



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LA CLINDAMICINA Y
DESCRIPCIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA PLACA
DENTOBACTERIANA SUBGINGIVAL EN SUJETOS
MEXICANOS CON PERIODONTITIS CRÓNICA

T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
C I R U J A N A D E N T I S T A
P R E S E N T A :
J A Z M Í N Y U N U E N M O R E N O B O R J A S

TUTORA:

DRA. LAURIE ANN XIMÉNEZ FYVIE

MÉXICO, D.F.

2005

Vo. Bo.
[Handwritten signature]

m. 346040

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme permitido ser parte de ella y cumplir uno de mis más grandes anhelos que es recibir una formación profesional.

A la Facultad de Odontología y a todo su personal académico por haber forjado una profesionista capacitada y con los fundamentos necesarios para ejercer una práctica con calidad y humanitaria, y contribuir así a la salud de la sociedad.

Al Laboratorio de Genética Molecular por abrirme las puertas y permitir realizar este trabajo.

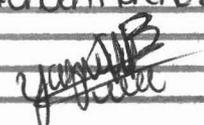
A mi tutora Dra. Laurie Ann Ximénez Fyvie por su apoyo, paciencia y profesionalismo para lograr mi transición de estudiante a Cirujana Dentista.

A mis asesores: C.D. Argelia Almaguer Flores y C.D. Luis Octavio Sánchez Vargas, y a todos aquellos que han contribuido de alguna u otra forma a la realización de este trabajo, en especial a mis amigos de laboratorio.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Jazmín Yucen Moreno Rojas

FECHA: 29/06/05

FIRMA: 

DEDICATORIAS

Primeramente a Dios por tener cuidado de mí siempre y porque todo lo bueno que tengo lo he recibido de Él. Gracias por todas tus bendiciones y por permitirme lograr una de mis metas.

A mis padres queridos: Arturo Manuel Moreno Barragán y Sara Borjas García por todo su apoyo, confianza y amor. Porque han sabido formar una familia unida y hermosa, por ser unos padres que para mí son los mejores del mundo y los amo con todo mi corazón. Gracias por todo.

A mis hermanos: Lizeth Xatzibe y Manuel Arturo porque junto con ellos he aprendido a desenvolverme como persona. Con mucho cariño para ustedes, los quiero mucho.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	
A. Antecedentes bibliográficos	1
Enfermedad periodontal	1
Composición microbiológica de la placa dentobacteriana	3
Antibióticos sistémicos en la terapia periodontal	4
Mecanismos de acción y de resistencia a la clindamicina	6
B. Planteamiento y justificación del problema	8
C. Objetivos	10
D. Hipótesis	10
II. MATERIALES Y MÉTODOS	
A. Diseño experimental	11
B. Población de estudio	11
Criterios de selección	11
Captura de sujetos de estudio	12
C. Evaluación clínica	12
D. Determinación de concentraciones mínimas inhibitorias de cepas de referencia control	13
E. Evaluación microbiológica de muestras de placa dentobacteriana subgingival	14
Porcentaje de resistencia de la microbiota total cultivable	14
Determinación de la composición microbiológica	15
F. Análisis estadístico de datos	19
III. RESULTADOS	
A. Concentraciones mínimas inhibitorias de cepas de referencia control	21
B. Porcentaje de resistencia de la microbiota total cultivable	21
C. Determinación de la composición microbiológica subgingival	22
IV. DISCUSIÓN	24
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
VI. TABLAS	42
VII. FIGURAS	49
VIII. ANEXOS	57

I. INTRODUCCIÓN

A. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

ENFERMEDAD PERIODONTAL

Se denomina así a una serie de procesos patológicos de carácter infeccioso que tienen en común la afectación de los tejidos de soporte del diente (Liébana-Ureña, 2002). Estos cuadros se engloban bajo los nombres de *gingivitis* y *periodontitis*. La primera se define como inflamación de la encía; a diferencia de las periodontitis que involucran también al ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar (Weidlich *et al.*, 2001). Las gingivitis son procesos inflamatorios, inducidas por la acumulación de placa y son fácilmente reversibles con la eliminación de ésta; sin embargo, las periodontitis se definen por la pérdida irreversible de los tejidos de soporte del diente (The-American-Academy-of-Periodontology, 2000a; The-American-Academy-of-Periodontology, 2000b; The-American-Academy-of-Periodontology, 2000c).

La etiología de la periodontitis es multifactorial, sin embargo, los depósitos de grupos específicos de bacterias juegan un papel esencial en su patogenia (Haffajee & Socransky, 1994; van Winkelhoff *et al.*, 2002). A pesar de que pueden estar implicados algunos patógenos exógenos, dichas infecciones son el resultado del crecimiento de bacterias comensales u oportunistas (Lindhe *et al.*, 1998; Paster *et al.*, 2001).

Se reconoce que la cavidad oral del ser humano alberga una de las poblaciones microbianas más concentradas y variadas, encontrándose éstas principalmente en el dorso de la lengua, surco gingival y en la placa dentobacteriana supragingival (Mager *et al.*, 2003). La cavidad bucal puede estar colonizada por aproximadamente 150 a 400

especies bacterianas diferentes a la vez (Haffajee & Socransky, 1994). Las cuentas bacterianas en un surco gingival sano son de aproximadamente 10^3 mientras que en un surco enfermo son de 10^8 (Paster *et al.*, 2001; Socransky & Haffajee, 1994). El potencial patogénico de la placa dentobacteriana ha sido ampliamente estudiado y se conoce que en ella existen cantidades abundantes de productos bacterianos tóxicos como endotoxinas, ácidos grasos y orgánicos, leucotoxinas y enzimas solubles capaces de hidrolizar algunos constituyentes de los tejidos (Gibbons & MacDonald, 1961; Lindhe *et al.*, 1998; McArthur *et al.*, 1981; Socransky & Haffajee, 1992).

La enfermedad periodontal inicia con un proceso inflamatorio en donde predominan inicialmente los neutrófilos y posteriormente se desencadena una respuesta inmune donde los linfocitos T y B son los principales mediadores. El proceso de destrucción de los tejidos periodontales de soporte es el resultado de la combinación de diversos factores; por un lado, un mecanismo de defensa incapaz de eliminar a los agentes infecciosos y por otro, del efecto de las sustancias tóxicas secretadas por las bacterias y de las sustancias liberadas por las propias células del individuo (Lindhe *et al.*, 1998; Page, 1991). La gingivitis, en contraste, está asociada principalmente con el aumento en la carga microbiana. En un estudio monitoreado durante 3 a 12 meses se comparó la microbiota oral en salud, gingivitis y en periodontitis inicial, identificándose principalmente a *Actinomyces naeslundii* serotipo 1, *Streptococcus oralis* y *Campylobacter gracilis* como especies dominantes en la gingivitis (Tanner *et al.*, 1998). En la periodontitis, a diferencia de la gingivitis, no sólo hay un aumento en el total de la carga microbiana sino también una fuerte asociación de especies tales como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* y *Treponema denticola*, entre otras, las cuales son consideradas bacterias

periodontopatógenas (Kinane *et al.*, 1999; Slots, 2002; van Winkelhoff *et al.*, 2002; Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000a; Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000b).

COMPOSICIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA PLACA DENTOBACTERIANA

La placa dentobacteriana es una estructura compleja que se conoce con el nombre de *biopelícula*, la cual está formada por grupos de especies bacterianas embebidas en una matriz altamente hidratada compuesta principalmente por polímeros bacterianos extracelulares, productos salivales y/o exudados gingivales y exopolisacáridos (Costerton *et al.*, 1995; Donlan & Costerton, 2002; Socransky & Haffajee, 2002).

Las primeras bacterias que colonizan la superficie dental generalmente son bacilos y cocos Gram positivos, principalmente miembros de los géneros *Streptococcus* y *Actinomyces* que se adhieren a la superficie dental a través de un mecanismo de adhesión bioquímica proteína-proteína entre los fimbrios de las bacterias y las proteínas salivales acídicas ricas en prolina. Conforme la placa madura, se agregan bacterias de otros géneros tales como *Fusobacterium*, *Corynebacterium* y *Capnocytophaga* sobre las cuales se coagregan los colonizadores tardíos de la placa, tales como miembros de los géneros *Porphyromonas*, *Treponemas*, *Selenomonas* y *Tannerella*, entre otros. Estos grupos de bacterias continúan proliferando y asociándose hasta formar una estructura en donde las bacterias siguen interactuando y dependiendo unas de otras (Genco *et al.*, 1993; Lindhe *et al.*, 1998; Socransky & Haffajee, 2002).

La microbiología de la placa dentobacteriana en pacientes con enfermedad periodontal así como en pacientes sanos incluye las especies de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythensis* que son consideradas los principales patógenos periodontales, pero en el caso de pacientes con enfermedad

periodontal, la prevalencia, niveles y proporción de éstos, aumenta en comparación con los pacientes sanos (Fujise *et al.*, 2002; van Winkelhoff *et al.*, 2002; Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000a).

En un estudio previo, se analizaron muestras de placa supra y subgingival tomadas de 23 sujetos con enfermedad periodontal. La prevalencia de patógenos periodontales tales como *T. forsythensis*, *P. gingivalis* y *T. denticola* no mostraron diferencias significativas entre la placa supra y subgingival y una o más de estas especies fueron detectadas en más del 50% de sitios, sin embargo, la cuantificación de *T. forsythensis* y *P. gingivalis* fue más alta en la placa subgingival. Estas dos especies y *T. denticola* estuvieron presentes en un mayor porcentaje de sitios en el espacio subgingival. Otros géneros de bacterias consideradas periodontopatógenas tales como *Fusobacterium* y *Prevotella* mostraron patrones de colonización semejantes tanto en la placa subgingival como en la supragingival. Sin embargo, los microorganismos que se encontraron en mayor proporción en placa de ambos sitios fueron especies tales como *Actinomyces israelii*, *Actinomyces odontolyticus* y *Streptococcus gordonii*, a diferencia de las bacterias consideradas como periodontopatógenas que se encontraron más comúnmente en la placa subgingival (Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000b).

ANTIBIÓTICOS SISTÉMICOS EN LA TERAPIA PERIODONTAL

La selección de una terapéutica antibiótica adecuada para las enfermedades periodontales no es tarea fácil. La revisión de la literatura revela algunos estudios largos y controlados que comparan la eficacia de los antibióticos solos contra las terapias mecánicas. Sin embargo, en base a la evidencia disponible, se recomienda el uso adjunto de antibióticos y debridación mecánica para el tratamiento (Bollen & Quirynen,

1996; Eick *et al.*, 2004; Haffajee *et al.*, 2003; Walker & Karpinia, 2002). Esta terapia se denomina procedimiento no quirúrgico de 2 fases. Sin embargo, la eficacia de este tratamiento es aún controversial, puesto que mientras muchos estudios reportan mejorías con el uso de esta terapia de dos pasos, algunos no han reportado mejorías significativas (Magnusson *et al.*, 1994; Serino *et al.*, 2001; Sigusch *et al.*, 2001; Slots, 2002). Sin embargo, es de gran importancia determinar la utilidad de la adición de terapia antimicrobiana al tratamiento mecánico debido a que el uso indiscriminado de antibióticos conduce a la aparición de cepas bacterianas resistentes.

