



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

“AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE PIGMENTACIÓN

NEGRA EN PACIENTES CON PERIODONTITIS GENERALIZADA Y

LOCALIZADA EN PACIENTES QUE ACUDEN A LA CLÍNICA DE

ADMISIÓN DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNAM”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN ODONTOLOGIA

P R E S E N T A:

C.D. HORACIO CORDERO SOBERANES

TUTORA Y DIRECTORA : DRA. SANTA PONCE BRAVO

Ciudad Universitaria, México, D. F. 2007



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.

Agradecimientos:

Infinitamente agradecido con el Instituto
Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Al Departamento de Bacteriología
del Laboratorio de Análisis Clínicos.

Especialmente al
Dr. Eduardo Rivera Martínez,
Dr. Juan M. Cristerna (Q. E. P. D.),
Biol. Lina Larios ,
Q. B. P. Alicia Ocaña y
A todo el personal.

A la UNAM,
Dra. Ponce,
Dra. Elba Leyva,
Dr. Haroldo Elorza y
Dr. Julio González
Por los cuales sin su ayuda
Desinteresada y espíritu universitario
realmente comprometido fue
Posible concluir este trabajo.

A Valeria, Elvia y Elvia Soberanes con todo mi amor.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	4
III.	ANTECEDENTES	7
III. A.	ENFERMEDAD PERIODONTAL	
III. A. 1.	DEFINICIÓN	
III. A. 2	CLASIFICACIÓN	10
III. A. 3.	EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	
III. A. 4.	PATOGENICIDAD	11
III. A. 5.	PATOGENIA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL CON PLACA	13
III. A. 5. 1.	LESIÓN INICIAL	
III. A. 5. 2.	LESIÓN TEMPRANA	
III. A. 5. 3.	LESIÓN ESTABLECIDA	
III. A. 5. 4.	LESIÓN AVANZADA	
III. A. 6.	MODELOS DE PROGRESIÓN DE PERIODONTITIS	17
III. A. 7.	PLACA DENTO BACTERIANA	21
III. A. 7. 1.	DEPÓSITOS DENTALES	
III. A. 7. 2.	TOXICIDAD	
III. A. 7. 3.	PELÍCULA ADQUIRIDA	
III. A. 7. 4.	FORMACIÓN DE PLACA	
III. A. 7. 5.	COLONIZACIÓN	
III. A. 7. 6.	CRECIMIENTO Y MADURACIÓN	
III. A. 7. 7.	AGREGACIÓN Y COAGREGACIÓN	
III. A. 7. 8.	CARACTERÍSTICAS ARQUITECTÓNICAS GENERALES	
III. A. 8.	INTERFASE PLACA DIENTE	
III. A. 8. 1.	CAPA MICROBIANA	
III. A. 8. 2.	MATRIZ EXTRACELULAR	
III. A. 8. 3.	MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE ANAEROBIOS DE PIGMENTACIÓN NEGRA	27
III. B.	BACTERIAS PERIODONTOPATÓGENAS	28
III. B. 1.	MICROBIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	
III. B. 2.	ANAEROBIOS DE PIGMENTACIÓN NEGRA	
III. B. 3.	MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DE ANAEROBIOS DE PIGMENTACIÓN NEGRA	
IV.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
V.	JUSTIFICACIÓN	34
VI.	HIPÓTESIS	35
VII.	OBJETIVOS	36
VIII.	METODOLOGÍA	37

VIII. 1. TIPO DE ESTUDIO	
VIII. A. SELECCIÓN DE PACIENTES	
VIII. B. 1. VARIABLES INDEPENDIENTES	
VIII. B. 2. VARIABLES DEPENDIENTES	
VIII. C. MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	
VIII. D. MATERIAL Y EQUIPO	
VIII. E. PROCEDIMIENTO	
VIII. F. PREPARACIÓN, SIEMBRA Y PROCESAMIENTO	
IX. RESULTADOS	45
IX. 1. ESTUDIO CLINICO	
IX. 2. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO	
IX. 3. ANÁLISIS DE LOS DATOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	
X. DISCUSIÓN	68
XI. CONCLUSIONES	74
XII. BIBLIOGRAFÍA	76
XIII. ANEXOS	86

AISLAMIENTO DE ANAEROBIOS DE PIGMENTACIÓN NEGRA EN PACIENTES CON PERIODONTITIS GENERALIZADA Y LOCALIZADA QUE ACUDEN A LA CLÍNICA DE ADMISIÓN DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNAM.

I. RESÚMEN

Hace unos 45 años, la prevalencia de enfermedad periodontal era totalmente diferente a la actual, hoy en día la **Periodontitis severa generalizada** en poblaciones de países desarrollados se encuentra entre un 5 y un 20 %, la cual se incrementa, si se habla de Periodontitis de leve a moderada. Sin embargo la información obtenida en poblaciones tanto de países desarrollados como países en vías de desarrollo aún no es concluyente. Epidemiológicamente se ha intentado identificar **Factores de riesgo** asociados con el desarrollo de enfermedad periodontal progresiva, pero se ha establecido que las enfermedades periodontales son el resultado de la interacción entre factores ambientales, bacterianos y del hospedero.

Los microorganismos son componentes esenciales en cualquier modelo aplicable a Periodontitis progresiva. En relación con Periodontitis en seres humanos se sabe que entre **10 y 30 especies de bacterias** presentes en la flora subgingival están relacionadas de una o de otra forma con la etiología de la misma. ***Actinobacillus actinomycetemcomitans*** y ***Porphyromonas gingivalis*** se consideran “muy fuertemente” asociadas. ***Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*** y algunas especies de ***Treponema*** están “moderadamente asociadas“. Tres de las especies anteriormente mencionadas se encuentran incluidas dentro del grupo conocido por su comportamiento en la placa de Agar sangre como **Anaerobios de Pigmentación Negra (APN)**.

El objetivo de este estudio fue definir la **prevalencia** de los conteos celulares totales (CCT) de colonias de APN aisladas de sitios con Periodontitis crónica (PC) y correlacionarlos con los índices y mediciones clínicas indicadores de enfermedad.

Metodología. A través de un muestreo de conveniencia se estudiaron treinta y seis

muestras provenientes de dieciocho sujetos de ambos sexos, mayores de diecinueve años de edad, no diabéticos, que no hayan recibido terapia periodontal o antibiótica durante los últimos seis meses. Se conformaron dos grupos de sujetos de estudio: (1) **Sujetos con Periodontitis Generalizada** y (2) **Sujetos con Periodontitis Localizada**. Dos subgrupos: (A) Sitio de Estudio y (B) Sitio Control. Las mediciones clínicas aplicadas fueron: 1) Profundidad al sondeo, 2) Nivel de inserción clínica, 3) Sangrado al sondeo, 4) Índice gingival (Løe y Silness, 1963), 5) Índice de placa (Silness y Løe, 1964). La obtención de la **muestra de flora subgingival** se realizó aplicando la técnica de puntas de papel absorbente.

La muestra fue transferida con el medio de transporte “Stuart”, posteriormente se procesó en dilución decimal seriada hasta 10^{-3} y se inoculó en platos de agar sangre selectivos para *Bacteroides* de pigmentación negra. Se incubaron a 37° C. realizando la observación y control por medio de tinción de Gram entre 7 y 14 días, se cuantificaron las colonias de pigmentación negra en un contador colonial. Los aislamientos de APN fueron evaluados aplicando los **criterios de diagnóstico de especiación I**.

Resultados. Los *aislamientos* dentro del grupo de **Periodontitis Generalizada** del **sitio de estudio** fueron **100%** positivos para APN, mientras para sitio control solo 7.6%. En los sitios de estudio dentro del grupo de **Periodontitis Localizada** se lograron aislar en un 60% estas bacterias.

Los sitios control de la **Periodontitis Generalizada** aún cuando representaron condiciones clínicas libres de enfermedad no estuvieron libres del aislamiento del grupo APN en su totalidad, el 92.3% fueron negativos. En algunos sitios “contraparte” por así decirlo no se observó la recuperación esperada, el sitio **control de la Periodontitis Localizada** comparado con su “contraparte” solo presentó un **20%** del total de las muestras positivas al aislamiento del grupo APN. En algunas de las muestras los conteos del grupo bacteriano no correspondieron a los valores más elevados en las mediciones clínicas aplicadas e incluso algunos de los sitios con menor carga bacteriana estaban relacionados con valores elevados en el registro clínico.

No se observó una correlación positiva entre las diferentes variables clínicas elegidas y los conteos del grupo bacteriano en la tercera dilución (10^{-3}) incluso en el

grupo más representativo en deterioro, del sitio de estudio. Todas las muestras obtenidas del sitio de estudio del grupo **con Periodontitis Generalizada** fueron positivas al aislamiento de APN, la mayoría **(84.6%)** mostraron cargas bacterianas que rebasaron el **punto de corte de este estudio (10^{-3})** lo que es similar a los resultados de estudios realizados en poblaciones de países desarrollados en los cuales la prevalencia del grupo bacteriano llegó al 83% en sitios asociados a lesiones de periodontitis del adulto.

Las diferencias entre la recuperación del grupo bacteriano y los medidores clínicos permitieron comparar esta condición entre los diferentes grupos “ contraparte “ por ejemplo **Periodontitis Generalizada sitio de estudio Vs. Periodontitis Generalizada sitio control** mostrando que la presencia del grupo bacteriano APN no se relaciona regularmente con las condiciones clínicas elegidas, mostrando que la concentración en esta relación de grupos es sitio específica por lo tanto se asocian cantidades variables del grupo APN con sitios que presentaron enfermedad avanzada o salud periodontal según los indicadores y parámetros clínicos para definir una u otra condición.

Palabras clave: Periodontitis Crónica, Periodontitis del Adulto, Enfermedad Periodontal, Anaerobios de Pigmentación Negra, Microbiología de la Periodontitis.

II. INTRODUCCION.

Hace más de cien años que existen referencias en relación a la inquietud de definir si las bacterias presentes en la unión dento-gingival participan en el desarrollo de enfermedad periodontal.

El factor microbiológico (película biológica) es considerado como el factor de riesgo mejor conocido en el desarrollo de sitios con deterioro periodontal.

Se conoce la participación de otros factores lo que caracteriza al proceso de enfermedad como multifactorial pero cabe mencionar que la participación del factor microbiológico es preponderante.

Los grupos de bacterias que se encuentran asociados a surcos gingivales tanto supra como sub-gingivalmente son similares, al parecer bajo ciertas circunstancias algunos de estos sobrecrecen mostrando cierto nivel de asociación con el desarrollo de enfermedad y por lo mismo se les relaciona como oportunistas.

Comúnmente se pretende considerarlos en posibles modelos de predicción de riesgo de deterioro periodontal pero únicamente se ha logrado relacionarlos como indicadores y predictores del mismo, el factor microbiológico está considerado como un marcador de riesgo periodontal ya que la información que demuestra la relación causal entre la presencia de ciertos grupos de bacterias o algunas de estas con el desarrollo de enfermedad define variaciones importantes al analizar diferentes poblaciones o sitios específicos asociados a sitios muestreados individualmente.

El grupo de bacterias conocido como Anaerobios de Pigmentación Negra (*Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella pallens*, y *Prevotella melaninogenica*) ha sido aislado tanto en flora supragingival como en subgingival.

Algunas de estas bacterias muestran factores de virulencia que les permiten interactuar directamente con los tejidos periodontales iniciando así el desequilibrio en la homeostasis del área dentogingival.

Clínicamente la Periodontitis se presenta tanto en forma Generalizada como en forma Localizada, en ambos casos existe fuerte correlación entre los medidores clínicos, profundidad de bolsa, niveles de inserción y sangrado al sondeo y los indicadores microbiológicos regularmente tomados en cuenta, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella*

intermedia, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella pallens*, *Tannerella forsythia* (anteriormente, *Bacteriodes forsythus*) y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, entre otros, sin embargo, los estudios de prevalencia bacteriana en poblaciones amplias y en sitios múltiples individuales (tanto transversales como longitudinales) muestran variaciones en los perfiles observados lo cual hace sospechar que en sitios específicos, como es el caso comparando una Periodontitis Generalizada con un Localizada, son de esperarse conteos variables de diferentes bacterias o grupos de las mismas, al parecer el sobrecrecimiento de bacterias que se encuentran en el grupo de Anaerobios de Pigmentación Negra no siempre ha estado asociado a sitios en los que se ha realizado el levantamiento de medidores clínicos cotidianos lo que involucra que en sitios específicos no se observe concordancia contundente entre los conteos bacterianos y los medidores clínicos de enfermedad.

Tomando en cuenta lo anterior, los cuestionamientos relacionados con la manera que es conveniente se realicen las evaluaciones microbiológicas, evaluando sitios específicos o individuos, han sido objeto para haber desarrollado varios estudios.

Los estudios que evalúan sitios han mostrado que la enfermedad periodontal desde el punto de vista microbiológico es sitio específica pero los estudios que evalúan al individuo han mostrado que existen patrones de colonización generalizados y que la severidad y extensión de la enfermedad en toda la boca puede reflejarse en la presencia de bacterias en sitios sanos adyacentes e incluso en individuos familiares cercanos a los individuos evaluados los cuales han presentado alta prevalencia de la enfermedad.

En este estudio se observó una relación interesante sobre todo entre los conteos del grupo de Anaerobios de Pigmentación Negra y los medidores clínicos de **enfermedad** tomando en cuenta grupos de personas asociados al desarrollo previo de una Periodontitis Generalizada y una en forma Localizada.

Se observó un crecimiento limitado de bacterias en sitios en los que los indicadores clínicos de enfermedad eran elevados (Profundidad de bolsa, sangrado al sondeo, Índice Gingival e Índice de Placa) sobre todo en sitios correspondientes al grupo de Periodontitis Localizada, lo que puede generar la ligera sospecha de que en el desarrollo de la misma podrían estar asociados grupos o bacterias diferentes a los que

conforman el grupo de Anaerobios de Pigmentación Negra (APN) además de que la influencia en la colonización de sitios adyacentes sanos podría estar dada por el tipo de infección clínica, forma Generalizada y forma Localizada.

III. ANTECEDENTES

A. Enfermedad periodontal.

1. Definición. La Periodontitis es la inflamación de los tejidos de soporte de los dientes, caracterizada por la destrucción que conduce a la pérdida del hueso y del ligamento periodontal ^{1,2}. Los microorganismos se consideran un marcador de riesgo indispensable y por lo tanto el más importante en lo que se refiere al desarrollo de Periodontitis ^{3,4,5}. La placa dentó bacteriana (supra y subgingival) está compuesta por grupos de microorganismos heterogéneos cuantitativa y cualitativamente, en relación a la distribución espacial de la misma placa, diferentes enfermedades y estado de desarrollo de las lesiones ^{6,7}. Dentro del grupo de bacterias involucradas en la enfermedad periodontal son aquellas conocidas como “bacterias periodontopatógenas” y se encuentran bacterias **anaeróbicas de pigmentación negra (APN)**, anteriormente llamadas *Bacteroides* de pigmentación negra, **APN**⁸ grupo en el que se encuentran incluidos *Porphyromonas* **gingivalis**⁸ anteriormente llamada *Bacteroides* **gingivalis**, *Prevotella* **intermedia**⁸ conocida como *Bacteroides* **intermedius** ⁹⁻¹⁴ y *Prevotella* **nigrescens** ^{5,15}.

Especialmente bacterias gramnegativas como *P* **gingivalis**, *P* **intermedia** y *P* **nigrescens** parece que juegan un papel preponderante en la patogénesis de la Periodontitis del adulto hoy en día conocida como periodontitis crónica^{3,4,10,12}.

Para determinar el tipo de microbiota presente en este tipo de enfermedad se han realizado diversas técnicas que van desde medios de cultivo bacteriano hasta sondas de ADN, valoraciones serológicas y detección de factores de virulencia para corroborar la relación patogénica entre los microorganismos antes mencionados y el hospedero^{2,11,12,16-19}. Existen poblaciones en el mundo que podrían estar caracterizadas por perfiles bacterianos únicos ya que la prevalencia de enfermedad periodontal es muy variable²⁰ pudiendo albergar niveles elevados de microorganismos periodontales particularmente virulentos ²¹⁻²³ y México puede no ser la excepción. La prevalencia de Periodontitis Crónica y Periodontitis Localizada también es muy variable por lo que no dejan de tomarse en cuenta como un cuestionamiento más para conocer.

2. Clasificación

La clasificación de enfermedad periodontal define varios grupos de enfermedades y condiciones periodontales².

1.- Enfermedades gingivales: causadas por placa dental y sin placa dental.(Tabla 1)

2.- Periodontitis crónica entre varias más que son especificadas en la tabla No. 2

Tabla 1. Clasificación de gingivitis.

Tipo	Manifestación	Factores	Asociación	
A. Enfermedades gingivales inducidas por placa dental.	1. Gingivitis asociada solo con placa dental.	a. Sin otros factores locales que contribuyan.		
		b. Con otros factores locales (ver VIII A).		
	2. Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos.	a. Asociadas con sistema endocrino.		1) Gingivitis asociada a la pubertad.
				2) Gingivitis asociada al ciclo menstrual.
				3) Asociada al embarazo.
		a) Gingivitis.		
	b) Granuloma piógeno.		Gingivitis asociada a Diabetes mellitus.	
		b. Asociada con discrasias sanguíneas.	1) Gingivitis asociada a leucemia.	
	3. Enfermedad gingival modificada por medicamentos.	a. Enfermedad gingival influenciada por drogas.		1) Agrandamientos gingivales influenciados por drogas.
				2) Gingivitis influenciada por drogas.
		b. Gingivitis influenciada por anticonceptivos orales.		
		c. Otras		
4.- Enfermedad gingival modificada por malnutrición.	a. Gingivitis por deficiencia en ácido ascórbico.			
	b. Otras.			
B. Lesiones gingivales no inducidas por placa.	1. Enfermedades gingivales de origen bacteriano específico.	a. Lesiones asociadas a <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .		
		b. Lesiones asociadas a <i>Treponema pallidum</i> .		
		c. Lesiones asociadas a <i>Streptococcus</i> .		
		d. Otras.		
	2. Enfermedades gingivales de origen viral.	a. Infecciones de Herpes virus.		1) Estomatitis herpética primaria.
				2) Herpes bucal recurrente.
	3. Enfermedades gingivales de origen micótico.	a. Infecciones por especies de <i>Candida</i> .		3) Infecciones por Herpes varicela zoster.
				b. Otras.
			b. Eritema gingival lineal.	
			c. Histoplasmosis.	
	4. Lesiones gingivales de origen genético.	d. Otros.		
		a. Fibromatosis gingival hereditaria.		
	5. Manifestaciones gingivales de condiciones sistémicas.	a. Alteraciones mucocutáneas		1) Liquen plano.
				2) Penfigoide.
				3) Pénfigo vulgar.
				4) Eritema multiforme.
				5) Lupus eritematoso.
			6) Inducido por drogas.	
			7) Otro.	
b. Reacciones alérgicas.		a) Mercurio.		
		b) Níquel.		
1) Materiales de restauración dental.		c) Acrílico.		

			d) Otro.
		b. Reacciones alérgicas	a) Pastas dentales/dentífricos.
		2) Reacciones atribuibles a	b) Enjuagues dentales/lavados dentales.
			c) Aditivos en las gomas de mascar.
		3) Otros.	
	6.- Lesiones traumáticas (de facto, iatrogénicas, accidentales).	a. Daño químico.	
		b. Daño físico.	
		c. Daño térmico.	
	7.- Reacciones a cuerpo extraño.		
	8.- No especificadas de otra manera (NEOM).		

Tabla 2. Clasificación de periodontitis

Tipo de Periodontitis	Manifestación	Enfermedad sistémica asociada
II. Periodontitis crónica.	A. Localizada.	
	B. Generalizada.	
III. Periodontitis agresiva.	A. Localizada.	
	B. Generalizada.	
IV. Periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas.	A. Asociada con enfermedades hematológicas.	1. Neutropenia adquirida. 2. Leucemias. 3. Otras.
	B. Asociada con alteraciones genéticas.	1. Neutropenia familiar y cíclica. 2. Síndrome de Down. 3. Síndromes de deficiencia en la adhesión de los leucocitos. 4. Síndrome de Papillón-Lefevre. 5. Síndrome de Chediak-Higashi. 6. Síndrome de Histiocitosis. 7. Enfermedad de almacenamiento de glicógeno. 8. Agranulocitosis genética infantil. 9. Síndrome de Cohen. 10. Síndrome de Ehlers-Danlos (Tipo IV y VIII). 11. Hipofosfatasa. 12. Otros.
	C. No especificados de otra forma (NEOF).	
V. Enfermedades periodontales necrotizantes.	A. Gingivitis ulcerativa necrozante. (GUN).	
	B. Periodontitis ulcerativa necrozante (PUN).	
VI. Abscesos del periodonto.	A. Absceso gingival.	
	B. Absceso periodontal.	
	C. Absceso pericoronar.	
VII. Periodontitis asociada con lesiones endodónticas.	A. Lesiones endoperiodontales combinadas	
VII. Periodontitis asociada con lesiones endodónticas.		
VIII. Deformidades y condiciones del desarrollo y adquiridas.	A. Factores locales relacionados con el diente que modifican o predisponen a enfermedades gingivales o periodontitis inducidas por placa.	1. Anatomía dental. 2. Aditamentos y restauraciones dentales. 3. fracturas radiculares. 4. Resorción radicular cervical y proyecciones cementarias.
	B. Deformidades mucogingivales y condiciones alrededor del diente.	1. Resección gingival/ tejido blando. a. Superficies faciales o linguales. b. Interproximal (papilar). 2.- Ausencia de encía queratinizada. 3. Profundidad vestibular reducida. 4. Posición aberrante de frenillos o músculos. 5. Exceso gingival. a. Pseudobolsa.

		b. Márgenes gingivales inconsistentes.
		c. desarrollo gingival excesivo.
		d. Agrandamiento gingival (ver IA3 y IB4).
		6. Color anormal.
	C. Deformidades mucogingivales y condiciones en procesos edéntulos.	1. Deficiencias en los procesos vertical/ horizontal
		2. Falta de tejido queratinizado/encia.
		3. Alargamiento gingival/tejido blando.
		4. Posición aberrante de músculos/frenillos.
		5. Profundidad vestibular reducida.
		6. Color anormal.
D. Trauma Oclusal	1. Trauma oclusal primario.	
	2. Trauma oclusal secundario.	

