



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

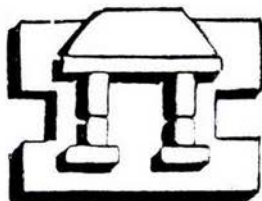
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA

DIVISION DE INVESTIGACION Y POSGRADO  
ESPECIALIZACION EN ENDOPERIODONTOLOGIA

"COLONIZACION BACTERIANA EN MEMBRANAS DE PTFE-e  
EN REGENERACION TISULAR GUIADA"

T E S I S  
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE  
ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGIA  
P R E S E N T A :  
C.D. BETSAIDA JULIETA ORTIZ SANCHEZ

TUTOR: C.D. JESUS VILLAVICENCIO PEREZ  
ASESOR: C.D. JAVIER GARZON TRINIDAD



IZTACALA

2004



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.

31441

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA**

**DIVISION DE INVESTIGACION Y POSGRADO**

**ESPECIALIZACION EN  
ENDOPERIODONTOLOGIA**

**“COLONIZACION BACTERIANA EN MEMBRANAS DE  
PTFE-e EN REGENERACION TISULAR GUIADA”**

**TESIS QUE PRESENTA**

**C.D. BETSAIDA JULIETA ORTIZ SANCHEZ**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE**

**ESPECIALISTA EN ENDOPERIODONTOLOGIA**

**Tutor: C.D. JESUS VILLAVICENCIO PÉREZ**

**Asesor: C.D. JAVIER GARZÓN TRINIDAD**

**2004**

Gracias a todas las personas que colaboraron en la realización de ésta investigación.

Dr. Salvador Arroniz Padilla

M.C. Rodolfo Cárdenas Reygadas

Biol. Mónica Chávez Maldonado

C.D. Jesús Villavicencio Pérez

C.D. Javier Garzón Trinidad

Gracias también a mi familia por todo su apoyo

## Índice

Resumen	1
Summary	2
Introducción	3
Antecedentes (Marco teórico)	4
Planteamiento del problema	12
Objetivos	12
Hipótesis	12
Metodología	13
Resultados	17
Análisis de resultados	25
Discusión y Conclusiones	27
Referencias bibliográficas	30

## Resumen

El objetivo de la presente investigación es determinar en que superficie de las membranas de politetrafluoretileno expandido (PTFE-e) existe mayor contaminación. Se obtuvieron 9 membranas de PTFE-e utilizadas en procedimientos de RTG en los pacientes de la Clínica de Endoperiodontología de la UNAM FES Iztacala durante el periodo de agosto del 2003 a enero del 2004. Después de la remoción las membranas fueron deshidratadas con etanol, y entonces embebidas en parafina e incluidas en paraplast y seccionadas a 5  $\mu\text{m}$  en plano corono-apical. Los cortes fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina básica (H-E) y Gram. La observación se realizó en microscopio óptico a 40 X 60  $\mu\text{m}^2$ . Las células fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular clasificándolas por su presencia y tipos: células mononucleares, eritrocitos, fibroblastos, neutrófilos, células plasmáticas en los cortes teñidos con H-E. Las bacterias orales con tinción de Gram fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular (número de células/40 X 60  $\mu\text{m}^2$ ) en las caras interna y externa en la zona más apical de cada membrana.

En el presente estudio todas las membranas mostraron la presencia de células inflamatorias y bacterias al momento de la remoción. En conclusión, los resultados demostraron diferencia significativa entre la cantidad de bacterias Gram positivas y negativas en la superficie externa, así como la presencia bacterias, células inflamatorias e inclusive hongos que se adhieren e invaden las membranas, las cuales son capaces de atravesar la totalidad las membranas de PTFE-e, y alcanzar su porción más apical tanto en las membranas expuestas como en las no expuestas y aún así, permitir la formación de tejido conectivo neoformado que puede osificarse.

**Palabras Clave:** Regeneración tisular guiada, membranas, barreras, membranas de politetrafluoretileno expandido, contaminación



## Summary

The purpose of this study was to determine which surface on expanded polytetrafluoroethylene membranes (ePTFE) exist more contamination. Nine ePTFE membranes used in guided tissue regeneration (GTR) on patients of the Clínica de Endoperiodontología UNAM FES Iztacala in the period of august 2003 to january 2004. After the retrieve all membranes were dehydrated and included in paraplast and sectioned serially at 5  $\mu$  in a coronal-apical plane. Sections were stained whit basic hematoxylin-eosin (H-E) and Gram and observed by light microscopy. Cells were analyzed semiquantiatively by its presence and types: mononuclear cell, erythrocyte, fibroblast, neutrophil, plasma cell, lymphocytes and macrophage in H-E stained sections. Oral bacteria were analyzed semiquantiatively by cell density (cell number/40 X 60  $\mu\text{m}^2$ ) in the inner and outer surfaces in the apical portion in every membrane

In the present study all membranes show presence or inflammatory cells and bacteria at the moment of removal. The results demonstrate a significant difference between the among of gram positive and gram negative bacteria in the outer surface, as the presence of bacteria, inflammatory cells and fungi adhered to and invaded the membranes, which are capable of cross over the e-PTFE membranes, and reach the apical portion as much in the exposed membranes as in the non exposed membranes, and yet allow the growth of new connective tissue that can become into bone.

**Key words:** Guided tissue regeneration, membranes, barriers, expanded polytetrafluoroethylene membranes (e-PTFE), contamination

## Introducción

La cirugía Periodontal regenerativa comprende procedimientos diseñados para restaurar los tejidos del sistema de sostén del diente.

La regeneración se define como la reproducción o reconstitución de la parte pérdida o lesionada de forma que la estructura y función de los tejidos perdidos o lesionados quedan completamente restauradas, de manera que en Periodoncia la Regeneración Tisular Guiada (RTG) se refiere a la reconstitución de cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar.

La aplicación clínica de la RTG involucra la colocación de una barrera entre el epitelio y la superficie radicular para dar lugar a la repoblación por células provenientes del ligamento periodontal.

La RTG no constituye un procedimiento para el tratamiento de la periodontitis, sino más bien una técnica para regenerar defectos desarrollados como resultado de la periodontitis. Por lo tanto, siempre se debe completar la fase I del tratamiento periodontal antes de iniciar la RTG.



## “Colonización bacteriana en membranas PTFE-e en RTG”

Alumno: C.D. Betsaida Julieta Ortiz Sánchez

Tutor: C.D. Jesús Villavicencio Pérez

Asesor: C.D. Javier Garzón Trinidad

### Antecedentes

#### Marco Teórico

### “Colonización bacteriana en membranas PTFE-e en RTG”

La cirugía Periodontal regenerativa comprende procedimientos diseñados para restaurar los tejidos del sistema de sostén del diente.

La regeneración se define como la reproducción o reconstitución de la parte pérdida o lesionada de forma que la estructura y función de los tejidos perdidos o lesionados quedan completamente restauradas, de manera que en Periodoncia la Regeneración Tisular Guiada (RTG) se refiere a la reconstitución de cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar.

La aplicación clínica de la RTG involucra la colocación de una barrera entre el epitelio y la superficie radicular para dar lugar a la repoblación por células provenientes del ligamento periodontal.

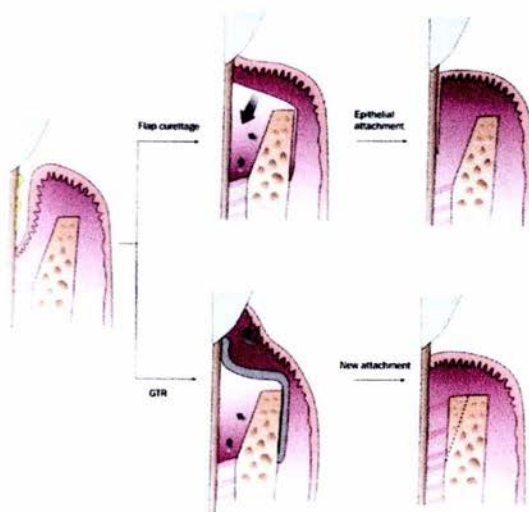


Fig. 1 Curetaje Abierto vs RTG

La RTG no constituye un procedimiento para el tratamiento de la periodontitis, sino más bien una técnica para regenerar defectos desarrollados como resultado de la periodontitis. Por lo tanto, siempre se debe completar la fase I del tratamiento periodontal antes de iniciar la RTG.