La tetraciclina (Seymour & Heasman, 1995) ha sido el antibiótico más frecuentemente empleado en la terapia periodontal; no obstante, debido a la aparición de resistencia a dicho grupo de antimicrobianos de *A. actinomycetemcomitans* (Rodrigues *et al.*, 2004), se ha sugerido recurrir a otros antibióticos que también han mostrado respuestas clínicas favorables (Gordon & Walker, 1993; Walker *et al.*, 1993). En este sentido, ha sido recomendado el uso de la clindamicina (Walker & Gordon, 1990), metronidazol (van Winkelhoff *et al.*, 2000b) y amoxicilina (Rooney *et al.*, 2002) ya sea sola o en combinación con ácido clavulánico (Tenenbaum *et al.*, 1997) o metronidazol (Winkel *et al.*, 2001), pudiendo usarse cualquiera de los anteriores en conjunto con la terapia mecánica (Walker & Karpinia, 2002).

Diversos estudios han reportado la eficacia de la clindamicina contra infecciones bacterianas anaerobias (Sutter & Finegold, 1976; Yu *et al.*, 1999) en otras partes del cuerpo además de la cavidad oral. La administración sistémica de clindamicina ha sido sugerida como una alternativa favorable para tratar la enfermedad periodontal debido a su acción sobre bacilos anaerobios obligados tales como *P. gingivalis* y *Prevotella*

intermedia (Eick *et al.*, 2000). Su uso alcanza óptimos resultados en el tratamiento de la periodontitis avanzada, eliminando y previniendo la recolonización temprana de especies periodontopatógenas (Eick *et al.*, 2000). Otros efectos positivos de la clindamicina son: su capacidad para penetrar en el hueso y la influencia negativa en la formación de biopelículas, sin embargo, se ha reportado que algunas cepas de *A. actinomycetemcomitans*, patógeno importante en la periodontitis, pueden presentar resistencia a la clindamicina, por lo que es necesario un estudio más amplio de sus efectos sobre la microbiota subgingival (Genco *et al.*, 1993; Negroni, 1999).

MECANISMOS DE ACCIÓN Y DE RESISTENCIA A LA CLINDAMICINA

La clindamicina es un bacteriostático, derivado semisintético de la lincomicina que difiere estructuralmente de este último compuesto por la sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo y la inversión del carbono en la posición 7 (Jawetz *et al.*, 1997) (**Figura 1**).

La clindamicina actúa inhibiendo la transpeptidación o “salto” del péptido desde el peptidil-tRNA, situado en el sitio peptidil (P) al aminoacil-tRNA localizado en el sitio aminoacil (A), debido a un cambio configuracional de la proteína en el sitio P donde se ejerce la acción peptidiltransferasa. De esta manera, se interfiere en la unión con el complejo aminoácido-acil-tRNA (Liébana-Ureña, 2002; Murray *et al.*, 2003). Estos fármacos parecen ejercer sus efectos mediante la unión a la subunidad ribosomal 50S (**Figura 2**).

La clindamicina es efectiva sobre un amplio espectro de microorganismos anaerobios estrictos y facultativos en concentraciones fácilmente obtenibles en el fluido

gingival (Walker *et al.*, 1981). Tiene acción contra bacterias Gram negativas, particularmente cepas de *T. forsythensis*, *Campylobacter rectus*, especies de *Fusobacterium*, especies de *Selenomonas* y *Bacteroides fragilis*. Se distribuye en hueso, tejidos y fluidos. Y se acumula en leucocitos polimorfonucleares por lo que su concentración es alta en tejidos inflamados (Genco *et al.*, 1993; Goodman-Gilman *et al.*, 2000; Lindhe *et al.*, 1998; Yu *et al.*, 1999). La clindamicina se ha recomendado principalmente para casos de periodontitis refractaria (Gordon & Walker, 1993; Walker *et al.*, 1993), ya que se han reportado resultados favorables de este tratamiento en conjunto con la terapia mecánica en casos de dicha enfermedad (Walker & Gordon, 1990).

Se han realizado estudios de la efectividad del tratamiento con clindamicina en conjunto con terapia mecánica en pacientes con periodontitis refractaria (Gordon *et al.*, 1990; Gordon *et al.*, 1985). Estos estudios consistieron en una terapia de dos fases, en la que se administró clindamicina durante 7 días y se dio un seguimiento a los pacientes de 12 hasta 24 meses. Dichos estudios reportaron una eficacia positiva del tratamiento ya que la incidencia de la enfermedad activa disminuyó de un índice anual de 8.0% a 0.5%. Los parámetros clínicos periodontales tales como profundidad de bolsa, enrojecimiento, sangrado al sondeo y supuración demostraron una mejoría dramática a partir de los 12 meses subsecuentes a la terapia conjunta con clindamicina.

La dosis habitual de clindamicina es de 300-600 mg/día administrada cada 6 a 8 horas (Gilbert *et al.*, 2003) y alcanza una concentración de 2 µg/ml en el fluido gingival, después de una a dos horas de la administración oral (Walker *et al.*, 1981). Sin embargo, se ha reportado que casi todas las cepas de *Eikenella corrodens* y el 65% de

las de *A. actinomycetemcomitans* son resistentes a estas concentraciones (Genco *et al.*, 1993; Negroni, 1999; Walker *et al.*, 1981).

Así como se ha reportado con otros antibióticos, la terapia con clindamicina no se exenta de mecanismos bacterianos de resistencia. El mecanismo de resistencia que se presenta con mayor frecuencia se debe a la alteración del sitio blanco del antibiótico, tratándose en este caso de la subunidad 50S o la fracción 23S del RNA ribosomal en el ribosoma bacteriano (**Figura 2**). Es decir, la resistencia a la clindamicina puede ser debida a una mutación cromosomal que se expresa como una modificación del receptor del antibiótico en la subunidad 50S ribosomal (Yu *et al.*, 1999), o bien se puede conferir por otras bacterias por medio de plásmidos o transposones (Normark & Normark, 2002) los cuales pueden inducir la metilación de la adenina de la fracción 23S del RNA ribosomal en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano; en una modificación postranscripcional de dicha fracción, lo cual provoca que la afinidad del antibiótico al sitio de acción se vea alterada (Fluit *et al.*, 2001; Livermore, 2003; Murray *et al.*, 2003). En 1991 se encontraron plásmidos con la capacidad de transferir este tipo de resistencia a la clindamicina en *B. fragilis* (Yu *et al.*, 1999).

B. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En México la enfermedad periodontal es un problema de gran trascendencia en salud bucal, puesto que es una de las causas principales de pérdida de piezas dentales.

La meta en el tratamiento de las enfermedades periodontales es la eliminación de los agentes que causan la pérdida de los tejidos de soporte del diente, para esto, se ha empleado la terapia mecánica con mayor frecuencia en el tratamiento de estas

las de *A. actinomycetemcomitans* son resistentes a estas concentraciones (Genco *et al.*, 1993; Negroni, 1999; Walker *et al.*, 1981).

Así como se ha reportado con otros antibióticos, la terapia con clindamicina no se exenta de mecanismos bacterianos de resistencia. El mecanismo de resistencia que se presenta con mayor frecuencia se debe a la alteración del sitio blanco del antibiótico, tratándose en este caso de la subunidad 50S o la fracción 23S del RNA ribosomal en el ribosoma bacteriano (**Figura 2**). Es decir, la resistencia a la clindamicina puede ser debida a una mutación cromosomal que se expresa como una modificación del receptor del antibiótico en la subunidad 50S ribosomal (Yu *et al.*, 1999), o bien se puede conferir por otras bacterias por medio de plásmidos o transposones (Normark & Normark, 2002) los cuales pueden inducir la metilación de la adenina de la fracción 23S del RNA ribosomal en la subunidad 50S del ribosoma bacteriano; en una modificación postranscripcional de dicha fracción, lo cual provoca que la afinidad del antibiótico al sitio de acción se vea alterada (Fluit *et al.*, 2001; Livermore, 2003; Murray *et al.*, 2003). En 1991 se encontraron plásmidos con la capacidad de transferir este tipo de resistencia a la clindamicina en *B. fragilis* (Yu *et al.*, 1999).

B. PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En México la enfermedad periodontal es un problema de gran trascendencia en salud bucal, puesto que es una de las causas principales de pérdida de piezas dentales.

La meta en el tratamiento de las enfermedades periodontales es la eliminación de los agentes que causan la pérdida de los tejidos de soporte del diente, para esto, se ha empleado la terapia mecánica con mayor frecuencia en el tratamiento de estas

enfermedades. Desde el punto de vista biológico y microbiológico, esto contradice los principios terapéuticos de las enfermedades infecciosas. La mejoría clínica que se ha observado con la terapia mecánica es, en realidad, el único sustento válido para seguirla utilizando. Por otro lado, el uso de los antibióticos en el tratamiento de las enfermedades periodontales también ha sido ampliamente estudiado y aun así, la eficacia de estos tratamientos es aún controversial.

Los mecanismos de resistencia bacteriana son muy variados. Se han descrito mecanismos específicos que tienen las diferentes especies bacterianas a diversos antibióticos. En muchos casos, la resistencia es mediada por elementos genéticos móviles como plásmidos y transposones, que pueden diseminarla entre diferentes géneros bacterianos. En este caso, el problema se vuelve crítico porque generalmente estos elementos llevan determinantes multirresistentes (Fluit *et al.*, 2001).

Otros factores importantes incluyen el uso indiscriminado de antibióticos en nuestro país, la falta de restricción en su uso y adquisición; la automedicación y la utilización de dosis terapéuticas inadecuadas; por consecuencia estos factores pueden influir en el número de cepas que tienen o desarrollan resistencia.

La presente investigación se encaminó a la determinación del porcentaje de cepas resistentes a la clindamicina en muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica. Se espera que los resultados de este proyecto amplíen el conocimiento y contribuyan a la mejor selección de una terapia antibiótica.

C. OBJETIVOS

1) Determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de clindamicina para 40 cepas de referencia control.

2) Determinar el porcentaje de la flora total cultivable resistente a la clindamicina en muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica.

3) Definir la composición microbiológica de muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica.

D. HIPÓTESIS

1) El porcentaje de resistencia a la clindamicina será mínimo en la microbiota subgingival de muestras de placa dentobacteriana en pacientes mexicanos con periodontitis crónica.

2) La microbiota de las muestras de placa dentobacteriana subgingival en pacientes mexicanos con periodontitis crónica será similar a la descrita con anterioridad en la literatura para sujetos con periodontitis crónica de otras poblaciones.

C. OBJETIVOS

1) Determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de clindamicina para 40 cepas de referencia control.

2) Determinar el porcentaje de la flora total cultivable resistente a la clindamicina en muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica.

3) Definir la composición microbiológica de muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica.

D. HIPÓTESIS

1) El porcentaje de resistencia a la clindamicina será mínimo en la microbiota subgingival de muestras de placa dentobacteriana en pacientes mexicanos con periodontitis crónica.