Fuente: Armitage GC, 1999 (2)

3. Epidemiología de la enfermedad periodontal.

La Periodontitis crónica es la forma más común de enfermedad periodontal destructiva y afecta parte importante de la población que rebasa los 35 años de edad²⁴. Una buena parte de la información epidemiológica ha sido obtenida en poblaciones de países desarrollados de manera importante. Se pueden definir dos etapas: la etapa desarrollada entre la 5ª y 7ª décadas de la vida y la que comprende los 80 y los 90 años. La comparación de los datos entre una y otra son controversiales^{20,25,26}. En base a la información obtenida en estudios realizados en los años 50 y 60 se concluye que la periodontitis se inicia en las etapas tardías de la adolescencia y el porcentaje de personas afectadas se incrementa al 90% o más en la adultez y senilidad. La información obtenida en los años 80 propone la definición de un marco diferente, una evaluación realizada en la población americana con un rango de edad entre los 18 y 65 años indica que únicamente entre el 14 y 16% de los individuos de 45 años de edad o arriba de esta presentaron una o más bolsas con profundidad de 6 mm. o más, en general la información obtenida en los años 80 muestra una reducción importante en la prevalencia y solo una proporción pequeña parece estar afectada por periodontitis severa^{27,28}.

La situación en lo que respecta a las evaluaciones realizadas en países del tercer mundo sugiere cambios en la interpretación de los conceptos actuales con relación a la presencia de cantidades importantes de depósitos bacterianos y marcada severidad de la enfermedad periodontal. Esto es, aún cuando la presencia de cantidades importantes de depósitos en poblaciones las cuales no tienen un fácil acceso a los métodos de higiene oral la severidad y extensión de la periodontitis no es elevada por lo mismo se sospecha que la prevalencia de periodontitis está cambiando y que por

ejemplo, se desconoce la identidad y las características de los subgrupos poblacionales que presentan una mayor susceptibilidad para desarrollar periodontitis o también, parece ser que la relación directa entre una marcada acumulación de placa dentobacteriana y el desarrollo de enfermedad periodontal severa no es tan simple como parecía ^{29,30}.

Cuatro aspectos se sugiere se tomen en consideración:

- 1.- Durante las últimas décadas la prevalencia de periodontitis ha disminuido poco, pero parece que la severidad sí.
- 2.- Entre el 5 y el 20% de la población está afectada por periodontitis severa, generalizada, sin embargo, la periodontitis de leve a moderada sí afecta a la mayoría de la población adulta. Las situaciones más severas se relacionan con la adolescencia y la etapa temprana de la vida adulta más que la senilidad.
- 3.- Desde el punto de vista epidemiológico es conveniente llegar a un acuerdo en relación a las definiciones de periodontitis leve, moderada y severa para que se logre conocer más a cerca de prevalencia, incidencia y evaluación de riesgos.
- 4.- No existe un panorama bien definido en lo que respecta a la incidencia de la enfermedad por lo que el principal indicador de que se desarrollará enfermedad es la existencia previa de la misma.
- 5.- Entre los factores de riesgo para desarrollar enfermedad periodontal están el fumar y varias enfermedades sistémicas. El papel de la placa y los depósitos de cálculo supragingival no es concluyente ²⁰.

4. Patogenicidad

Hasta el inicio de la década de los años 60 no se definía claramente el papel de la placa dentobacteriana como factor etiológico primario de las enfermedades periodontales²⁵. Dos estudios realizados en los años 1964 y 1965 son considerados determinantes en la definición de esta situación. En 1964 se demostró mediante un modelo experimental en roedores que la periodontitis es una enfermedad infecciosa y en esta circunstancia particular, transmisible ³¹, así también, en el año de 1965 surgió la primera evidencia clínica que relaciona la acumulación de bacterias en el área adyacente al surco gingival y el desarrollo de cambios inflamatorios en los tejidos

periodontales ³². Pese a lo anterior, existen evidencias antiguas relacionadas con el aislamiento de grupos bacterianos o bacterias específicas de sitios periodontales y es indudable que ha tomado tiempo el determinar el papel de la placa dentobacteriana como factor de riesgo primario en relación a enfermedad periodontal. Desde hace más de 100 años Willoughby Dayton Miller (1890) trabajando en el laboratorio de Roberto Koch, describió hallazgos basados en observaciones de placa dentobacteriana, relacionó bacterias específicas y enfermedad periodontal, por ejemplo *Fusiformis fusiformis* ³³. Hasta 1930 se siguieron describiendo bacterias asociadas de manera específica como son *Streptococcus sp.*, espiroquetas y amibas ^{34, 35}.

Todo lo anterior considera que esto como los primeros avances en relación a la teoría específica de placa dentobacteriana; los estudios más recientes colocan a la misma como base fundamental del origen infeccioso de estas enfermedades publicados por Newman y cols en 1976 y 1977 aclarando la asociación entre *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y periodontitis juvenil localizada ^{36, 37}.

La definición de que participen periodontopatógenos específicos o grupos de los mismos en el mecanismo patogénico de la periodontitis aún no es concluyente, por lo mismo varias teorías han surgido para fundamentar el desarrollo de modelos metodológicos que permitan conocer en detalle esta situación.

La **teoría específica** propone que especies bacterianas patogénicas únicas son la causa de la enfermedad periodontal inflamatoria ³⁸⁻⁴⁰. La **teoría no-específica** propone que el desarrollo de la enfermedad periodontal inflamatoria depende de la proliferación bacteriana junto con alteraciones en la resistencia del hospedero causadas por la combinación de efectos biológicos en toda la flora. Theilade en 1986 sugiere que se tome en consideración una teoría en la que la etiología microbiana sea definida por términos que se manejan entre la teoría específica y no específica ³⁸.

Tres puntos parecen haber guiado los esfuerzos durante los últimos años.

1. Existe una flora bucal comensal en cooperación mutua.
2. Parecen existir patógenos bucales exógenos como miembros transitorios característicos en algunas periodontitis.
3. Existen patógenos bucales oportunistas con especial virulencia ^{41,42}.

Los sistemas defensivos en la cavidad bucal incluyen tanto procesos de inmunidad innata como adquirida. También se incluye inmunidad mediada por células y mediada por anticuerpos esto es, están involucrados en un mismo momento mecanismos inmunológicos variados en los que participan células y sustancias que son representantes de cada una de estas respuestas.

Para fines de estudio, los procesos que caracterizan estas situaciones se dividen en respuestas inmunitarias y proceso inflamatorio (inmunidad específica e inespecífica). La “respuesta inmunitaria” está relacionada con una serie de acontecimientos que se presentan en la respuesta inmune adaptativa (células T y B, complejos proteicos de histocompatibilidad y las poblaciones celulares que se relacionan; linfocitos T CD4 y CD8) además con la presencia de células inmunes o sus productos los cuales pueden estar involucrados en reacciones de hipersensibilidad y constituir así factores relacionados con la destrucción periodontal.

El proceso inflamatorio o respuesta inmune inespecífica comparte aspectos con la inmunidad adquirida; complemento, inmunoglobulinas G, M y E, y respuestas de hipersensibilidad, además de la presencia de linfocitos y células plasmáticas, linfocinas y monocinas. Independientemente a los procesos inherentes a la misma, lisosima, lactoferrina, función fagocítica de los neutrófilos.

Por todo lo anterior se concluye que aún cuando la enfermedad periodontal es una infección que desarrolla un infiltrado inflamatorio compuesto por células plasmáticas y linfocitos distantes, los sistemas tanto inmune como inflamatorio, ambos son protectores y dañinos a la vez en un mismo proceso de enfermedad, de esta forma la enfermedad periodontal puede representar una secuencia combinada de respuestas del hospedero ante la flora microbiana adyacente. Así, las respuestas locales varían en el mismo sitio a diferentes tiempos y todo el proceso es una combinación de estas.

5. Patogenia de la enfermedad periodontal con placa.

Los datos actuales sobre este fenómeno son incompletos, pero ya se conocen aspectos que ofrecen una imagen general bien definida. En el año de 1976 Page y Schroeder clasificaron en base a las características histopatológicas y

ultraestructurales de la enfermedad, cuatro etapas de la enfermedad: Inicial, temprana, establecida y avanzada ⁴³.

5.1. Lesión inicial.

Uno de los principales problemas para comprender la patogenia de la enfermedad periodontal ha sido la incapacidad para distinguir claramente entre los tejidos normales y los alterados patológicamente. En otras palabras, no ha sido posible determinar con exactitud cuando comienza la enfermedad. Este problema fue reconocido hace casi más de medio siglo, y aún no ha sido resuelto completamente. En ausencia de datos o pruebas definitivas, se ha sostenido, generalmente, que las características de la lesión inicial solamente reflejan niveles aumentados de actividad de los mecanismos de defensa normales del hospedero que operan dentro de los tejidos gingivales.

En situaciones experimentales en las que los tejidos humanos se mantienen libres o relativamente libres de placa dentobacteriana pueden observarse pequeñas cantidades de leucocitos que se desplazan hacia el surco gingival y que residen dentro del epitelio de unión. Estas no se acompañan por manifestaciones de daño tisular detectable en el microscopio de luz o ultraestructuralmente, no forman un infiltrado y por lo tanto, su presencia no se considera un cambio patológico.

La lesión inicial se localiza en la región del surco gingival. Los tejidos afectados incluyen una porción del tejido epitelial de unión, el epitelio del surco bucal y la porción más coronaria del tejido conjuntivo. Las características son:

- 1.- Vasculitis clásica de vasos bajo el epitelio de unión.
- 2.- Exudación de líquido del surco gingival.
- 3.- Aumento de la migración de leucocitos hacia el epitelio de unión y surco gingival.
- 4.- Presencia de proteínas séricas, especialmente fibrina extravascular.
- 5.- Alteración de la porción más coronaria del epitelio de unión.
- 6.- Pérdida de colágeno perivascular.
- 7.- Los cambios son característicos de una reacción inflamatoria exudativa aguda clásica.

5.2. Lesión temprana.

Esta lesión se confunde y evoluciona a partir de la lesión inicial sin una línea divisoria clara.

El área de tejido conjuntivo afectado puede diferenciarse claramente del tejido normal circundante por la presencia de células inflamatorias y la disminución del contenido del colágeno.

La porción mayor de las células del infiltrado inflamatorio son linfocitos (74%) y muchos de estos son de tamaño intermedio, lo que indica que puede estar ocurriendo una transformación blástica y diferenciación en linfocitos sensibilizados T y B, así como en células plasmáticas. Existe una correlación positiva entre las cantidades cada vez en aumento de linfocitos e inmunoblastos de tamaño intermedio con el incremento de tamaño de los fibroblastos. Parece ser que un componente importante en el desarrollo de la lesión temprana puede ser una forma de hipersensibilidad celular a los antígenos derivados de la placa.

Las características de esta etapa son:

- 1.- Incremento de las características descritas para la lesión inicial.
- 2.- Acumulación de células linfoides inmediatamente abajo del epitelio de unión en el sitio de inflamación aguda.
- 3.- Alteraciones citopáticas en fibroblastos residentes posiblemente asociado con interacciones de células linfoides.
- 4.- Mayor pérdida de la red de fibras colágenas que apoyan la encía marginal.
- 5.- Comienzo de la proliferación de las células basales del epitelio de unión.

5.3. Lesión establecida.

La característica que distingue a la lesión establecida es el predominio de células plasmáticas dentro de los tejidos conectivos afectados en una etapa anterior a la pérdida ósea extensa. Las características de la lesión temprana siguen presentes y amplificadamente. La lesión aún se encuentra centrada alrededor del fondo del surco y limitada a una porción relativamente pequeña del tejido conjuntivo. El epitelio de unión y el surco bucal pueden proliferar y emigrar hacia el tejido conjuntivo infiltrado y a lo largo de la superficie radicular, convirtiéndose en epitelio propio de una bolsa, los

vasos sanguíneos penetran dentro del mismo de tal forma que pueden estar separados del ambiente externo por solo una o dos células epiteliales.

Las características se enumeran como sigue:

1. Persistencia de las manifestaciones de la inflamación aguda.
2. Predominio de células plasmáticas pero sin pérdida ósea apreciable.
3. Presencia de inmunoglobulinas extravasculares en los tejidos conjuntivos y en el epitelio de unión.
4. Pérdida continua de la sustancia del tejido conjuntivo observada en la lesión incipiente.
5. Proliferación, migración y extensión lateral del epitelio de unión, puede o no existir la formación temprana de una bolsa periodontal.

5.4. Lesión avanzada.

Las características clínicas son:

Formación de bolsa periodontal, ulceración y supuración superficial, fibrosis gingival, destrucción del hueso alveolar y del ligamento periodontal, movilidad dentaria y desplazamiento, pérdida y exfoliación eventual de los dientes.

Las características histopatológicas incluyen:

- 1.- Persistencia de características descritas para la lesión establecida.
- 2.- Extensión de la lesión hacia el hueso alveolar y ligamento periodontal con pérdida importante de hueso.
- 3.- Pérdida continua de la colágena bajo el epitelio de la bolsa con fibrosis en sitios más distantes.
- 4.- Presencia de células plasmáticas alteradas patológicamente en ausencia de fibroblastos alterados.
- 5.- Formación de bolsas periodontales.
- 6.- Períodos de remisión y exacerbación.
- 7.- Conversión de la médula ósea distante a la lesión en tejido conjuntivo fibroso.
- 8.- Manifestaciones generales de reacciones tisulares inflamatorias e inmunopatológicas.

6. Modelos de progresión de periodontitis.

Desde un punto de vista metodológico es conveniente adoptar un modelo que tome en consideración los diferentes factores involucrados en el proceso patogénico de periodontitis lo que forma parte de un paradigma científico actual esto es, los mecanismos patogénicos como ciencia básica constituyen una herramienta fundamental en relación a diagnóstico, prevención y tratamiento por lo tanto, es indispensable adoptar una posición definida dentro del marco científico relacionado.

La aplicación de un método en general implica un sistema de supuestos y reglas que se proponen para descubrir y comprobar la verdad ⁴⁴.

Lo anterior contrasta con la “técnica” en que ésta última es un sistema de supuestos y reglas que permiten hacer bien una cosa y se justifica exclusivamente en función de su utilidad práctica, a diferencia del método que se propone para descubrir y probar la verdad ⁴⁴.

La necesidad de adoptar un modelo en relación a Periodontitis crónica se basa en que las técnicas son herramientas especiales que se fundan en teorías científicas involucradas en un método ⁴⁵ y en que el estudio de la patogenia de la enfermedad periodontal sigue un paradigma científico el cuál involucra el desarrollo de diferentes modelos de evaluación por medio de los cuales se aplican las técnicas disponibles bajo ciertas reglas predeterminadas ⁴⁶.

Desde un punto de vista epidemiológico se han desarrollado métodos en el área de salud los cuales nos ayudan a identificar “*Sujetos de alto riesgo*” para desarrollar un proceso patológico.

El definir el proceso de identificación de sujetos de alto riesgo ha hecho proponer la aplicación de cuatro pasos:

- 1.- Detectar factores que estén asociados a la enfermedad.
- 2.- Desarrollo de un modelo de evaluación de riesgos colocando juntos los factores de riesgo (evaluación).
- 3.- Perfilar grupos dentro de poblaciones para detectar factores incluidos en el modelo.
- 4.- Aplicación ⁴⁷.

La periodontitis como enfermedad crónica se caracteriza por la interacción a largo plazo entre el hospedero y su medio ambiente por lo que involucra varias características complejas ⁴⁷.

De manera genérica se sugiere la aplicación de una “**matriz etiológica**” pre-definida para las enfermedades crónicas la cual toma en cuenta los siguientes aspectos:

- 1.- Virulencia del microorganismo o el agente.
- 2.- Resistencia o susceptibilidad del hospedero.
- 3.- Condiciones ambientales: estructura social, manejo de emociones, dieta, cuidados de salud y conflictos ²².

Esta se puede considerar la estructura básica común a la mayoría de los modelos aplicados actualmente en el estudio de la patogénia de la Periodontitis.

La información que sustenta cada uno de los modelos metodológicos para periodontitis está basada en la aplicación previa de una buena cantidad de estudios transversales y longitudinales los cuales toman en consideración entre sus variables los diferentes factores de riesgo involucrados ²³.

Todos los modelos metodológicos involucran diferentes marcadores de riesgo. Los marcadores de riesgo relacionados con periodontitis se clasifican en: Indicadores de riesgo, factores de riesgo y predecesores de riesgo.

1. Riesgo, probabilidad de desarrollar enfermedad bajo un período específico de tiempo ⁴⁸.
2. Indicador de riesgo. Son variables que no son necesariamente etiológicas de periodontitis pero sí están asociadas con la misma.

Es el marcador que ha sido apoyado con mayor frecuencia por estudios transversales los que asocian razones de momios elevadas ⁴⁹.

3. Factor de riesgo. Son las características que se consideran como participantes en una relación causa-efecto.

Se definen en estudios longitudinales en los que el resultado es la pérdida de inserción clínica en una periodontitis.

4. Predecesores de riesgo. También son características que se identifican en estudios longitudinales pero no son necesariamente un causal de periodontitis.

En el año de 1994 Zambon y cols.⁵⁰ describieron el paradigma relacionado⁴⁹ con la patogénesis de enfermedad periodontal tomando en cuenta seis aspectos.

El evento inicial e ineludible constituye la infección subgingival con la presencia de bacterias específicas provenientes de otros miembros familiares, posteriormente la colonización de toda la mucosa y en especial del epitelio del surco gingival se favorece por factores bacterianos como las fimbrias y por factores del hospedero como las moléculas salivales. Además, especies de periodontopatógenos pueden inclusive invadir la encía como el *Actinobacillus actinomycetencomitans*, evadir los mecanismos de defensa produciendo leucotoxinas o factores que suprimen los linfocitos, y destruir los tejidos periodontales a través de factores de virulencia como la colagenasa y otras enzimas.

Todo lo anterior conlleva a la presencia clínica de signos y síntomas de inflamación lo que sugiere el establecimiento de una terapia periodontal específica.

Sin embargo, la enfermedad periodontal como otras enfermedades crónicas es recurrente, esta recurrencia se ve facilitada por la retransmisión de especies patógenas en pacientes los cuales ya han sido erradicados los patógenos infectantes.

Por lo anterior, el paciente puede entrar en un ciclo de infección, terapia de antiinfección, reinfección y retratamiento

(Ver diagrama No. 1).

Este diagrama representa los diferentes aspectos involucrados en el paradigma actual en el que se basan los diferentes modelos específicos de patogenia de enfermedad periodontal.

Las enfermedades crónicas son el resultado de las interacciones a largo plazo entre el hospedero y su medio lo que involucra características específicas. El proceso patológico en una periodontitis comparte muchas de estas. Los aspectos sobresalientes son: 1) La interacción hospedero-parásito, 2) la etiología multifactorial más que única, 3) Que el mecanismo que define la asociación entre un factor ambiental y una enfermedad específica no es fácil de determinar, 4) Que el proceso de enfermedad es un fenómeno físico y biológico que ocurre en un contexto social y refleja la íntima asociación entre las personas. La etiología de las enfermedades periodontales es multifactorial por lo que son el resultado de la interacción entre factores ambientales,

bacterianos y del hospedero, entre otros ⁵¹. Se han desarrollado modelos que se aplican a enfermedad periodontal que involucra factores sistémicos y a la periodontitis crónica, anteriormente periodontitis del adulto ⁵².