Algunos de los factores más importantes en la creación de un ambiente apropiado para la regeneración dentoalveolar incluyen: la prevención de inflamación aguda resultante de una infección, la estabilidad mecánica en la resolución de la herida, la formación y mantenimiento de un coágulo sanguíneo, y el aislamiento de un espacio regenerativo de células de tejidos no deseables.<sup>1</sup>

Una gran variedad de biomateriales absorbibles y no reabsorbibles han sido utilizadas clínicamente o han sido probadas experimentalmente para su uso en procedimientos de RTG.

Algunos de los materiales de las barreras utilizadas como membranas oclusivas como el politetrafluoretileno expandido (PTFE-e) fueron creados especialmente para la RTG. La molécula básica de este material consiste en una unión carbono-carbono con cuatro átomos de flúor incorporados para formar un polímero. Es inerte y no genera ninguna reacción tisular cuando se implanta en el cuerpo. Este tipo de membrana persiste después de la restitución y debe ser extraído en una segunda operación.<sup>2</sup>



Fig. 2 Membranas de PTFE-e

En los últimos años se han usado materiales bioabsorbibles para las barreras aplicadas en la RTG, con el fin de evitar una segunda cirugía para la eliminación de la membrana. Los resultados tras el empleo de los materiales colágenos varían, y hay serias complicaciones, como degradación precoz, desarrollo epitelial en profundidad a lo largo del material y pérdida prematura de la membrana.

Las membranas de colágeno tipo I tienen propiedades importantes que las hacen ser prácticas para su uso como barreras.<sup>3</sup> El colágeno es la proteína más

abundante y el componente principal del tejido conectivo periodontal. Algunas de las propiedades son: 1. El colágeno posee propiedades hemostáticas, debido a su habilidad de favorecer la agregación plaquetaria, por lo que facilita la maduración del tapón plaquetario. 2. Las membranas de colágeno una vez infiltradas vascularmente, pueden favorecer la migración de los fibroblastos del ligamento periodontal. 3. El colágeno es quimiotáctico para fibroblastos in vitro, lo cual puede favorecer su migración al espacio entre la membrana y la superficie radicular. 4. El colágeno puede ser moldeado en muchas formas y puede ser fácilmente manipulado. 5. El colágeno es un inmunógeno débil. 6. Es bioabsorbible.<sup>4,5</sup>

También existen membranas de ácido poliláctico o de copolímeros de éste y de ácido poliglicólico, estos materiales son biocompatibles pero, no son inertes, pues se puede esperar alguna reacción tisular durante la degradación. Los materiales son degradables por hidrólisis y eliminados del organismo por medio del ciclo de Krebs como anhídrido carbónico y agua.

Las membranas elaboradas con ácido poligláctico han sido viables para el uso periodontal en Suecia, demostrando resultados prometedores en animales. Recesión gingival, exposición de la barrera e inflamación del tejido blando son comúnmente encontrados clínicamente.<sup>6</sup> La evaluación histológica después de cinco a seis semanas de restitución mostró migración epitelial alrededor de la barrera y el inicio de la desintegración de la barrera fue evidente.

Magnusson y cols. compararon el uso de ácido poliláctico con filtros de millipore en perros. La barrera absorbible resultó con mayor ganancia de inserción. En un estudio (Galgut P. Pitrola y cols. 1991)<sup>4,7</sup> se evaluó histológicamente la respuesta de los materiales de las membranas de RTG, usando un modelo transcutáneo en la superficie dorsal en ratas. El material de ácido poliláctico fue bien tolerado y gradualmente absorbido. Las barreras de copolímeros de estos materiales no previenen la migración epitelial ni aumentan la inserción de tejido conectivo en raíces humanas con severa pérdida horizontal de hueso y enfermedad periodontal activa.

Hay una membrana compuesta de un material inerte sintético, que consiste de un copolímero de glicólico y láctico a razón de 9:1 (Poliglactina 910).<sup>8</sup> La absorción es llevada por hidrólisis del éster dentro de 60 a 90 días. Los resultados por el uso de esta membrana muestran nueva inserción de tejido, ganancia de inserción horizontal y vertical en defectos de furcación y una baja posibilidad de exposición de la membrana es encontrada con este material. Pocos efectos adversos fueron vistos en los sitios tratados. La absorción puede ser un punto positivo para la RTG, debido a que un segundo procedimiento quirúrgico es evitado.<sup>5</sup> Pero se ha reportado, que la reabsorción, no es sólo un pre-requisito para una membrana de RTG.

También se desarrollo una barrera matriz biodegradable con una mezcla de ácido poliláctico biodegradable y éster de ácido cítrico.<sup>5,9</sup> para procedimientos de RTG. Tiene una matriz multicapa diseñada para permitir el crecimiento dentro del tejido



conectivo gingival con el propósito de prevenir el crecimiento apical del epitelio gingival. La función de la barrera permite la regeneración de cemento, ligamento periodontal y hueso. El ligamento periodontal y hueso alveolar pueden también migrar en la matriz y unirse con la encía. De esta manera, la barrera matriz permite una regeneración simultánea e integración siguiendo un solo procedimiento quirúrgico.

Para una membrana bioabsorbible, se deben sumar demandas especiales al proceso de bioabsorción, la reacción inflamatoria local, así como una rápida degradación del material debe ser considerada y controlada para que el diseño de la membrana se mantenga durante el periodo inicial de la regeneración y por un tiempo suficiente.

El éxito de un procedimiento de RTG depende de diversos factores que afectan los resultados clínicos, entre los que se pueden dividir tres grandes grupos: 1. Factores del paciente, 2. Factores del defecto, y 3. Factores asociados con la técnica de RTG y período de regeneración.

1. Factores del paciente, el nivel de control de la placa tiene gran influencia en el resultado, debido a que se pueden obtener mayores niveles de inserción en pacientes con un óptimo control de placa, por lo tanto la selección del paciente es fundamental.
2. Factores del defecto, la morfología del defecto intraóseo desempeña un papel importante en la cicatrización, cuanto más profundo el defecto mayor la mejora clínica, cuanto más ancho sea el defecto menores la ganancia de inserción y hueso.
3. Factores de la técnica, una RTG satisfactoria requiere de un cuidadoso trazado del colgajo, correcta ubicación del material, buen cierre y óptimo control postoperatorio de la placa.



Fig. 3 Regeneración Tisular Guiada

La exposición de las membranas permite que éstas se contaminen por bacterias, dicha contaminación se produce durante la cirugía o en la etapa de regeneración. Después de colocar la membrana, las bacterias de la cavidad oral pueden colonizar la parte coronaria de la membrana. Con frecuencia, el margen de los tejidos gingivales se retrae durante el periodo de regeneración, lo que facilita la colonización apical del epitelio hacia la membrana. Además se produce la formación de una "bolsa" en la superficie externa de la membrana debido a la migración apical del epitelio de la superficie interna del tejido gingival de recubrimiento, lo que permite que las bacterias colonicen el área subgingival.<sup>1</sup>

A pesar de los intentos que se han realizado para limitar la exposición de estos materiales al medio ambiente oral, debido a recesión marginal, la exposición de la membrana durante la RTG durante el periodo de regeneración es una situación común.<sup>10</sup>

La contaminación de las membranas absorbibles o no, ha sido asociada la deficiente inserción en los defectos óseos, esto se relaciona con recuentos altos de bacterias y a la presencia de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*.

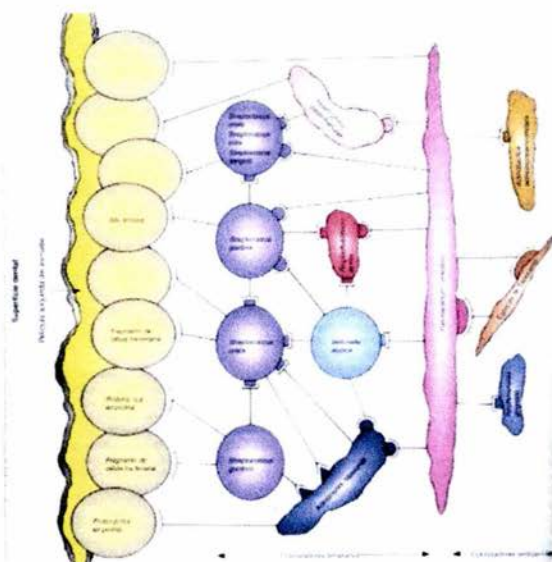


Fig. 4 Microorganismos de la Placa Dentobacteriana

Varios estudios han demostrado que algunos microorganismos pueden adherirse y colonizar las membranas expuestas dejando el desarrollo de un lecho de infección.<sup>11</sup> La adherencia microbiana puede ser asociada con infección y subsecuente rechazo de muchos biomateriales. Bacterias pioneras pueden inicialmente adherirse a los biomateriales, pueden multiplicarse y causar infección o proveer una base para la co-agregación de microorganismos secundarios.<sup>12</sup> La

adherencia bacteriana puede impedir la regeneración o provocar pérdida de inserción periodontal.

