: la composición de bases, el tamaño y la concentración.

3. Elongación

En la tercera etapa (elongación) se produce la síntesis de una cadena sencilla (produciéndose un fragmento de doble cadena por la complementariedad) en la dirección 5'→ 3' mediante la enzima DNA polimerasa, la cual incorpora los desoxinucleótidos fosfato presentes en el medio siguiendo la cadena molde (fig. 10).

En la mayoría de las reacciones, la etapa de extensión se realiza a 72°C. Teóricamente esta temperatura puede variar entre 70-72°C. El tiempo de extensión depende del tamaño de la amplificación. Se puede estimar un tiempo de 1 minuto para elongar 1 kb.^{27,28,29}

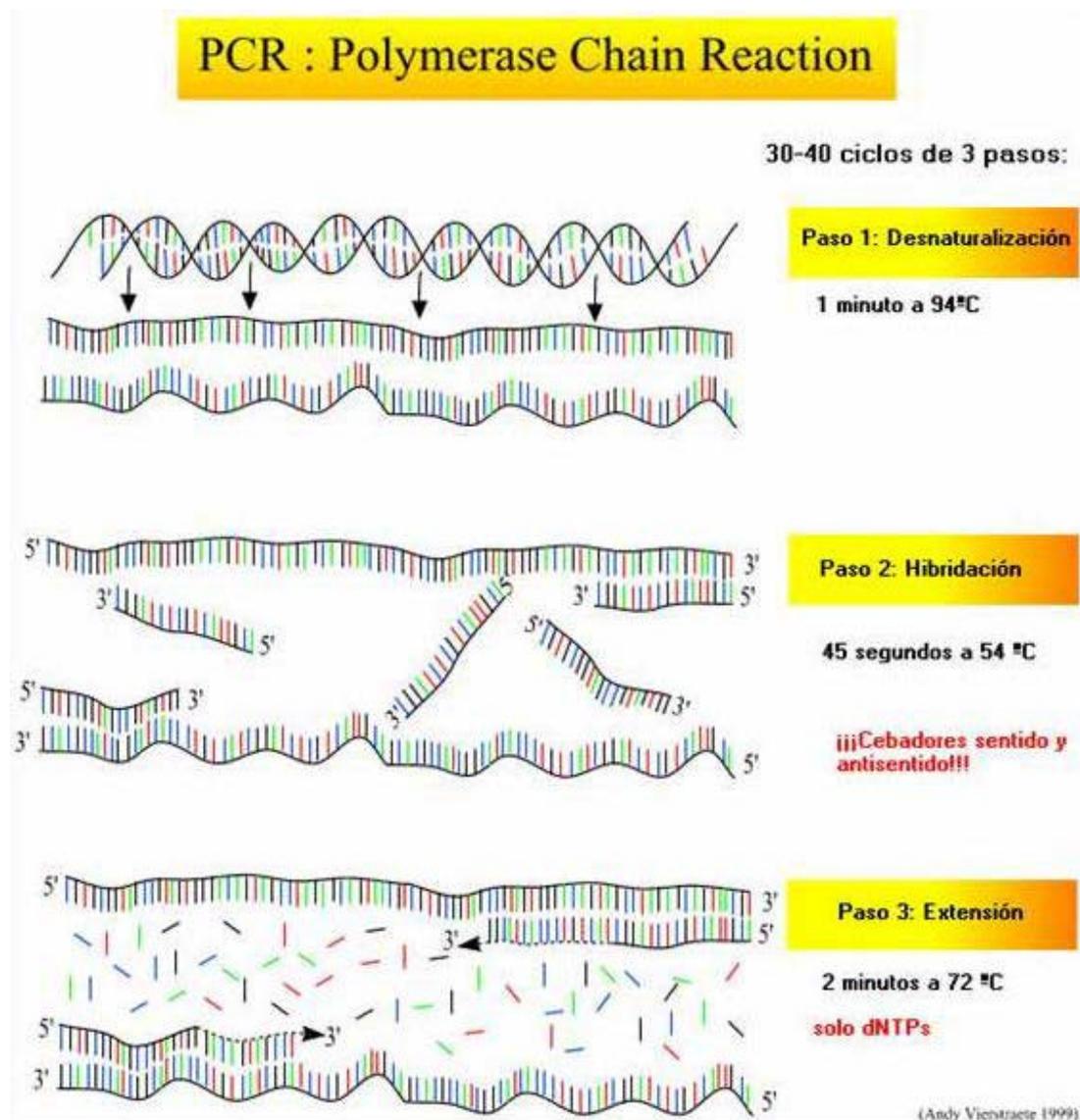


Figura 10. Pasos básicos de la PCR.²⁹

Para ello, lo primero es aislar el DNA de la muestra y posteriormente aplicarle calor para separar ambas cadenas. Tras esto, utilizando DNA polimerasa y un primer o una secuencia conocida de nucleótidos, la muestra es amplificada y posteriormente visualizada.^{28,29}