2) La microbiota de las muestras de placa dentobacteriana subgingival en pacientes mexicanos con periodontitis crónica será similar a la descrita con anterioridad en la literatura para sujetos con periodontitis crónica de otras poblaciones.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. DISEÑO EXPERIMENTAL

El presente proyecto de investigación comprendió la realización de un estudio en donde se evaluaron un total de 2 muestras de placa dentobacteriana subgingival de cada uno de 5 sujetos de estudio para determinar el porcentaje de especies bacterianas cultivables resistentes a la clindamicina, y 28 muestras de placa dentobacteriana subgingival de los mismos sujetos de estudio para determinar su composición microbiológica.

Los sujetos de estudio fueron evaluados en una visita, en la cual se realizó una evaluación del estado de salud general y periodontal del sujeto, los datos clínicos periodontales fueron registrados y se recolectaron las muestras de placa dentobacteriana.

B. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de sujetos de estudio consistió de un total de 5 sujetos mexicanos por nacimiento, que no habían recibido ningún tipo de tratamiento periodontal en el pasado más allá de profilaxis.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

En la **tabla 1** se resumen los criterios que fueron considerados para la inclusión de sujetos de estudio.

Fueron excluidos del estudio todos los sujetos que presentaron embarazo o que se encontraran lactando, que hubieran tomado cualquier clase de antimicrobiano

sistémico en los 3 meses previos a su evaluación para el estudio y que presentaron condiciones sistémicas que pudieran influir sobre el curso o severidad de la enfermedad periodontal tales como diabetes, VIH/SIDA, hemofilia, enfermedades autoinmunes, etc.

CAPTURA DE SUJETOS DE ESTUDIO

Todos los sujetos de estudio provinieron de la población de pacientes que reciben atención en la Clínica de Periodoncia de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

El propósito y naturaleza del estudio, incluyendo el tipo y procedimientos específicos para el registro de mediciones clínicas y recolección de muestras, fueron explicados a cada sujeto potencial de estudio. Los sujetos recibieron copia de la forma de consentimiento informado en la que se delineó explícitamente el protocolo del estudio (**Anexo 1**). Se pidió a los sujetos que firmaran dicha forma, con lo cual establecieron su entendimiento sobre el estudio y el deseo voluntario de participar. Las características clínicas de la población de estudio se presentan en la **tabla 2**.

C. EVALUACIÓN CLÍNICA

Cada sujeto de estudio recibió una evaluación periodontal completa realizada por un clínico calibrado para este propósito.

Todas las mediciones clínicas fueron tomadas en una sola visita y registradas de 6 sitios por diente (mesiovestibular, vestibular, distovestibular, distolingual, lingual y mesiolingual) de todos los dientes en la boca de cada sujeto de estudio excluyendo los terceros molares (máximo 168 sitios por sujeto dependiendo del número de dientes faltantes) de acuerdo con procedimientos previamente descritos en la literatura (Haffajee *et al.*, 1983).

Los parámetros clínicos y el orden de las mediciones se realizaron de la siguiente manera:

1. Acumulación de placa (0 ó 1)
2. Enrojecimiento gingival (0 ó 1)
3. Profundidad de bolsa (mm)
4. Nivel de inserción (mm)
5. Sangrado al sondeo (0 ó 1)
6. Supuración al sondeo (0 ó 1)

La profundidad de bolsa y el nivel de inserción se registraron al mm más cercano utilizando una sonda periodontal “Carolina del Norte” (UNC) de 15 mm de longitud con marcas en intervalos de 1 mm y marcas distintivas en los intervalos de 5 mm (Hufriedy, Chicago, IL). Estas medidas fueron registradas dos veces por el mismo clínico y el promedio de las dos mediciones se utilizó para el análisis de datos. El resto de los parámetros clínicos se evaluaron en una sola ocasión con mediciones dicotómicas de presencia (1) ó ausencia (0).

D. DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS DE CEPAS DE REFERENCIA CONTROL

Todas las evaluaciones microbiológicas se realizaron en el Laboratorio de Genética Molecular de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

La **tabla 3** presenta una lista de las 40 cepas de referencia del American Type Culture Collection (ATCC) que fueron utilizadas como controles para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias de clindamicina.

Las cepas se sembraron en placas de agar enriquecido (agar base para *Mycoplasma* (Becton Dickinson, Microbiology Systems, BBL®, Sparks, MD, USA) suplementado con 5% de sangre de carnero desfibrinada (Laboratorios Microlab S.A.

de C. V., México, D. F.), 10 µg/ml de ácido N-acetilmurámico (Sigma-Aldrich Química, S. A. de C. V., Toluca, México), 0.3 µg/ml de menadione (vitamina K, Sigma) y 5 µg/ml de hemina (Sigma)) y se crecieron en condiciones anaeróbicas (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂). Las cepas de referencia fueron suspendidas en tubos con caldo de cultivo enriquecido (caldo base para *Mycoplasma* (Becton Dickinson), 5 µg/ml de hemina (Sigma) y 0.3 µg/ml de menadione (Sigma)) y se diluyeron hasta obtener una densidad óptica (OD) = 1 a 600 nm en un espectrofotómetro. Se transfirieron por duplicado a placas con agar enriquecido sin antibiótico y con diferentes concentraciones de clindamicina (0.5, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 µg/ml). Las 40 cepas fueron incubadas a 35°C por 7 días en condiciones anaeróbicas (80% N₂, 10% CO₂, 10% H₂). Transcurrido el tiempo de incubación se analizó visualmente el crecimiento de las cepas en presencia de diferentes concentraciones del antibiótico. De acuerdo con el punto de corte sugerido por la National Commitee Clinical Laboratory Standars (NCCLS) para clindamicina de 4 µg/ml, las CMI's para cada cepa de referencia fueron utilizadas para determinar resistencia o sensibilidad al antibiótico.

E. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE MUESTRAS DE PLACA DENTOBACTERIANA SUBGINGIVAL

PORCENTAJE DE RESISTENCIA DE LA MICROBIOTA TOTAL CULTIVABLE

Dos muestras de placa dentobacteriana subgingival fueron recolectadas de los sitios distovestibular de cualquiera de los primeros molares en cada sujeto de estudio (N = 5). Después de secar y aislar el área de muestreo con rollos de algodón, la placa supragingival fue eliminada con una cureta Gracey (Hu-Friedy). Las muestras de placa

subgingival se tomaron utilizando curetas Gracey estériles y fueron colocadas en tubos de ensayo individuales con 5 ml de medio de transporte de Ringer suplementado con 0.5 mg/ml de L-cisteína y 0.0001% de rezasurina, preparado con la técnica de PRAS (Pre-reduced Anaerobically Sterilized).

Las muestras fueron dispersadas mediante sonicación durante 5 segundos con flujo constante de nitrógeno. Se realizaron 4 diluciones seriales de las muestras dispersadas en medio de transporte de Ringer en atmósfera libre de oxígeno transfiriendo 500 µl a tubos que contenían 5 ml de medio de transporte. 100 µl de cada dilución fueron sembrados por duplicado en placas de agar enriquecido libre de antibiótico y con seis diferentes concentraciones de clindamicina (0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 µg/ml). Todas las placas fueron incubadas en una cámara de anaerobiosis con ambiente de 80% N₂, 10% CO₂ y 10% H₂ a 35°C durante 7 días. El tiempo entre la recolección de muestras y el término de su procesamiento no excedió en ningún caso de 30 minutos.

Después de 7 días de incubación se realizó un conteo de las unidades formadoras de colonias (UFCs) que crecieron tanto en las placas con antibiótico como en las placas sin antibiótico en la dilución en la que crecieron entre 30 y 300 colonias.

DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN MICROBIOLÓGICA

Las evaluaciones microbiológicas de la composición de la placa subgingival se realizaron mediante la técnica de "checkerboard" para hibridaciones DNA-DNA (Socransky *et al.*, 1994). 28 muestras de placa dentobacteriana subgingival fueron recolectadas de los sitios mesiovestibulares de todos los dientes excluyendo los terceros molares en cada sujeto de estudio. Después de secar y aislar el área de

muestreo con rollos de algodón, la placa supragingival fue eliminada con una cureta Gracey (Hu-Friedy). Las muestras de placa subgingival (n = 140) se tomaron utilizando curetas Gracey estériles y colocadas en tubos para microcentrifugación de 1.5 ml que contenían 100 µl de buffer TE pH 7.6 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA). Se agregaron 100 µl de NaOH (0.5 M, Sigma) a cada tubo y las muestras fueron dispersadas. Los tubos fueron hervidos durante 10 min. y el pH neutralizado con 800 µl de acetato de amonio (5 M, Sigma). El DNA de cada muestra fue colocado en uno de los canales abierto de un Minislot-30, concentrado en una membrana de nylon de carga positiva de 15 x 15 cm y fijado a la membrana mediante entrecruzamiento con luz ultravioleta seguido por incubación a 120°C durante 20 min. Dos canales de estándares microbiológicos fueron colocados en cada membrana. Dichos estándares consistieron de mezclas ajustadas a 10^5 y 10^6 células de cultivos puros de todas las cepas bacterianas que fueron analizadas (**Tabla 4**).

El empleo de la técnica de “checkerboard” permitió la identificación de 40 especies bacterianas en cada una de las 28 muestras de placa dentobacteriana de cada sujeto de estudio en un mismo experimento. Asimismo, fue posible cuantificar los niveles, prevalencia y proporción de cada una de las 40 especies. De tal manera que los datos microbiológicos obtenidos de cada sujeto de estudio incluyeron 3 matrices de datos (niveles, prevalencia y proporción), cada una con un total de 1,120 posibles puntos de información (40 sondas de DNA x 28 muestras) (**Figura 3**).

La lista de las 40 cepas bacterianas de referencia que fueron utilizadas en el presente estudio para la preparación de sondas de DNA se encuentra en la **tabla 4**. Todas las cepas fueron adquiridas como cultivos liofilizados del ATCC. Las cepas

fueron rehidratadas en caldo para *Mycoplasma* y cultivadas en agar enriquecido a 35°C de 3 a 7 días dentro de una cámara de anaerobiosis con ambiente de 80% N₂, 10% CO₂ y 10% H₂ (exceptuando *Neisseria mucosa*, cultivada aeróbicamente). Las cepas que se mencionan a continuación fueron sembradas en medios suplementados: *Campylobacter* sp.: agar enriquecido suplementado en la superficie con 0.5 ml de formato (60mg/ml) - fumarato (60mg/ml); *T. denticola*: caldo para *Mycoplasma* suplementado con glucosa (1mg/ml), niacinamida (400µg/ml), tetrahidrocloreuro de esparmina (150 µg/ml), isobutirato de sodio (20µg/ml), L-cisteina (1 mg/ml), pirofosfato de tiamina (5 µg/ml) y suero bovino (0.5%).