Tempo y Nalbandian 1983<sup>12</sup> realizaron un estudio en el que revisaron 6 membranas retiradas después de 4 a 6 semanas de sitios con periodontitis humana, utilizando microscopia óptica y electrónica de transmisión, así como cultivos anaerobios. Las bacterias encontradas fueron principalmente gram positivos, facultativos (*streptococcus*).

La biomasa puede tener un grosor variable la cual contiene bacterias primarias con una matriz interbacteriana, células inflamatorias, células epiteliales y eritrocitos. Ocasionalmente pueden observarse islas de cálculo. En algunas porciones, la colonización ocurre como microcolonias reconocibles.<sup>13</sup> Los datos indicaron que las bacterias colonizan la porción expuesta de la membrana inicialmente y crecen descendiendo hacia la porción no expuesta.

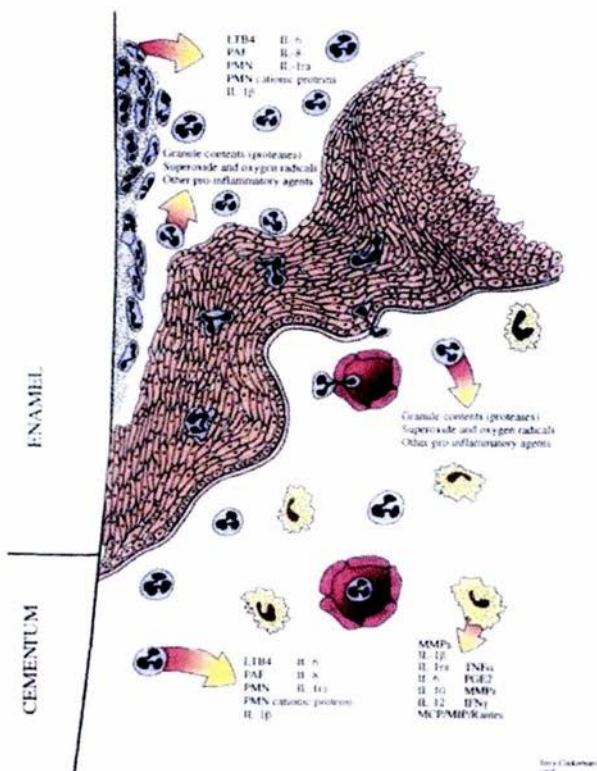


Fig. 5 Respuesta inflamatoria del periodonto a bacterias



En un estudio *in vitro* (Hom-Lay-Wang, 1994),<sup>14</sup> se comparó la adhesión bacteriana de tres diferentes membranas de RTG, PTFE-e, poliglactina 910 y colágena. Seis de los microorganismos más fuertemente adheribles fueron seleccionados (*Actinomyces viscosus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, *Fusobacterium nucleatum* y *Selenomonas sputigena*).

Los resultados mostraron que el *S. mutans*, *S. sanguis*, *A. viscosus*, *P. melaninogenica*, y *Selenomonas sputigena* pueden colonizar todos los materiales seleccionados en 3 días. La mayoría del aumento de la masa microbiana proviene de las bacterias provenientes de la superficie dentaria. También mostraron que el *S. mutans* tiene una fuerte adhesión en todos los puntos todo el tiempo, excepto por *P. gingivalis* el cual exhibió una fuerte unión a la membrana de colágena a las cuatro y seis horas. *Selenomonas sputigena* demostró tener la más baja adherencia.

La poliglactina 910 tiene una significativa baja adherencia al *S. mutans* que las otras dos membranas. No hay diferencia notable con *A. actinomycetemcomitans*, *A. viscosus*, *F. nucleatum* y *Selenomonas sputigena*, siendo comparados con las diferentes membranas. *P. gingivalis*, *P. melaninogenica* y *T. denticola* pueden adherirse y degradar las membranas, especialmente las de tipo reabsorbibles.

Las membranas colágenas son completamente degradadas para el día 5 por el *P. gingivalis*, en contraste, ninguna membrana de PTFE-e mostraron degradación, esto es debido a que *P. gingivalis* produce colagenasas, lo cual participa en la degradación de tejido conectivo.<sup>15</sup>

Chen y cols. 1997<sup>16</sup> realizaron un estudio *in vivo* en el cual compararon el rango en el que 11 de las especies bacterianas comúnmente encontradas en la cavidad oral, colonizan tres diferentes tipos de membranas (colágeno, PTFE-e, y ácido poliláctico). Mediante un ensayo inmunológico demostró que las especies *A. actinomycetemcomitans*, *A. viscosus*, *B. melaninogenicus*, *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *S. mutans*, *S. sanguis*, *Selenomonas sputigena*, *T. denticola*, and *T. vincentii* se encontraban presentes en todas las membranas.

Zuccgelli y cols. 1998 en estudios recientes, se ha demostrado que los diferentes materiales acumulan cantidades variables de bacterias debido a su textura y sus características de superficie estructural, en dicho estudio, compararon las membranas de PTFE-e, ácido poliláctico y poliglactina 910, y se analizaron después de 4 y 24 hrs de exposición intraoral, se encontró una mayor proporción de bacterias en la membrana de PTFE-e comparada con otras dos membranas después de un periodo de 4 hrs, mientras que después de un período de 24 hrs la proporción bacteriana fue menor en la membrana de ácido poliláctico comparada con las otras dos. Tampoco se encontraron diferencias en la proporción de bacilos entre las tres membranas en ambos periodos.<sup>17</sup>

Nowzari y cols. 1996<sup>18</sup>, mostraron en un estudio sobre la colonización bacteriana de PTFE-e y el nivel de inserción, que las bacterias pueden colonizar las membranas a los 3 minutos de manipulación intraoral. El grupo de pacientes tratados con cirugía ósea periodontal que mostraron los menores niveles de patógenos periodontales en las membranas tuvieron una mayor ganancia en el nivel de inserción.

Otros estudios han demostrado la presencia de células inflamatorias y bacterias en membranas de PTFE-e, como el de Yoshinari y cols. 1998<sup>19</sup>, que encontraron ambas, las cuales disminuían hacia la porción apical. La mayoría de las células presentes fueron células mononucleares, eritrocitos, fibroblastos, neutrófilos y células plasmáticas se encontraron en menor cantidad. Las bacterias, de las cuales la mayoría fue Gram positivos, se observaron en igual cantidad en las secciones interna y externa. Lo cual indica que las células inflamatorias pueden adherirse junto con bacterias a las membranas, resulta en una tendencia negativa a una correlación entre el incremento en el número de bacterias y la ganancia del nivel de inserción.

Selving y cols. 1990<sup>20</sup> utilizando un microscopio electrónico de barrido revisaron las membranas de PTFE-e, y encontraron que la membrana se integra en el tejido conectivo reparativo en una pequeña proporción. También refieren que la mayor parte de las membranas se exponen debido a la retracción y recesión gingival, lo cual provoca la acumulación de placa, además de que debido al contorno irregular de la circunferencia del diente, la adaptación del borde de la membrana no necesariamente puede "sellar" el margen para excluir la invasión bacteriana.

En un estudio posterior, también utilizando el microscopio electrónico de barrido, Selving y cols. 1992<sup>21</sup> encontraron que la mayor parte de los especímenes presentaron depósitos bacterianos y también en la zona interna, los depósitos bacterianos incluyeron cocos, filamentos y bacilos, no se encontraron espiroquetas. También identificaron elementos de tejido conectivo. Selving, por el contrario no encontró una correlación negativa entre la contaminación bacteriana y la ganancia del nivel de inserción.

La permeabilidad de las membranas al paso de bacterias como el *Streptococcus mutans* y el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ha sido demostrado por Hung y Cols. 2002<sup>22</sup>, quienes compararon la permeabilidad de tres membranas ( PTFE-e, colágeno y un compuesto glicólico), se menciona que la membrana de PTFE-e tuvo los mejores resultados como barrera, seguido por la membrana de colágeno, además de que el *S. mutans* pasó a través de la membrana más rápidamente que el *A. actinomycetemcomitans*.