En la figura 11, se observa que una vez completado el primer ciclo, existen 2 copias de la muestra original, al final del segundo ciclo hay 4, al final del tercero 8. Si los ciclos se producen un número "n" de veces y suponiendo que el número de copias de ADN se duplica en cada ciclo, se obtiene una cantidad de ADN de 2^n , por lo que la amplificación se realiza en forma de progresión geométrica.

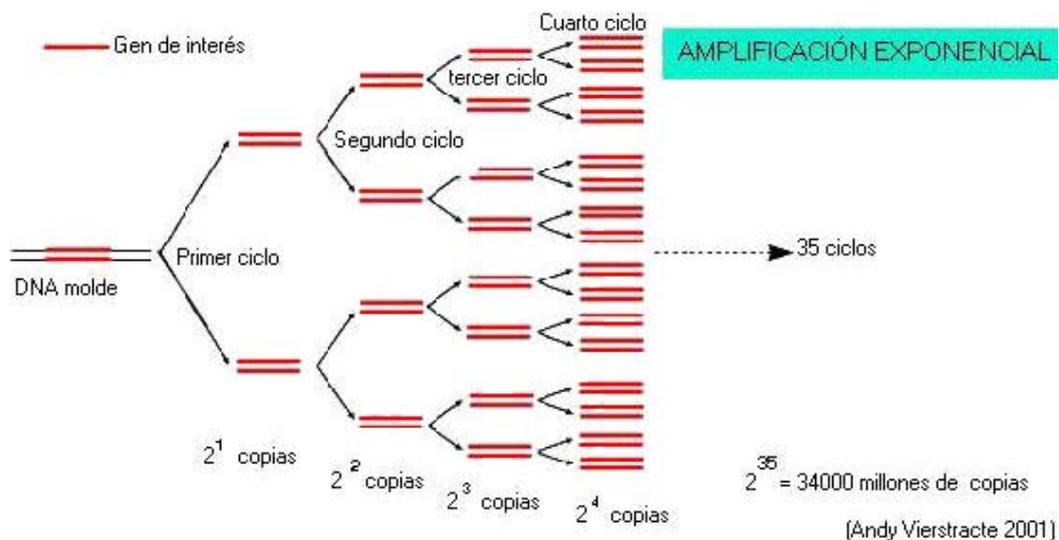


Figura 11. Amplificación exponencial del PCR²⁹

La detección del producto de la Reacción en Cadena de la Polimerasa se realiza normalmente mediante corrido electroforético (fig 12) dependiendo del tamaño de la amplificación y la resolución que se utiliza en diferentes medios (agarosa, poliacrilamida) y a distintas

concentraciones. La posterior visualización se puede realizar con bromuro de estudio, tinción de plata o fluorescencia.