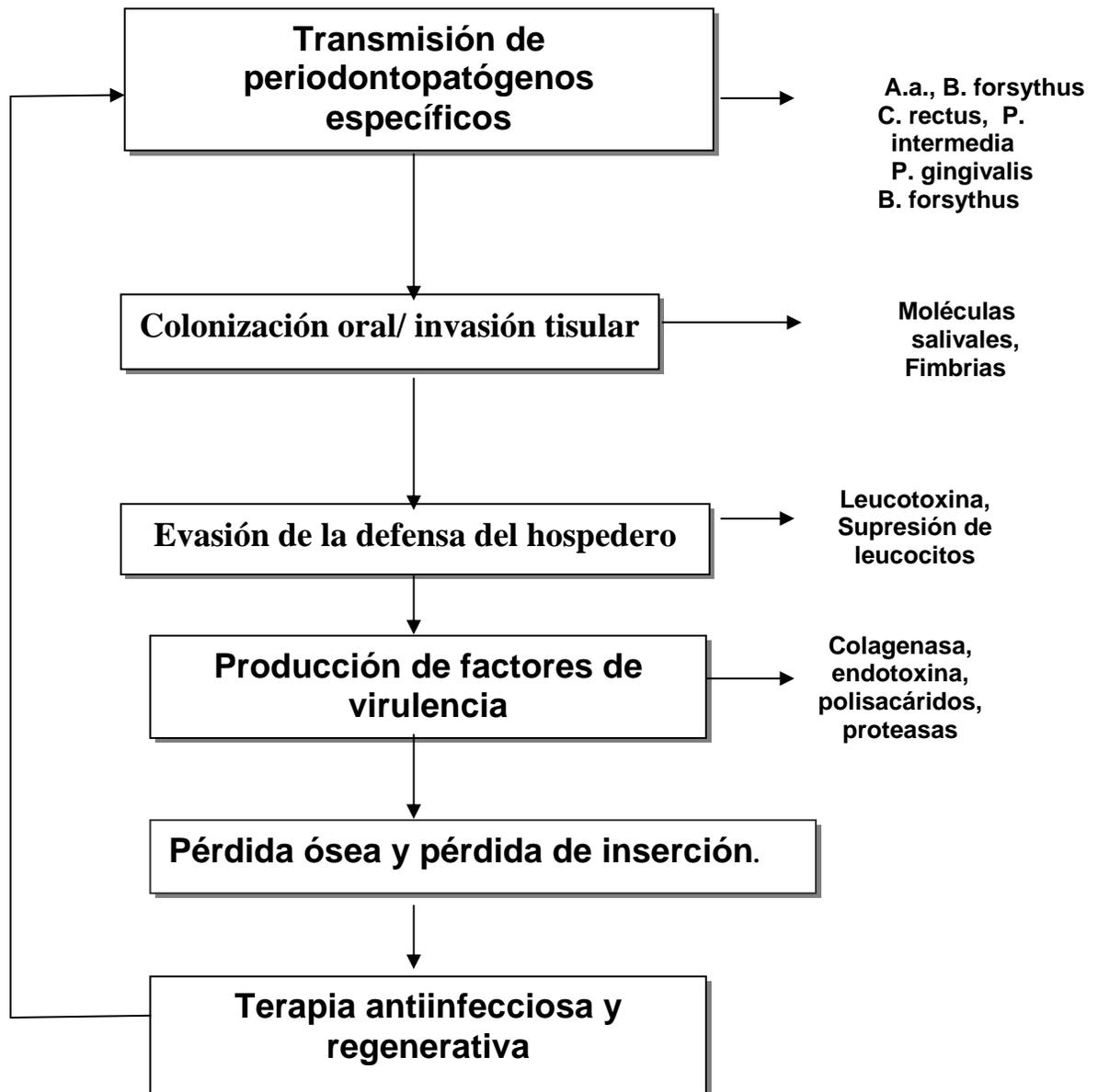


Diagrama No. 1. Fuente: Zambon y cols, 1994 (50)

El factor microbiológico, en presencia de placa dentobacteriana que involucra la transmisión y colonización bucal de los periodontopatógenos es una constante ineludible en la aplicación de todos los modelos desarrollados hasta ahora, así como también, los factores relacionados con la destrucción que se define de manera indirecta por la interacción entre la acumulación microbiana y la respuesta inflamatoria y procesos inmunes involucrados ^{53,54}. De manera específica están participando ocho factores que se pueden considerar como constantes ⁵²: 1) Flora normal, en la que puede haber modificaciones por la participación de una higiene bucal deficiente o la definición de una infección exógena, tomando en consideración de manera importante la participación de la respuesta del hospedero como un factor que puede modificar específicamente la flora; 2) Flora patógena, la cual es capaz de amplificar la respuesta defensiva en el surco gingival, participando tanto la respuesta vía anticuerpos o la eliminación de los agentes nocivos por parte de los neutrófilos. Lo anterior puede limitarse a la presencia de gingivitis y no progresión a periodontitis o puede haber penetración bacteriana e inicio de periodontitis; 3) Limpieza neutrofílica; 4) Penetración bacteriana cuando la defensa neutrofílica es librada las bacterias o sus productos penetran los tejidos y se puede iniciar la conversión de gingivitis a periodontitis; 5) Eje monocito-linfocito. Cuando el eje anticuerpo-neutrófilo no es suficientemente efectivo se favorece la proliferación bacteriana con una penetración más profunda de antígenos y productos bacterianos incrementando la activación de este segundo eje celular de defensa, monocito-linfocito; 6) Citocinas y mediadores de inflamación. Es claro que la estimulación del eje monocito-linfocito por medio de los lipopolisacáridos, dé como resultado la secreción de citocinas catabólicas y mediadores inflamatorios como prostaglandina E2 los cuales participan en la amplificación de los signos clínicos de inflamación, destrucción del tejido conjuntivo así como también en la pérdida de inserción clínica, pérdida ósea y formación de bolsa periodontal; 7) Inflamación y destrucción tisular y 8) Formación de bolsa periodontal ⁵².

7. Placa dentobacteriana.

La relación entre las acumulaciones microbianas y el desarrollo de enfermedad en la cavidad bucal ha sido reconocida desde hace varios siglos.

Es claro que en los últimos años se ha incrementado el interés por definir esta relación lo que ha mostrado que los microorganismos juegan un papel preponderante en la patogénesis tanto de caries como de enfermedad periodontal.

7.1. Depósitos dentales.

A) Película adquirida.

Definición. Constituye una película acelular, homogénea, membranosa que cubre la superficie dental y forma la interfase entre la superficie del diente, placa dental y cálculo. Está compuesta por glicoproteínas derivadas de la saliva.

B) Materia alba.

Definición. Es un depósito compuesto por la agregación de microorganismos, leucocitos, células epiteliales exfoliadas, organizada al azar, débilmente adherida al diente, placa y encía. Es un producto de acumulación más que de crecimiento bacteriano, puede ser eliminada por un enjuague vigoroso o por el spray de agua.

C) Placa microbiana.

Definición. La placa microbiana (placa dental) es aún difícil de definir, regularmente se describen los diferentes aspectos que la conforman. La placa es una entidad específica, altamente selectiva resultado de la colonización secuencial y crecimiento de microorganismos sobre superficies tales como dientes, tejido blando, restauraciones y aditamentos dentales. Es una placa vital, que constituye una comunidad de microorganismos consistente en numerosas especies y subespecies integradas en una matriz extracelular compuesta de productos del metabolismo bacteriano y sustancias derivadas del suero, saliva y alimentos. Es el resultado de la adherencia bacteriana y crecimiento más que de colonización. Se origina al colonizar las superficies por medio de mecanismos de adherencia selectiva de microorganismos individuales o grupos de

los mismos. Conforme pasa el tiempo la placa madura y se acumulan otros elementos como los microorganismos Gramnegativos, anaerobios y filamentos.

D) Cálculo dental.

Está constituido por placa dental muy adherente que se ha mineralizado. Tanto los microorganismos como la matriz se calcifican. La superficie libre o externa regularmente está cubierta por microorganismos vivos. Se han aplicado diferentes técnicas para analizar la placa dental, en general tienen por objeto cubrir los siguientes aspectos:

- 1.- Determinar cantidad, viabilidad e identidad de los microorganismos.
- 2.- Cambios en la microflora relacionados con la edad, maduración y patogenicidad de la placa.
- 3.- Uso de metabolitos por parte de las bacterias tales como sucrosa y la elaboración de materiales extracelulares incluyendo glucanos y sustancias tóxicas.
- 4.- Agregación y adherencia de los microorganismos entre ellos mismos y hacia las superficies dentales.

7.2. Toxicidad de la placa.

La identificación de sustancias tóxicas presentes en la placa dentobacteriana se inició inyectando intradérmicamente algunas bacterias de placa, placa completa o sustancias derivadas de la misma. También se ha evaluado la toxicidad y actividad biológica de las sustancias de la misma por ejemplo suspensiones de bacterias periodontopatógenas induciendo transformación blástica o evaluando respuesta quimiotáctica de leucocitos.

7.3. Película adquirida.

El tracto gastrointestinal incluyendo las superficies dentales están cubiertas completamente por una película que constituye una forma especializada de glucoproteína actuando como una envoltura. Su estructura es diferente a la de la placa. Microscópicamente es un material homogéneo, acelular, afibrilar, granular, de grosor variable que está en íntimo contacto con la superficie dental. Una vez realizado un

pulido de las superficies dentales esta cubierta se forma pocos minutos después de que la superficie hace contacto con saliva. Está compuesta probablemente por una fracción molecular particular de glucoproteínas salivales que se adsorbe selectivamente a la superficie de cristales de hidroxiapatita. Se considera que está libre de productos microbianos y que su componente principal es una fracción selecta o alterada de saliva. No está bien definido cual es el papel que juega la película en la homeostasis bucal normal y las alteraciones patológicas. Hace más resistente al esmalte ante la descalcificación ácida pero también se piensa que la formación de la misma constituye un paso inicial en la formación de placa microbiana.

7.4. Formación de placa.

Se definen tres pasos iniciales:

1. Colonización bacteriana sobre la superficie dental.
2. Formación de una capa de cocos predominando los grampositivos aerobios.
3. Colonización por parte de otras especies por medio de adherencia selectiva de manera especial gramnegativos facultativos o bastones y filamentos anaerobios y espiroquetas.

7.5. Colonización.

La deposición de placa y de película no son estrictamente consecuentes una de otra, por lo general la formación de la película precede a la colonización bacteriana pero hay variaciones por lo que la relación exacta no se ha logrado definir. Se conocen tres aspectos básicos:

1. Las glicoproteínas similares presentes en película y saliva favorecen la agregación bacteriana.
2. Los colonizadores bacterianos podrían alterar la superficie de la película, utilizándola como sustrato.
3. La película asociada a placa parece sufrir una digestión parcial.

El proceso de colonización desde un punto de vista estructural se define de dos formas:

1. Bacterias únicas o agrupaciones que se adhieren a la superficie por medio de adherencia selectiva, multiplicándose, formando colonias discretas.
2. Sobresalen cultivos mezclados bien definidos de áreas retentivas como fosetas y fisuras, se inicia crecimiento y maduración con replicación microbiana, agregación y coagregación de especies específicas.

Los factores relacionados con la colonización inicial y aquellos que regulan el crecimiento subsecuentes son diferentes por lo mismo existen reportes relacionados con las propiedades bacterianas de adherencia definida específicamente (habilidad de varias especies para adherirse al epitelio oral y a las superficies dentales).

7.6. Crecimiento y maduración.

En el año de 1975 Listgarten y cols. definieron cuatro pasos en el proceso de maduración de placa después de 60 días.

1. Crecimiento y coalescencia de las colonias discretas iniciales.
2. Crecimiento continuo por aposición mediante adherencia a la superficie del diente y placa.
3. Incremento en la complejidad.
4. Acumulación de sales inorgánicas con la formación de sarro.

Conforme el proceso avanza se han descrito diferentes fases relacionadas con el grado de variación en la calidad y cantidad de los colonizadores.

En la fase inicial se han aislado cocos y bacilos cortos grampositivos, *Neisseria* y *Nocardia*. Al transcurrir de 1 a 3 días los cambios cualitativos y cuantitativos se hacen cada vez más evidentes, aparecen cantidades importantes de microorganismos gramnegativos, anaerobios, filamentosos y espirilados. Una última etapa se define entre 6 a 10 días, apareciendo vibrios y espiroquetas, aumentando los gramnegativos anaerobios.

7.7. Agregación y coagregación.

Se han logrado definir agregaciones y coagregaciones específicas entre los componentes bacterianos de placa como son todos los microorganismos que presentan facilidad para adherirse a la superficie del esmalte, raíz, película o placa de

manera específica. La aglutinación de *Actynomices viscosus* es en presencia de dextranos o la coagregación entre *Bacteroides intermedius* y varios *Actynomices*. También la formación de coagregaciones en forma de mazorca de maíz y en cerdas de cepillo. Así como, la adhesión o agregación depende de factores ecológicos como tiempo, temperatura, concentración, pH y calcio, parecen estar involucradas también adhesinas unidas a proteínas, conocidas como lectinas sobre la bacteria y receptores parecidos a la galactosa sobre la superficie epitelial.

Todo definido por la habilidad de estos microorganismos para manipular su medio ambiente estableciendo interrelaciones y comunicación que modifica todo el comportamiento de la colonización.

7.8. Características arquitectónicas generales.

El componente bacteriano está compuesto por múltiples especies dispuestas linealmente como son los cocos o perpendicularmente, filamentos, una matriz que puede ser granular, globular o fibrilar, presente entre las bacterias, algunas veces existen sobre la superficie células epiteliales, leucocitos y restos alimenticios.

Todo puede integrar sales minerales gradualmente.

8. Interfase placa-diente.

Está constituida por material electro denso, irregular.

Puede haber placas que no lo presentan por lo que la relación patogénica entre diferentes interfases, maduración y alteraciones patológicas sobre la superficie del diente o encía no se ha definido claramente.

8.1. Capa microbiana.

Es una región de acumulación bacteriana adyacente a la interfase diente-placa, caracterizada por la presencia de cocos, bacilos cortos, discreta matriz extracelular y formaciones en forma de “cepillo” y “mazorca de maíz”. Se le describe con el nombre de “estrato microbiano condensado”. Es importante ya que participa en el futuro crecimiento por aposición de placa supragingival y establece contacto directo con el tejido blando, leucocitos, restos alimenticios y células epiteliales.

8.2. Matriz extracelular.

Los microorganismos están integrados en una matriz compleja que contiene material elaborado por bacterias, saliva y fluido crevicular. Es importante por 4 aspectos principalmente:

- 1.- Sirve como estructura para formar una masa coherente de microorganismos.
- 2.- Es un almacén para carbohidratos fermentables extracelulares.
- 3.- Altera la difusión dentro y fuera de toda la estructura.
- 4.- Contiene sustancias que inducen inflamación.

Sustancias tóxicas como las enzimas proteolíticas, sustancias antigénicas, endotoxinas. Contiene material fibrilar con alto contenido de glucoproteínas, azúcares y lípidos, esta composición en general parece depender del contenido bacteriano que presenta, por ejemplo, altas concentraciones de gramnegativos, se observan vesículas unidas a la membrana las cuales contienen endotoxinas u otras sustancias tóxicas ⁵⁵. El material fibrilar está asociado con estreptococos especialmente en el “estrato condensado”.

8.3. Morfología y estructura de anaerobios de pigmentación negra.

a) *Porphyromonas gingivalis*. Esta bacteria tiene características morfológicas que varían, si se observa en solución acuosa es un cocobacilo corto, ultraestructuralmente son bastones, con muchas vesículas en los espacios extracelulares, la superficie celular tiene una cubierta externa de material electrodensa en contacto con la membrana celular externa. Su estructura en la pared celular es la típica de una bacteria gramnegativa.

b) *Prevotella intermedia*. Generalmente es un bacilo parecido a *Porphyromonas gingivalis*, se observan estructuras membranosas aisladas entre las células. Ultraestructuralmente tienen una cubierta superficial electrodensa separada de la pared celular por un espacio claro electrolúcido.

Estas dos bacterias se diferencian de algunas especies parecidas no-bucales en el hecho de que desarrollan una cápsula externa electrodensa a la membrana.

B. BACTERIAS PERIODONTOPATÓGENAS

1. Microbiología de la Enfermedad Periodontal.

Las primeras observaciones con microscopios rudimentarios fueron realizadas por Antonio Van Leeuwenhoek utilizando muestras de placa dental. Los iniciadores del estudio de las bacterias como factor relacionado con la etiología de la enfermedad periodontal fueron Roberto Koch y Willoughby Dayton Miller en Berlín (1890), consideraban que la “*Piorrea Alveolaris*” no era causada por una bacteria específica.

Los primeros veinticinco años del estudio de placa dentobacteriana tomaron en cuenta varios microorganismos como: amibas, espiroquetas, estafilococos y *Bacterium melaninogenicum*^{56,57}. Posteriormente, hasta los años cincuentas la mayoría de los estudios tomaron en cuenta factores oclusales, cálculo dental y disminución en las defensas del hospedero. Varios de los estudios realizados por el Dr. Jens Waerhaug en los años setentas sirvieron como evidencia importante entre el desarrollo de la enfermedad periodontal y acumulación de placa dentobacteriana adyacente a la lesión⁵⁸. Todo apoyando la teoría “**no específica**” de la placa dentobacteriana.

A mediados de los años setentas y hasta los años ochentas la tecnología permitió que se asociaran la presencia de diferentes floras relacionadas con diversas condiciones patológicas periodontales (Periodontitis juvenil, Periodontitis Rápidamente Progresiva), Los mismos han sido la base que sustenta actualmente la teoría de placa “específica”^{59,60}. La enfermedad periodontal en el humano se ha asociado con una flora mixta y compleja de la cual se han aislado más de 350 especies bacterianas diferentes, algunas lesiones permiten el crecimiento de *Entamoeba*, *Tricomonas* y *Cándida* pero la lesión periodontal es básicamente bacteriana⁶¹. La gingivitis parece estar asociada a una flora “mixta” esto es, acumulación intensa de placa dentobacteriana adyacente al margen gingival, el desarrollo de periodontitis y de sitios con deterioro periodontal activo están asociados a bacterias y grupos específicos de las mismas^{62,63}. Probablemente las nuevas subespecies, genotipos y serotipos de estos microorganismos participen de alguna manera en la patogenia de gingivitis y periodontitis⁶⁴.

Ningún periodontopatógeno debido a la falta de un modelo metodológico apropiado ha cumplido con los postulados de Koch para poder relacionar una bacteria con Periodontitis. Conforme aumenta la severidad de la enfermedad aumentan de manera importante las proporciones de bacterias anaerobias, gramnegativos y móviles.

Tabla No. 3. ESPECIES SUBGINGIVALES ASOCIADAS CON SALUD, GINGIVITIS Y PERIODONTITIS

SALUD	GINGIVITIS	PERIODONTITIS
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> Serotipo b.
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Bacteroides forsythus</i>
<i>Streptococcus gordonii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Espiroqueta PRO</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Prevotella loescheii</i>	<i>Campylobacter rectus</i>
<i>Rothia dentocariosa</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>Peptostreptococcus micros</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Eubacterium nodatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum sp. vicentii</i>
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>	<i>Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Selenomonas noxia</i>
<i>Peptostreptococcus micros</i>	<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Selenomonas flueggeii</i>
<i>Eubacterium nodatum</i>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	Especies entéricas
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	<i>Fusobacterium nucleatum sp. nucleatum</i>	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> Serotipo a
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	<i>Eubacterium brachy</i>	<i>Lactobacillus uli</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Fusobacterium nucleatum sp. polymorphum</i>	<i>Veillonella parvula</i>
	<i>Eikenella corrodens</i>	

FUENTE. Darveau y cols. 1997⁶⁴.

En los años ochentas y noventas fueron reconocidos como periodontopatógenos importantes bacterias como son *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (tabla No. 3) ^{57,61,64}.

Debido a la naturaleza de la microbiota bucal que es mixta (grampositivos, gramnegativos, anaerobios y aerobios, principalmente), de la enfermedad periodontal se han logrado aislar agrupaciones y bacterias específicas en mayores proporciones de sitios que presentan actividad de enfermedad comparado con sitios inactivos. Toda esta serie de eventos relacionan factores como placa dentobacteriana y respuesta de defensa del hospedero los que establece la susceptibilidad del mismo. El concepto de “película biológica” es una propuesta en el proceso patogénico de enfermedad periodontal. La película biológica involucra poblaciones bacterianas adherentes entre sí

y con superficies o interfases constituyendo comunidades ecológicas que permiten la supervivencias de la comunidad como un todo. La presencia de microcolonias, la posibilidad de desarrollar una envoltura o matriz extracelular adhesiva, y la comunicación por medio de canales acuosos interconectando, son algunas de las características básicas que permiten que las microcolonias no actúen como entidades individuales y por lo tanto puedan establecer cooperación metabólica propiciando la conservación en el medio bucal condiciones favorables. El hecho de que la placa sea una película biológica, crea la necesidad (desde el punto de vista patogenia) de conocer el porqué algunas especies bacterianas requieren la presencia de una o muchas otras especies para sobrevivir y en otros casos la presencia de una especie dada precede la presencia de otra, y sobre todo cuales y en que posible secuencia se van estableciendo. Se ha definido el papel específico de algunas bacterias en el proceso de formación de las películas biológicas subgingivales, colonización y sobrecrecimiento de especies específicas ⁶⁴. Aplicando diseños epidemiológicos tanto trasversales como longitudinales se han logrado relacionar los APN (grupo en el que se encuentran *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens*, tanto con estados de salud como de enfermedad ^{23,63,65}. Los patrones de recuperación bacteriana en esta relación se han mostrado incongruentes ^{66,67,68}. La aplicación de técnicas de identificación de nuevas especies bacterianas han hecho pensar que la incongruencia en los resultados estaba relacionada con la limitante de no poder identificar nuevas subespecies.

2. Anaerobios de pigmentación negra.

Existen perfiles microbiológicos relacionados entre flora subgingival y diferentes situaciones clínicas (tablas No. 1 y 2). La aplicación del cultivo microbiológico ha sido una de las técnicas de identificación más importantes para conocer lo anterior. Varias técnicas más han sido utilizadas: microscopia directa, inmunofluorescencia, campo oscuro, contraste de fase, gram y sondas de ADN ⁶⁹. La Periodontitis crónica ha mostrado proporciones elevadas de anaerobios 90%, organismos gramnegativos 75% y espiroquetas 30% ⁶¹. *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Prevotella pallens* son microorganismos que presentan colonias

pigmentadoras que van del pardo claro al negro en los aislamientos en platos de cultivo de agar sangre por lo que se les describe como anaerobios de pigmentación negra (APN). Estos microorganismos han sido reconocidos como patógenos importantes en enfermedad periodontal (tabla No. 2).

3. Morfología y estructura de anaerobios de pigmentación negra.

3.1. *Porphyromonas gingivalis*. Esta bacteria en diversos medios de cultivo, tiene morfología variada, en solución acuosa se observa como un cocobacilo corto, ultraestructuralmente se ven como bastones, con muchas vesículas en los espacios extracelulares. La superficie celular desarrolla una cubierta externa de material electrodensa que se encuentra en contacto con la membrana celular externa. Las características de estructurales de su pared celular es la típica de una bacteria gramnegativa.

3.2. *Prevotella intermedia*. Generalmente es un bacilo parecido a *P. gingivalis*, se observan estructuras membranosas aisladas entre las células. Tienen una cubierta superficial electrodensa separada de la pared celular por un espacio claro electro lúcido. Estas dos bacterias se diferencian de algunas especies parecidas no-orales en el hecho de que desarrollan una cápsula externa electrodensa a la membrana.

3.3. *Prevotella nigrescens*. Se considera un microorganismo diferente a nivel de especie en relación a *Prevotella intermedia*. y aún está incluido en el grupo de APN.