El crecimiento después de 3 a 7 días de cultivo fue recolectado y colocado en tubos para microcentrifugación de 1.5 ml que contenían 1 ml de buffer TE pH 7.6. Las células fueron lavadas dos veces mediante centrifugación en buffer TE a 3,500 rpm durante 10 min. Posteriormente, fueron resuspendidas mediante sonicación durante 15 seg. y lisadas a 37°C durante 1 hora ya sea con 10% SDS y proteinasa K (20 mg/ml, Sigma) para las especies Gram negativas, ó con una mezcla enzimática que contenía 15 mg/ml de lisozima (Sigma) y 5 mg/ml de achromopeptidasa (Sigma) en buffer TE (pH 8.0) para las especies Gram positivas. El DNA fue aislado y purificado utilizando una técnica estándar previamente descrita (Smith *et al.*, 1989). La concentración de DNA fue determinada mediante mediciones espectrofotométricas de la absorbancia a 260 nm. La pureza de las preparaciones fue valorada mediante el cálculo de la relación entre las mediciones de las absorbancias a 260 nm y 280 nm. Las sondas de DNA genómicas fueron preparadas para las 40 especies bacterianas (**Tabla 4**) mediante el marcaje con digoxigenina (Roche) de 1µg de DNA purificado utilizando la técnica de

primers aleatorios (random primer technique) previamente descrita (Feinberg & Vogelstein, 1983).

Las membranas fueron prehibridizadas a 42°C durante 1 hora en solución de prehibridación que contenía 50% de formamida, 5x citrato salino estándar (SSC) (1x SSC = 150 mM NaCl, 15 mM citrato de sodio, pH 7.0), 1% caseína, 5x solución Denhardt, 25mM fosfato de sodio (pH 6.5) y 0.5mg/ml de RNA de levadura (Roche). La membrana con DNA fijado de las cepas aisladas fue colocada en un Miniblotter-45 (Immunetics) con los canales de las muestras rotados 90° en relación a los canales de hibridación. Esto produjo un patrón de tablero de ajedrez (checkerboard) de 30 x 45. Las sondas de DNA fueron diluidas a una concentración de aproximadamente 20 ng/ml en solución de hibridación (45% formamida, 5x SSC, 1x solución Denhardt, 20mM fosfato de sodio (pH 6.5), 0.2mg/ml de RNA de levadura, 10% sulfato de dextrano y 1% caseína), colocadas en canales de hibridación individuales del Miniblotter-45 e hibridizadas una noche a 42°C con el aparato sellado dentro de una bolsa de plástico para evitar evaporación de las sondas de DNA. La concentración de cada sonda fue ajustada mediante pruebas preliminares de ensayo y error para que todas las sondas detectaran un rango de células entre 10^4 y 10^7 . Las membranas fueron lavadas dos veces a alta astringencia durante 20 minutos cada vez a 68°C en buffer de fosfato (0.1x SSC y 0.1% SDS) utilizando un baño con circulación.

Las membranas fueron bloqueadas mediante su incubación durante 1 hora en buffer bloqueador que contenía 1% de caseína en buffer de maleato (100mM ácido maléico, 150mM NaCl, pH 7.5). Los híbridos fueron detectados incubando las membranas en una dilución de 1:50,000 de anticuerpo contra digoxigenina conjugado a fosfatasa alcalina (Roche) utilizando la modificación previamente descrita (Engler-Blum

et al., 1993). Después de ser lavadas, las membranas fueron incubadas en un agente quimioluminiscente de detección (CDP-Star, Roche) a 37°C durante 1 hora y las señales fueron detectadas mediante la exposición de las membranas a películas autoradiográficas dentro de cassettes a temperatura ambiente durante 35 min. Las películas fueron reveladas siguiendo procedimientos estándar y las señales fueron evaluadas visualmente sobre un negatoscopio para determinar la identidad de las cepas aisladas de cada muestra.

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los parámetros clínicos evaluados tales como edad, número de dientes faltantes, género, porcentaje de fumadores, profundidad de bolsa, nivel de inserción, acumulación de placa, enrojecimiento gingival, sangrado al sondeo y supuración, los cuales se expresan como media \pm error estándar de la media (EEM) y rango (**Tabla 2**).

Asimismo, se efectuó la determinación de las CMI de cada una de las 40 cepas de referencia control. Utilizando el punto de corte sugerido por la NCCLS de 4 $\mu\text{g/ml}$, las CMI fueron utilizadas para determinar la resistencia o sensibilidad a la clindamicina de cada una de las cepas de referencia control (**Tabla 5**).

El porcentaje de resistencia de la microbiota subgingival total cultivable se determinó mediante el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFCs) presentes en las placas sin antibiótico y con 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 $\mu\text{g/ml}$ de clindamicina para cada muestra de cada sujeto de estudio. El número de UFCs en las placas sin antibiótico fue considerado como el 100% de crecimiento para cada muestra, a partir del cual se calculó el porcentaje de crecimiento en cada concentración del antibiótico.

Los porcentajes obtenidos para cada concentración del antibiótico fueron promediados entre las muestras de cada sujeto de estudio y después entre el total de la población. Los datos se expresan como media \pm EEM (**Figura 4**). Dichos datos fueron utilizados también para determinar las concentraciones requeridas de clindamicina para inhibir el 10%, 50% y 90% (CMI¹⁰, CMI⁵⁰ y CMI⁹⁰) del crecimiento bacteriano total en la placa subgingival (**Tabla 6**).

Los datos microbiológicos con los que se contaron de cada sujeto de estudio para determinar la composición microbiológica de la placa subgingival fueron las cuentas absolutas de 40 especies bacterianas (**Tabla 4**) en hasta un máximo de 28 muestras de placa subgingival. Los análisis describen la composición microbiológica de la placa subgingival mediante 3 parámetros: cuentas bacterianas $\times 10^5$ (niveles), porcentaje de sitios colonizados (prevalencia) y porcentaje del total de cuentas de las sondas de DNA (proporción). Cada parámetro fue calculado mediante la determinación de los niveles, prevalencia y proporción por separado en cada muestra de cada sujeto de estudio, promediado para cada sujeto de estudio y después entre los sujetos del total de la población. Los niveles y la prevalencia se expresan como media \pm EEM para especies bacterianas individuales (**Figuras 5 y 6**) y la proporción como porcentaje promedio de grupos de microorganismos (**Figura 7 y 8**).

III. RESULTADOS

A. CONCENTRACIONES MÍNIMAS INHIBITORIAS DE CEPAS DE REFERENCIA CONTROL

Las CMI de las cepas de referencia se resumen en la **tabla 5**. La sensibilidad o resistencia de cada cepa de referencia se indican en la tercera y sexta columnas de la tabla de acuerdo al punto de corte de la clindamicina recomendado por la NCCLS de 4 µg/ml. *A. actinomycetemcomitans* a, *A. actinomycetemcomitans* b, *E. corrodens*, *N. mucosa* y *Porphyromonas endodontalis* presentaron resistencia a la concentración máxima del experimento (32 µg/ml). *C. gracilis* presentó también resistencia a una CMI de 16 µg/ml. *A. naeslundii* 1, *Campylobacter showae* y *Corynebacterium matruchotii* mostraron resistencia a la clindamicina a una concentración de 8 µg/ml. El crecimiento de 31 de las 40 cepas control (77.5%), incluyendo el de importantes patógenos periodontales como *P. gingivalis* y *T. forsythensis*, fue inhibido por la clindamicina a concentraciones de 0.5 a 4 µg/ml, por lo que la mayoría de las cepas control fueron consideradas sensibles al antibiótico.

B. PORCENTAJE DE RESISTENCIA DE LA MICROBIOTA TOTAL CULTIVABLE

Los porcentajes de resistencia de la microbiota total cultivable que se obtuvieron en las diferentes concentraciones del antibiótico mostraron un comportamiento inversamente proporcional al incremento de la concentración, es decir, se manifestó un descenso en el porcentaje de UFCs resistentes a medida que aumentaba la concentración. Estos resultados se resumen en la **figura 4**. El crecimiento del 15.2%, 9.8 %, 7.8%, 4.5%, 4.3% y 3.2% del total de UFCs fue inhibido a concentraciones de 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 µg/ml respectivamente.

Las concentraciones requeridas de clindamicina para inhibir el 10%, 50% y 90% del crecimiento bacteriano total en la placa subgingival (CMI¹⁰, CMI⁵⁰ y CMI⁹⁰) fueron de 0.5 µg/ml tanto para el 10% como para el 50% del crecimiento total y de 1 µg/ml para el 90% como se resume en la **tabla 6**.

C. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN MICROBIOLÓGICA SUBGINGIVAL

En la **figura 5** se presentan las cuentas promedio $\times 10^5$ (\pm EEM) de 40 especies bacterianas. Todas las especies evaluadas fueron detectadas en muestras de placa subgingival. *Eubacterium saburreum*, *Veillonella parvula*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis* y *C. matruchotii* presentaron las cuentas promedio más elevadas. Cabe destacar que los 3 reconocidos periodontopatógenos; *P. gingivalis*, *T. forsythensis* y *T. denticola*, presentaron cuentas promedio por arriba de 6×10^5 (19.4, 13.5 y 6.5×10^5 respectivamente). Otras especies generalmente presentes en niveles elevados en muestras de placa subgingival de sujetos sanos y con enfermedad periodontal tales como *Actinomyces viscosus*, *A. israelii* y *A. naeslundii* serotipo 1 presentaron cuentas promedio relativamente bajas de 3.2 a 1.3×10^5 . En la **figura 6** se resume la prevalencia promedio (\pm EEM) de las 40 cepas bacterianas analizadas en los 5 sujetos de estudio. La prevalencia promedio de periodontopatógenos importantes como *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*, *P. intermedia*, *Micromonas micros* y *C. rectus* fue mayor al 50% de los sitios (91%, 86%, 66%, 64%, 54%, 52% y 51% respectivamente). Por otra parte, algunas especies "benéficas" como *Streptococcus sanguinis*, *Capnocytophaga ochracea* y *A. naeslundii* 1 se encontraron colonizando un bajo porcentaje de sitios (44% a 31%).

En la **figura 7** se presenta la proporción promedio de grupos de microorganismos. Las 40 especies bacterianas fueron agrupadas de manera similar a la descripción de los complejos bacterianos en la placa subgingival (Socransky *et al.*, 1998), las excepciones se describen en el pie de la figura. En conjunto las especies de los complejos rojo y naranja, comúnmente reconocidas como patógenos periodontales, representaron el 50.5% de las especies detectadas. La proporción de especies de *Actinomyces* agrupadas en el segmento azul representaron únicamente el 5.4% de los microorganismos detectados. El 27.6% de las especies bacterianas detectadas se compuso por microorganismos no clasificados dentro de los complejos bacterianos de la placa subgingival como *C. matruchotii*, *Selenomonas artemidis*, *E. saburreum*, *P. endodontalis*, *N. mucosa*, *Eubacterium sulci*, *Propionibacterium acnes*, *Prevotella melaninogenica*, *Gemella morbillorum* y *Leptotrichia buccalis*.

Tomando en consideración la proporción promedio detectada para los 40 microorganismos individuales en muestras de placa subgingival de la población de estudio utilizando la técnica de "checkerboard" y los resultados de los experimentos para determinar las CMIs de 40 cepas de referencia, en la **figura 8** se presenta una inferencia de las proporciones promedio de los grupos de microorganismos que pudieron haber sido sensibles y resistentes a la clindamicina en las muestras de placa dentobacteriana. De acuerdo con los resultados de las CMIs para cepas de referencia se infirió que el 88.3% y el 11.7% de los microorganismos presentes en muestras de placa subgingival pudieron haber sido representados por especies bacterianas sensibles y resistentes a la clindamicina respectivamente. Asimismo, únicamente el 4.2% de las especies bacterianas en muestras subgingivales pudo haber estado representado por especies periodontopatógenas resistentes a la clindamicina.