El uso de antibióticos sistemáticamente en el post-operatorio, así como la instrucción en el uso de enjuagues bucales como la solución de 0.2% de gluconato de clorhexidina y en conjunción con una instrucción adecuada de control de placa, puede ayudar en obtener mejores resultados en el tratamiento de RTG.<sup>23 24 25 26</sup>



También se ha comenzado a estudiar la posibilidad de utilizar membranas recubiertas de antibióticos como la tetraciclina con la membrana de PTFE-e conocida como PTFE-eT, en un estudio de Zarkesh, 1999<sup>27</sup>, donde comparó los dos tipos de membranas para la corrección de defectos óseos, encontró que la colonización bacteriana se retrasaba en el caso de T-ePTFE, aunque las dos, después de un periodo de 6 semanas eran contaminadas por bacterias periodontopatógenas como *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium species*, *Peptostreptococcus micros*, y *Bacteroides forsythus*

## **Planteamiento del problema**

Las membranas utilizadas para separar el epitelio en procedimientos de cirugía regenerativa son susceptibles a la contaminación bacteriana, lo cual hace que el pronóstico sea menos favorable. Dicha contaminación puede suceder en la superficie interna de la membrana, en contacto con el defecto o la externa, en contacto con el epitelio.

## **Preguntas de investigación**

- ¿Qué tan frecuentemente las membranas en RTG se contaminan?
- ¿Cuál superficie de las membranas presenta mayor contaminación?
- ¿Cuáles bacterias contaminan más frecuentemente las membranas según la tinción de Gram?

## **Objetivo de la investigación**

Determinar en que superficie de las 9 membranas de PTFE-e existe mayor contaminación.

## **Justificación**

Si el pronóstico de la cirugía regenerativa está relacionado con la contaminación bacteriana entonces se debe determinar en que superficie de las membranas de PTFE-e se localiza mayor contaminación.

## **Hipótesis**

Existe mayor colonización bacteriana en la superficie externa de las membranas de PTFE-e que se utilizan en RTG.

## **Hipótesis nula**

No existe mayor colonización bacteriana en la superficie externa de las membranas de PTFE-e que se utilizan en RTG.

## **Metodología**

### *Tipo de investigación:*

Comparativo, con un diseño experimental de estudio de casos en una sola medición.<sup>28</sup>

### *Población de estudio*

Pacientes de la Clínica de Endoperiodontología de la UNAM FES Iztacala atendidos por los estudiantes de la especialización de la generación 2002 – 2004, durante el periodo de agosto del 2003 a enero del 2004, con diagnóstico de periodontitis crónica moderada, con defectos verticales, fase I terminada e índice personal de placa dentobacteriana (pdb) de 10% o menor, que requirieran procedimientos de RTG, y que aceptaran la utilización de membranas de PTFE-e.

### *Criterios de inclusión*

Defectos óseos verticales

Fase I terminada

Índice Personal de PDB de 10% o menor

Aceptación de procedimientos de RTG con membrana de PTFE-e

### *Criterios de exclusión*

Defectos óseos horizontales

Fase I incompleta o deficiente

Índice Personal de PDB mayor a 10%

No aceptación de procedimientos de RTG con membrana de PTFE-e

### *Variables Independientes.*

Membrana de PTFE-e:

Material regenerativo compuesto por politetrafluoretileno expandido (PTFE-e) el cual es una matriz de nódulos de PTFE. La molécula básica de este material consiste en una unión carbono-carbono con cuatro átomos de flúor incorporados para formar un polímero.

### *Variables Dependientes*

Colonización bacteriana:

Es la adhesión de algunos microorganismos en las membranas expuestas dejando el desarrollo de un lecho de infección.<sup>29</sup> La adherencia microbiana puede ser asociada con infección y subsecuente rechazo de muchos biomateriales.<sup>30</sup>

Se dividió la membrana en tres porciones (cervical, media y apical) y se subdividió en externa, media e interna. Las bacterias orales con tinción de Gram fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular (número de células/40 X 60  $\mu\text{m}^2$ ) en las caras interna y externa en la zona más apical de cada membrana.<sup>31</sup>

#### **Consideraciones éticas:**

Se obtuvo un consentimiento informado de los pacientes según la Declaración de Helsinki para la inclusión en el estudio.

#### **Procedimiento experimental:**

Se obtuvieron 9 membranas de PTFE-e utilizadas en procedimientos de Regeneración Tisular Guiada en los pacientes de la Clínica de Endoperiodontología de la UNAM FES Iztacala atendidos por los estudiantes de la especialización de la generación 2002 – 2004, durante el periodo de agosto del 2003 a enero del 2004, con diagnóstico de periodontitis crónica moderada, con defectos verticales, fase I terminada e índice personal de placa dentobacteriana (pdb) de 10% o menor, que requirieran procedimientos de RTG, y que aceptaran la utilización de membranas de PTFE-e, a todos los pacientes se les mantuvo control personal de pdb mediante raspado y alisado coronario y pulido semanal postoperatorio.

Las membranas fueron colocadas según indicaciones e instrucciones, y retiradas después de 4 a 6 semanas como indica la técnica, la permanencia de las membranas pudo verse alterada por la exposición de la misma de más de 5 mm durante el periodo de inclusión.

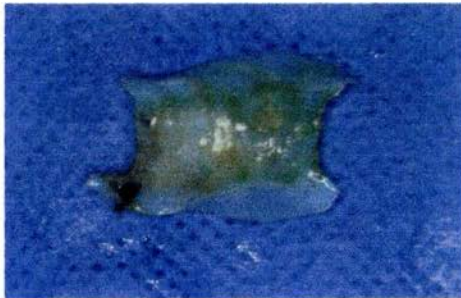


Fig. 6 Membrana de PTFEe

Se obtuvieron 9 membranas de PTFEe, las cuales se numeraron de acuerdo al orden como se recolectaron. Después de la remoción las membranas fueron enjuagadas en solución salina para remover la sangre y placa adheridas, la superficie externa de cada membrana fue marcada con un bisturí, para identificar



cual superficie estuvo en contacto con el tejido regenerado, después fueron fijadas por inmersión en una solución neutra de formol al 10%, posteriormente las secciones que presentaron cambios de coloración fueron identificadas y medidas, dichas secciones fueron deshidratadas con etanol, y entonces embebidas en parafina e incluidas en paraplast y seccionadas a 5  $\mu\text{m}$  en plano corono-apical, colocadas en portaobjetos.<sup>32</sup> Los cortes fueron desparafinizados con xilol, etanol graduado (100, 95, 75, 50 y 30%) e inmersos en agua destilada. Los cortes fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina básica (H-E) y Gram.



Fig. 7 Zona de toma de muestra

Las células fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular clasificándolas por su presencia como: 0= ausente, 1= leve, 2= moderada, 3= abundante, de cada tipo celular con un microscopio óptico por sus tipos: células mononucleares, eritrocitos, fibroblastos, neutrófilos, células plasmáticas en los cortes teñidos con Hematoxilina-Eosina.

Para la tinción de Gram, se dividió la membrana en tres porciones (cervical, media y apical) y se subdividió en externa, media e interna, se analizaron de éstas porciones la apical externa e interna a detalle. Las bacterias orales con tinción de Gram fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular (número de células/40 X 60  $\mu\text{m}^2$ ) en las caras interna y externa en la zona más apical de cada membrana.<sup>33</sup>

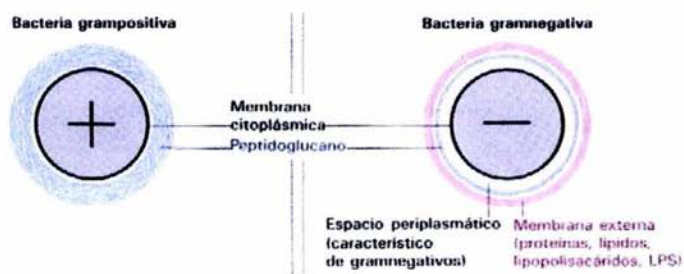


Fig. 9 Características de Bacterias Gram negativas y Gram Positivas



### Tinción de gram modificada (Procedimiento) <sup>31</sup>

1. Desparafinar e hidratar con agua destilada
2. Colocar en un rack de tinción
3. Aplicar 1 ml (20 gotas) de cristal violeta
4. Aplicar 5 gotas de bicarbonato de sodio por 1 minuto
5. Enjuagar con agua
6. Aplicar yodo de gram por 1 minuto
7. Enjuagar con agua
8. Gotear etil-éter-acetona hasta decolorar
9. Aplicar solución de fuccina de trabajo 1 minuto
10. Lavar con agua
11. Escurrir
12. Gotear acetona
13. Aplicar solución de ácido pícrico-acetona hasta que la coloración sea rosa amarillenta
14. Enjuagar con acetona (paso rápido)
15. Enjuagar con solución acetona-xileno
16. Lavar con xileno
17. Montar