Figura 12. Preparación del corrido electroforético.²⁹

Esta técnica tiene como aspecto positivo la elevada especificidad, sin embargo tienen como inconveniente la facilidad con la que puede contaminarse el proceso. Sirve para el diagnóstico de las principales bacterias periodontopatógenas, sin embargo, presenta limitaciones a la hora de cuantificar las cantidades en que se presentan cada una de ellas en las muestras recogidas. Esta limitación reduce su aplicación como método de diagnóstico convencional y ha puesto de manifiesto la necesidad de diseñar nuevas técnicas que permitan solucionar estos aspectos. Con la finalidad de reducir estos inconvenientes fue diseñada la PCR cuantitativa, que sirve como técnica complementaria al cultivo, el cual, por otra parte, sigue siendo la técnica de elección para la práctica clínica habitual.²⁸

Una modificación de la tecnología original de PCR, en tiempo real PCR, no permite la detección de microorganismos específicos en la placa, pero esto es cuantificable. El ensayo de PCR cuando es usado en combinación con la sintetización 16S rRNA prueba que son altamente específicos para especies individuales.²⁷

Usos de la PCR

Las pruebas de laboratorio actuales para la detección y cuantificación de los periodontópatógenos en muestras de placa subgingival de pacientes con enfermedad periodontal se está volviendo esencial para estudiar la patogénesis de esta condición polimicrobiana. Se usa una prueba de reacción de cadena de polimerasa real (PCR) para la cuantificación del *Actinobacillus actinomicetemcomitans*, *Porfiromonas gigivalis*, *Prevotella intermedia*, *Dialister pneumosintes* y *Campylobacter rectus* así como la total eubacteria en las muestras de placa subgingival de individuos con periodontitis.³⁰

En un estudio se usó PCR prueba para identificar y determinar la distribución de islas genómicas (GEIs) en el *Actinobacillus actinomicetemcomitans*. El DNA variante de cepa-específico en los genomas del *Actinobacillus actinomicetemcomitans* fue identificado por la reacción de la cadena de polimerasa (PCR), mapeo genómico y secuenciado para identificar GEIs. Se observó que algunas cepas del *Actinobacillus actinomicetemcomitans* pueden albergar GEIs, los cuales fueron adquiridos vía HGT por la bacteria. El GEIs puede aumentar el repertorio de genes del *Actinobacillus actinomicetemcomitans*. Sin embargo, la inserción de GEIs en el *Actinobacillus actinomicetemcomitans* puede también causar la truncación e inactivación de genes residentes en los sitios de inserción. La importancia de la virulencia de dicha ganancia y

pérdida de los genes en el *Actinobacillus actinomicetemcomitans* permanece a ser determinada.³¹

Para la detección de *Porfiromonas gingivalis* en muestras clínicas se ha usado la reacción de cadena de polimerasa (PCR) y pruebas inmunocromatográficas (ICA) con un aparato de flujo lateral (tira) para determinar los genes RNAr 16s de especies específicas.

El PCR y la ICA detectaron alrededor de 1 a 10 células de *Porfiromonas gingivalis* respectivamente. El ICA requirió de 5 a 10 minutos más que el PCR inicial. No se observaron amplificaciones en otras bacterias orales de pigmento negro a concentraciones de 10^6 unidades de colonia formadoras (CFU). Las tiras de ICA mostraron bandas de mas de 10^4 CFU/ equivalentes en las muestras clínicas de periodontitis. El PCR-ICA será una herramienta valiosa para la rápida detección de bacterias específicas en el sillón dental.³²

3.5 Identificación de los componentes del fluido crevicular

El fluido gingival crevicular (FGC) es un transudado (en condiciones basales o de normalidad) o exudado (en el proceso inflamatorio) que baña el surco gingival o la bolsa periodontal y que sigue un gradiente osmótico con los tejidos locales. A medida que el líquido, desde la microcirculación del huésped, va atravesando los tejidos inflamados hacia la bolsa periodontal, va captando mediadores que participan en la respuesta destructora del huésped y también los productos derivados del metabolismo tisular local.²

El fluido gingival crevicular se convierte en un medio ideal de monitoreo de los cambios ocurridos durante el proceso salud-enfermedad periodontal. Este fluido contiene una gran cantidad de factores bioquímicos que ofrecen un uso potencial como biomarcadores de diagnóstico o pronóstico del estado biológico del periodonto en salud y enfermedad. El valor del fluido gingival crevicular como fuente de biomarcadores radica en el hecho que es un fluido obtenido del flujo de la filtración capilar de los vasos sanguíneos, vasos linfáticos y los epitelios de unión y sulcular principalmente. Este hecho hace que el fluido gingival crevicular pueda coleccionar mediadores bioquímicos y/o productos metabólicos, específicamente el contenido de proteínas plasmáticas, enzimas bacterianas, mediadores inflamatorios así como también productos de la degradación de la matriz colágena y extracelular, que pueden convertirse en nuevas ayudas diagnósticas tempranas aplicables a la práctica clínica.³³