IV. DISCUSIÓN

A pesar de que la periodontitis es quizás la infección crónica más frecuente en sujetos adultos, su tratamiento adecuado aún representa un reto para la odontología actual. Las variaciones en los componentes bacterianos de ciertas entidades y la aparición de cepas resistentes requieren para su manejo un profundo conocimiento de las características de los agentes periodontopatógenos, así como también de los diferentes mecanismos de acción y efectividad de las terapias antimicrobianas; por lo que los propósitos del presente estudio fueron determinar la resistencia de la microbiota total cultivable a la clindamicina y describir la microbiota en pacientes con periodontitis crónica, ya que el empleo de dicho antibiótico es uno de los tratamientos más frecuentes para la periodontitis.

La clindamicina es un antibiótico bacteriostático. Su mecanismo de acción se da mediante la inhibición de la síntesis de proteínas de las bacterias, actuando sobre la subunidad 50S ribosomal, impidiendo la formación temprana de la cadena proteica por un mecanismo de transpeptidación (Stambouljian & Paganini, 1999). Este mecanismo de acción lo comparte con la eritromicina y el cloranfenicol, por ello no es recomendable utilizar combinaciones antimicrobianas de estos fármacos.

La actividad antimicrobiana de la clindamicina se ejerce fundamentalmente sobre los microorganismos anaerobios estrictos y facultativos (Walker *et al.*, 1981) y se ha reportado que su acción es efectiva contra la mayoría de los cocos Gram positivos incluyendo productores de betalactamasas como *Peptostreptococcus* spp., *M. micros*, y *Peptococcus niger*, con algunas excepciones de cepas resistentes (Sandor *et al.*, 1998); bacilos Gram positivos no esporulados como *Propionibacterium* spp. y *Clostridium*,

exceptuando *Clostridium difficile* y un porcentaje elevado de algunas especies de *Clostridium* no-perfringens; especies Gram negativas tales como *Veillonella* spp., *T. forsythensis*, *C. rectus*, *Selenomonas* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp., y es especialmente efectiva contra *B. fragilis*, aunque se han aislado algunas cepas resistentes (del 5% al 10%) (Stambouljian & Paganini, 1999).

Con este antibiótico se obtienen CMI's muy bajas para bacterias anaerobias como *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *F. nucleatum*, mientras que *A. actinomycetemcomitans* y *E. corrodens* se muestran resistentes (Baker *et al.*, 1985; Jorgensen & Slots, 2000; Miyake *et al.*, 1995). Las concentraciones bajas del fármaco son bacteriostáticas, pero adquiere poder bactericida a concentraciones terapéuticas. La dosis que se recomienda clínicamente de clindamicina es de 300 mg cada 8 horas. La edición española de la Guía Terapéutica Antimicrobiana Sanford 2003 (Gilbert *et al.*, 2003) recomienda para infecciones microbianas el uso de antibióticos de amplio espectro, como la clindamicina; a dosis de 300 a 450 mg vía oral cada 6 horas; con un periodo de administración de 7 a 10 días. En todos los casos, se debe realizar un seguimiento del tratamiento ya que su incumplimiento ocasiona fracasos en la resolución de los procesos y su prolongación innecesaria puede provocar la selección de especies bacterianas resistentes y la aparición de efectos secundarios.

A pesar de que el riesgo de colitis pseudomembranosa por *C. difficile* ha limitado el uso de la clindamicina, este antibiótico sigue utilizándose en el tratamiento de infecciones severas por microorganismos anaerobios y algunas infecciones endodónticas y periodontales. Diversos ensayos clínicos han demostrado que la clindamicina es un fármaco eficaz en el tratamiento de las periodontitis (Jorgensen & Slots, 2000; Sandor *et al.*, 1998; Walker & Gordon, 1990). En la última década se ha

estudiado la relación entre la clindamicina y el individuo bajo tratamiento, a partir de lo cual puedo establecer que este antibiótico produce una disminución en la adhesión de los microorganismos a las células epiteliales cuando se administra en dosis bajas, previniendo así la formación de la biopelícula. Además, se ha reportado estimulación de la quimiotaxis, opsonización y fagocitosis por los macrófagos; y una buena concentración intracelular del antibiótico en los microorganismos. Por lo que se puede decir que la clindamicina tiene un efecto inmunomodulador positivo y se ha podido demostrar, *in vitro*, que la exposición de neutrófilos a este antibiótico incrementa significativamente el número de células fagocíticas en casos de periodontitis (Eick *et al.*, 2000; Golub *et al.*, 1998; Sauvetre *et al.*, 1993; Slots & Jorgensen, 2000; Tonetti, 2000; Walker & Gordon, 1990).

El uso de la clindamicina, como anteriormente se mencionó, puede llevar al desarrollo de efectos adversos, entre los cuales el más común es la diarrea, cuya incidencia publicada varía entre el 2% y 20% (Yu *et al.*, 1999). La complicación más temida es la colitis pseudomembranosa producida por *C. difficile* (Bartlett, 1979; George, 1984), que puede ser mortal y su incidencia oscila entre 0.01% y 0.1%. Asimismo, se ha reportado aumento en la producción de transaminasa glutámica oxalacética, así como casos de erupción cutánea que pueden evolucionar al Síndrome de Stevens-Johnson (eritema multiforme) y neutropenia transitoria (Stambouljian & Paganini, 1999). La administración de este fármaco debe realizarse de manera racional y apropiada, teniendo en cuenta también que algunas cepas han desarrollado resistencia al mismo. Por lo que su empleo debe reservarse solamente a aquellas situaciones clínicas en las que se ha demostrado su eficacia en dosis terapéuticas adecuadas, ya que la dosificación inadecuada es, probablemente, una de las razones

de peso para el aumento reportado de aparición de cepas bacterianas resistentes en la población (Ball *et al.*, 2002).

Se considera que las bacterias son resistentes a un antibiótico cuando pueden sobrevivir en presencia del mismo. Algunas especies que son normalmente sensibles a un antibiótico pueden adquirir resistencia a través de intercambios genéticos con otras especies bacterianas resistentes. En el caso de la clindamicina, los mecanismos de resistencia se basan generalmente en alteraciones en los ribosomas bacterianos, es decir, el agente patógeno puede evolucionar bioquímicamente haciendo que el sitio de acción (subunidad 50S ribosomal) para el antibiótico sea alterado y así la interacción y el efecto no se lleven a cabo (Livermore, 2003). Este mecanismo es debido a la producción de enzimas (metilasas) que metilan los residuos de adenina en la fracción 23S del rRNA, lo que ocasiona una reducción en la unión a nivel ribosomal de las lincosamidas al inducir un cambio de conformación en el ribosoma (Livermore, 2003). La resistencia a la clindamicina también puede ser debida a una mutación cromosomal o bien se puede conferir por medio de plásmidos o transposones. Un ejemplo es *B. fragilis* que tiene un mecanismo de resistencia mediante producción de plásmidos (Fluit *et al.*, 2001; Normark & Normark, 2002; Yu *et al.*, 1999).

La exposición a concentraciones subletales de antibióticos (relacionada con la relación dosis-intervalo-tiempo), ejerce un efecto selectivo de bacterias resistentes. Fomentando ajustes del régimen de dosificación en cada situación clínica y revisando los puntos de corte para cada patógeno, se puede contener en gran medida la resistencia (Frimodt-Moller, 2002; Maestre-Vera, 2004).

En estudios previos se ha reportado que la concentración que alcanza la clindamicina en el fluido crevicular y en el suero es de 2 µg/ml (Walker *et al.*, 1981) y

que su vida media se prolonga en el fluido crevicular a diferencia del suero. En diversas partes del mundo se han realizado estudios que muestran la relación del uso de la clindamicina y su influencia en el nivel de resistencia antimicrobiana de la microflora subgingival (Quirynen *et al.*, 2002; Roberts, 2002; van Winkelhoff *et al.*, 2000a) y se han encontrado diferencias entre países y ciudades de acuerdo a su frecuencia de uso. En un estudio se examinó la susceptibilidad de la flora bacteriana subgingival en pacientes adultos holandeses y españoles con periodontitis, encontrando diferencias significativas en los niveles de resistencia de la microflora en ambas poblaciones (van Winkelhoff *et al.*, 2000a). En los pacientes españoles se encontró un alto nivel de resistencia frente a la clindamicina y, especialmente, a la tetraciclina; mientras que en los pacientes holandeses la resistencia a la tetraciclina de las bacterias periodontopatógenas no fue observada. En el estudio mencionado se concluyó que el uso frecuente de antibióticos en la población española se ve reflejado en los niveles de resistencia de la microflora subgingival de pacientes adultos con periodontitis.

En otro estudio se observó el efecto de inhibición de varios antibióticos incluyendo la clindamicina (Walker *et al.*, 1983) y se reportó que dicho fármaco inhibió a más del 90% de los microorganismos de las muestras a una concentración de 2 µg/ml. Los resultados del presente estudio corroboran este hallazgo. El porcentaje de la flora subgingival total cultivable de sujetos mexicanos con periodontitis crónica que mostró crecimiento en presencia de 2 µg/ml de clindamicina fue de 7.8% y el crecimiento del 90% del total de los microorganismos recuperados en cultivo fue inhibido a una concentración de 1 µg/ml (CMI⁹⁰). Con esto se confirma que a dosis terapéuticas, la clindamicina puede adquirir un efecto inhibitorio sobre un porcentaje significativo de los microorganismos de la flora subgingival (Martin *et al.*, 1972; Sutter & Finegold, 1976).

En relación al efecto de la clindamicina sobre especies bacterianas específicas, existen resultados contradictorios. En algunos estudios se han reportado que la clindamicina presentó acción antimicrobiana contra la mayoría de las bacterias anaerobias en una concentración igual o menor a 8 µg/ml, y que casi todas las cepas de *B. fragilis*, *Fusobacterium* spp. y *Actinomyces* spp. fueron inhibidas a esta concentración (Sutter & Finegold, 1976; Sutter *et al.*, 1983). En contraste, otros estudios han sugerido que el 23% de *B. fragilis*, del 9% al 11% de especies de *Prevotella*, del 9% al 30% de especies de *Fusobacterium*, el 10% de especies de *Porphyromonas* y el 8% de especies de *Peptostreptococcus* fueron resistentes a la clindamicina (Ackermann *et al.*, 2000; Aldridge *et al.*, 2001). Otros estudios han reportado también la existencia de especies de *Fusobacterium* y *Actinomyces* resistentes a la clindamicina, así como de *A. actinomycetemcomitans* y *E. corrodens* (Baker *et al.*, 1985). En un estudio se examinaron 340 cepas representando 30 especies bacterianas aisladas con frecuencia en las bolsas periodontales (Walker *et al.*, 1981). En dicho estudio se reportó que el crecimiento de la mayoría de las bacterias periodontales, entre ellas *Actinomyces* spp., *Capnocytophaga* spp., *Fusobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *C. rectus* y *P. acnes*, fue inhibido por la clindamicina en una concentración de 1 µg/ml o menos. Sin embargo, otras especies subgingivales como *E. corrodens* y *A. actinomycetemcomitans* mostraron resistencia al antibiótico. En otros estudios se ha reportado también resistencia a la clindamicina de *A. actinomycetemcomitans* (Eick *et al.*, 2004). Estos hallazgos coinciden con los resultados del presente estudio en donde se encontró que el 77.5% de las cepas de referencia control fueron sensibles a la clindamicina. Así mismo, se encontró que todas las especies de *Actinomyces* (exceptuando *A. naeslundii* 1), *Capnocytophaga* y *Fusobacterium*, así como *C. rectus* y *P. acnes* fueron sensibles al

antibiótico, mientras que *E. corrodens* y ambos serotipos de *A. actinomycetemcomitans* fueron resistentes a una concentración mayor a 32 µg/ml.