### Resultados

Gram positivos	azul
Gram negativos	rojo
Filamentos, <i>Actinomyces</i>	azul
Núcleos	rojo
Otros tejidos	amarillo

## Resultados

Se obtuvieron 9 membranas de PTFEe las cuales se numeraron de acuerdo su recolección, y se recabó la siguiente información:

Membrana	Código	Ancho Total	Largo Total	Zona	Ancho	Largo	Exposición	Observaciones
1	M1 – M	2.5 mm	17 mm	Mesial	1.5 mm	4 mm	Si	Coloración blanco amarillento
	M1 – D			Distal	1 mm	4 mm		Coloración blanco amarillento
2	M2 – M	23 mm	20 mm	Mesial	3 mm	5 mm	Si	Coloración amarillo mostaza
	M2 – D			Distal	3 mm	8 mm		Coloración amarillo mostaza
3	M3 – M	15 mm	33 mm	Mesial	4 mm	9 mm	Si	Coloración amarillo mostaza
	M3 – D			Distal	5 mm	5 mm		Coloración amarillo mostaza
4	M4 – M	17 mm	23 mm	Mesial	3 mm	10 mm	Si	Coloración amarillo mostaza
	M4 – D			Distal	1 mm	8 mm		Coloración amarillo mostaza
5	M5 – M	14 mm	23 mm	Mesial	1mm	8 mm	No	Coloración amarillo verdosa
	M5 – D			Distal	1 mm	8 mm		Coloración amarillo verdosa
6	M6 – M	13 mm	22 mm	Mesial	1 mm	7 mm	No	Coloración amarillo verdosa
	M6 – D			Distal	6 mm	13 mm		Coloración amarillo verdosa
7	M7 – M	15 mm	17 mm	Mesial	2 mm	9 mm	No	Coloración amarillo verdosa
	M7 – D			Distal	2 mm	3 mm		Coloración amarillo verdosa
8	M8 – Int	15 mm	22 mm	Mesial	5 mm	7 mm	Si	Coloración amarillo verdosa
9*	M9– MV	22 mm	25 mm	Mesial Vestibular	2mm	9 mm	No	Coloración blanco amarillento
	M9– MP			Mesial Palatino	2 mm	10 mm		Coloración blanco amarillento
	M9– DV			Distal Vestibular	2 mm	9 mm		Coloración blanco amarillento
	M9– DP			Distal Palatino	2 mm	8 mm		Coloración blanco amarillento

Tabla 1. Datos Iniciales

\* Debido al tamaño y a la presencia del refuerzo de titanio se dividió en dos porciones Mesial y Distal

Se realizó la observación al microscopio óptico a 40 X 60  $\mu\text{m}^2$  de los cortes en la tinción de Hematoxilina-Eosina básica (H-E) en la superficie interna y externa por cada sección de membrana.

En M1-M se observó la presencia moderada de monocitos, neutrófilos y macrófagos, leve de eritrocitos, fibroblastos, células plasmáticas, linfocitos y células epiteliales basales y descamativas en la superficie interna, en la externa se encontró presencia moderada de monocitos, neutrófilos y células epiteliales

basales y descamativas, leve de eritrocitos, células plasmáticas, linfocitos y macrófagos así como ausencia de fibroblastos.

En M1-D en la superficie interna se advirtió la presencia moderada de monocitos y macrófagos, leve de eritrocitos, fibroblastos, neutrófilos, plasmáticas, linfocitos y epiteliales basales y descamativas, mientras que en la superficie externa se observó la presencia abundante de células epiteliales descamativas, moderada de monocitos, neutrófilos, macrófagos y células epiteliales basales, leve de eritrocitos, células plasmáticas, linfocitos y ausencia de fibroblastos.



Fig. 10. M1-M Hematoxilina Eosina 40X

En M2-M en la superficie interna hubo presencia abundante de neutrófilos, macrófagos y células epiteliales descamativas, moderada de monocitos y células plasmáticas, leve de eritrocitos, fibroblastos, linfocitos y epiteliales basales, en la superficie externa se observó abundancia de neutrófilos, macrófagos y células epiteliales descamativas, presencia moderada de monocitos, células plasmáticas, leve de eritrocitos, fibroblastos, linfocitos células epiteliales basales y algunas neutrófilos organizados en forma de rosetas.

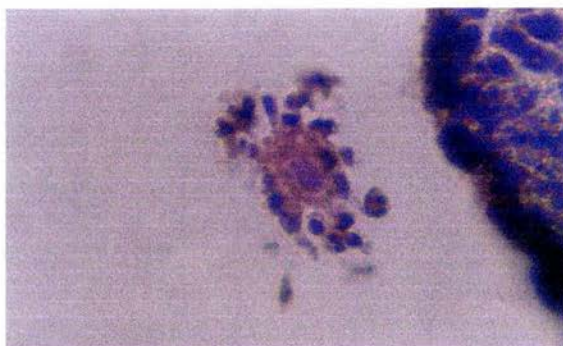


Fig. 11 Roseta H-E 40X

En M2-D superficie interna se observó la presencia leve de todos los tipos celulares, mientras que en la externa la presencia abundante de macrófagos y



células epiteliales descamativas, moderada de monocitos, neutrófilos, células epiteliales basales, leve de fibroblastos, células plasmáticas, linfocitos y la ausencia de eritrocitos. En ésta membrana, tanto en la superficie mesial como distal, se observó la presencia de colonias de hongos.



Fig. 12 Hongos Gram 40X

En M3-M en la superficie interna se observó la presencia moderada de monocitos, neutrófilos, macrófagos y células epiteliales descamativas, leve de eritrocitos, fibroblastos, células plasmáticas, linfocitos, y epiteliales basales, así como la presencia de colonias de hongos, en la superficie externa se observó la presencia abundante de células epiteliales descamativas, moderada de monocitos, neutrófilos, macrófagos, leve de eritrocitos, fibroblastos, linfocitos y células plasmáticas y epiteliales basales, así como de colonias de hongos.

En M3-D en la superficie interna se observó moderada presencia de células plasmáticas y linfocitos, y leve de los demás tipos celulares, en la superficie externa la presencia de monocitos y células epiteliales descamativas fue moderada, y leve de los otros tipos celulares.

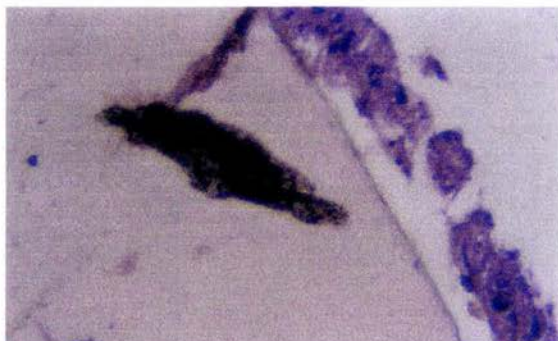


Fig. 13 M3 Células inflamatorias y colonia bacteriana tinción H-E 40X

En M4-M tanto en la superficie interna como externa hubo presencia leve de casi todos los tipos celulares excepto fibroblastos, los cuales se encontraron ausentes,

en M4-D en la superficie interna se observaron fibroblastos y macrófagos abundantes algunos de ellos organizados formando células gigantes, monocitos, neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y epiteliales basales y descamativas moderadas y eritrocitos leve.

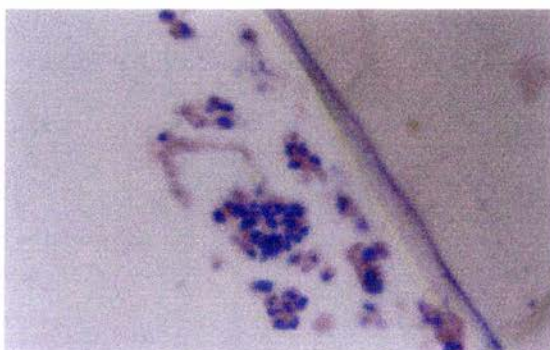


Fig. 14 Células Gigantes H-E 40X

La presencia de neutrófilos, linfocitos, células plasmáticas y epiteliales basales y descamativas fue moderada, mientras que los monocitos, eritrocitos, fibroblastos y macrófagos presentaron una presencia leve en M5-M en la superficie interna, en la superficie externa la presencia de casi todas las células fue leve, excepto por las células epiteliales descamativas. En M5-D se observó moderada presencia de monocitos, eritrocitos, macrófagos, células plasmáticas, epiteliales basales y descamativas y leve de fibroblastos neutrófilos y linfocitos en la superficie interna, la mayoría de las células se observaron moderadas, debido a que la presencia de los monocitos y fibroblastos fue leve.