Se ha analizado la presencia del grupo APN en diferentes poblaciones, en esos subgrupos poblacionales, de distintos países tanto desarrollados como en vías de desarrollo por medio de la aplicación de diferentes técnicas de aislamiento e identificación microbiológica.

Los estudios realizados en los años setentas destacan la presencia de agrupaciones bacterianas y bacterias específicas asociadas a enfermedad periodontal ^{3,4,11}. Algunos otros mostraron posteriormente variaciones relacionadas con un “perfil” microbiológico que pudo considerarse único. Los medidores clínicos de enfermedad periodontal coincidían con las bacterias asociadas, así como también con la profundidad de bolsa, nivel de inserción, sangrado y encontradas previamente en sitios clínicamente sanos y

enfermos cada uno de los cuales presentaban un perfil diferente. Algunos otros estudios han permitido aislar periodontopatógenos como los que incluye el grupo APN en sitios los cuales no se esperaba una recuperación elevada de los mismos.

Tabla No. 2 Asociación entre bastones anaerobios de pigmentación negra (APN) y enfermedades periodontales (datos obtenidos de 14 publicaciones). Fuente: Slots y Taubman, 1992 ⁶¹

PERIODONTO	No. de sitios infectados/No. de sitios evaluados.	Porcentaje de especies APN cultivables en sitios enfermos.	Especies de APN predominantes.
Salud/ gingivitis leve.	37/38 (43%).	6	<i>Prevotella intermedia.</i>
Gingivitis crónica/ periodontitis leve.	40/53 (75%).	13	<i>Prevotella intermedia.</i>
Periodontitis del adulto.	142/171 (83%).	26	<i>Porphyromonas gingivalis,</i> <i>Prevotella intermedia.</i>

IV. Planteamiento del problema

El proceso patogénico en la **Periodontitis** involucra aspectos aún desconocidos, muy variados, que establecen una interacción compleja entre sí mismos en dicho proceso. En un mismo paciente con enfermedad periodontal se pueden encontrar sitios con la “enfermedad activa” y sitios “sin actividad” de la enfermedad. Por lo que es importante establecer ¿si ambos sitios de un mismo paciente cuentan con el mismo tipo de microbiota? o ¿si la microbiota es diferente en cantidad y morfología en base a cada uno de los sitios identificados como activos y sin actividad? y si se podrían emplear como indicadores o predictores de riesgo para la progresión de la enfermedad.

Previamente a lo anterior es conveniente conocer la prevalencia de grupos o bacterias específicas asociadas a las diferentes patologías periodontales y en este caso particular a dos formas clínicas de enfermedad periodontal: Periodontitis Localizada y Periodontitis Generalizada.

V. Justificación.

Además, una vez corroborada su presencia y asociación con la enfermedad será conveniente enmarcarlos en una matriz etiológica bajo un modelo de evaluación de riesgos, multivariado que identifique como se combinan entre sí para también definir los grupos poblacionales en alto y bajo riesgo para desarrollar enfermedad periodontal. De manera particular, los microorganismos anaerobios tales como los que se encuentran dentro del grupo de APN participan en el mecanismo patogénico de la Periodontitis crónica.^{2,10,12,17,18,19,20,21}

Existe una cantidad importante de estudios cruzados o transversales y longitudinales los cuales por medio de la aplicación de diferentes técnicas de aislamiento e identificación bacteriana, principalmente cultivo en medios selectivos y sondas de ADN, han permitido detectar la presencia de estas bacterias en cantidades elevadas en muestras provenientes de sitios enfermos^{33,34,36,37,57,68}. La evidencia derivada de estudios realizados en países desarrollados indica que la Periodontitis crónica está caracterizada por un perfil bacteriano determinado pero con variaciones, también existen datos que sugieren que los perfiles microbiológicos observados en países en desarrollo son diferentes a los primeros^{29,35-43, 70}.

Aunado a lo anterior, las estrategias para prevenir y controlar las enfermedades periodontales se basan en como estas se originan y progresan, considerando la importancia de observar estas características en la población mexicana ya que se puede sospechar la presencia de un perfil microbiológico único.

Existen resultados controversiales en el análisis de poblaciones, muestreos dentro de la misma boca, y en los mismos sitios individuales muestreados además de varios detalles que no han sido fáciles de definir como “presencia de sitios con actividad de enfermedad” o “sin actividad de la enfermedad” en un mismo individuo o la participación en modelos multivariados en poblaciones específicas entre el factor microbiológico y el resto de los factores involucrados.

VI. Hipótesis

H1. Existen diferencias entre cada una de las mediciones clínicas y los conteos bacterianos de APN comparando el sitio de estudio y el sitio control en la Periodontitis Generalizada y Localizada.

H0. No existen diferencias entre cada una de las mediciones clínicas y los conteos bacterianos de APN comparando el sitio de estudio y el sitio control en la Periodontitis Generalizada y Localizada.

VII. OBJETIVOS.

Objetivo general

Determinar el tipo y cantidad de microbiota aislada, y relacionarla entre las diferentes características clínicas del sitio de estudio y del sitio control en la periodontitis generalizada y localizada en pacientes que acuden a la Clínica de Admisión de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Objetivos específicos

1. Cuantificar número de colonias en los aislamientos provenientes de todos los sitios muestreados.
2. Identificar tipo de microorganismos con medios de cultivo selectivos y diferenciales presentes en los sitios muestreados
3. Levantar los índices clínicos: Índice gingival, índice de placa, profundidad de sondeo, niveles de inserción clínica, y presencia o ausencia de sangrado.
4. Establecer la prevalencia de microorganismos en los diferentes sitios muestreados.
5. Establecer correlación entre variables clínicas y microorganismos.

VIII. METODOLOGÍA

1. Tipo de estudio.

Observacional, transversal, descriptivo, comparativo y analítico.

Población de estudio. Pacientes sin predilección de género que acuden a la Clínica de Admisión de la División de Estudios Profesionales de la Facultad de Odontología de la UNAM en Ciudad Universitaria, y que fueron diagnosticados con enfermedad periodontal.

A. Selección de Pacientes

1. Criterios de inclusión

1. Pacientes con Periodontitis Crónica.
2. Sin terapia antibiótica en los últimos seis meses previos al estudio.
3. Sin tratamiento periodontal en los últimos seis meses previos al estudio.
4. De 19 años en adelante sin límite de edad.
5. No ser Diabéticos.

2. Criterios de exclusión

1. Pacientes con tratamiento ortodóncico o con aparatología protésica.
2. Pacientes con enfermedades sistémicas
3. Pacientes con procesos agudos de origen dental
4. Pacientes discapacitados

Definición operacional.

3. Sitio de estudio

Se define cuando cubre los siguientes criterios.

1. Pérdida de inserción $> \text{ó} = a$ 3mm.
2. Profundidad de bolsa periodontal $> \text{ó} = a$ 5 mm.
3. El sitio elegido debe registrarse como positivo (+) si sangra después de sondear.

4. Sitio control

Es cuando el sitio reúne los siguientes criterios

1. Debe ser contralateral al sitio prueba, elegido en la misma boca.
2. Pérdida de inserción $< \text{ó} = 2$ mm.
4. Profundidad de bolsa menor o igual a $< \text{ó} = 3$ mm.
5. Sin sangrado antes y después del sondeo.

La recolección de estos datos se realizó utilizando los formatos de los **ANEXOS No. 1**

5. Sitios de muestreo.

1. Sitio de estudio de la Periodontitis Generalizada
2. Sitio control (contralateral) de la Periodontitis Generalizada
3. Sitio de estudio de la Periodontitis Localizada
4. Sitio control (contralateral) de la Periodontitis Localizada.

Se realizó un muestreo de conveniencia con duración de seis meses quedando conformada la muestra por 18 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos anteriormente.

B. Variables.

1. Variables independientes.

1. Índice de placa.
2. Índice gingival.
3. Sangrado al sondeo, positivo o negativo (+ o -).
4. Profundidad de bolsa.
5. Nivel de inserción clínica.

2. Variables dependientes

1. Conteo del No. de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10-1.
2. Conteo del No. de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10-2.
3. Conteo del No. de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10-3.
4. Tipo de microbiota aislada

3. Definiciones operativas y escala de medición.

Variables independientes.

1. Índice de placa: El cual sirve para definir el grado de acumulación de placa dentobacteriana supragingival en relación a las superficies Mesial (M), Distal (D), Vestibular (Ve), y Lingual (Li) de un diente, con los parámetros de:

0 Placa inexistente

1 Placa inexistente a simple vista, evidente con la sonda.

2 Área gingival cubierta por placa delgada a moderadamente gruesa.

3 Acumulación pesada afectando área interdental.⁷¹

2. Índice gingival: Es una técnica empleada para definir el grado de intensidad de gingivitis y su localización en relación con las superficies M, D, Ve y Li aplicando los siguientes criterios:

0 Encía normal.

1 Inflamación leve con ligero cambio de color, ligero edema, sin hemorragia.

2 Inflamación moderada, zona eritematosa, edema evidente, superficie brillante y hemorragia.

3 Inflamación grave, intensa zona eritematosa, edema, ulceración y tendencia a la hemorragia espontánea.⁷²

3. Sangrado: Se consideró como positiva (+) la existencia de hemorragia mínima después de retirar la sonda se considera una observación positiva (+). Cuando la hemorragia no aparece después de retirar la sonda se considera una observación negativa (-).

Tipo de variable: Dicotómica.

4. Profundidad de bolsa. Registro de profundidad de surco o bolsa periodontal que se refiere a la distancia entre el margen gingival y la máxima profundidad de penetración de la sonda.

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

5. Nivel de inserción clínica. Registro que indica la distancia entre unión cemento esmalte y máxima profundidad de penetración de la sonda.

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Variables dependientes.

1. Conteo del número de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10^{-1} . Registro dividiendo en cuadrantes el plato de cultivo una vez montado en un contador de colonias. Se registra cada colonia con un contador celular manual.

Este plato de cultivo corresponde a la primera de las tres diluciones decimales seriadas.

Tipo de variable: Cuantitativa.

2. Conteo del número de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10^{-2} . Registro dividiendo en cuadrantes el plato de cultivo una vez montado en un contador de colonias. Se registra cada colonia con un contador celular manual.

Este plato de cultivo corresponde a la segunda de las tres diluciones decimales seriadas.

Tipo de variable: Cuantitativa.

3. Conteo del número de colonias observadas en los platos de cultivo en la dilución 10^{-3} . Registro dividiendo en cuadrantes el plato de cultivo una vez montado en un contador de colonias. Se registra cada colonia con un contador celular manual.

Este plato de cultivo corresponde a la tercera de las tres diluciones decimales seriadas.

Tipo de variable: Cuantitativa.

C. Métodos de recolección de datos

Se elaboraron cédulas pre-codificadas para realizar el levantamiento de datos en la selección tanto de sujetos como de dientes y sitios de estudio tomando en consideración todas las **variables clínicas** y criterios tanto de inclusión como de exclusión (**Anexos No. 2, 3 y 4**).

También se realizaron cédulas para el levantamiento de los datos de laboratorio los cuales incluían el conteo de colonias en cada una de las diluciones y la respuesta positiva o negativa a la tinción de Gram (**Anexo No. 5**).

D. Material y equipo

Instrumental clínico

Espejos dentales del No. 5 con mango (Hu-Friedy).

Pinzas de curación (Hu-Friedy).

Sondas periodontales “Goldman Fox-Williams” (PCP GF/W, Hu-Friedy).

Curetas: Mc Call No. 17/18, 13/14. Gracey No1/2, 11/12 (Hu-Friedy).

Equipo

Cuenta colonias con iluminación, cuadrícula y soporte para fijar el plato de cultivo

Contador celular manual.

Agitador Vortex Scientific industries.

Estufa bacteriológica.

Balanza granataria Ohaus Scale Corp.

Balanza analítica Sartorius-Werke AG, Germany.

Sistema Gas-Pak⁷³ 100 TM y 150 TM. (BBL Diagnostics. Beckton Dickinson de México, S.A de C.V.).

Asas bacteriológicas.

Soporte para viales de aluminio con capacidad para 15 viales

Micropipeta 50/100/200 mL. Vitek, inc. Hazelwood.

Mechero

Algodoneras metálicas

Cristalería

Tubos de ensayo.

Perlas de vidrio de 0.5 mm. de diámetro.

Medios de transporte y cultivo

Medio Stuart (Bioxon).
Tryptic soy agar (Difco laboratorios).
Hemin (Sigma Chemical Co.)
Kanamicina (Kantrex, Bristol-Myers Squibb de México).
Menadiona. (Konakion, Roche).
Sangre de conejo (Microlab, México).

Consumibles

Viales con capacidad de 2 mL. (SIGMA).
Cajas de Petri
Puntas endodónticas de papel absorbente del No. 40.
Rollos de algodón para uso dental

D. Procedimiento.

Se aplicó el método de muestreo por medio de puntas endodónticas de papel absorbente, éstas son de aproximadamente 300 micrones de diámetro. El sitio muestreado se aisló para prevenir contaminación del mismo con saliva, posteriormente se secó con un chorro de aire, se eliminó la placa supragingival con una cureta periodontal aplicando movimientos en sentido cervico-oclusal, es conveniente que al colocar el instrumento se evite invadir el surco o bolsa y de esta forma proyectar segmentos de placa supragingival al área subgingival. Se procede a secar el área nuevamente y se colocan las puntas de papel de manera secuencial, en contacto estrecho unas con otras, se dejan en esa posición durante 10 segundos. Se retiran teniendo junto el mechero para evitar al máximo la contaminación. Posteriormente, se colocan en el tubo que contiene el medio de transporte colocándolas en la profundidad, se tapa y se colocan en posición vertical (Fig. 1). Como medio de transporte se preparó el medio "Stuart" según instrucciones del fabricante.



Figura 1. Vial para envasar el medio de transporte, contiene también perlas de vidrio y puntas de papel absorbente.

E. Preparación, siembra y procesamiento.

Dilución.

Se procede a diluir la muestra directamente del tubo que contiene el medio de transporte, se etiquetan los tubos con las diferentes diluciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , Fig. 2). Se toma el tubo que contiene la muestra y se coloca en un agitador Vortex durante 10 segundos. Posteriormente se toman con una 100 μ L. del tubo del medio de transporte donde se encuentra la muestra y se inoculan en el siguiente tubo, se agita nuevamente durante 10 segundos y se hace lo mismo con los siguientes tubos, debiendo tener cuidado de que estén bien tapados. Inmediatamente después se inoculan 100 μ l. De cada uno de los tubos en sus cajas de cultivo correspondientes.

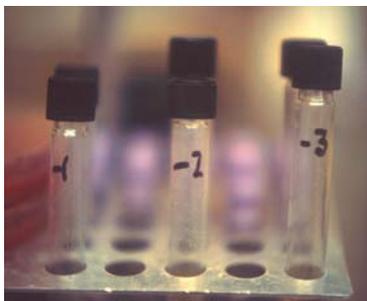


Figura 2. Tubos de ensayo en donde se realizó la dilución decimal seriada.

La siembra en el plato de agar sangre se dispersó realizando estría cruzada, utilizando un asa bacteriológica previamente esterilizada por incineración y se enfría, manteniéndola siempre cerca del mechero, tapando lo más rápidamente la caja sembrada con el inóculo (Figura 3) y colocándola en la jarra de anaerobiosis y cerrándola de inmediato.



Figura 3. Cajas con agar gelosa sangre de conejo, sembradas con cada una de las diluciones.

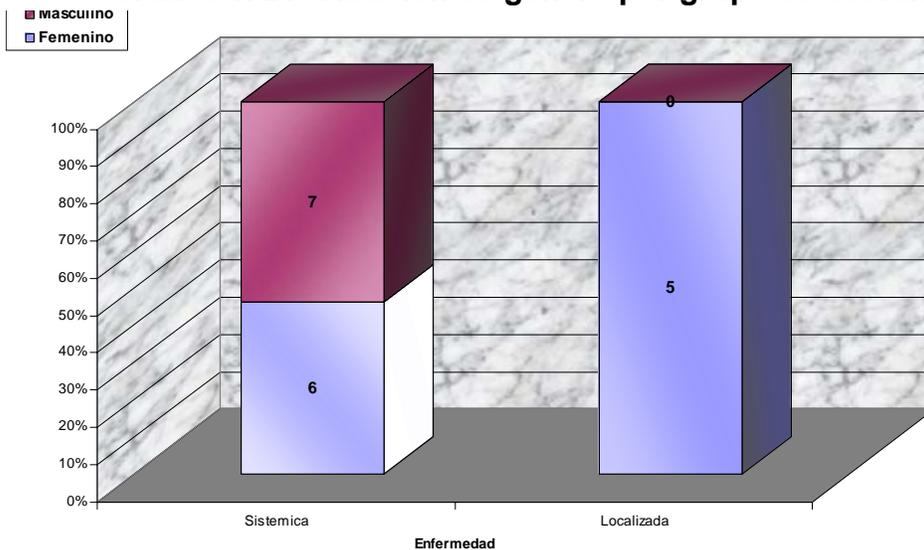
Después de transcurridos 25 minutos de actividad catalítica se incubaron en una estufa bacteriológica a temperatura de 37 grados centígrados para posteriormente hacer la observación a los siguientes 14 días.

IX. RESULTADOS

1. ESTUDIO CLÍNICO.

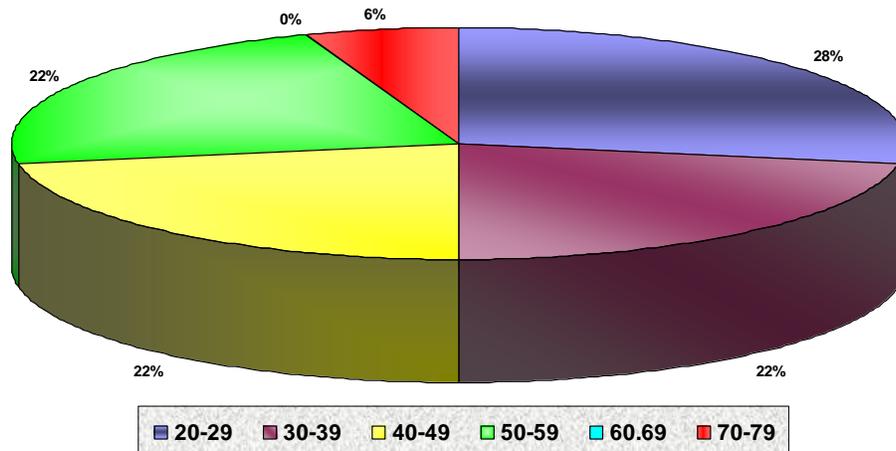
De los 18 pacientes (100%) participantes, 13 de ellos presentaron Periodontitis generalizada (72.2%), 6 pacientes de sexo femenino y 7 del sexo masculino; 5 pacientes con Periodontitis localizada (27.7%), todos ellos femeninos (Gráfica 1)

Gráfica 1. Distribución de género por grupo de estudio

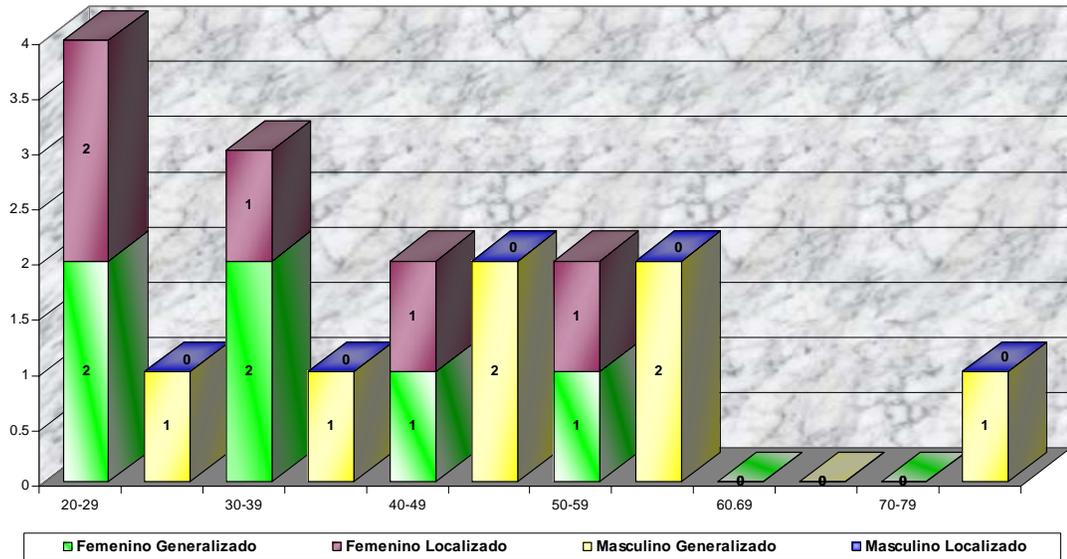


Las edades de los pacientes participantes fluctuaron entre la tercera y octava década de la vida, en la Gráfica 2 se distribuyen en base al rango de edad,

Gráfica 2. Distribución de pacientes por rango de edad

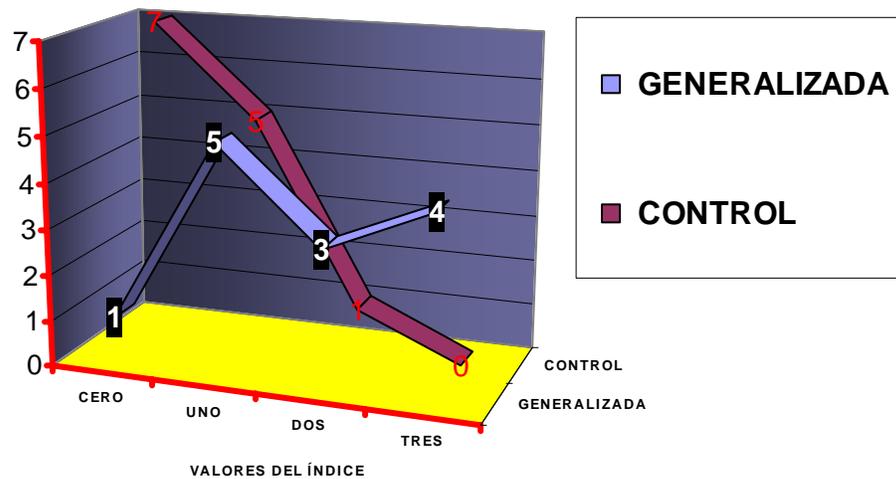


Gráfica 3. Distribución de pacientes por edad y sexo.