La microbiota subgingival de la población de estudio estuvo predominada tanto en niveles como en prevalencia y proporción por especies consideradas como patógenos periodontales. Algunas de dichas incluyeron *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *P. nigrescens*, *P. intermedia*, *M. micros* y *T. denticola*. Se detectaron niveles, prevalencia y proporción bajos de la mayoría de las especies “benéficas” periodontales tales como *C. matruchotii*, *A. naeslundii* 1, *A. israelii*, *A. odontolyticus* y *A. viscosus*. Este resultado no fue sorprendente debido a que en la población de estudio se incluyeron únicamente sujetos con periodontitis crónica severa. Existe una gran cantidad de información en la literatura en la que se demuestra que en poblaciones con enfermedad periodontal los niveles, prevalencia y proporción de especies patógenas periodontales se encuentran aumentados en comparación a poblaciones periodontalmente sanas y que dicho aumento se da a expensas de las especies “benéficas” periodontales (Ali *et al.*, 1997; Haffajee *et al.*, 1999; Haffajee *et al.*, 1998; Socransky & Haffajee, 1991; Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000a; Ximenez-Fyvie *et al.*, 2000b).

Tomando en consideración los resultados de la composición microbiológica de la placa subgingival y de las CMI de cepas de referencia, se pudo inferir que una proporción significativamente baja (4.2%) de las especies que se encontraron en la placa subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica, pudieron haber sido patógenos periodontales resistentes a la clindamicina y que una proporción muy elevada (88.3%) de los microorganismos presentes en las muestras de placa dentobacteriana subgingival pudieron haber sido sensibles al antibiótico. Estos hallazgos coinciden con estudios publicados sobre los efectos favorables de la clindamicina para inhibir el

crecimiento de la mayoría de las especies periodontopatógenas presentes en la placa dentobacteriana subgingival (Walker *et al.*, 1983).

A manera de conclusión, este estudio se realizó con la finalidad de contribuir al conocimiento del uso de antibióticos en la terapia periodontal y de manera particular de la resistencia bacteriana a la clindamicina, por lo que es primordial recapacitar sobre la importancia de una buena administración de los antibióticos no sólo en el tratamiento de la enfermedad periodontal, sino en general. El antibiótico ideal debe reunir las siguientes características:

- Debe tener una acción antimicrobiana efectiva frente a las bacterias periodontopatógenas responsables de la iniciación de los procesos patológicos que llevan a la pérdida de los tejidos de soporte del diente.
- Presentar una potencia bactericida y no una acción bacteriostática, para asegurar la erradicación bacteriana.
- Tener un perfil farmacocinético favorable.
- Que alcance una concentración elevada del fármaco activo en los tejidos afectados.
- Tener buena tolerancia sistémica.
- Vía de administración fácil y cómoda.
- Que proporcione efectos favorables con bajo número de dosis para evitar el abandono del tratamiento.

Por otro lado, en la selección del antimicrobiano es útil tomar en cuenta sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas las cuales deben ser las óptimas para obtener resultados clínicos promisorios, así como la erradicación de las bacterias

periodontopatógenas. El clínico necesita contar con parámetros farmacodinámicos que puedan ser utilizados como predictores de éxito o de fracaso terapéutico y que le faciliten la toma de decisiones respecto a la elección del antimicrobiano en cada caso concreto. Además de que la elección, la dosificación óptima del fármaco, su intervalo de administración y la eficacia en la erradicación del microorganismo patógeno, pueden ayudar a reducir la aparición de cepas resistentes.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ackermann G, Schaumann R, Pless B, Claros M, Goldstein E, Rodloff A (2000). Comparative activity of moxifloxacin in vitro against obligately anaerobic bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 19: 228-232.
2. Aldridge K, Ashcraft D, Cambre K, Pierson C, Jenkins S, Rosenblatt J (2001). Multicenter survey of the changing in vitro antimicrobial susceptibilities of clinical isolates of *Bacteroides fragilis* group, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, and *Peptostreptococcus* species. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 1238-1243.
3. Ali RW, Johannessen AC, Dahlen G, Socransky SS, Skaug N (1997). Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in northern Cameroon. *J Clin Periodontol* 24: 830-835.
4. Baker PJ, Evans RT, Slots J, Genco RJ (1985). Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from the human oral cavity. *J Dent Res* 64: 1233-1244.
5. Ball P, Baquero F, Cars O, File T, Garau J, Klugman K, et al. (2002). Antibiotic therapy of community respiratory tract infections: strategies for optimal outcomes and minimized resistance emergence. *J Antimicrob Chemother* 49: 31-40.
6. Bartlett J (1979). Antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Rev Infect Dis* 1: 530-539.
7. Bollen CM, Quirynen M (1996). Microbiological response to mechanical treatment in combination with adjunctive therapy. A review of the literature. *J Periodontol* 67: 1143-1158.
8. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM (1995). Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 49: 711-745.

9. Donlan R, Costerton J (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 15: 167-193.
10. Eick S, Pfister W, Fiedler D, Straube E (2000). Clindamycin promotes phagocytosis and intracellular killing of periodontopathogenic bacteria by crevicular granulocytes: an in vitro study. *J Antimicrob Chemother* 46: 583-588.
11. Eick S, Seltmann T, Pfister W (2004). Efficacy of antibiotics to strains of periodontopathogenic bacteria within a single species biofilm - an *in vitro* study. *J Clin Periodontol* 31: 376-383.
12. Engler-Blum G, Meier M, Frank J, Muller GA (1993). Reduction of background problems in nonradioactive northern and Southern blot analyses enables higher sensitivity than ³²P-based hybridizations. *Anal Biochem* 210: 235-244.
13. Feinberg AP, Vogelstein B (1983). A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 132: 6-13.
14. Fluit A, Visser M, Schmitz F (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev* 14: 836-871.
15. Fridodt-Moller N (2002). How predictive is PK/PD for antibacterial agents? *Int J Antimicrob Agents* 19: 333-339.
16. Fujise O, Hamachi T, Inoue K, Miura M, Maeda K (2002). Microbiological markers for prediction and assessment of treatment outcome following non-surgical periodontal therapy. *J Periodontol* 73: 1253-1259.
17. Genco R, Goldman H, Cohen W (1993). Periodoncia. México. Interamericana, McGraw Hill. 770.
18. George W (1984). Antimicrobial agent-associated colitis and diarrhea: historical background and clinical aspects. *Rev Infect Dis* 6 Suppl 1: S208-213.

19. Gibbons RJ, MacDonald JB (1961). Degradation of collagenous substrates by *Bacteroides melaninogenicus*. *J Bacteriol* 81: 614-621.
20. Gilbert DN, Moellering RC, Sande MA (2003). The Sanford guide to antimicrobial therapy. Hyde Park. Antimicrobial Therapy Inc.
21. Golub L, Ryan M, Williams R (1998). Modulation of the host response in the treatment of periodontitis. *Dent Today* 17: 102-106, 108-109.
22. Goodman-Gilman A, Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW (2000). Las bases farmacológicas de la terapéutica. México. Mc Graw-Hill Interamericana. II: 1196.
23. Gordon J, Walker C (1993). Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. *J Periodontol* 64: 760-771.
24. Gordon J, Walker C, Hovliaras C, Socransky S (1990). Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis: 24- month results. *J Periodontol* 61: 686-691.
25. Gordon J, Walker C, Lamster I, West T, Socransky S, Seiger M, *et al.* (1985). Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis. 12- month results. *J Periodontol* 56: 75-80.
26. Haffajee A, Socransky S, Feres M, Ximenez-Fyvie L (1999). Plaque microbiology in health and disease. In: Newman HN & Wilson M, ed, Dental Plaque Revisited: Oral Biofilms in Health and Disease, Eastman Dental Institute, University College, London 255-282.
27. Haffajee A, Socransky S, Gunsolley J (2003). Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol* 8: 115-181.
28. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL, Jr., *et al.* (1998). Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 25: 346-353.

29. Haffajee AD, Socransky SS (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 5: 78-111.
30. Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J (1983). Comparison of statistical methods of analysis of data from clinical periodontal trials. *J Clin Periodontol* 10: 247-256.
31. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA (1997). Microbiología Médica. México D.F. El Manual Moderno. 807.
32. Jorgensen MG, Slots J (2000). Responsible use of antimicrobials in periodontics. *J Calif Dent Assoc* 28: 185-193.
33. Kinane D, Mooney J, Ebersole J (1999). Humoral immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontal disease. *Periodontol 2000* 20: 289-340.
34. Liébana-Ureña J (2002). Microbiología Oral. Bogotá. McGraw-Hill Interamericana. 677.
35. Lindhe J, Karring T, Lang NP (1998). Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Copenhagen. Munksgaard. 973.
36. Livermore D (2003). Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clin Infect Dis* 36: S11-23.
37. Maestre-Vera J (2004). Treatment options in odontogenic infection. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 9 Suppl: 25-31; 19-24.
38. Mager D, Ximenez-Fyvie L, Haffajee A, Socransky S (2003). Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J Clin Periodontol* 30: 644-654.
39. Magnusson I, Low S, McArthur W, Marks R, Walker C, Maruniak J, et al. (1994). Treatment of subjects with refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 21: 628-637.

40. Martin W, Gardner M, Washington J (1972). *In vitro* antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria isolated from clinical specimens. *Antimicrob Agents Chemother* 1: 148-158.
41. McArthur WP, Tsai CC, Baehni PC, Genco RJ, Taichman NS (1981). Leukotoxic effects of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Modulation by serum components. *J Periodontal Res* 16: 159-170.
42. Miyake Y, Tsuruda K, Okuda K, Widowati, Iwamoto Y, Suginaka H (1995). *In vitro* activity of tetracyclines, macrolides, quinolones, clindamycin and metronidazole against periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res* 30: 290-293.
43. Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashy GS, Pfaller MA (2003). *Microbiología Médica*. Madrid. Elsevier Science-Mosby. 810.
44. Negroni M (1999). *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y Guía Práctica*. Buenos Aires. Médica Panamericana. 565.
45. Normark B, Normark S (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *J Intern Med* 252: 91-106.
46. Page RC (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontal Res* 26: 230-242.
47. Paster B, Boches S, Galvin J, Ericson R, Lau C, Levanos V, *et al.* (2001). Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 183: 3770-3783.
48. Quirynen M, Teughels W, De SM, van SD (2002). Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontol* 2000 28: 72-90.
49. Roberts M (2002). Antibiotic toxicity, interactions and resistance development. *Periodontol* 2000 28: 280-297.