Se observaron en M6-M en la superficie interna los linfocitos abundantes, los macrófagos, las células plasmáticas y epiteliales basales moderadas y las otras células se observaron de forma leve, en esta zona también se observaron zonas con inicios de osificación, en la superficie externa todas las células se observaron leves excepto por las epiteliales descamativas que se encontraron abundantes.



Fig. 15. Fibroblastos con zonas de osificación H-E 40X



En M6-D interna la mayoría de las células fueron abundantes, aunque los neutrófilos, macrófagos y células epiteliales descamativas se encontraron moderadas y las células epiteliales basales se encontraron leves, en la superficie externa los fibroblastos se encontraron abundantes, los monocitos, eritrocitos y células epiteliales basales y descamativas fueron moderadas y las demás células fueron leves, en ésta superficie también se observó la presencia de colonias de hongos.



Fig. 16 Superficie de M6 con presencia de colonias bacterianas visibles en la superficie. Microscopio Estereoscópico Gram 40X

En M7-M todas las células se observaron leves en la superficie interna, en la externa, fue similar, excepto por los monocitos, linfocitos y células epiteliales descamativas que fueron moderadas. En M7-D en la superficie interna los grupos celulares se encontraron leves, a excepción de los macrófagos, células plasmáticas y epiteliales descamativas, que se encontraron moderadas, en la superficie externa se observaron casi todas las células leves, excepto por los eritrocitos y las células epiteliales descamativas cuya presencia fue moderada.



Fig. 17. Superficie M7 con presencia de colonias de hongos. Microscopio Estereoscópico Gram 40X



En M8-Int los grupos celulares se observaron leves excepto por los linfocitos y las células epiteliales descamativas en la superficie interna, en cambio, en la superficie externa la mayoría se observaron moderadas y solo los fibroblastos leves.

En la última membrana, se observaron la cara mesial y distal en sus porciones vestibular y palatino. En M9-MV en la superficie interna las células se percibieron moderadas aunque la presencia de los eritrocitos y las células epiteliales descamativas fue severa, en la superficie externa los eritrocitos, fibroblastos, neutrófilos, células plasmáticas y linfocitos se advirtieron leves, mientras que las demás células se mostraron de manera leve.

En M9-MP en la superficie interna todos los tipos celulares se observaron en cantidad moderada, en la superficie externa la mayoría fue leve, monocitos y células descamativas moderada y basales severa.

En M9-DV todos los tipos celulares mostraron una presencia moderada tanto en la superficie interna como en la externa, así como en M9-DP en la superficie externa e interna, ésta última presentó a diferencia de las demás los eritrocitos en cantidades severas.

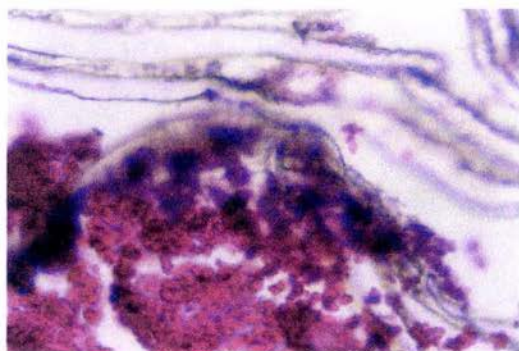


Fig. 18 Eritrocitos H-E 40X

En la tinción de Gram, las bacterias orales tanto positivas (azules) como negativas (rojas) fueron analizadas semicuantitativamente a través de la densidad celular ( $\text{número de células}/40 \times 60 \mu\text{m}^2$ )<sup>32</sup> en las superficies externa e interna y en la zona más interna de cada una de las membranas.

Membrana	Código	Exposición	Gram Positivo		Gram Negativo	
			Interna	Externa	Interna	Externa
1	M1 – M	Si	35	62	115	62
	M1 – D		70	67	140	35
2	M2 – M	Si	120	186	160	57
	M2 – D		177	370	250	82
3	M3 – M	Si	150	365	77	62
	M3 – D		61	145	60	76
4	M4 – M	Si	82	97	95	99
	M4 – D		61	54	68	33
5	M5 – M	No	25	78	44	53
	M5 – D		30	252	33	116
6	M6 – M	No	56	73	26	33
	M6 – D		45	128	66	90
7	M7 – M	No	68	50	88	46
	M7 – D		77	32	58	30
8	M8 – Int	Si	44	84	26	86
9*	M9 – MV	No	367	244	71	148
	M9 – MP		293	106	86	53
	M9 – DV		28	62	53	67
	M9 – DP		192	170	95	200
	Total		1981	2625	1611	1428

Tabla 2. Cuantificación de Bacterias Gram positivas y Gram negativas por membrana por superficie en tercio apical

\* Debido al tamaño y a la presencia del refuerzo de titanio se dividió en dos porciones Mesial y Distal

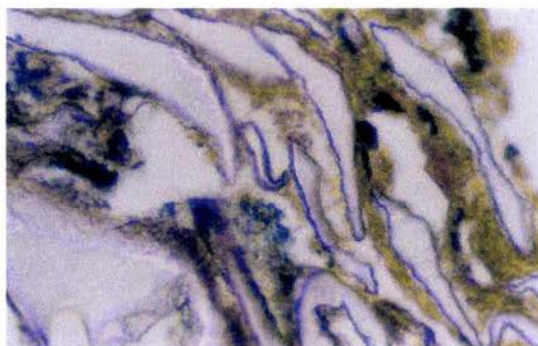


Fig. 19 Bacterias Gram positivas y negativas 40X

Membrana	Código	Exposición	Gram Positivo	Gram Negativo
1	M1 – M	Si	97	177
	M1 – D		137	175
2	M2 – M	Si	306	217
	M2 – D		547	332
3	M3 – M	Si	515	139
	M3 – D		206	136
4	M4 – M	Si	179	194
	M4 – D		115	144
8	M8 – Int	Si	128	112
5	M5 – M	No	103	97
	M5 – D		282	149
6	M6 – M	No	129	59
	M6 – D		173	156
7	M7 – M	No	118	134
	M7 – D		109	88
9*	M9 – MV	No	611	219
	M9 – MP		399	139
	M9 – DV		90	120
	M9 – DP		362	295

Tabla 3. Cuantificación de Bacterias Gram positivas y Gram negativas por membrana y exposición  
 \* Debido al tamaño y a la presencia del refuerzo de titanio se dividió en dos porciones Mesial y Distal

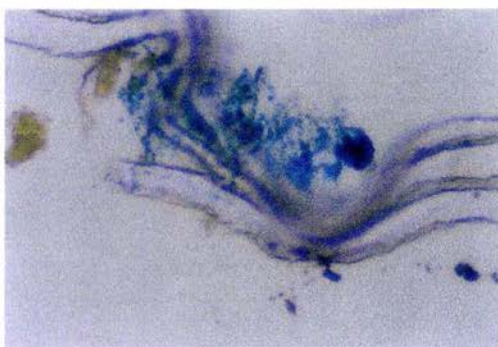


Fig. 20 Bacterias Gram positivas y negativas 40X

## Análisis de Resultados

Se realizó el análisis de la cuantificación de bacterias con la tinción de Gram con la prueba t de Student para comparar a las bacterias gram positivas y gram negativas por superficie, por exposición de membranas y entre membranas expuestas o no con un programa estadístico STATS.