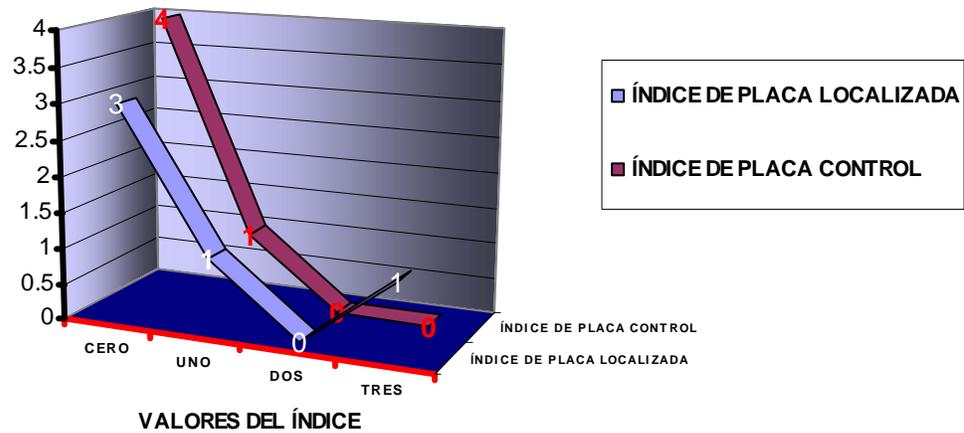


Índice de placa. El índice de placa de los pacientes con Periodontitis generalizada y su contraparte control se establece en la Gráfica 4 en donde se puede comparar que en el sitio de estudio los niveles son más elevados que el sitio control, pese a que es la cavidad bucal del mismo paciente, el comportamiento es diferente con el grupo de Periodontitis localizada, en donde los índices son más bajos (Gráfica 5).

Gráfica 4. Valores del Índice de Placa obtenidos de los pacientes con Periodontitis Generalizada y su sitio control

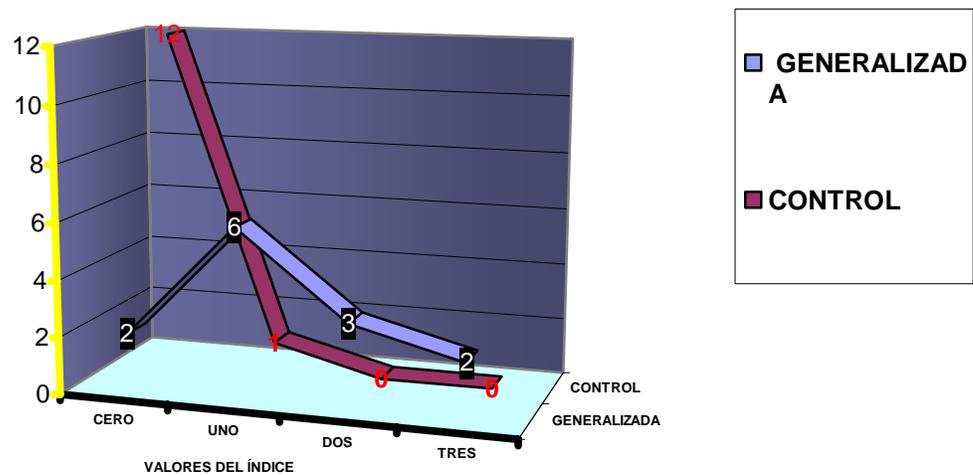


Gráfica 5. Determinación del índice de placa en los pacientes con Periodontitis localizada y su sitio control



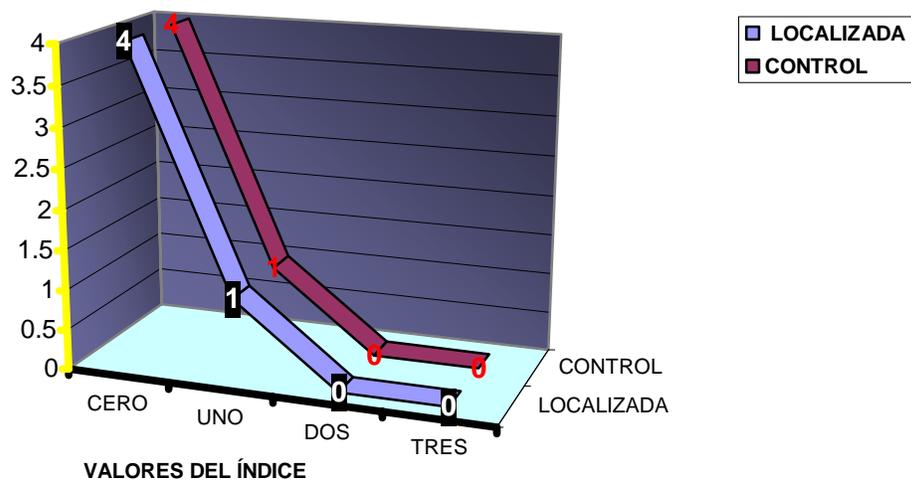
Índice gingival. Los índices gingivales presentaron un comportamiento diferente entre los dos grupos de Periodontitis (Gráficas 6 y 7), en el control de la Periodontitis generalizada se observó un pico, doce casos en índice cero, en tanto en el sitio prueba la mayoría presentaron un índice mínimo de 1 con excepción de dos casos que mostraron un nivel de cero.

Gráfica 6. Distribución del índice gingival en la Periodontitis Generalizada.



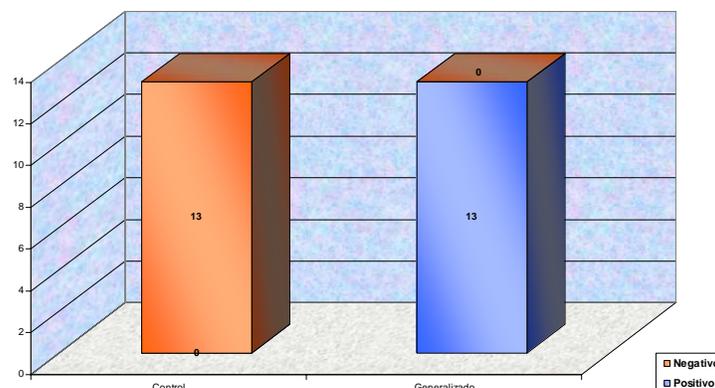
En tanto que en la periodontitis localizada el índice gingival fue el mismo para los dos grupos, cuatro casos en índice gingival de cero y uno en índice 1 (Gráfica 7).

Gráfica 7. Distribución del índice gingival en pacientes con Periodontitis Localizada



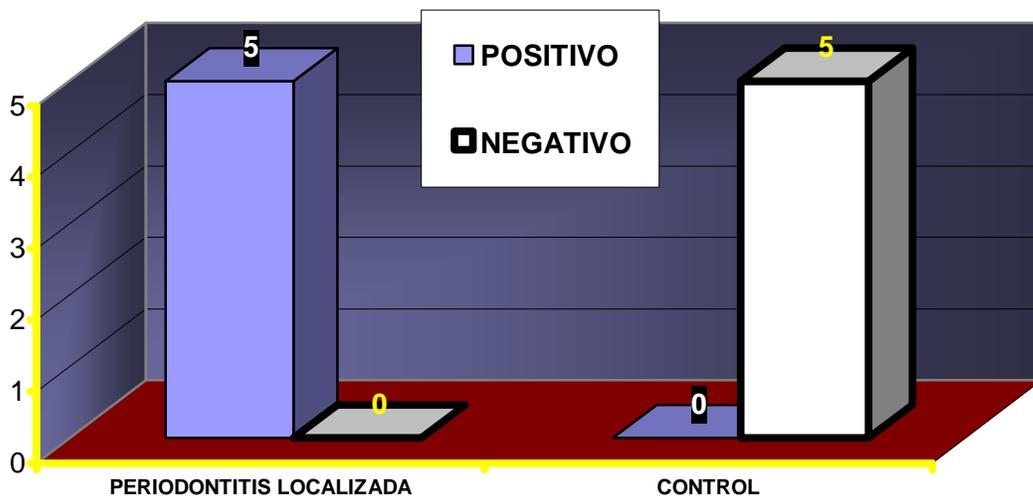
Sangrado al sondeo. Al revisar a los pacientes se encontró que al momento del sondeo todos los pacientes con Periodontitis generalizada (13= 100%) presentaron sangrado al sondeo y el sitio control ninguno presentó sangrado al momento del procedimiento (Gráfica 8).

Gráfica 8. Número de casos de Periodontitis Generalizada con sangrado al sondeo



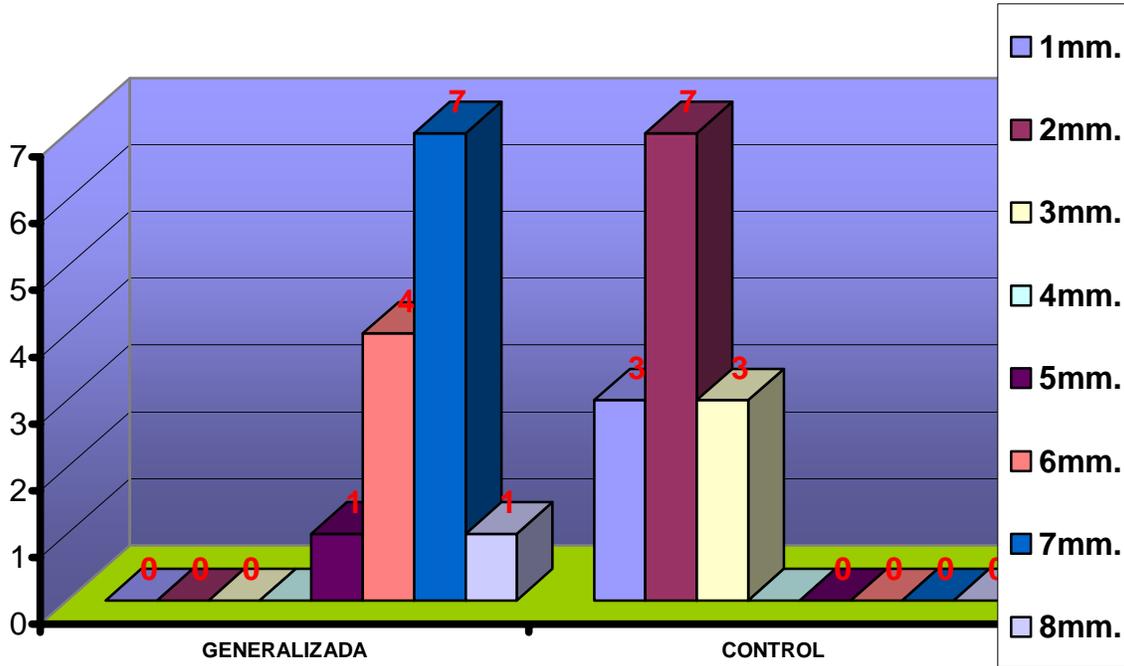
Mientras que en los pacientes con Periodontitis Localizada se encontró que los cinco sitios de estudio sangraron al ser sondeados y en el sitio control ninguno presentó sangrado al sondeo (Gráfica 9).

Gráfica 9. Número de casos de Periodontitis Localizada y grupo control con sangrado al sondeo



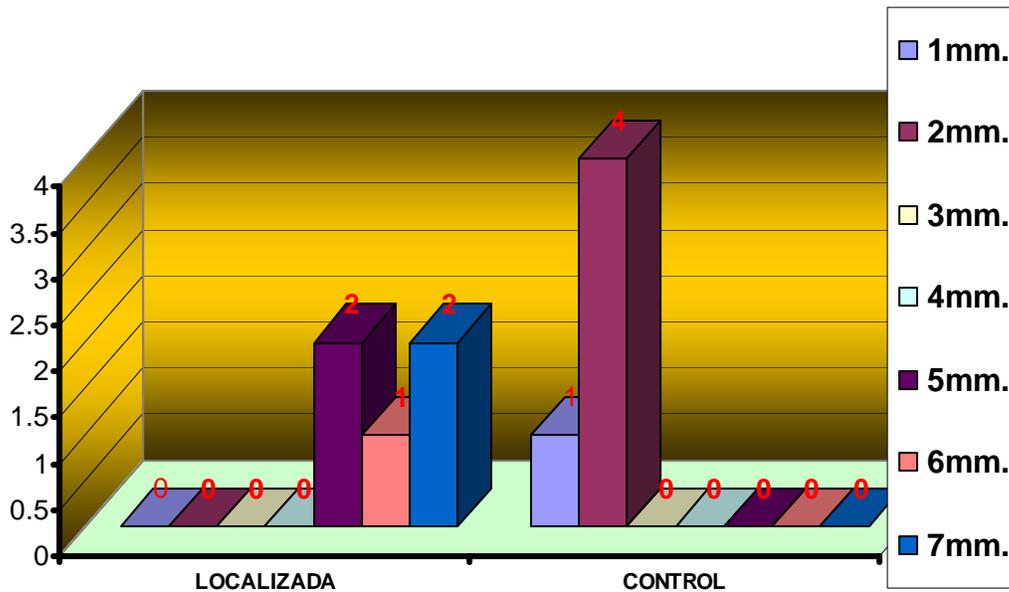
Profundidad de bolsa. Una variable importante es precisamente la profundidad de la bolsa, esto debido a que permite el desarrollo de microorganismos anaerobios. En el sitio de estudio en la Periodontitis Generalizada se encontraron el mayor número (7) de casos con una profundidad de 7 mm, y en el sitio control, 7 casos tuvieron una profundidad de 2 mm por lo que se observa en la gráfica 10 la disparidad entre los grupos. La selección de profundidades de bolsa contrastantes tuvo por objeto esperar un contraste similar en los conteos bacterianos dependiendo de los niveles de profundidad de sondeo.

Gráfica 10. Distribución de casos por niveles de profundidad de Bolsa Periodontal al momento del sondeo



Los niveles de profundidad en las bolsas periodontales de los pacientes con periodontitis localizada fue extremo tanto en el sitio de estudio como en el sitio control, la distribución de los casos se aprecia en la gráfica 11, en donde encontramos los cinco casos de periodontitis localizada con una profundidad mínima de 5 mm. y un registro máximo de 7 mm. y cuatro casos del grupo control con nivel de profundidad de 2 mm. y uno solo con profundidad de 1 mm. Estas mediciones van de acuerdo con los criterios de inclusión para cada uno de los grupos seleccionados, de igual manera que en el grupo de periodontitis generalizada la selección contrastante pretendió que se viese reflejada en los conteos bacterianos.

Gráfica 11. Nivel de profundidad de la bolsa al momento del sondeo en la Periodontitis Localizada y el sitio control.

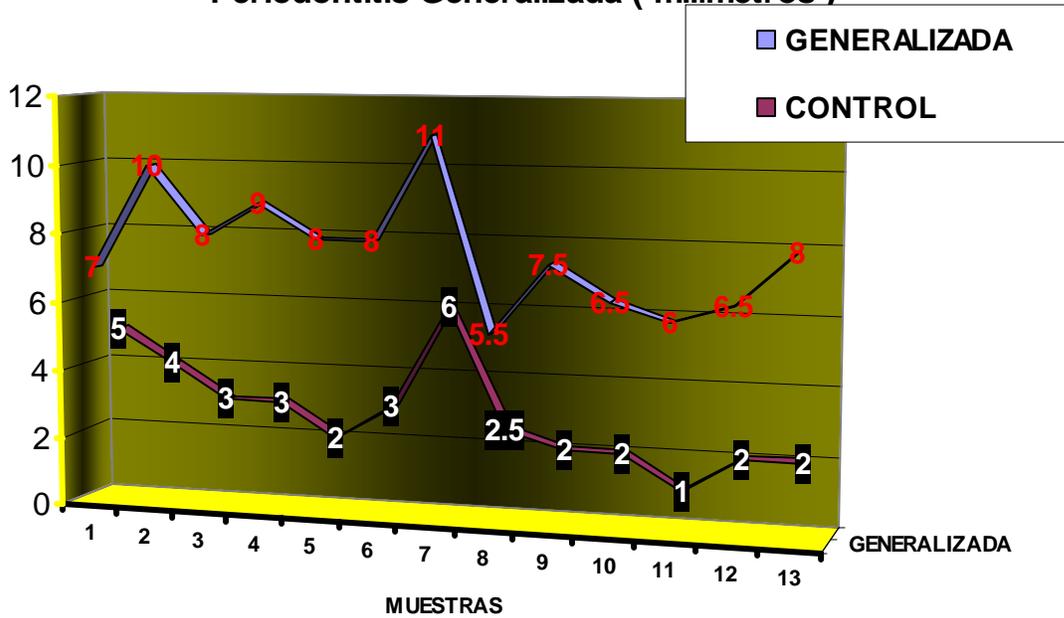


Nivel de inserción clínica. El nivel de inserción clínica como marcador de riesgo periodontal muestra el deterioro de los tejidos periodontales posterior al evento patogénico (los estudios transversales, como este lo muestran de esta forma). En el grupo de datos correspondiente a Periodontitis Crónica Generalizada se pretendió seleccionar denticiones que presentaran arriba del 30 % de dientes afectados y un sitio prueba que mostrara alto grado de deterioro periodontal. El nivel de inserción correspondió a lo anterior ya que el sitio con menor pérdida de inserción tuvo un registro de 5.5 mm. y el máximo de 11 mm. En relación al sitio control en este mismo grupo el rango fue mucho menor 1 a 5 mm. (Gráfica 12). **Gráfica 12. Niveles de Inserción Clínica en la Periodontitis Generalizada**

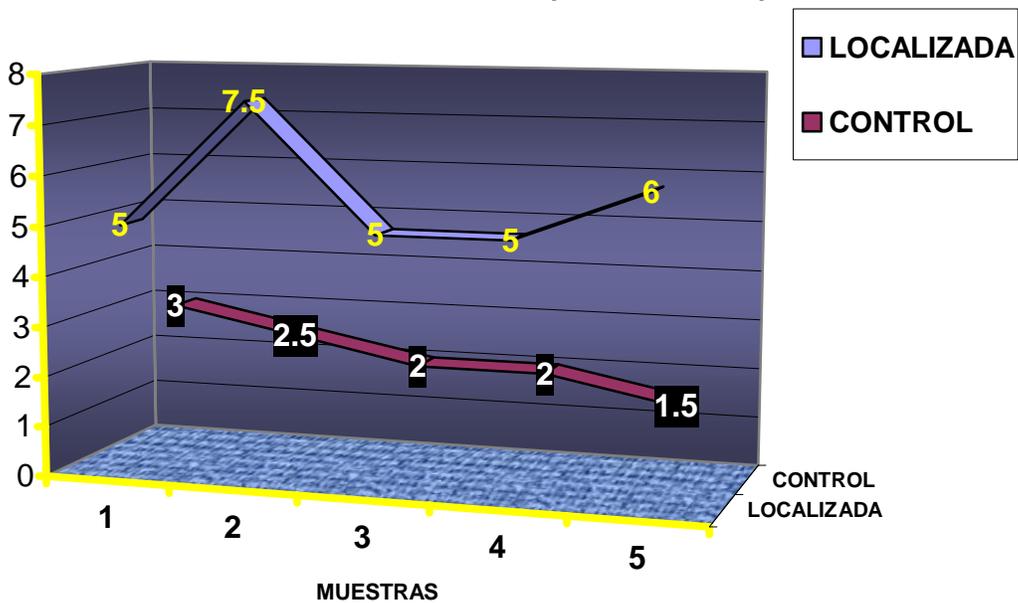
En el caso de Periodontitis Localizada los criterios de selección incluyeron la evaluación de una dentición que no presentara más del 30 % de sitios afectados por la enfermedad y la selección de los sitios de estudio y control se basó en mediciones extremas y contrastantes entre si. El rango de niveles de inserción que mostraron los sitios prueba

fue de 5 a 6 mm., mientras que el rango que corresponde a los sitios control fue de 1.5 a 3 mm.

Gráfica 12. Niveles de Inserción gingival en la Periodontitis Generalizada (milímetros)



Gráfica 13. Niveles de Inserción Gingival en la Periodontitis Localizada (milímetros)



2. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

Los sitios de estudio de la Peridontitis Generalizada así como los de la Periodontitis localizada, resultaron positivos a la presencia del grupo de bacterias anaerobias de pigmentación negra (APN, Fig. 4), pero con diferente carga bacteriana. En la Gráfica no. 14 se puede observar el comportamiento de la muestra con presencia del grupo **APN** que correspondieron al sitio de estudio de la Periodontitis Generalizada. La dilución 10^{-1} representa la primera siembra y por lo tanto la que muestra el mayor número de colonias 13 de 36 (36.1%). Mientras que las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} muestran una ligera disminución en el número de colonias observadas 12 y 11/36 (33.3 y 30.5% respectivamente) lo cual indica que la **carga bacteriana** en este sitio **rebasó el punto de corte definido en el estudio (10^{-3})**.

Lo anterior es congruente con la condición bucal y el sitio elegido. La recuperación bacteriana es regular entre las tres diluciones lo que indica que la técnica fue aplicada de manera correcta. En la gráfica No14 el sitio control muestra el número negativo al aislamiento del grupo APN en las tres diferentes diluciones.