Se han encontrado más de 40 componentes en el fluido gingival crevicular y se han clasificado en elementos celulares, electrólitos, compuestos orgánicos, productos bacterianos y metabólicos, enzimas e inhibidores enzimáticos. En particular, la atención se ha desviado a los mediadores bioquímicos de la inflamación, las enzimas degradativas tisulares productos del sistema inmune del hospedero y los productos de destrucción hística y su posible papel como indicadores de algunos aspectos de la enfermedad periodontal activa.

Mediadores bioquímicos y productos de la inflamación

En las fases iniciales de la lesión periodontal como la lesión temprana e inicial, hay un reclutamiento de células inflamatorias hacia los tejidos conectivos gingivales, aumentando significativamente la liberación de varias citocinas, linfoquinas, quemoquinas y otros mediadores inflamatorios propios de la respuesta inmune tipo Th1, junto con gran cantidad de anticuerpos contra bacterias periodontopáticas propias de la respuesta inmune tipo Th2. La presencia de estos anticuerpos en el fluido gingival crevicular (FGC) indica que estos anticuerpos se produzcan localmente ante la presencia de bacterias periodontopáticas en el surco o bolsa periodontal.³⁴

Las citocinas son mediadores locales potentes de la inflamación, producidas por una variedad de células. Las citocinas proinflamatorias como IL-1, IL-1 β , IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) se han encontrado en el FGC y estudiado en la progresión de la enfermedad periodontal destructiva. Especialmente IL-1, liberada por macrófagos, leucocitos polimorfonucleares (PMNs), linfocitos y fibroblastos gingivales, está fuertemente involucrada en procesos inflamatorios, destrucción de la matriz y cicatrización, además de su fuerte relación con el proceso de reabsorción ósea que puede sugerir estadíos destructivos de la

enfermedad. Varios estudios transversales han encontrado niveles aumentados de IL-1 β en sitios con periodontitis, comparados con gingivitis y salud periodontal.³⁵

La IL-1, IL-6 y el TNF- α son citocinas producidas por una variedad de células de sitios inflamados. Son moléculas inmunorreguladoras potentes con una serie de defectos biológicos, como estimulación de metaloproteinasa y resorción ósea; por lo tanto, parecen buenas candidatas a marcadores de progresión de la enfermedad. Estudios transversales revelan que hay buena correlación en el estado y gravedad de la enfermedad, pero no con la progresión de la misma.⁵

La prostaglandina E₂ (PGE₂) es un producto de la vía de la ciclooxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico, se encuentran en cantidades importantes en sitios inflamados. Esta se asocia con destrucción tisular, cambios metabólicos en el fibroblasto y reabsorción ósea. Se han encontrado que los niveles altos de PGE₂ en FGC se correlacionan positivamente con inflamación periodontal y destrucción tisular. Un estudio longitudinal ha correlacionado niveles de PGE₂ y su correlación con enfermedad periodontal activa, sugiriendo esta prostaglandina como un buen biomarcador de actividad de la enfermedad.³⁶

Enzimas derivadas del hospedero

Las células del huésped liberan diversas enzimas durante la iniciación y el avance de la enfermedad periodontal. Las enzimas que recibieron mayor atención como posibles marcadores de destrucción periodontal activa son aminotransferasa de aspartato (AST), fosfatasa alcalina (ALP), glucoronidasa beta, elastasa, catepsina y

metaloproteinasas de la matriz. Algunas de estas enzimas se liberan de células periodontales muertas y en vías de destrucción, otras provienen de neutrófilos polimorfonucleares y unas más son productos de células conectivas epiteliales o inflamatorias de los sitios afectados.⁵