### Superficie externa:

#### Gram positivas

Media:	138.158		
Mediana:	97		
Moda:	62		
Varianza:	10507.58	Rango:	338
Desviación estándar:	102.507	Valor min:	32
Error estándar:	23.517	Valor max:	370

#### Gram negativas

Media:	75.158		
Mediana:	62		
Moda:	33, 53, 62		
Varianza:	1849.696	Rango:	170
Desviación estándar:	43.008	Valor min:	30
Error estándar:	9.867	Valor max:	200

$t_c = 2.47032$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 98.16%

### Superficie interna:

#### Gram positivas

Media:	104.263		
Mediana:	68		
Moda:	61		
Varianza:	8851.982	Rango:	342
Desviación estándar:	94.085	Valor min:	25
Error estándar:	21.586	Valor max:	367

#### Gram negativas

Media:	84.789		
Mediana:	71		
Moda:	26, 95		
Varianza:	2867.731	Rango:	224
Desviación estándar:	53.51	Valor min:	26
Error estándar:	12.285	Valor max:	250

$t_c = .784251$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 56.20%



*Gram positivas externa vs interna*

$t_c = 1.06179$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 70.46%

*Gram negativas externa vs interna*

$t_c = .611503$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 45.53%

*Membranas expuestas*

Gram positivas

Media: 247.778

Mediana: 179

No hay moda

Varianza: 29723.69

Desviación estándar: 172.406

Error estándar: 57.469

Rango: 450

Valor min: 97

Valor max: 547

Gram Negativas

Media: 180.667

Mediana: 175

No hay moda

Varianza: 4279.500

Desviación estándar: 65.418

Error Estándar: 21.806

Rango: 220

Valor min: 112

Valor max: 332

*Membranas no expuestas*

Gram positivas

Media: 237.600

Mediana: 151

No hay moda

Varianza: 29959.60

Desviación estándar: 173.88

Error estándar: 54.735

Rango: 521

Valor min: 90

Valor max: 611

Gram Negativas

Media: 145.600

Mediana: 136.5

No hay moda

Varianza: 4648.933

Desviación estándar: 68.183

Error estándar: 21.561

Rango: 236

Valor min: 59

Valor max: 295

*Gram positivas, membranas expuestas vs membranas no expuestas*

$t_c = .128216$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 10.05%

### *Gram negativas, membranas expuestas vs membranas no expuestas*

$t_c = 1.14088$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 73.03%

#### *Membranas expuestas*

Media:	214.222		
Mediana:	176		
No hay moda			
Varianza:	17193.71	Rango:	450
Desviación estándar:	131.125	Valor min:	97
Error estándar:	30.906	Valor max:	547

#### *Membranas no expuestas*

Media:	237.600		
Mediana:	151		
No hay moda			
Varianza:	29959.60	Rango:	521
Desviación estándar:	173.088	Valor min:	90
Error estándar:	54.735	Valor max:	611

### *Membranas expuestas vs membranas no expuestas*

$t_c = .465140$        $\alpha = 0.05$       Probabilidad de diferencia significativa: 35.54%

## **Discusión y Conclusiones**

Hay algunos estudios que reportan la presencia de células inflamatorias en las membranas de PTFEe<sup>10, 13, 21, 34, 35</sup>. Sin embargo, en éstos estudios refieren una mínima presencia de células inflamatorias al contrario de lo que nosotros observamos, aunque en nuestro estudio, hubo diferencia significativa al comparar individualmente en la mayoría de las membranas, no hubo diferencia en la cantidad de bacterias y sus tipos entre las superficies interna y externa.

Con microscopía electrónica Selvig y cols. 1992<sup>10, 21</sup> examinaron membranas de PTFEe y encontraron una pequeña cantidad de células adheridas al material. Payne y cols. 1996<sup>36</sup> sugirió que la falta de adherencia era provocada por su baja capacidad de humedecerse, o por la superficie rugosa creada por el entramado de fibras del material. Pritlove-Carson y cols. 1994<sup>37</sup> encontraron que las membranas podían establecer la proliferación de células mesenquimáticas. Yoshinari y cols.<sup>19</sup> observaron bajo microscopía óptica e inmuohistoquímica la presencia de células principalmente mononucleares adheridas, similares en cantidad a las que nosotros observamos.

Varios estudios recientes con microscopía electrónica y de luz, así como por cultivos bacterianos han demostrado que la placa dentobacteriana, incluyendo microorganismos periopatógenos, contaminan y colonizan membranas de PTFEe



colocadas sobre defectos periodontales.<sup>10 - 22</sup> Passariello y cols. 1991<sup>38</sup> han mostrado que sitios tratados con membranas muestran mayor colonización bacteriana. Mombelli y cols. <sup>33</sup> aislaron bacilos anaerobios gram negativos de todas las membranas de RTG. Wang y cols. estudiaron la adherencia bacteriana en membranas de PTFEe, reportaron presencia en gran cantidad de *Prevotella melaninogenica*, *Selomonas sputigena* y *Actinomyces viscosus*. Tempro y Nalbandian <sup>13</sup> y Yoshinari <sup>19</sup> reportaron una gran colonización de bacterias gram positivas, Simion y cols. 1994<sup>39</sup> reportó que los microorganismos pueden atravesar las membranas, De Sanctis y cols. 1996<sup>40</sup> observaron que se presentó inclusive en aquellas que no se habían expuesto, en el presente estudio, también la mayor cantidad de bacterias fueron gram positivas, tanto en membranas que presentaron exposición como las que no, aunque la presencia fue mayor en las que presentaron exposición al medio oral.

La contaminación bacteriana puede deberse a la contaminación de las membranas durante el procedimiento quirúrgico ya sea en la colocación o en la remoción o debido a la exposición de la membrana durante el periodo de inclusión de la regeneración. Nowzari <sup>18</sup> reportó que la colonización de las membranas de PTFEe por microorganismos periodontopatógenos sucede después de 3 minutos de manipulación intraoral antes del procedimiento de RTG.

Guillemin y cols. 1993<sup>41</sup> sugirió que la presencia de PDB sobre las membranas no comprometía la recuperación clínica durante las primeras 4 a 6 semanas posteriores a la RTG. Crigger y cols. 1996<sup>42</sup> indicaron que en su estudio histológico el tejido de granulación formado debajo de la porción de membrana clínicamente expuesta podía convertirse en tejido conectivo de reparación en perros beagle.

Selving y cols. 1992 <sup>21</sup> reportaron que la extensión de la exposición oral de la membrana, así como su contaminación al momento de la remoción puede ser un indicador a largo plazo del éxito o fracaso de los procedimientos de regeneración. Aunque aún no es claro hasta que punto la presencia de bacterias afecta al tejido neoformado en la RTG.

Es razonable suponer que las células inflamatorias se encuentran debido a la infección bacteriana, sin embargo, no encontramos estudios que observaran alguna relación entre la presencia de células inflamatorias con la presencia de bacterias.

Usualmente la microscopía electrónica se ha utilizado para la observación de células y colonización bacteriana en la superficie de membranas, por lo que se decidió utilizar la microscopía óptica para examinar el interior de las membranas de PTFE-e, se dividió la membrana en tres porciones (cervical, media y apical) y se subdividió en externa, media e interna, se analizaron de éstas porciones la apical externa e interna a detalle.

## ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

En el presente estudio todas las membranas mostraron la presencia de células inflamatorias y bacterias al momento de la remoción. Ambas se encontraron en toda la superficie de las membranas tanto en la superficie interna como externa así como en el interior (parte central) tanto en las membranas que presentaron exposición como en las que no la presentaron.

En cuanto a las bacterias, la mayor cantidad se presentó en la superficie externa con bacterias gram positivas, las membranas con mayor presencia fueron M2-D y M3-M que presentaron exposición y M5-D, M9-MV que no presentaron exposición, pero en cuanto a gram negativas en la superficie interna, la más contaminada fue M2-D que presentó exposición.

Dentro de los hallazgos se encontró la presencia de colonias de hongos tanto en la superficie como en la zona central de una de las membranas M3 y M6, la presencia de estas células a todo lo largo y ancho de las membranas sugiere su capacidad para pasar a través del grosor de la parte central de las membranas.

Las células que más se presentaron fueron monocitos, neutrófilos y macrófagos, observándose la presencia de células gigantes y rosetas de neutrófilos a lo largo de la superficie M2-D, así como también se observó la presencia de fibroblastos, con zonas con inicios de osificación.

En el análisis estadístico para la superficie externa a la *t* de Student con  $\alpha = 0.05$  con una  $T_c$  de 2.47032 y una  $T_t$  de 1.7291 nos demuestra una diferencia significativa entre la cantidad de bacterias gram positivas y negativas de dicha superficie.

Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar la cantidad de bacterias en la superficie interna, ni cuando se compararon las gram positivas y gram negativas de ambas superficies. Al comparar las bacterias gram positivas de las membranas expuestas contra las no expuestas, así como las gram negativas no se encontró diferencia, así como tampoco se encontró diferencia al comparar la contaminación de las membranas expuestas contra las no expuestas.

En conclusión, el presente estudio demostró la diferencia significativa entre la cantidad de bacterias gram positivas y negativas en la superficie externa, así como la presencia bacterias, células inflamatorias e inclusive hongos que se adhieren e invaden las membranas, las cuales son capaces de atravesar la totalidad las membranas de PTFE-e, y alcanzar su porción más apical tanto en las membranas expuestas como en las no expuestas y aún así, permitir la formación de tejido conectivo neoformado que puede osificarse.