50. Rodrigues R, Goncalves C, Souto R, Feres-Filho E, Uzeda M, Colombo A (2004). Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following systemic or local tetracycline therapy. *J Clin Periodontol* 31: 420-427.
51. Rooney J, Wade W, Sprague S, Newcombe R, Addy M (2002). Adjunctive effects to non-surgical periodontal therapy of systemic metronidazole and amoxicillin alone and combined. A placebo controlled study. *J Clin Periodontol* 29: 342-350.
52. Sandor G, Low D, Judd P, Davidson R (1998). Antimicrobial treatment options in the management of odontogenic infections. *J Can Dent Assoc* 64: 508-514.
53. Sauvetre E, Glupczynsky Y, Labbe M, Yourassowsky E, Pourtois M (1993). The effect of clindamycin gel insert in periodontal pockets, as observed on smears and cultures. *Infection* 21: 245-247.
54. Serino G, Rosling B, Ramberg P, Hellstrom MK, Socransky SS, Lindhe J (2001). The effect of systemic antibiotics in the treatment of patients with recurrent periodontitis. *J Clin Periodontol* 28: 411-418.
55. Seymour R, Heasman P (1995). Tetracyclines in the management of periodontal diseases. A review. *J Clin Periodontol* 22: 22-35.
56. Sigusch B, Beier M, Klinger G, Pfister W, Glockmann E (2001). A 2-step non-surgical procedure and systemic antibiotics in the treatment of rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol* 72: 275-283.
57. Slots J (2002). Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodontal Res* 37: 389-398.
58. Slots J, Jorgensen M (2000). Efficient antimicrobial treatment in periodontal maintenance care. *J Am Dent Assoc* 131: 1293-1304.

59. Smith GL, Socransky SS, Smith CM (1989). Rapid method for the purification of DNA from subgingival microorganisms. *Oral Microbiol Immunol* 4: 47-51.
60. Socransky S, Haffajee A (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000 28: 12-55.
61. Socransky SS, Haffajee AD (1991). Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assessment. *J Periodontal Res* 26: 195-212.
62. Socransky SS, Haffajee AD (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 63: 322-331.
63. Socransky SS, Haffajee AD (1994). Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* 2000 5: 7-25.
64. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25: 134-144.
65. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE (1994). "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* 17: 788-792.
66. Stambouljian D, Paganini H (1999). Estado actual del uso de la clindamicina. Buenos Aires. FUNCEI. 9.
67. Sutter V, Finegold S (1976). Susceptibility of anaerobic bacteria to 23 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 10: 736-752.
68. Sutter V, Jones M, Ghoneim A (1983). Antimicrobial susceptibilities of bacteria associated with periodontal disease. *Antimicrob Agents Chemother* 23: 483-486.
69. Tanner A, Maiden MF, Macuch PJ, Murray LL, Kent RL, Jr. (1998). Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J Clin Periodontol* 25: 85-98.
70. Tenenbaum H, Jehl F, Gallion C, Dahan M (1997). Amoxicillin and clavulanic acid concentrations in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 24: 804-807.

71. The American Academy of Periodontology (2000a). Parameter on chronic periodontitis with advanced loss of periodontal support. *J Periodontol* 71: 856-858.
72. The American Academy of Periodontology (2000b). Parameter on chronic periodontitis with slight to moderate loss of periodontal support. *J Periodontol* 71: 853-855.
73. The American Academy of Periodontology (2000c). Parameter on plaque-induced gingivitis. *J Periodontol* 71: 851-852.
74. Tonetti M (2000). Advances in periodontology. *Prim Dent Care* 7: 149-152.
75. van Winkelhoff AJ, Herrera Gonzales D, Winkel EG, DelleMijn-Kippuw N, Vandenbroucke-Grauls CM, Sanz M (2000a). Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol* 27: 79-86.
76. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U (2002). *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol* 29: 1023-1028.
77. van Winkelhoff AJ, Vangsted T, Winkel EG (2000b). Metronidazole in the treatment of refractory periodontitis. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 107: 327-331.
78. Walker C, Gordon J (1990). The effect of clindamycin on the microbiota associated with refractory periodontitis. *J Periodontol* 61: 692-698.
79. Walker C, Gordon J, Magnusson I, Clark W (1993). A role for antibiotics in the treatment of refractory periodontitis. *J Periodontol* 64: 772-781.
80. Walker C, Karpinia K (2002). Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 73: 1188-1196.

81. Walker CB, Gordon JM, Cornwall HA, Murphy JC, Socransky SS (1981). Gingival crevicular fluid levels of clindamycin compared with its minimal inhibitory concentrations for periodontal bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 19: 867-871.
82. Walker CB, Gordon JM, Socransky SS (1983). Antibiotic susceptibility testing of subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 10: 422-432.
83. Weidlich P, Lopes dSM, Oppermann R (2001). Evaluation of the dentogingival area during early plaque formation. *J Periodontol* 72: 901-910.
84. Winkel EG, van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, van der Velden U, van der Weijden GA (2001). Amoxicillin plus metronidazole in the treatment of adult periodontitis patients. A double-blind placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 28: 296-305.
85. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS (2000a). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 27: 648-657.
86. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS (2000b). Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 27: 722-732.
87. Yu VL, Merigan TC, Barriere SL (1999). *Antimicrobial therapy and vaccines*. Baltimore. Williams & Wilkins. 1460.

VI. TABLAS

TABLA 1. Criterios de selección de sujetos de estudio.

Grupo de Estudio	Edad	Número de Dientes	Nivel de Inserción (NI)
Periodontitis Crónica	≥ 29 años	≥ 20 excluyendo terceros molares y con ≥ 2 primeros molares	≥ 8 sitios con NI ≥ 6 mm

TABLA 2. Características clínicas de la población de estudio (N = 5).

	Media ± EEM*	Rango
Edad (años)	45.2 ± 4.3	30-54
Número de dientes faltantes	5 ± 1.0	1-7
Género (% mujeres)	40	
% fumadores	20	
Profundidad de bolsa promedio (mm)	4.6 ± 0.4	3.7-5.7
Nivel de inserción promedio (mm)	5.3 ± 0.4	4.3-6.6
<i>% sitios con:</i>		
Acumulación de placa	26.9 ± 6.1	15.2-47.7
Enrojecimiento gingival	8.9 ± 5.4	0-29.5
Sangrado al sondeo	52.5 ± 8.2	26.2-75
Supuración	7.8 ± 2.9	0-17.4

* Error estándar de la media.

TABLA 3. Cepas de referencia control empleadas para la determinación de CMI.

Cepa	Ref.*	Cepa	Ref.*
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> serotipo a	43717	<i>Gemella morbillorum</i>	27824
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> serotipo b	43718	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Micromonas micros</i>	33270
<i>Actinomyces naeslundii</i> serotipo 1	12104	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	35406
<i>Actinomyces viscosus</i>	43146	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Propionibacterium acnes</i>	6919
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	27872	<i>Selenomonas noxia</i>	43541
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	14266	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Eubacterium saburreum</i>	33271	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Eubacterium sulci</i>	35585	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>nucleatum</i>	25586	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>polymorphum</i>	10953	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>vincentii</i>	49256	<i>Tannerella forsythensis</i>	43037
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	<i>Veillonella parvula</i>	10790

*Cepas de referencia del American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, USA.

TABLA 4. Cepas de referencia utilizadas para la elaboración de sondas de DNA.

Cepa	Ref.*	Cepa	Ref.*
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	†	<i>Micromonas micros</i>	33270
<i>Actinomyces georgiae</i>	49285	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	35406
<i>Actinomyces naeslundii</i> serotipo 1	12104	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Actinomyces odontolyticus</i> serotipo 1	17929	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Actinomyces viscosus</i>	43146	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Propionibacterium acnes</i>	6919
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Selenomonas artemidis</i>	43528
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Selenomonas noxia</i>	43541
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	27872	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	14266	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Eubacterium saburreum</i>	33271	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Eubacterium sulci</i>	35585	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	‡	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	<i>Tannerella forsythensis</i>	43037
<i>Gemella morbillorum</i>	27824	<i>Treponema denticola</i>	35405
<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201	<i>Veillonella parvula</i>	10790

* Número de referencia del American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA);

† DNA de los serotipos a (43717) y b (43718) fue combinado para generar una sonda de DNA

‡ DNA de las subespecies *nucleatum* (25586), *polymorphum* (10953) y *vincenti* (49256) fue combinado para generar una sonda de DNA.

TABLA 5. Concentraciones mínimas inhibitorias de cepas de referencia.

Cepa	CMI	S/R	Cepa	CMI	S/R
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> serotipo a	>32	R	<i>Gemella morbillorum</i>	0.5	S
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> serotipo b	>32	R	<i>Leptotrichia buccalis</i>	0.5	S
<i>Actinomyces israelii</i>	4	S	<i>Micromonas micros</i>	2	S
<i>Actinomyces naeslundii</i> serotipo 1	8	R	<i>Neisseria mucosa</i>	>32	R
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2	S	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	>32	R
<i>Actinomyces viscosus</i>	2	S	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0.5	S
<i>Campylobacter gracilis</i>	16	R	<i>Prevotella intermedia</i>	0.5	S
<i>Campylobacter rectus</i>	2	S	<i>Prevotella melaninogenica</i>	0.5	S
<i>Campylobacter showae</i>	8	R	<i>Prevotella nigrescens</i>	0.5	S
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.5	S	<i>Propionibacterium acnes</i>	0.5	S
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.5	S	<i>Selenomonas noxia</i>	0.5	S
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	0.5	S	<i>Streptococcus anginosus</i>	2	S
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	8	R	<i>Streptococcus constellatus</i>	2	S
<i>Eikenella corrodens</i>	>32	R	<i>Streptococcus gordonii</i>	2	S
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.5	S	<i>Streptococcus intermedius</i>	2	S
<i>Eubacterium sulci</i>	0.5	S	<i>Streptococcus mitis</i>	2	S
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>nucleatum</i>	1	S	<i>Streptococcus oralis</i>	1	S
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>polymorphum</i>	0.5	S	<i>Streptococcus sanguinis</i>	2	S
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>vincentii</i>	0.5	S	<i>Tannerella forsythensis</i>	2	S
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	0.5	S	<i>Veillonella parvula</i>	0.5	S

*S = sensible, R = resistente. Determinado de acuerdo al punto de corte de 4 µg/ml.

TABLA 6. Concentraciones mínimas inhibitorias de la microbiota total cultivable en muestras de placa dentobacteriana subgingival.

	CMI¹⁰	CMI⁵⁰	CMI⁹⁰
Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	0.5	0.5	1

TABLA 7. Especies descritas dentro de los complejos bacterianos de la placa subgingival (Socransky *et al.*, 1998).