La neutrófilo elastasa es una endopeptidasa que puede degradar proteínas de la matriz extracelular fibrilar y no fibrilar. Los niveles de esta enzima en FGC aumentan en gingivitis experimental, así como también en sitios con lesiones periodontales establecidas. También se sabe que esta enzima disminuye su producción con tratamiento convencional de sitios afectados. En estudios longitudinales se ha encontrado algo de valor predictivo positivo de la presencia de esta enzima en FGC con el riesgo de desarrollar periodontitis. Esta enzima puede ser promisoría como un biomarcador diagnóstico de enfermedad periodontal activa.³⁷

La fosfatasa alcalina (ALP) es una enzima lisosomal hallada en osteoblastos, fibroblastos, neutrófilos y bacterias. Se ha encontrado en el FGC así como también en suero, pero sus niveles son mayores en FGC y se han encontrado con correlación positiva en enfermedad periodontal, mostrando tener un valor predictivo positivo de 0.73

La enzima β -glucuronidasa es la enzima lisosomal más estudiada por su relación con la función del leucocito polimorfonuclear, así como también su habilidad para degradar componentes de la matriz extracelular. Estudios transversales indican que muestras de FGC tomados de sitios con periodontitis tienen actividad de elastasa significativamente superior que el FGC de sitios con gingivitis o sanos.³⁷

Existe un equipo de prueba rápido para su uso en el consultorio (Periocheck) para detectar proteasa en el FGC. Esta enzima parece tener

mucho futuro en su desarrollo como ayuda diagnóstica para descubrir sitios con enfermedad periodontal activa.^{5,35}

La enzima aminotransferasa aspartato es una enzima citoplasmática liberada en muerte celular, principalmente en células inmunes del hospedero. Se ha demostrado altos niveles en estadíos de enfermedad activa y de progresión. Existe una prueba rápida para su uso en el consultorio (Periogard). En varios estudios se demostró un notable aumento de la concentración de AST en muestras de FGC.³³

Productos de destrucción hística

Una de las características principales de la periodontitis es la destrucción de matrices colágenas y extracelulares. El análisis del fluido gingival obtenido de sitios con periodontitis muestra con claridad concentraciones elevadas de hidroxiprolina por la destrucción colágena y glucosaminoglicanos de la degradación de la matriz.⁵

Métodos de recolección del fluido gingival crevicular

- Tiras de papel absorbente

Las tiras de papel se colocan en el surco gingival por un lapso uniforme hasta que se satura el papel. Luego el volumen de líquido recogido en las tiras se cuantifica de diferentes formas. En la actualidad, la más usada es con el Periotron.

La cantidad de líquido recogido en una tira de papel se visualiza de diversas formas. La zona se visualiza mejor mediante la tinción con

ninhidrina. Y se hace la medición planimétrica sobre una fotografía ampliada o con la ayuda de una lupa o microscopio.⁵

Se diseñó una técnica electrónica para medir el líquido recolectado en un “papel secante” (Periopaper), empleando un traductor electrónico (Periotron, Harco Electronics, Winnipeg, Manitoba, Canadá)

- Micropipetas

El uso de micropipetas permite la toma de líquido por capilaridad. En la bolsa se colocan tubos capilares de longitud y diámetro estandarizados y más tarde se centrifuga y analiza su contenido.

- Lavados del surco

Los lavados del surco pueden servir para medir el FGC de la encía normal en términos clínicos. Una de las técnicas emplea un aparato que consiste en una placa de acrílico duro que cubre el maxilar con bordes blandos y un surco que sigue los márgenes gingivales; se conecta a cuatro tubos de colección. Los lavados se obtienen al enjuagar las zonas del surco desde un lado hasta el otro mediante el uso de una bomba peristáltica.