### Agradecimientos

Dr. Salvador Arroniz Padilla  
M. en C. Rodolfo Cárdenas Reygadas



## Bibliografía

- <sup>1</sup> Ross Hardwick, et al. Devices for dentoalveolar regeneration: An up-to-date literature review. *J. Periodontol.* 1995;66: 495-505.
- <sup>2</sup> Lindhe, Jan. *Periodontología Clínica e Implantología Odontológica*. 3ª Ed. Ed. Panamericana. España, 2000.
- <sup>3</sup> J. Caton, et al. Synthetic bioabsorbable barrier for regeneration in Human Periodontal defects. *J. Periodontol.* 1994;65: 1037-1045.
- <sup>4</sup> Hom-Lay Wang, et al. Evaluation of an absorbable collagen membrane in treating class II furcation defects. *J. Periodontol.* 1994;65: 1029-1036.
- <sup>5</sup> Chuan-Chuan Chen, et al. Evaluation of a collagen membrane with and without bone grafts in treating periodontal intrabony defects. *J. Periodontol.* 1995;66: 839-845.
- <sup>6</sup> Scantlebury TV. 1982-1992: A decade of technology development for guided tissue regeneration. *J. Periodontol* 1993; 64:1124-1137.
- <sup>7</sup> Pitroia GP. Histological evaluation of biodegradable and non-degradable membranes placed transcutaneously in rats. *J. Clin Periodontol* 1991;18:581-586.
- <sup>8</sup> Lekovic V. Guided tissue regeneration using calcium phosphate implants together with 4 different membranes. A study on furcations on dogs. *J. Periodontol* 1993;64:1154-1156.
- <sup>9</sup> Hugoson A. Treatment of class II furcation involvements in humans with bioresorbable and non resorbable guided tissue regeneration barriers. A randomized multicenter study. *J. Periodontol* 1993;66:624-634.
- <sup>10</sup> Selving KA, Nilveus RE, Fitzmorris L, et al. Scanning electron microscopic observations of cell population and bacterial contamination of membranes used for guided periodontal tissue regeneration in humans. *J. Periodontol* 1990;61:515-520.
- <sup>11</sup> Lundgren D. The influence of the design of two different bioresorbable barriers on the results of guided tissue regeneration therapy. An intra-individual comparative study in monkey. *J. Periodontol* 1995;66:605-612.
- <sup>12</sup> Brex M, Theilade J, Atstrom R. A ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early plaque growth. *J. Periodontol Res* 1983;18:177-186.
- <sup>13</sup> Tempro PJ, Nalbantian J. Colonization of retrieved polytetrafluoroethylene membranes: morphological and microbiological observations. *J. Periodontol* 1993; 64:162-168.
- <sup>14</sup> Wang HL, Yuan K, Burgett F, Shyr Y, Syed S. Adherence of oral microorganisms to guided tissue regeneration therapy. An in vitro study. *J. Periodontol* 1994;65:211-218.
- <sup>15</sup> Gibbons RJ. Bacterial adhesion to oral tissues: A model for infectious diseases. *J. Dent Res* 1989;68:750-760.
- <sup>16</sup> Chen Y-T, Wang H-L, Lopatin D E, O'Neal R, and MacNeil R L. Bacterial adherence to guided tissue regeneration barrier membranes exposed to the oral environment. *J. Periodontol* 1997;68:172-179.
- <sup>17</sup> Zucchelli G., Cesaro C, Clauser C, De Sancis M. Early bacterial colonization of guided tissue regeneration membranes materials. An in vivo study. *J. Periodontol.* 1998; 69: 1193-1202.
- <sup>18</sup> Nowzari H, Smith MacDonald E, Flynn J, London RM, Morrison JL, and Slots J. The dynamics of microbial colonization of barrier membranes for guided tissue regeneration. *J. Periodontol* 1996;67:694-702.
- <sup>19</sup> Yoshinari N, Tohya T, Mori A, Koide M, Kawase H, Takada T, Inagaki K, Noguchi T. Inflammatory cell population and bacterial contamination of membranes used for guided tissue regenerative procedures. *J. Periodontol* 1998;69:460-469.
- <sup>20</sup> Selving K, Nilveus R, Fitzmorris L, Kersten B, Khorsandi S. Scanning electron microscopic observations of cell population and bacterial contamination of membranes used for guided periodontal tissue regeneration in humans. *J. Periodontol* 1990;61:515-520.
- <sup>21</sup> Selving K, Kersten B, Durwin A, Chamberlain H, Wikesjö U, Nilveus R. Regenerative Surgery of intrabony periodontal defects using ePTFE barrier membranes: Scanning electron microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J. Periodontol* 1992;63:974-978.
- <sup>22</sup> Hung SL, Lin YW, Wang YH, Chen YT, Su CY, Ling LJ. Permeability of *Streptococcus mutans* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* through guided tissue regeneration membranes and their effects on attachment of periodontal ligament cells. *J. Periodontol* 2002;73:843-851.



- <sup>23</sup> Laurel L. Clinical use of a bioresorbable matrix barrier in guided tissue regeneration therapy. Case series. *J. Periodontol* 1994;65:967-975.
- <sup>24</sup> Gottlow J. Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: Initial healing and long-term results. *J Periodontol* 1993; 64:1157-1165.
- <sup>25</sup> Zucchelli G, Pollini F, Clause C, De Sanctus M. The effect of chlorhexidine mouthrinses in early bacterial colonization of guided tissue regeneration membranes. An in vivo study. *J Periodontol* 2000;71:263-271.
- <sup>26</sup> Yoshinari N, Tohya T, Kawase H, Matsuoka M, Nakane M, Kawachi M, Mitani A, Koide M, Inagaki K, Fukuda M, and Noguchi T. Effect of repeated local minocycline administration on periodontal healing following guided tissue regeneration. *J Periodontol* 2001;72:284-295.
- <sup>27</sup> Zarkesh N, Nowzari H, Morrison JL, Slots J. Tetracycline-Coated polytetrafluoroethylene barrier membranes in the treatment of intraosseous Periodontal Lesions. *J Periodontol* 1999;70:1008-1016.
- <sup>28</sup> Hernández Roberto. Metodología de la Investigación.
- <sup>29</sup> Lundgren D. The influence of the design of two different bioresorbable barriers on the results of guided tissue regeneration therapy. An intra-individual comparative study in monkey. *J Periodontol* 1995;66:605-612.
- <sup>30</sup> Brex M, Theilade J, Attstrom R. A ultrastructural quantitative study of the significance of microbial multiplication during early plaque growth. *J. Periodontol Res* 1983;18:177-186.
- <sup>31</sup> Lee G L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw Hill Book Co. 1968 USA, 222
- <sup>32</sup> Martoja R. Técnicas de Histología Animal. Toray – Masson, S.A. España, 1970.
- <sup>33</sup> Lee G L. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw Hill Book Co. 1968 USA, 222
- <sup>34</sup> Mombelli A, Lang NP, Nyman S, Isolation of periodontal species after guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1993;64:1171-1175.
- <sup>35</sup> Salonen JI, Persson RG. Migration of epithelial cells on materials used in guided tissue regeneration. *J Periodont Res* 1990;25:215-221
- <sup>36</sup> Payne JM, Cobb CM, Rapley JW, Killow WJ, Spencer P. Migration of human gingival fibroblast over guided tissue regeneration barrier materials. *J Periodontol* 1996;67:236-244
- <sup>37</sup> Pritlove-Carsons S, Palmer RM, Morgan PR, Floyd PD. Immunohistochemical analysis of cells attached to teflon membranes following guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1994;55:134-138
- <sup>38</sup> Passariello C, Thaller MC, Selan L, Bertutti F, de Luca M, Renzini G. Periodontal regeneration procedures may induce colonization by glycocalyx-producing bacteria. *Med Microbiol Immunol* 1991;180:67-72
- <sup>39</sup> Simion M, Trisi P, Maglione M, Piattelli A. A preliminary report on a method studying the permeability of expanded polytetrafluoroethylene membrane to bacteria in vitro: A scanning electron microscope analysis. *J Periodontol* 1994;65:755-761
- <sup>40</sup> De Sanctis M, Zucchelli G, Clauser C. Bacterial colonization of barrier material and periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1996;23:1039-1046
- <sup>41</sup> Guillemín MR, Melloning JT, Brunsvold MA. Healing in periodontal defects treated by decalcified freeze-dried bone allografts in combination with ePTFE membranes. clinical and scanning electron microscope analysis. *J Clin Periodontol* 1993;20:528-536
- <sup>42</sup> Crigger M, Bogle GC, Garrett S, Gantes BG, Repair following treatment of circumferential periodontal defects in dogs with collagen and expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes. *J Periodontol* 1996;67:403-413