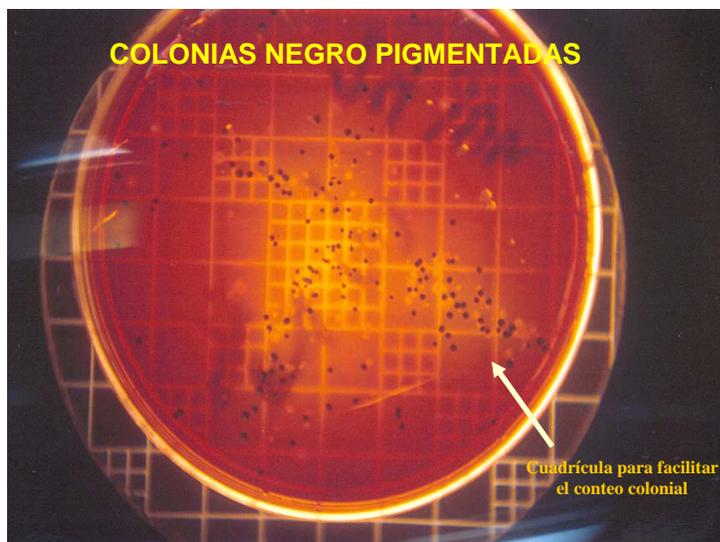
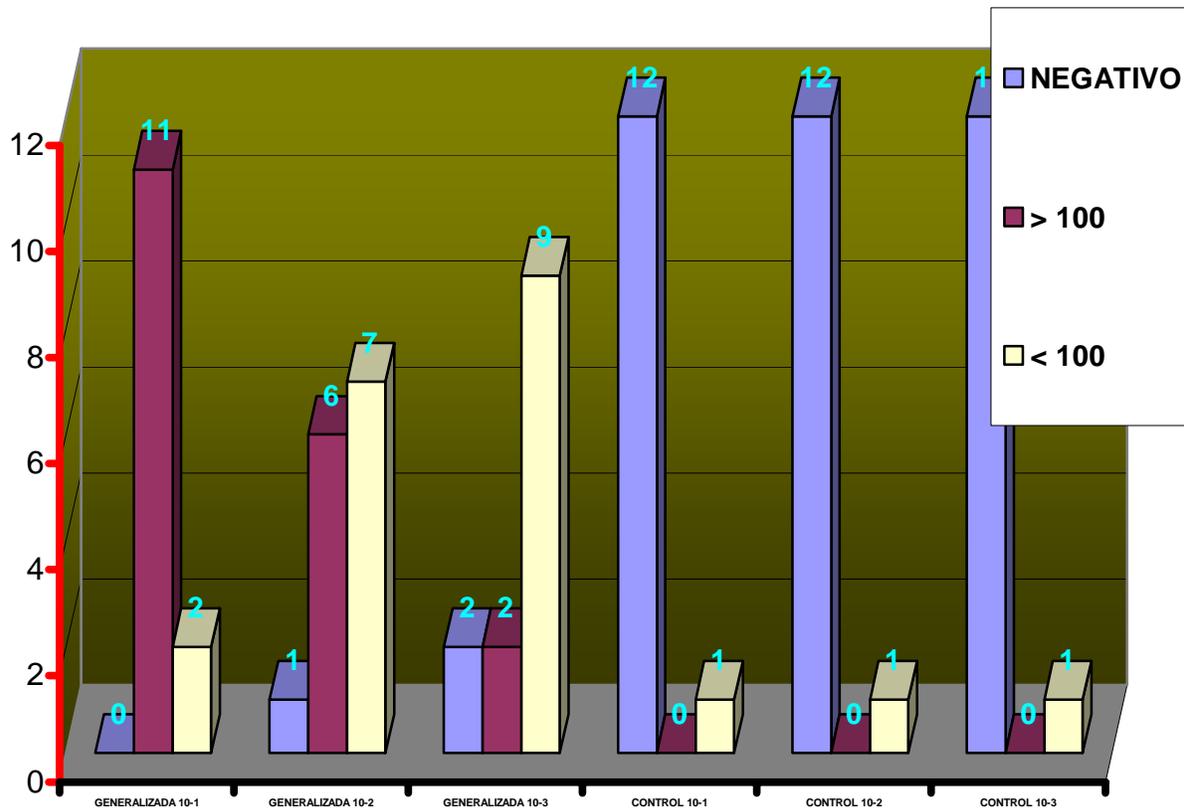


Figura 4. Plato de cultivo montado en el contador de colonias, se observan las colonias negro pigmentadas de Anaeróbios de Pigmentación Negra.

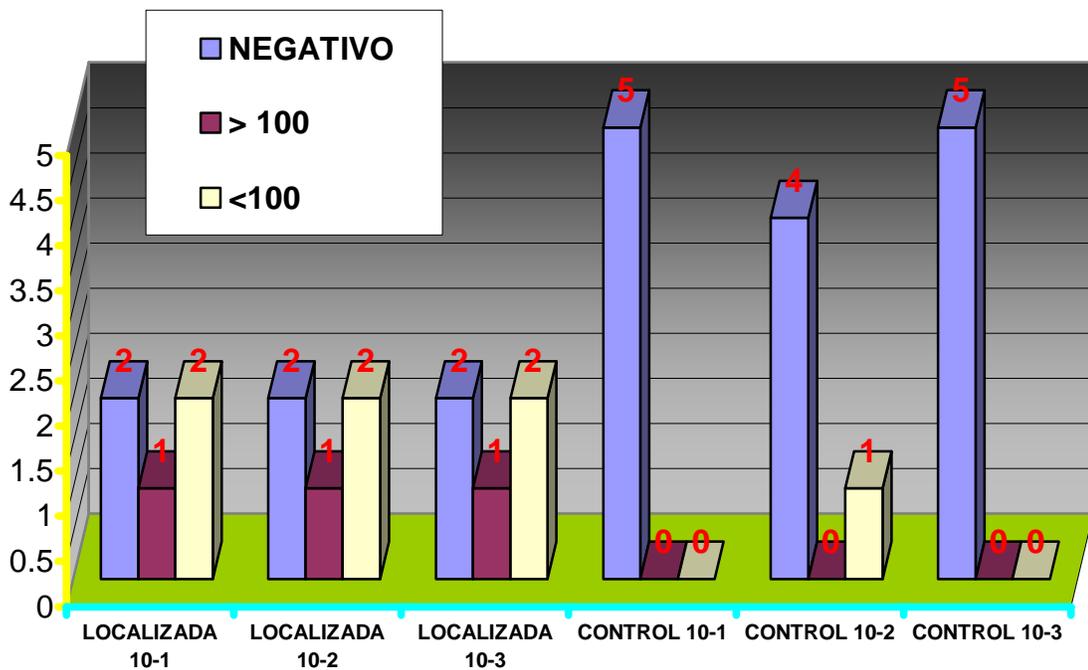
En el grupo de periodontitis generalizada en la dilución de 10^{-1} , once muestras presentaron un desarrollo superior al 100% de colonias bacterianas (84.6%), 2 muestras solo presentaron menos del 100% de desarrollo bacteriano (15.3%), por lo que tenemos que el 100% de las muestras presentaron crecimiento bacteriano; en la dilución 10^{-2} , disminuyó el número de muestras en porcentaje, 6 presentaron más de 100 colonias (33.3%), 6 menos de 100 colonias (46.1%) y 1 sin desarrollo (7.6%); en la dilución de 10^{-3} , 2 muestras no presentaron desarrollo (15.3%), 9 con desarrollo menor a 100 colonias (69.2%) y solo 2 (15.3%) conservaron la constante de crecimiento en el medio. En el grupo control en la dilución 10^{-1} , 12 fueron negativos (92.3%) y una muestra con desarrollo menor a 100 (7.6%), el mismo comportamiento se presentó en la dilución 10^{-2} y en la tercera dilución ningún desarrollo se presentó (Gráfica 14).

Gráfico 14. Desarrollo bacteriano en la Periodontitis Generalizada



En la Periodontitis Localizada se encontró escaso desarrollo de colonias bacterianas, en las diferentes diluciones en el grupo de estudio 2 muestras (40%) no tuvieron desarrollo, en tanto una muestra (20%) presentó más de 100 colonias en la dilución 10^{-1} ; en el grupo control en la dilución 10^{-1} cinco muestras no presentaron desarrollo; en la dilución 10^{-2} y 10^{-3} cinco muestras no presentaron desarrollo y una muestra con 1 colonia, 20% (Gráfica 15).

Gráfica 15. Desarrollo bacteriano a diferentes diluciones en Periodontitis Localizada



En Periodontitis Generalizada la relación entre profundidad de bolsa y conteos positivos del grupo APN cumple con lo esperado, el 100 % de los sitios de estudio presentaron desarrollo. Además, en la medida que es más elevada la profundidad al sondeo, mayores son los conteos de APN, sobre todo en profundidades de 6 y 7 mm. ya que fueron las registradas con mayor frecuencia.

Se encontró un sitio positivo en el sitio control al aislamiento relacionado con el registro de sondeo más profundo (3 mm.). Esta profundidad se considera superficial comparándola con el sitio de estudio, aún así el grupo APN se hace presente, pero la carga bacteriana ya no fue suficiente como para aparecer en la dilución 10⁻³.

Es importante establecer que todos los sitios en el sitio de estudio de la Periodontitis Generalizada son positivos a la presencia de APN (100%). Dos sitios con mayor carga bacteriana (15.3 % del total) presentaron valores relativamente bajos para índice de placa los que no exceden el valor de 2. En tanto que los dos sitios con menor carga bacteriana (15.3%) presentan valores en índice de placa de 1 y 3 respectivamente. El resto de los sitios presentaron cargas bacterianas comparables entre sí, todos con una recuperación inicial en la dilución $10^{-1} > 0 = 100$. De los cuatro sitios con mayor registro en índice de placa, uno presentó conteos de APN hasta la dilución 10^{-2} el resto presentaron cargas bacterianas similares a los demás sitios. Ninguno representó las cargas más elevadas (Tabla 1).

TABLA 1 Relación de índice de placa y los conteos en las diferentes diluciones, en los sitios de estudio en la Periodontitis Generalizada

Número de casos	Índice de placa	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1.-	1	10	0	0
2.-	3	> 100	70	10
3.-	2	> 100	62	14
4.-	3	> 100	86	14
5.-	1	> 100	30	10
6.-	2	> 100	39	27
7.-	3	6	60	0
8.-	0.75	> 100	> 100	33
9.-	1.7	> 100	> 100	40
10.-	2	> 100	> 100	13
11.-	1	> 100	> 100	> 100
12.-	3	> 100	> 100	40
13.-	1.7	> 100	> 100	> 100

Sitio control en la Periodontitis Generalizada. Un solo sitio fue positivo a la recuperación del grupo APN, este presentó un valor en índice de placa de 1. La carga bacteriana en este sitio fue muy baja y desaparece en la dilución 10⁻³ (Tabla 2).

TABLA 2. Relación del índice de placa y los conteos en las diferentes diluciones en el sitio control de la Periodontitis Generalizada

Número de casos	Índice de placa	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1.	0.5	0	0	0
2.	0	0	0	0
3.	0	0	0	0
4.	1	1	1	0
5.	0	0	0	0
6.	0	0	0	0
7.	1	0	0	0
8.	0	0	0	0
9.	1	0	0	0
10.	1.5	0	0	0
11.	0.5	0	0	0
12.	1	0	0	0
13.	2.2	0	0	0

La relación entre el índice de placa y los controles de Periodontitis Localizada, al momento de la dilución se tuvo recuperación del grupo APN en un sitio el cual corresponde a un sujeto con una extensión y severidad de enfermedad moderada (No. 4). El sitio No. 4 no representa el mayor valor en el índice como se puede apreciar en la tabla 3. La carga bacteriana es muy baja y el valor en el índice también.

TABLA 3. Relación del índice de placa y los conteos en las diferentes diluciones en casos de Periodontitis Localizada sitio control.

Número de casos	Índice de placa	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.	0	0	0	0
2.	0.25	0	0	0
3.	0	0	0	0
4.	0.5	0	1	0
5.	1.7	0	0	0

La recuperación bacteriana en los sitios prueba de la Periodontitis Localizada es menor a lo esperado ya que se trata de sitios con valores en los medidores clínicos elevados. La relación entre índice de placa y la recuperación del grupo APN es muy variable. En la tabla 4 se puede apreciar que el sitio No. 1 muestra valores de cero en el índice y una nula recuperación del grupo APN. El sitio No. 2 muestra el mayor registro en el índice pero nula recuperación de APN. El sitio No. 3 muestra un valor de cero en el índice pero alta recuperación del grupo APN, aún en la dilución 10^{-3} lo que sugiere una carga bacteriana elevada que rebasa el punto de corte del estudio. El sitio No. 5 muestra un valor en el índice de 1.7 y una recuperación moderada o leve ya que en la dilución 10^{-3} solo se encontró una sola colonia.

TABLA 4. Relación del índice de placa y los conteos en las diferentes diluciones en el sitio de la Periodontitis Localizada.

Número de casos	Índice de placa	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.	0	0	0	0
2.	3	0	0	0
3.	0	85	>100	>100
4.	0.5	>100	36	11
5.	1.7	42	23	1

Relacionando el índice gingival en los sitios prueba de la Periodontitis Generalizada, se obtuvo un índice de 3 como máximo registro en dos casos (sitio No. 2 y 7) y la recuperación del grupo APN, en estos dos sitios fue de leve a moderada si se compara con la recuperación en la mayoría de los otros sitios de la tabla. En el sitio No. 7 parece que fue moderada no registrando crecimiento en la dilución 10^{-3} . La mayor recuperación del grupo APN se presentó en dos casos, ubicados en las celdillas No. 11 y 13 de la tabla 5 los cuales mostraron un índice gingival de 0.7 y 1.7 respectivamente. La mayor recuperación de APN no correspondió a los sitios con valores más elevados de índice gingival. Los sitios con menor recuperación de APN se aprecian en las celdillas 1 y 7 con valores en el índice gingival de 1 y 3 respectivamente.

TABLA 5. Relación del índice gingival y los conteos en las diferentes diluciones, en la Periodontitis Generalizada.

Número de casos	Índice gingival	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.-	1	10	0	0
2.-	3	>100	70	10
3.-	1.5	>100	62	14
4.-	2	>100	86	14
5.-	2	>100	30	10
6.-	2	>100	39	27
7.-	3	6	60	0
8.-	1.75	>100	>100	33
9.-	1.5	>100	>100	40
10.-	0.7	>100	>100	13
11.-	0.7	>100	>100	> 100
12.-	1.2	>100	>100	40
13.-	1.7	>100	>100	> 100

En los sitios prueba de la Periodontitis Localizada. El mayor registro en el índice gingival correspondiente a la celdilla No. 2 de la tabla 6, no presentó crecimiento alguno del grupo bacteriano APN. La mayor recuperación de APN correspondió al sitio No. 3 con un índice gingival de 0.25. Los sitios restantes presentaron cargas bacterianas variables y registros en el índice menores a 1.

TABLA No. 6 Relación de índice gingival y los conteos en las diferentes diluciones, en los sitios prueba en la Periodontitis Localizada.

Número de casos	Índice gingival	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1.-	0	0	0	0
2.-	1.5	0	0	0
3.-	0.25	85	>100	>100
4.-	0.25	>100	36	11
5.-	0	42	23	1

Al relacionar el sangrado gingival al momento de sondear la zona, los 13 casos fueron positivos, sin embargo en dos casos de este grupo de estudio de la Periodontitis Generalizada, la recuperación de APN fue muy baja (sitios No. 1 y 7 de la Tabla 7).

TABLA 7. Relación de Sangrado gingival y los conteos en las diferentes diluciones, en la Periodontitis Generalizada.

Número de casos	Sangrado al sondeo	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1.-	P	10	0	0
2.-	P	>100	70	10
3.-	P	>100	62	14
4.-	P	>100	86	14
5.-	P	>100	30	10
6.-	P	>100	39	27
7.-	P	6	60	0
8.-	P	>100	>100	33
9.-	P	>100	>100	40
10.-	P	>100	>100	13
11.-	P	>100	>100	> 100
12.-	P	>100	>100	40
13.-	P	>100	>100	> 100

P= Positivo, N= Negativo

En el grupo de la Periodontitis Localizada, se aprecia en la celdilla 3 la carga bacteriana más elevada obtenida en estas muestras. Pese a lo anterior, los conteos fueron

variables. En los sitios No. 1 y 2 la recuperación bacteriana fue nula pero el sangrado y el resto de los medidores clínicos indicadores de Periodontitis fueron positivos (Tabla 8).

TABLA 8. Relación de sangrado gingival y conteos bacterianos en las diferentes diluciones en los sitios prueba de la Periodontitis Localizada.

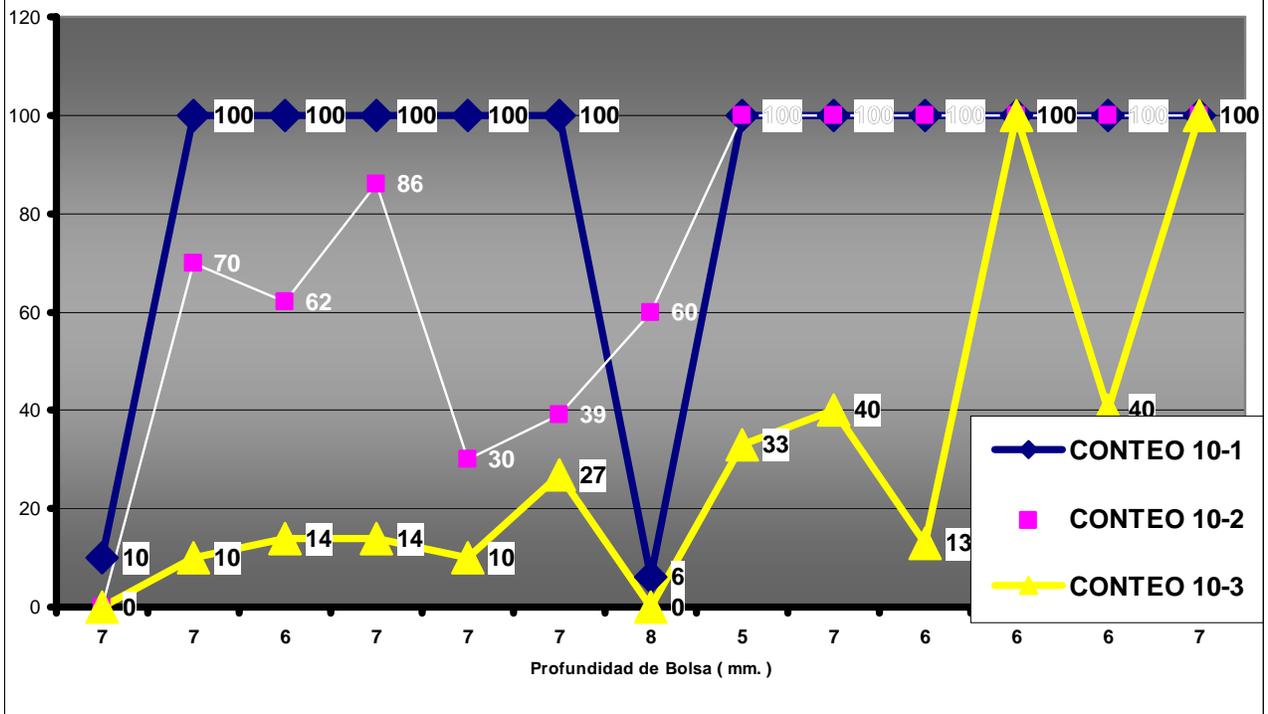
Número de casos	Sangrado al sondeo	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.-	P	0	0	0
2.-	P	0	0	0
3.-	P	85	>100	>100
4.-	P	>100	36	11
5.-	P	42	23	1

La profundidad de la bolsa periodontal en la Periodontitis Generalizada va desde 5 mm de profundidad hasta 8 mm. En las celdas No. 1, 5 y 7 se puede apreciar que son los casos que presentaron menor carga bacteriana y con profundidades al sondeo de 7 y 8 mm. Las profundidades de sondeo en estos mismos sitios fueron elevadas, en el caso del sitio No. 7 fue el que presentó mayor registro (8 mm) en profundidad de bolsa pero no la mayor carga bacteriana inclusive, fue uno de los tres sitios con menor carga (Tabla No. 9; Gráfica 14).

TABLA 9 Relación de la profundidad de la bolsa periodontal y los conteos en las diferentes diluciones en Periodontitis Generalizada.

Número de casos	Profundidad de bolsa	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.-	7	10	0	0
2.-	7	>100	70	10
3.-	6	>100	62	14
4.-	7	>100	86	14
5.-	7	>100	30	10
6.-	7	>100	39	27
7.-	8	6	60	0
8.-	5	>100	>100	33
9.-	7	>100	>100	40
10.-	6	>100	>100	13
11.-	6	>100	>100	> 100
12.-	6	>100	>100	40
13.-	7	>100	>100	> 100

GRÁFICA 14. Relación entre los conteos de colonias en las 13 muestras y los registros de Profundidad de Bolsa en Periodontitis Generalizada



En la Periodontitis Localizada, los sitios No. 1, 2 y 5 de la tabla 10 presentaron conteos de APN muy bajos o nulos. Las profundidades de bolsa fueron variables pero en el sitio No. 2 (uno de los registros más elevados, 7 mm) los conteos fueron negativos. El sitio No. 3 mostró la mayor recuperación de APN con el registro de profundidad de bolsa más baja (5 mm). Los sitios No 2 y 4 presentaron las mayores profundidades de bolsa. En el sitio No. 2 el conteo bacteriano fue negativo. En el sitio No. 4 el conteo bacteriano fue el segundo más elevado con uno de los registros más altos en sondeo (7 mm).

TABLA 10. Relación de la profundidad de la bolsa periodontal y los conteos en las diferentes diluciones, en la Periodontitis Localizada.