La metodología utilizada para analizar los elementos del fluido del surco es tan variada como la diversidad de esos componentes. Basta con algunos ejemplos como la fluorimetría para identificar metaloproteasas; las pruebas ELISA para determinar valores enzimáticos e interleucina 1-beta; los radioinmunoensayos para detectar derivados de la ciclooxigenasa y la procolágena III; el timidazol identificado por cromatografía líquida de alta presión (HPLC); las proteínas de la fase aguda identificadas mediante inmunopuntos directos e indirectos y otros.⁵

CONCLUSIONES

El diagnóstico de las enfermedades periodontales se realiza de forma clínica mediante exámenes clínicos y radiográficos, aunque en la última década ha sido posible la confirmación de estos exámenes con recursos microbiológicos.

El desarrollo de las radiografías computarizadas y el sondeo periodontal automatizado son los avances que se realizaron a los instrumentos de diagnóstico convencionales y que han permitido detectar modificaciones precisas que se producen en los tejidos periodontales. Estas dos técnicas se han aplicado en la práctica actual obteniendo mejores resultados en algunos casos, pero en otros son similares a los obtenidos con los instrumentos tradicionales.

Los actuales métodos parecen ser bastante prometedores en su aplicación y su utilidad para el diagnóstico periodontal. Sin embargo, se ha visto que a pesar de los avances que se han realizado en los métodos convencionales estos no aportaron una mejoría en el diagnóstico y que por su alto costo y difícil acceso no son comúnmente usados en la práctica odontológica.

El cultivo bacteriano a pesar de ser la prueba más antigua que se ha usado para la detección de patógenos, aún es de difícil acceso por su costo y el equipo especializado que se requiere para su realización.

Por otro lado, se desarrollaron como alternativas rápidas y rentables los ensayos enzimáticos, las pruebas inmunológicas y enzimáticas para evaluar los microorganismos patógenos periodontales. Aunque la disponibilidad de estas técnicas esta limitada.

La identificación de los componentes del fluido del surco gingival ha ayudado también para el desarrollo de nuevas pruebas y por medio de estas se logra comprender algunos procesos ocurridos en el progreso de la enfermedad periodontal.

Finalmente, en otros estudios se ha comprobado que gracias al avance y al desarrollo de estos métodos se ha adquirido una mejor comprensión acerca de la patogenia, susceptibilidad y avance de las enfermedades periodontales.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Carranza F, Shklar G. History of Periodontology. Canadá: Editorial Quintessence Publishing CO, 2003. Pp.136-139
2. Lindhe J, Karring T, Lang N. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 3^a ed. Cd. México: Editorial Panamericana, 2003. Pp. 387-396, 400-421
3. Genco R, Golddman H, Walter D. Periodoncia. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. 1993. Pp 363-370, 473-483
4. Bascones A. Periodoncia Básica. 1^a ed. España: Ediciones Avances Médico-Dentales S.L. 1992. Pp. 97-1001, 108-112
5. Carranza F, Newman M Takei H. Periodontología Clínica. 9^a ed. Cd. de México: Editorial Mc Graw-Hill, 2004. Pp. 270-274, 479-482, 515-529
6. <http://www.sdpt.net/cpitn.htm>
7. Freitas A, Edu J, Faria I. Radiología odontológica. Brasil: Editorial Artes Médicas, 2002. Pp. 401-403
8. Gibbs CH, Hirschfeld JW, Lee JG, Low SB, Magnusson I, Thousand RR, Yerneni P, Clark WB. Description and clinical evaluation of a new computerized periodontal probe – The Florida Probe. J Clin Periodontol. 1998; 15: 137-134

9. Armitage G. Annals of Periodontology. A.A.P. 1996. Pp 83-192
10. <http://www.floridaprobe.nl/bediening.html>
11. Wilson T, Kornman K, Newman Michael. Advances in Periodontics. Singapore: Editorial Quintessence Publishing CO, Inc. 1992. Pp. 22-25, 28, 32-34, 41, 52-54
12. Jeffcoat MK, Jeffcoat RL, Jens SC, Captain K. A new periodontal probe with automated cemento-enamel junction detection. J Clin Periodontol. 1986; 13: 276-280
13. Byrd V, Mayfield T, Reddy M, Jeffcoat M. Semiautomated image registration for digital subtraction radiography. Oral Surg Med Oral Pathol Radiol Endod. 1998; 85 : 473-8
14. Brägger. Radiographic parameters: biological significance and clinical use. Periodontology 2000. 2005; 39: 73-90
15. Weems RL, Mason-Hing LR, Jamison HC, Greer DF. Diagnostic yield and selection criteria in completa intraoral radiography. J Am Dent Assoc. 1987; 110: 333-338
16. Mol A. Imaging Methods in periodontology. Periodontology 2000. 2004; 34: 34-48
17. Ramesh A, Ludlow J, Webber RL, Tyndall DA, Paquette D. Evaluation of tuned aperture computed tomography (TACT) in the localization of simulated periodontal defects. Dentomaxillofacial Radiology. 2001; 30: 319-324

18. Chal-U-Dom O, Ludlow J, Tyndall DA, Webber RL. Comparasion of conventional and TACT (Tuned Aperture Computed Tomography) digital subtraction radiography in detection of pericrestal bone-again. *Journal of Periodontal Research*. 2002; 37: 147-153
19. Ramesh A, Ludlow J, Webber RL, Donald A, Tyndall DA, Paquette D. Oral an Maxilofacial Radiology. *Oral Surg Med Oral Pathol Radiol Endod*. 2002; 93: 341-9
20. http://www.webodontologica.com/odon_arti_enfe.asp.
21. Escribano M, Matesanz P, Bascones A. Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis. *Periodon Implantol*. 2005; 17: 79-87
22. Monbelli A, Mc Nabb H, Lang N: Black- pigmenting Gram-negative bacteria in Periodontal Disease. I Topografic distribution in the human dentition *J. Periodont. Res*. 1991; 26: 301- 307.
23. OraTec Corp. Chairside assessment of malodor and periodontal disease risk using the BANA test. 2001
24. Loesche W. The identificatiion with bacteria associated with periodontal diseade and dental caries by enzymatic methods. *Oral Microbiology and Inmunology*. 1986; 1: 65-70
25. Savitt ED, Keville MW, Peros WJ. DNA Probes in the diagnosis of periodontal Microorganisms. *Bio Technica Diagnostics*. 1990; 35: 153-159

26. Zappa U, Reinking-Zappa M, Graf H, Gmür R, Savitt E. Comparison of serological and DNA probe analyses for detection of suspected periodontal pathogens in subgingival plaque samples. *Bio Technica Diagnostics*. 1990; 35: 161-164
27. Baumforth K R N, Nelson P N, Digby J E, O'Neil J D, Murray P G. The polymerase chain reaction. *Journal Clin Pathol*. 1999; 52: 1-10
28. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review, *J Clin Periodontol*. 2004; 31: 1034-47
29. www.tec.reacciondepolimerasa_02htm
30. Nonnenmacher C, Dalpke A, Rochon J, Flores-de-Jacoby L, Mutters R, Heeg K. Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection and Quantification of Bacteria in Periodontal Patients. *J. Periodontol* 2005 ; 76 : 1542-1540
31. Weizhen Ch, Ying Wang. Identification of a Genomic Island of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Periodontol* 2005 76:2052-2060
32. Kazuko T, Yoshiaki S. New Rapid Polymerase Chain Reaction-Immuno-chromatographic Assay for *Porphyromonas gingivalis*. *J. Periodontol* 2005: 76: 508-512

33. Alves A, Napimoga M, Klein M, Hoffling J Goncalves R. Increase in Probing Depth is Correlated with a Higher Number of *Prevotella intermedia* Genotypes. *J Periodontol* 2006. 77: 61-66
34. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontology* 2000 1997; 14: 216-248
35. <http://colombiamedica.univalle.edu.co/Vol35No3supl/pdf/periodontal.pdf>
36. Kinane DF, Winstanley FP, Adonogianaki E, Moughal NA. Bioassay of interleukin 1 IL-1. in human gingival crevicular fluid during experimental gingivitis. *Arch Oral Biol* 1992; 37: 153-156.
37. Gazi MI, Cox SW, Clark DT, Eley BM. A comparison of cysteine and serine proteinases in human gingival crevicular fluid with tissue, saliva and bacterial enzymes by analytical isoelectric focusing. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 393-400.