Número de casos	Profundidad de bolsa	Diluciones		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1.-	5	0	0	0
2.-	7	0	0	0
3.-	5	85	>100	>100
4.-	7	>100	36	11
5.-	6	42	23	1

Al revisar los resultados de los niveles de inserción gingival en la Periodontitis Generalizada, estos revelaron que uno de los caso con el mayor registro de nivel de inserción (11 mm) fue uno de los que mostraron menor carga bacteriana (celda no. 7 de la Tabla 11). El sitio No. 1 con un nivel de inserción de 7 mm. mostro recuperación bacteriana muy baja, solo observando crecimiento en la dilución 10⁻¹. La mayor recuperación bacteriana se obtuvo en los sitios No. 11 y 13 pero no correspondieron a los niveles de inserción más elevados.

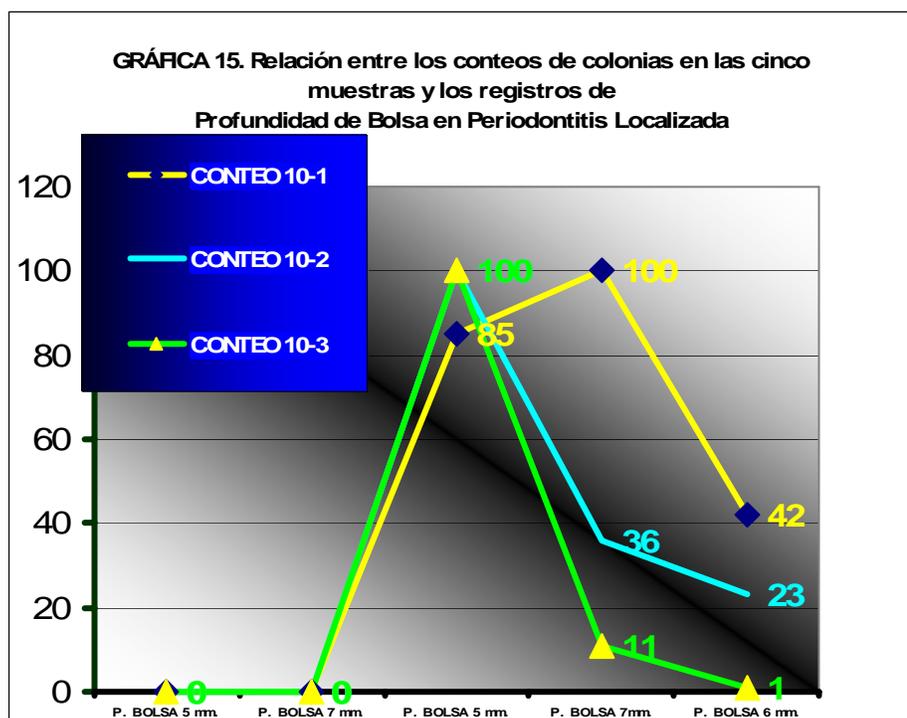


TABLA 11. Relación del nivel de inserción gingival y los conteos en las diferentes diluciones en los sitios de estudio de la Periodontitis Generalizada.

Número de casos	Nivel de inserción	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.-	8	10	0	0
2.-	10	>100	70	10
3.-	8	>100	62	14
4.-	9	>100	86	14
5.-	8	>100	30	10
6.-	8	>100	39	27
7.-	11	6	60	0
8.-	5.5	>100	>100	33
9.-	7.5	>100	>100	40
10.-	6.5	>100	>100	13
11.-	6	>100	>100	> 100
12.-	6.5	>100	>100	40
13.-	8	>100	>100	> 100

Los dos sitios correspondientes a las celdillas 8 y 11 de la tabla 11 muestran 2 de los valores más bajos en el nivel de inserción no obstante, dos de las mayores cargas bacterianas.

TABLA 12. Relación del nivel de inserción gingival y los conteos en las diferentes diluciones en los sitios de estudio de la Periodontitis Localizada.

Número de casos	Nivel de Inserción	Diluciones		
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
1.-	5	0	0	0
2.-	7	0	0	0
3.-	5	85	>100	>100
4.-	7	>100	36	11
5.-	6	42	23	1

Los dos sitios con nivel de inserción más elevado, celdillas 2 y 4 mostrados en la tabla No. 12 correspondieron el primero a un conteo bacteriano inexistente y el segundo al mayor conteo en Periodontitis Localizada incluyendo aún bacterias en la tercera dilución.

3. ANÁLISIS DE LOS DATOS Y TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

El registro de los datos se llevó a cabo mediante la elaboración de cédulas de registro tanto clínico como de laboratorio (anexos).

Posteriormente se ordenaron los datos de manera que cada uno de los valores de las diferentes variables clínicas correspondía con su número de paciente y también con cada uno de los valores de las variables de laboratorio o diluciones.

Se calcularon los porcentajes correspondientes a la relación de variables anteriormente especificada graficando conteos bacterianos positivos o negativos en un eje y los valores promedio de cada variable clínica en el otro.

Se elaboraron tablas de resultados en las cuales se muestra la relación entre los valores de cada variable clínica y sus valores correspondientes en cada dilución y todos los sujetos de cada subgrupo.

Se calculó la correlación de variables mediante una prueba de "Pearson" usando el paquete estadístico Mac Stat 2.0. No existió correlación entre variables ya que la selección de sitios de estudio tomó en cuenta valores de alguna manera "extremos" los cuales se presentaron con regularidad en cada grupo seleccionado.

Se calculó Coeficiente de Variabilidad de "Pearson" para los valores de cada una de las variables tanto clínicas como de laboratorio tomando en cuenta los diferentes grupos.

FÓRMULA

$$CV = \text{Desviación Estandar} / \text{Promedio} (100)$$

Los resultados del cálculo de Coeficientes de Variabilidad, para las variables clínicas y de laboratorio en los sitios de estudio de la Periodontitis Generalizada y los sitios de Periodontitis Localizada son elevados en extremo únicamente en el segundo caso, esto se puede observar en las tablas 13, 14, 15 y 16.

TABLA 13. Coeficiente de variabilidad para las variables clínicas del grupo de Periodontitis Localizada.

Índice de placa	Índice gingival.	Sangrado al sondeo	Profundidad de bolsa	Nivel de inserción
Promedio = 2.5	Promedio = 0	Promedio = 0	Promedio = 6	Promedio = 5.27
Desv. Est. = 1.2583	Desv. Est. = 0	Desv. Est. = 0	Desv. Est. = 1	Desv. Est. = 0.5
Var = 1.5833	Var = 0	Var = 0	Var = 1	Var = 0.25
CV = 50.332%	CV = 0	CV = 0	CV = 16.6 %	CV = 9.48 %
Niv. Conf = 49.668 %	Niv. Conf. = 0	Niv. Conf. = 0	Niv. Conf. = 83.4%	Niv. Conf. = 90.52 %

TABLA No. 14 Coeficiente de variabilidad para las variables clínicas en Periodontitis Generalizada

Índice de placa	Índice gingival.	Sangrado al sondeo	Profundidad de bolsa	Nivel de inserción
Prom = 1.93	Prom = 1.69	Prom = 0	Prom = 6.81	Prom = 7.84
Desv. Est. = 0.85	Desv. Est. = 0.73	Desv. Est. = 0	Desv. Est. = 0.44	Desv. Est. = 1.54
Var. = 0.72	Var. = 0.53	Var. = 0	Var. = 0.2	Var. = 2.39
CV = 44 %	CV = 43.4 %	CV = 0	CV = 6.5 %	CV = 19.7 %
Niv. Conf. = 56 %	Niv. Conf. = 56.6 %	Niv. Conf. = 0	Niv. Conf. = 93.5 %	Niv. Conf. = 80.3 %

TABLA No. 15. Coeficiente de variabilidad para las variables de laboratorio en Periodontitis Localizada

Diluciones		
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Prom. = 45.4	Prom. = 31.8	Prom. = 22.4
Desv. Est. = 46.59	Desv. Est. = 41.36	Desv. Est. = 43.62
Var. = 2170.8	Var. = 1692.2	Var. = 1903.3
CV = 102.6 %	CV = 129.3	CV = 197.4 %
Conf.= -2.6	Conf.= -29.3	Conf. = -97.4

TABLA No. 16. Coeficiente de variabilidad para las variables de laboratorio en la Periodontitis Generalizada.

Diluciones		
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}
Prom. = 85.84	Prom. = 71.25	Prom. = 94.5
Desv. Est. = 34.55	Desv. Est. = 24	Desv. Est. = 33.9687
Var. = 1190.30	Var. = 576.0227	Var. = 1153.8787
CV = 35.29 %	CV = 33.68 %	CV = 35.94 %
Conf. = 64.71 %	Conf. = 66.32 %	Conf.= 64.06%

X. DISCUSIÓN.

Hoy en día existe una alta incidencia de enfermedad periodontal, los factores involucrados en la etiología de la misma es múltiple, por lo que en este estudio se estableció la **prevalencia** del grupo de anaeróbios de pigmentación negra en individuos clasificados con Periodontitis Generalizada y Localizada diagnosticados bajo los criterios clínicos de Periodontitis. Por lo mismo de la gran cantidad de pruebas que se emplean para su diagnóstico, en el presente trabajo se utilizó para el aislamiento de las bacterias APN medios selectivos sólidos de agar sangre en dilución decimal seriada.

Estudios realizados en pacientes con enfermedad periodontal, han evaluado las poblaciones bacterianas presentes en flora subgingival asociada a diferentes situaciones clínicas periodontales, en estos el aislamiento de las bacterias presentes en el grupo de APN es importante (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* y *Prevotella pallens*).

Todos los modelos metodológicos propuestos para conocer la patogénia de enfermedad periodontal incluyen una flora subgingival específica en participación conjunta con otros factores y en los mismos se toma en consideración de manera regular la **inclusión de las bacterias del grupo APN**. Se ha observado variación en los diferentes perfiles microbiológicos definidos tanto en sitios específicos de un mismo individuo como en diferentes poblaciones evaluadas basándose en el modelo metodológico que toma en consideración la **Periodontitis**.

Este trabajo ayuda a conocer la prevalencia del grupo bacteriano APN en una población como la que es atendida en la **clínica de admisión de la Facultad de Odontología de la UNAM**, muestra la prevalencia del grupo APN como tal y la relación de esta con diferentes medidores clínicos aplicados al seleccionar los grupos de individuos estudiados. Los dos grupos de individuos en estudio con Periodontitis Generalizada y Periodontitis Localizada fueron cada uno definido por una severidad y extensión de enfermedad periodontal procurando ser aceptablemente representativa de su condición

clínica particular, pero con un sitio control dentro del mismo individuo para cada uno de los grupos (sitio de estudio y sitio control).

El sitio control dentro de cada grupo permitió mostrar la presencia del grupo APN dando una idea de la reducción o aumento de la recuperación bacteriana en sitios contrastantes clínica y microbiológicamente al comparar con el sitio de estudio.

En el año de 1982, Moore y cols mostraron por primera vez en un estudio detallado que la flora subgingival está caracterizada por un contenido bacteriano complejo y heterogéneo, sin embargo, varias especies han sido aisladas en porcentajes elevados de sitios aparentemente sanos y de sitios francamente enfermos^{3,4,7,13}, por lo que en el presente estudio son sumamente parecidos los resultados obtenidos en los dos grupos, principalmente en el grupo de Periodontitis Generalizada, en el que se obtuvo una mayor recuperación bacteriana. Esto establece que la mayoría de las muestras provenientes del **sitio de estudio** en el **grupo de Periodontitis Generalizada** fueron positivas al aislamiento de APN (84.6%; 11 de 13) y en dos sitios mostraron cargas bacterianas que rebasaron el punto de corte de este estudio 10^{-3} , (Tabla y Gráfica No.1). Lo anterior es similar a los resultados de estudios realizados en poblaciones de países desarrollados en los cuales la prevalencia del grupo bacteriano llegó al 83 % en sitios asociados a lesiones de Periodontitis.

Otro aspecto que debe ser tocado es que, en el **sitio de estudio en la Periodontitis Generalizada** dos de trece sitios (15.3 %) fueron negativos al aislamiento en la tercera dilución correspondiente a los casos 1 y 7 (Tabla 5). Uno desde la dilución 10^{-2} y el otro en la dilución 10^{-3} lo que muestra una carga bacteriana reducida tomando en cuenta los puntos de corte de carga bacteriana para elementos dentro del grupo APN (*Porphyromonas gingivalis*) considerados en estudios que evalúan actividad de enfermedad con una cantidad de bacterias de 5×10^{-5} (Gráfica y Tabla 5). Se calculó un Coeficiente de Variabilidad para la dilución 10^{-3} en Periodontitis Generalizada el cual fue elevado, 108.3% lo que muestra que hubo una variación importante en los datos de esta misma. La consistencia en el desarrollo bacteriano en la tercera dilución parece

que fue menor que en las dos primeras por lo tanto aparenta tener cierta lógica el hecho de que contrasten sitios con indicadores clínicos elevados y conteos bacterianos reducidos. En el caso 7 la relación bacteriana entre diluciones pierde la regularidad observada en el resto de las mismas. Lo anterior muestra que posiblemente estos dos casos no están asociados de manera importante con la presencia del grupo APN y que el proceso de enfermedad en los mismos esté relacionado con agrupaciones bacterianas con proporciones reducidas o tal vez otras agrupaciones de bacterias y no las incluidas en el estudio. En este mismo grupo asociando los valores de conteo en la dilución 10^{-3} y **valor máximo** mayor a 100 colonias; los dos casos que presentaron esta carga (11 y 13, Tabla 5) no correspondieron a los valores máximos en índice gingival (0.7 y 1.7) el primero relacionado con “*encía normal*” y el segundo con “*inflamación leve*”. Este es uno de los aspectos que muestran diferencia en la asociación entre altas concentraciones del grupo APN y grado de inflamación tisular.

La profundidad de bolsa máxima (7 y 8 mm) observada en tres casos (23 %) del mismo grupo estuvo relacionada con los casos 1, 5, 7 y con los **conteos más reducidos** lo que muestra que los porcentajes de recuperación elevados no están relacionados obligadamente con los registros clínicos correspondientes también elevados.

El Coeficiente de Variabilidad para el sitio de estudio en la periodontitis generalizada y profundidad de bolsa fue de 6.5 % con un nivel de confianza del 93.5 % esto muestra que aún en el registro de variabilidad más bajo de todas las variables no se deja de observar la relación antes mencionada (tabla 9). Todos los registros en los casos con bolsa periodontal estuvieron apoyados además por un sangrado positivo el cual es considerado como un indicador de actividad de enfermedad por lo tanto, el perfil bacteriano podría no ser estrictamente similar al de poblaciones hispanas estudiadas en países desarrollados en las cuales se ha observado alta recuperación de bacterias de este grupo sobre todo *Porphyromona gingivalis* y *Prevotella intermedia* o cualquier otra población en la que haya habido asociación importante entre las bacterias del grupo y medidores clínicos.

La asociación entre cantidades elevadas del grupo APN y las diferentes diluciones muestran que el **46.1 %** (seis de trece) de los casos de Periodontitis Generalizada contenían aislamiento mayor a 100 colonias en la dilución 10^{-2} , **53.8 %** (7 de 13) con menos de 86 colonias y **53.8 %** (7 de 13) con menos de 14 colonias en la dilución 10^{-3} . Las cargas bacterianas en general (53.8 %) pudieron no haber rebasado el punto de corte considerado como “niveles positivos bajos” con conteos en el **rango de $> \text{ó} = 10^{-3}$ y $< \text{ó} = 10^{-5}$** para estudios que asocian cargas bacterianas y aumento en profundidad de bolsa y mayor deterioro tisular (Tabla 5). Solo dos casos (11 y 13, Tabla 5) mostraron conteos mayores a 100 colonias en la dilución 10^{-3} en este mismo grupo de Periodontitis Generalizada. El Coeficiente de Variabilidad fue muy elevado, 108.3 % como en otros estudios, en los que aquellos sitios identificados como enfermos en la Periodontitis del Adulto han sido aisladas estas bacterias ^{3,4,6,7,9,13,33,34}, sin embargo se han encontrado variaciones en las concentraciones de periodontopatógenos del grupo APN (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Prevotella melaninogenica*) en sitios que tenían registros clínicos compatibles con salud^{29,35-43,70}

Las variaciones anteriores muestran conteos bacterianos menores en general a los que se reporta están asociados como indicadores de riesgo en el daño a los tejidos periodontales. Aún cuando este es un estudio transversal, parece que el grupo APN como indicador de riesgo (tomando en cuenta la limitación en el tamaño de la muestra) define una variabilidad importante en asociación con la selección de los individuos y los grupos. El tamaño de la muestra hace pensar que este estudio se podría considerar de tipo “Sitio específico”. Los resultados de estudios “Sitio específicos” y los de estudios “Individuo específicos” muestran relación con elevación en los conteos bacterianos de bacterias específicas enmarcadas en agrupación con otras y en algunos casos la participación de bacterias únicas, no se ha podido observar un patrón microbiológico que asocie grupos específicos de bacterias y condiciones clínicas particulares con regularidad en la mayoría de los mismos. Por lo anterior, la variación observada en este estudio podría apoyar la idea de que tiende a mostrar situaciones similares a algunos estudios a los que se hace referencia y que fundamentan “Sitio especificidad”.

En los **sitios control de la Periodontitis Generalizada y Localizada** los cuales representaron sitios clínicamente sanos (Tablas 6 y 7) la recuperación del grupo fue muy escasa similar a lo observado en poblaciones de países desarrollados; aún lo anterior, cada sitio se encontraba en denticiones que presentaban grados de severidad y extensión representativas de cada una de las condiciones clínicas elegidas en particular por lo que la presencia de elementos del grupo APN en sitios sanos con un patrón clínico de periodontitis generalizada podría hacer esperar una mayor recuperación. Existen estudios que muestran la influencia de la colonización por parte de bacterias periodontales (incluidas las del grupo APN) dependiendo del contacto entre los individuos por su condición de vida (esposos) tomando en cuenta la presencia de enfermedad periodontal con cantidades importantes de bacterias. En uno de estos estudios se definieron dos grupos, en el primero uno de los cónyuges presentaba enfermedad periodontal, el otro salud periodontal en el segundo grupo uno presentó salud periodontal y el otro también. Los resultados mostraron que es proporcional la recuperación de bacterias periodontales con la condición clínica del cónyuge enfermo, en el primer grupo parece que la condición patológica del conyugue enfermo influyó en obtener una mayor recuperación en el individuo sano; de la misma manera, una baja recuperación entre dos individuos sanos al parecer fue definida por la baja colonización, extensión y severidad del proceso de enfermedad. El hecho de que se obtengan bajas cantidades de microorganismos hace pensar que la aplicación de la técnica para la obtención de la muestra es inadecuada, por lo que se han sugerido otro tipo de técnicas menos complejas^{62-68,76,79}, pero en este estudio el haber tenido sitios con una elevada concentración de APN determina que la técnica fue bien aplicada.

Existen situaciones en las que hay asociación entre un mínimo en la cantidad de sitios afectados, un mínimo de severidad en el sitio enfermo y mayor posibilidad de recuperación del grupo bacteriano (seis sitios mínimo y profundidad de bolsa mayor a 5 mm, los criterios de selección de los grupos en este estudio fueron parecidos) esto apoya nuevamente que en la medida que aumenta la severidad y extensión de la enfermedad aumenta la proporción de APN y por lo tanto, si se hace una selección de los individuos de estudio con imágenes clínicas contrastantes entre sí la proporción en recuperación del grupo bacteriano estará de acuerdo directamente con estas

modificaciones. **En este estudio no se observó esa tendencia** en ninguno de los dos grupos aún cuando la diferencia en la cantidad de muestras, sobre todo en el grupo de estudio el cual fue el más numeroso, con mayor extensión, severidad y recuperación del grupo APN en los sitios prueba⁸⁰.

En el caso del **grupo Prueba con Periodontitis Localizada** se trata de un sitio enmarcado en un individuo con perfil clínico de “**enfermedad < al 30 %**”. Tomando en consideración el tamaño de la muestra en este grupo, la ausencia de conteos en dos muestras (una con indicadores clínicos de los más elevados por ejemplo, el caso 2 con una profundidad de bolsa de 7 mm) y la baja recuperación en el resto de las mismas, además de las limitaciones propias del estudio, hay variación entre los conteos del grupo APN y la severidad de los sitios evaluados, algo similar a lo observado en estudios como los de Kenya y Tanzania^{29,68} en los cuales sitios con indicadores clínicos elevados no presentaron recuperaciones importantes de periodontopatógenos del grupo APN. Existen estudios evaluando agrupaciones de bacterias en diferentes poblaciones los que muestran variaciones entre los diferentes grupos evaluados y las agrupaciones bacterianas observadas lo que indica que probablemente los perfiles variados son numerosos también en “Individuo especificidad”⁸¹.

XI. CONCLUSIONES

Al aplicarse dos **esquemas de muestreo** para definir la prevalencia de bacterias subgingivales, como es el de “Individuo específico” en el cual se toman muestras de todos los dientes en una o varias superficies de los mismos y el “Sitio específico” en los cuales se eligen solo algunos dientes y en ocasiones solo una superficie de los mismos como se realizan en otros estudios. Este estudio debido al tamaño de la muestra y los dientes y superficies elegidas para muestrear en cada individuo es un estudio “**Sitio específico**”.

- Los casos de sitio de estudio en la Periodontitis Generalizada todos fueron positivos al aislamiento de APN.
- En los sitios control de la Periodontitis Localizada los aislamientos presentaron una disminución importante. Esto corrobora que en los sitios donde ya se ha establecido el proceso de enfermedad las cantidades de APN aumentan lo que ha hecho considerar a estas bacterias como **oportunistas**.
- En la Periodontitis Generalizada hay relación entre las todas las variables clínicas y los conteos elevados de bacterias APN
- En los casos de Periodontitis Localizada pese a lo reducido del número de muestras se observó que la extensión y severidad de la enfermedad tienen relación con el índice de recuperación del grupo APN desde el punto de vista clínico.
- Los sitios en el grupo control de la Periodontitis Localizada no presentaron cantidades de recuperación bacteriana tan elevadas como las que se esperaban y contrastaron con la recuperación de los individuos con Periodontitis Generalizada.

- No hay asociación entre los medidores clínicos más elevados y las mayores recuperaciones bacterianas.
- El Coeficiente de Variabilidad elevado en el grupo control de la Periodontitis Localizada se mostró en las tres diluciones, no existió la misma regularidad en la recuperación bacteriana que en el grupo estudio en la Peridontitis Generalizada aún así, este último subgrupo solamente presentó un CV bajo solo en las dos primeras diluciones. Lo anterior está relacionado con las dimensiones de las muestras pero cabe mencionar que en el grupo de Periodontitis Localizada el coeficiente fue tan elevado por la nula recuperación bacteriana en el 40 % del total de la muestra.
- La variación entre cantidad de bacterias y niveles elevados en los indicadores clínicos afectó a los dos grupos y el CV elevado en la dilución 10^{-3} también. Lo anterior muestra que el grupo bacteriano si está asociado con sitios que muestran deterioro tisular pero que probablemente otras bacterias o grupos de bacterias estén asociadas en casos o sitios específicos a la enfermedad y que la definición de indicadores de riesgo bacterianos deba seguir un esquema “ Sitios específico “ esperando encontrar combinaciones bacterianas diversas con la participación no únicamente de los elementos incluidos en el grupo APN.

XII. BIBLIOGRAFÍA.

1. American Academy of Periodontology. Glossary of periodontal terminology. Current procedural terminology for periodontics ed. 5, 1986. V 57, Spec Supplement Nov 1986 J Periodontol.
2. Armitage GC. Changes in the Classification System for periodontal diseases. Ann Periodontol 1999;4: 1-6.
3. Socransky SS. Microbiology of Periodontal disease present status and future considerations. J Periodontol 1977; Sept: 497.
4. Slots J. Subgingival microflora and Periodontal disease. J Clin Periodontol 1979; 6: 351-355
5. Newman HN. Plaque and chronic inflammatory periodontal disease. A question of ecology. J Clin Periodontol 1990; 17: 533-541.
6. Moore WEC, Holdeman LV, Smibert RM, Hash DE, Burmeister J, Ranney RR. Bacteriology of severe periodontitis in young adult humans. Inf and Immun 1982; 38:(3);1137.
7. Moore WEC, Holdeman LV, Cato EP, Smibert LV, Burmeister JA, Ranney RR. Bacteriology of moderate (chronic) Periodontitis in mature adults humans. Infect. and Immun 1983; 42; (2); 510.
8. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases J Clin Periodontol 1986; 13: 905-911.
- 9.- Slots J, Bragd L, Wilkström M, Dahlén G. The occurrence of Actinobacillus actynomicetemcomitans, Bacteroides gingivalis and Bacteroides intermedius in destructive periodontal disease in adult. J Clin Periodontol 1986; 13: 570.

10. Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 316-323.
11. Tanner ACR, Haffer C, Bratthall CT, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* 1979; 6: 278-307.
12. Tanner ACR, Socransky SS, Goodson JM. Microbiota of periodontal pockets losing crestal alveolar bone. *J Perio Res* 1984; 19: 279-291.
13. Slots J. The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res* 1977.
14. Otha Y, Okuda K, Takazoe I. Microbiological and clinical effects of systemic antibiotic administration in advanced periodontitis. *Bulletin of Tokyo Dental College* 1986; 27: 1139-1148.
15. Shah HN, Gharbia SE. Biochemical and Chemical studies on strains designated *Prevotella intermedia* and proposal of a new pigmented species, *Prevotella nigrescens* sp. Nov. *Int J Syst Bacteriol* 1992; 42: 542-546.
16. Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15 : 85-93.
17. Slots J, Gibbons RJ,. Attachment of *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *Asaccharolyticus* to oral surfaces and its possible role in colonization of the mouth and of periodontal pockets. *Infect and Immun* 1978; 19: 254-264.

18. Killian M. Degradation of immunoglobulins A1, A2 and G by suspected principal periodontopathogens. *Infect and Immun* 1981; 34: 757-765.
19. Sundqvist G, Bloom GD, Enberg K, Johansson E. Phagocytosis of *Bacteroides melaninogenicus* and *Bacteroides gingivalis* in vitro by human neutrophils. *J Perio Res* 1982; 17: 113-121.
20. Committee on Research Science, and Therapy. American Academy of Periodontology. *J Periodontol* 1996; 67: 935-945.
21. Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patients categories. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 411-420.
22. Clarke NG, Hirsch RS. Personal risk factors for generalized periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 136-145.
23. Wolff L, Dahlén G, Aepli D. Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol* 1994; 64: 498-510.
24. Miller AJ. The National Survey of Oral Health in US. Employed adults and Seniors. 1985-1986, NIH Pub No. 87. 2868, 1987.
25. Page RC. Critical Issues in Periodontal Research. *J Dent Res* 1995; 74(4): 1118-1128.
26. Marshall-Day CD, Stephens RG, Quigley LF Jr. Periodontal Disease: Prevalence and Incidence. *J Periodontol* 1995; 26: 185-203.
27. Brown JL, Loe H. Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontology* 2000 1993; 2: 57-71.

28. Brown JI, Oliver RC, Loe H. Evaluating Periodontal Status of US employed adults. J Am Dent Assoc 1990; 121: 226-232.
29. Baelum V, Feyerskov O, Karring T. Oral hygiene, gingivitis and periodontal breakdown in adult Tanzanians. J Perio Res 1986; 21: 221-232.
30. Reddy J, Africa CW, Parker JR. Darkfield microscopy of subgingival plaque of an Urban Black population with poor oral hygiene. J Clin Periodontol 1986; 13: 578-582.
31. Keyes PH, Jordan HV. Periodontal Lesions in the Syberian hamsters III. Findings related to an infectious and transmissible component. Arch Oral Biol 1964; 9: 377.400.
32. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol 1965; 36: 177-187.
33. Slots J, Taubman TA. Contemporary Oral Microbiology and Immunology. In: Slots J, Rams TE. Microbiology of periodontal disease. Chapter 23. First edition. The Mosby yesr book Co. 1992; 425-442.
34. Moore WEC, Holdeman LV, Cato EP, Good IJ, Smith EP, Ranney RR, Palcanis KG. Variation in periodontal floras. Infect and Immun 1984; 46(3): 720-726.
35. Lindhe J. Microbiología de la enfermedad periodontal. En: Lindhe J. Periodontología clínica de Lindhe. Ed Panamericana 2ª edición 1992; 122-123.
36. Newman MG, Socransky SS, Savitt DE, Propas DA, Crawford A. Studies of the microbiology of periodontitis. J Perioodontol 1976; 47: 373-379.
37. Newman MG, Socransky SS. Predominant cultivable microbiota in periodontitis. J Perio Res 1977; 12: 120-128.

38. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. J Clin Periodontol 1986; 13: 905-911.
39. Slots J. Bacterial specificity in adult periodontitis. A summary of recent work. J Clin Periodontol 1986; 13: 912-917.
40. Socransky SS. Microbiology of periodontal disease. Present status and future considerations. J Periodontol 1977; 48: 497-504.
41. Newman HN. Plaque and chronic inflammatory periodontal disease. A question of ecology. J Clin Periodontol 1990; 17: 533-541.
42. Genco RJ, Zambon JJ, Christersson LA. The origin of periodontal infections. Adv Dent Res 1988; 2(2): 245-259.
43. Page RC, Schroeder HE. Estructura y patogénia. Cap 7. En: Schluger S, Yuodelis RA, Page RC. Enfermedad periodontal. Fenómenos básicos, manejo clínico e interrelaciones oclusales y restauradoras. Segunda edición 1982. México, D. F. Cia. Editorial Continental, S. A. de C. V. p.p. 193-222.
44. Garza MA. La investigación. En: Manual de técnicas de investigación. Ed. El Colegio de México. 3ª edición 1981. p. p. 4-20.
45. Bunge M. La investigación científica; su estrategia y su filosofía. Barcelona, España. Editorial Ariel. 1969. p. 32.
46. Khun TS. Prioridad de los paradigmas- Cap V. En: La estructura de las revoluciones científicas. Khun TS. 10ª. Edición. 1993. Breviarios de Fondo de Cultura Económica. No. 213 p. p. 80-91. México, D. F.

47. Beck JD. Identification of risk factors. In: Risk assessment in dentistry. Proceeding in a conference. June 2-3 1985. Chapel Hill, North Carolina.
48. Greenstein G, Lamster I. Understanding diagnostic testing for periodontal diseases. *J Periodontol* 1995; 66: 659-666.
49. Christersson LA, Frandsson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63: 418-425.
50. Genco RJ, Zambon JJ, Christersson LA. The origin of periodontal infections. *Adv Dent Res* 1988; 2(2): 255-259.
51. Dodge DL, Martin WT. Social Stress and Chronic Illness. In: Social Stress and chronic illness. Ed. Dodge DL and Martin WT. 1970, p.p. 1-103 Notre Dame, University of Notre Dame Press.
52. Offenbacher S. Periodontal diseases: Pathogenesis. In: Proceeding of the 1996 World Workshop in periodontics. *Ann Periodontol* 1996; 1(1): 821-878.
53. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease- *J Perio Res* 1991; 26: 821-878.
54. Wilson M, Reddi K, Henderson B. Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *J Perio Res* 1996; 31: 393-407.
55. Microbial Plaque and other deposits. Chapter six in Schluger 1992. p. p. 153-182.
56. Carlsson J. Microbiología de la placa asociada a la enfermedad periodontal. En: Lindhe J. *Periodontología clínica* . Capítulo 4 Editorial Médica Panamericana, 2ª. Ed. 1992; 122-143.

57. Van Wilkenhoff, Van Steenberghe TJM, De Graff J. The role of Black pigmented Bacteroides in human Oral Infections. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 145-155.
58. Waerhaug J. The infrabony pocket and its relationship to trauma from occlusion and subgingival plaque. *J Periodontol* 1979; 50: 355-365.
59. Newman MG, Socransky SS. Predominant cultivable microbiota in periodontosis. *J Periodont Res* 1977; 12: 120-128.
60. Slots J. The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res* 85 1977: 114.
61. Slots J, Rams TE. Microbiology of periodontal disease. Chapter 23. In: Slots J, Taubman MA. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. First ed. St. Louis Missouri. Mosby Year Book, 1992: 425-443.
62. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial Complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25(2): 134-144.
63. Machtei EE, Hausmann E, Dunford R, Grossi S, Ho A, Davis G, Chandler J, Zambon JJ, Genco RJ. Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss. *J Clin Periodontol* 1999; 26: 374-380.
64. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial Challenge in periodontitis. In: Page RC, Kornman KS. *The pathogenesis of periodontitis*. Periodontology 2000, Munksgaard, Copenhagen. 1997; 14: 12-32.
65. Timmerman MF, Van der Weijden GA, Arief EM, Armand S, Abbas F, Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. Untreated periodontal disease in Indonesian

adolescents- Subgingival microbiota in relation to experienced progression of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001; 28: 616-627.

66. Socransky SS, Smith C, Haffajee AD. Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 260.

67. Tran SD, Rudney JD, Sparks BS, Hodges JS. Persistent presence of *Bacteroides forsythus* as a risk factor for attachment loss in a population with low prevalence and severity of adult periodontitis. *J Periodontol* 2001; 72: 1-10.

68. Ali RW, Johannessen AC, Dahlén G, Socransky SS, Skaug N. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in northern Cameroon. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 830-835.

69. Slots J, Rams TE. Methods for the study of oral microorganisms. In: Slots J, Taubman MA. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. Chapter 17. Mosby Year Book ed. First ed. 1992; 275-282.

70. Dahlén G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 305-310.

71. Löe H, Silness J- Periodontal disease in pregnancy. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533.

72. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and Severity. *Acta Odontol Scand* 1963; 21: 533-551.

73. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Sommers HM. *Bacterias anaerobias*. Capítulo 10 En : Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Sommers HM. *Diagnóstico microbiológico*.

Texto y atlas a color. Ed. Médica Panamericana, S. A. México, D. F. 1a. Reimpresión 1989p. p. 342-371.

74. Zambon JJ, Reynolds HS, Slots J. Black-Pigmented Bacteroides spp. In the human Oral Cavity. Infect and Immun 1981; 32 (1): 198-203.

75. Dahlén G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Putative periodontopathogens in “Diseased” and “Non-diseased” persons exhibiting poor oral hygiene. J Clin Periodontol 1992 Jan; 19 (1): 35-42.

76. Almaguer FA, Jacobo SV, Sánchez VLO, Lara CM, Alcántara ME, Ximénez-Fyvie LA. Descripción de la microbióta subgingival de sujetos mexicanos con Periodontitis Crónica. Rev Od Méx V. 9, No. 1 Marzo 2005 p.p. 7-15.

77. Gunsolley JC, Chinchilla VN, Savitt ED, Killoy W, Darak AP, Christersson LA, Fransson CF, Dunford RG, Zambon JJ. Analysis of site specific periodontal bacteria sampling schemes. J Periodontol 1992; 63: 507-514.

78. Haffajee A, Bogren A, Hasturk H, Feres M, López N, Socransky S. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol 2004; 31: 996-1002.

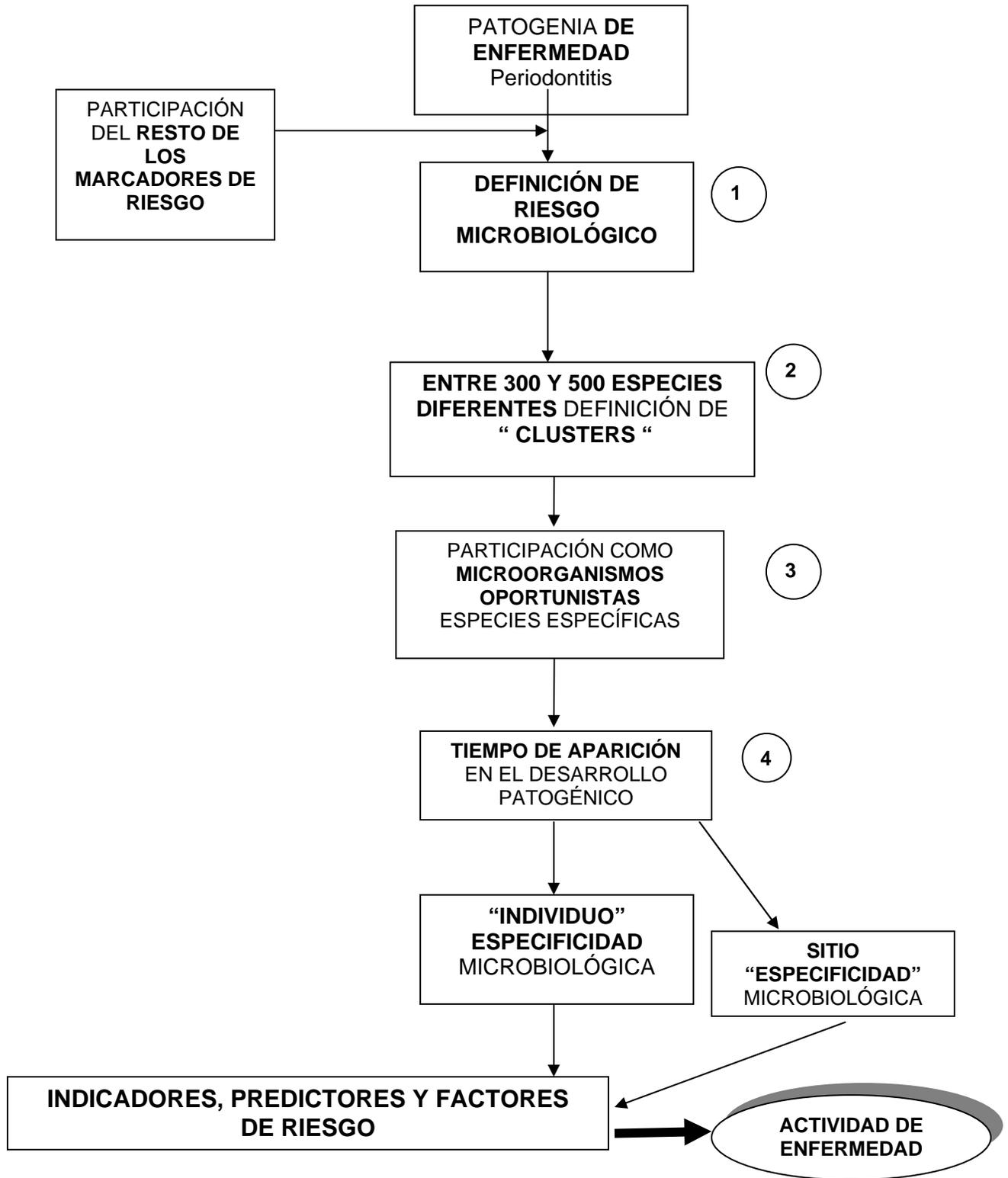
79. Haffajee A, Bogren A, Hasturk H, Feres M, López N, Socransky S. Subgingival microbiota of chronic Periodontitis subjects from different geographic location. J Clin Periodontol 2004; 31: 996-1002.

80. Christersson LA, Fransson CL, Dunford RG, Zambon JJ. Subgingival Distribution of Periodontal Pathogenic Microorganism in Adult Periodontitis. J Periodontol 1992; 63: 418-425.

80. Sirinian G, Shimizu T, Sugar C, Slots J, Chen C. Periodontopathic Bacteria in Young Healthy Subject of Different Ethnic Backgrounds in Los Angeles. *J Periodontol* 2002; 73: 283-288.

81. Ximenez-Fyvie LA, Almaguer FA, Jacobo SV, Lara CM, Sánchez VLO, Alcántara ME. Description of the Subgingival Microbiota of Periodontally Untreated Mexican subjects: Chronic Periodontitis and Periodontal Health. *J Periodontol* 2006; 77: 460-471.

IX. ANEXOS.



ANEXO No. 2. Cuestionario clínico.

CUESTIONARIO CLÍNICO

.....

Fecha:	Paciente	Sexo
Exp.	Alumno	
Edad	No. de Muestra	

SI **NO**

- 1.- Diabético
- 2.- Tratamiento con antibióticos los últimos seis meses
- 3.- Terapia periodontal los últimos seis meses

.....

.....

Fecha:	Paciente	Sexo
Exp.	Alumno	
Edad	No. de Muestra	

SI **NO**

- 1.- Diabético
- 2.- Tratamiento con antibióticos los últimos seis meses
- 3.- Terapia periodontal los últimos seis meses

.....

ANEXO No. 3. Cuestionario clínico.

CUESTIONARIO CLÍNICO

Fecha Paciente

Exp. No. muestra Alumno

PARA ÍNDICE GINGIVAL O ÍNDICE DE PLACA VALOR

A. Número de diente _____

B. Registros en vestibular _____

C. Registro en Lingual o Palatino _____

Fecha Paciente

Exp. No. muestra Alumno

PARA ÍNDICE GINGIVAL O ÍNDICE DE PLACA VALOR

A. Número de diente _____

B. Registros en vestibular _____

C. Registro en Lingual o Palatino _____

Fecha Paciente

Exp. No. muestra Alumno

PARA ÍNDICE GINGIVAL O ÍNDICE DE PLACA VALOR

A. Número de diente _____

B. Registros en vestibular _____

C. Registro en Lingual o Palatino _____

ANEXO No. 4. Cuestionario clínico.

Grupo de sujetos con “PERIODONTITIS GENERALIZADA”

A. SITIO PRUEBA

- (1) Cuatro sitios mínimo con pérdida de inserción $> 0 = a$ 4 mm.....()
- (2) Un sitio interproximal en incisivos inferiores con pérdida de inserción $> 0 = a$ 5 mm. y Bolsa periodontal $> 0 =$ 6 mm.....()
- (3) No. de diente *.....()
- (4) Profundidad de bolsa y cara del diente.....()
- (5) Nivel de Inserción y cara del diente.....()
- (6) Sangrado al sondeo**.....()
- (7) índice de placa.....()
- (8) índice gingival.....()

No. de Expediente

*Aplicar nomenclatura universal por cuadrantes.

**Positivo +. Negativo –

Grupo de sujetos con “PERIODONTITIS LOCALIZADA”

A. SITIO PRUEBA

- (1) Cuatro sitios con pérdida de inserción $< 0 = a$ 2 mm. Profundidad de bolsa $< 0 = a$ 3 mm.....()
- (2) No. de diente.....()
- (3) Profundidad de bolsa y cara del diente.....()
- (4) Nivel de Inserción y cara del diente.....()
- (5) Sangrado al sondeo.....()
- (6) índice de placa.....()
- (7) índice gingival.....()

No. de Expediente.

B. SITIO CONTROL

- (1) Sitio contralateral al sitio prueba o lo más cercano. Mesial al primer premolar inferior o distal al canino con pérdida de inserción $< 0 = a$ 2 mm. y profundidad de bolsa $< 0 = a$ 3 mm.....()
- (2) No. de diente.....()
- (3) Profundidad de bolsa y cara del diente.....()
- (4) (Nivel de Inserción y cara del diente).....()
- (6) Sangrado al sondeo.....()
- (7) índice de placa.....()
- (8) índice gingival.....()

.....

A. SITIOCONTROL

- (1) Un sitio interproximal de incisivos inferiores con pérdida de inserción $> 0 = a$ 5 mm. Bolsa periodontal $> 0 =$ 6 mm.()
- (2) No. de diente.....()
- (3) Profundidad de bolsa y cara del diente.....()
- (4) (Nivel de Inserción y cara del diente).....()
- (5) Sangrado al sondeo.....()
- (6) índice de placa.....()
- (7) índice gingival.....()

ANEXO No. 5 REGISTRO EN EL LABORATORIO.

GRUPO “PERIODONTITIS GENERALIZADA “

No. de muestra/
No. de paciente

GRUPO DE “PERIODONTITIS LOCALIZADA”

No. de muestra/
No. de paciente

CANTIDADES DE RECUPERACIÓN DE COLONIAS DE APN EN AMBOS GRUPOS