Complejo	Cepa
Rojo	<i>Tannerella forsythensis</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> y <i>Treponema denticola</i>
Naranja	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>nucleatum</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>vincentii</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> ss <i>polymorphum</i> , <i>Fusobacterium periodonticum</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella nigrescens</i> , <i>Micromonas micros</i> , <i>Eubacterium nodatum</i> , <i>Campylobacter rectus</i> , <i>Campylobacter showae</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> y <i>Campylobacter gracilis</i>
Amarillo	<i>Streptococcus sanguinis</i> , <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus intermedius</i> y <i>Streptococcus gordonii</i>
Verde	<i>Capnocytophaga gingivalis</i> , <i>Capnocytophaga ochracea</i> , <i>Capnocytophaga sputigena</i> , <i>Campylobacter concisus</i> y <i>Eikenella corrodens</i>
Morado	<i>Veillonella parvula</i> y <i>Actinomyces odontolyticus</i>
No agrupados	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> y <i>Selenomonas noxia</i>

VII. FIGURAS

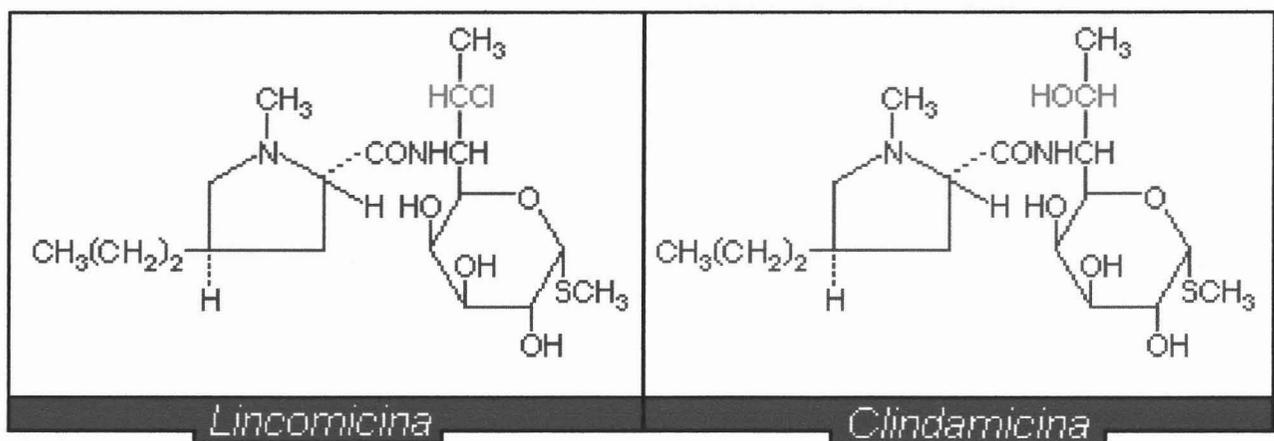


FIGURA 1. Estructura química de la lincomicina y clindamicina. La estructura química de la clindamicina difiere a la de la lincomicina por la sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo y la inversión del carbono en la posición 7.

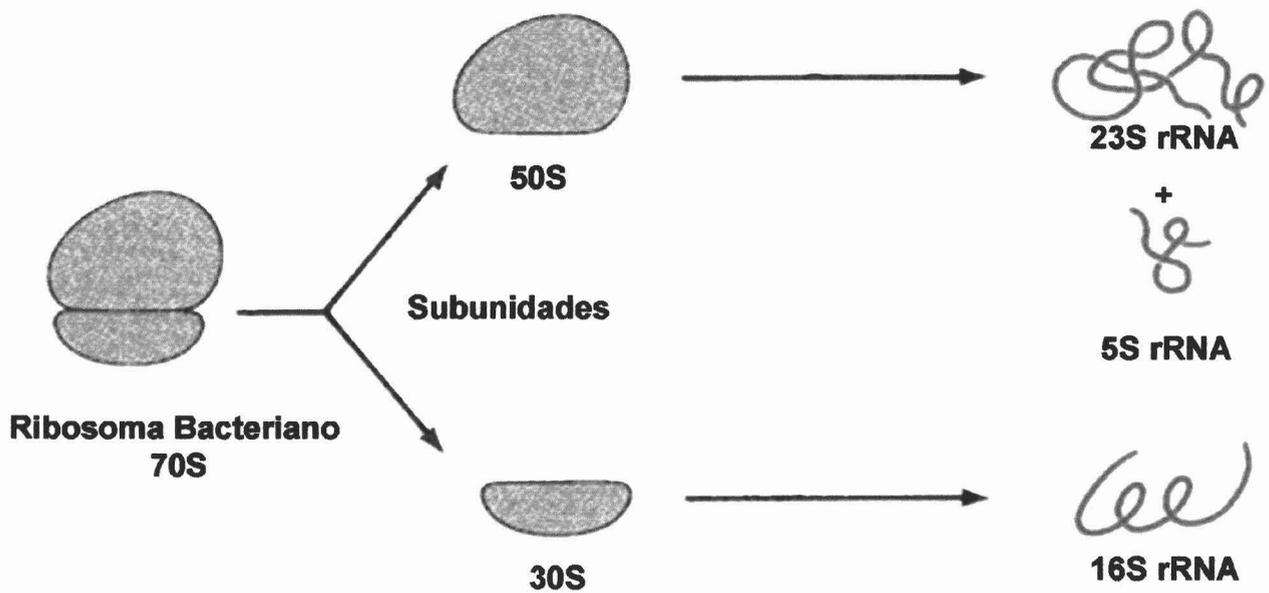


FIGURA 2. Ribosoma bacteriano. El ribosoma bacteriano está constituido por dos subunidades: 50S y 30S, las cuales contienen las fracciones 23S, 5S y 16S de RNA ribosomal.

SONDAS DE DNA

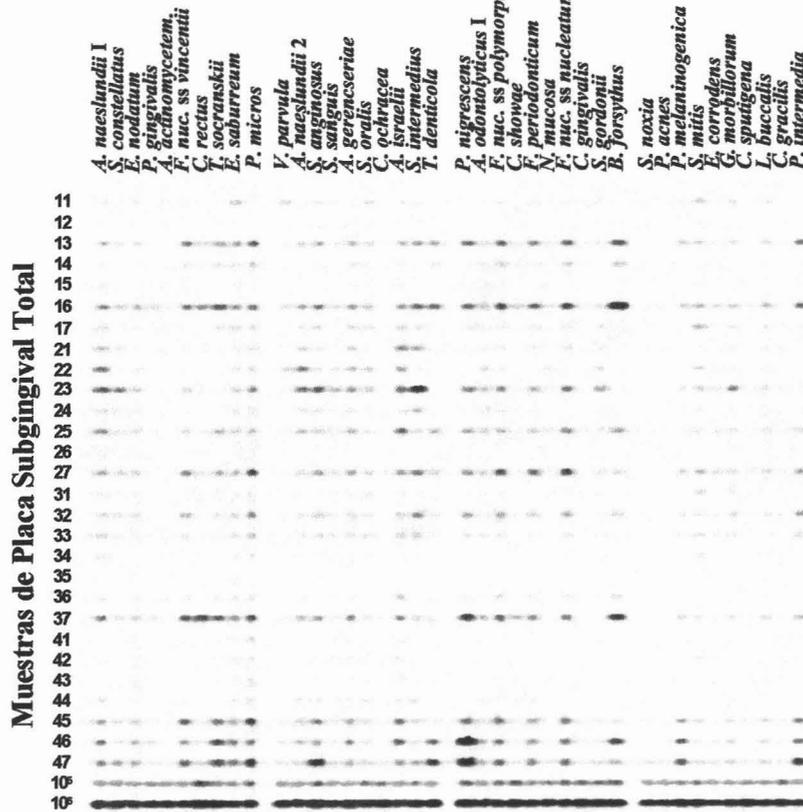


FIGURA 3. La técnica de “checkerboard” para hibridaciones DNA-DNA permite la identificación de hasta 40 especies bacterianas en cada una de 28 muestras de placa dentobacteriana en un mismo experimento. Los carriles horizontales contienen las muestras de placa dentobacteriana y perpendicularmente a los mismos, los carriles verticales que atraviesan cada carril horizontal contienen las sondas de DNA. Esta acomodación da como resultado un patrón de tablero de ajedrez (checkerboard) con 1,120 posibles “señales” (puntos negros) que representan identificaciones positivas. Los 2 carriles horizontales en el extremo inferior de la membrana contienen estándares bacterianos con mezclas de las 40 especies evaluadas ajustadas a 10^5 y 10^6 , los cuales permiten la cuantificación de las señales en el resto de la membrana y la comprobación del funcionamiento de las sondas en cada experimento.

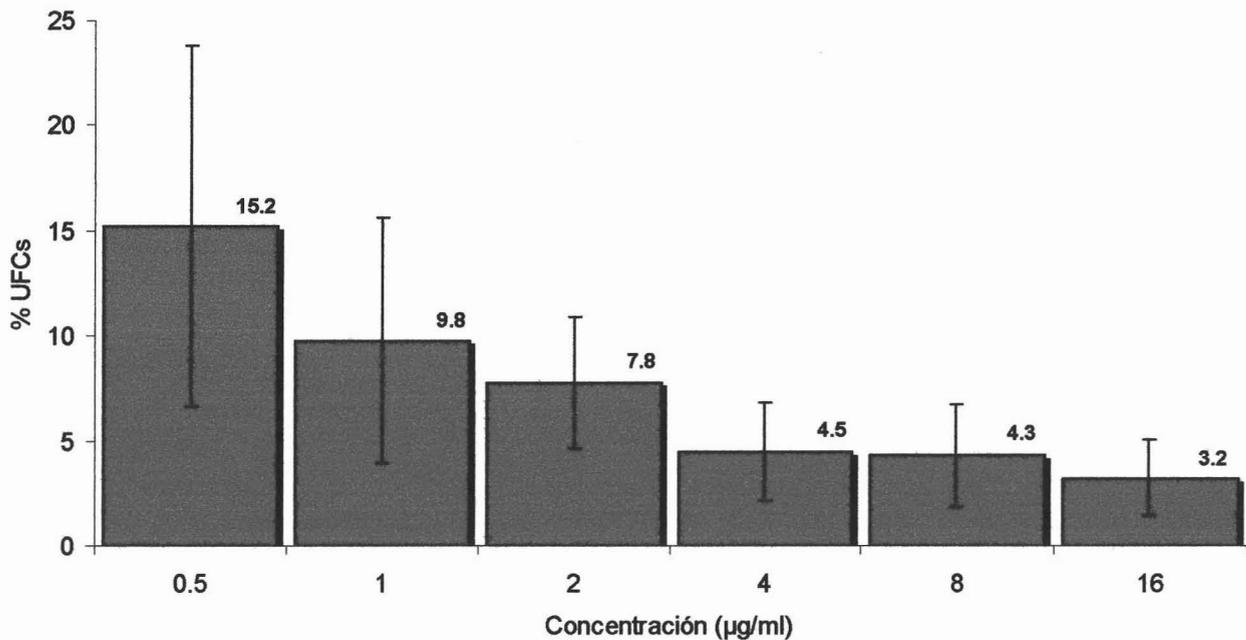


FIGURA 4. Porcentaje promedio (\pm EEM) de unidades formadoras de colonias (UFCs) provenientes de muestras de placa dentobacteriana subgingival de sujetos mexicanos (N = 5) que mostraron crecimiento en presencia de 6 concentraciones de clindamicina. El porcentaje promedio de UFCs en cada una de las concentraciones fue determinado en base al total de UFCs detectadas en placas sin antibiótico para cada muestra de cada sujeto de estudio. Dichos porcentajes fueron promediados entre las dos muestras de cada sujeto y posteriormente entre los sujetos de la población.

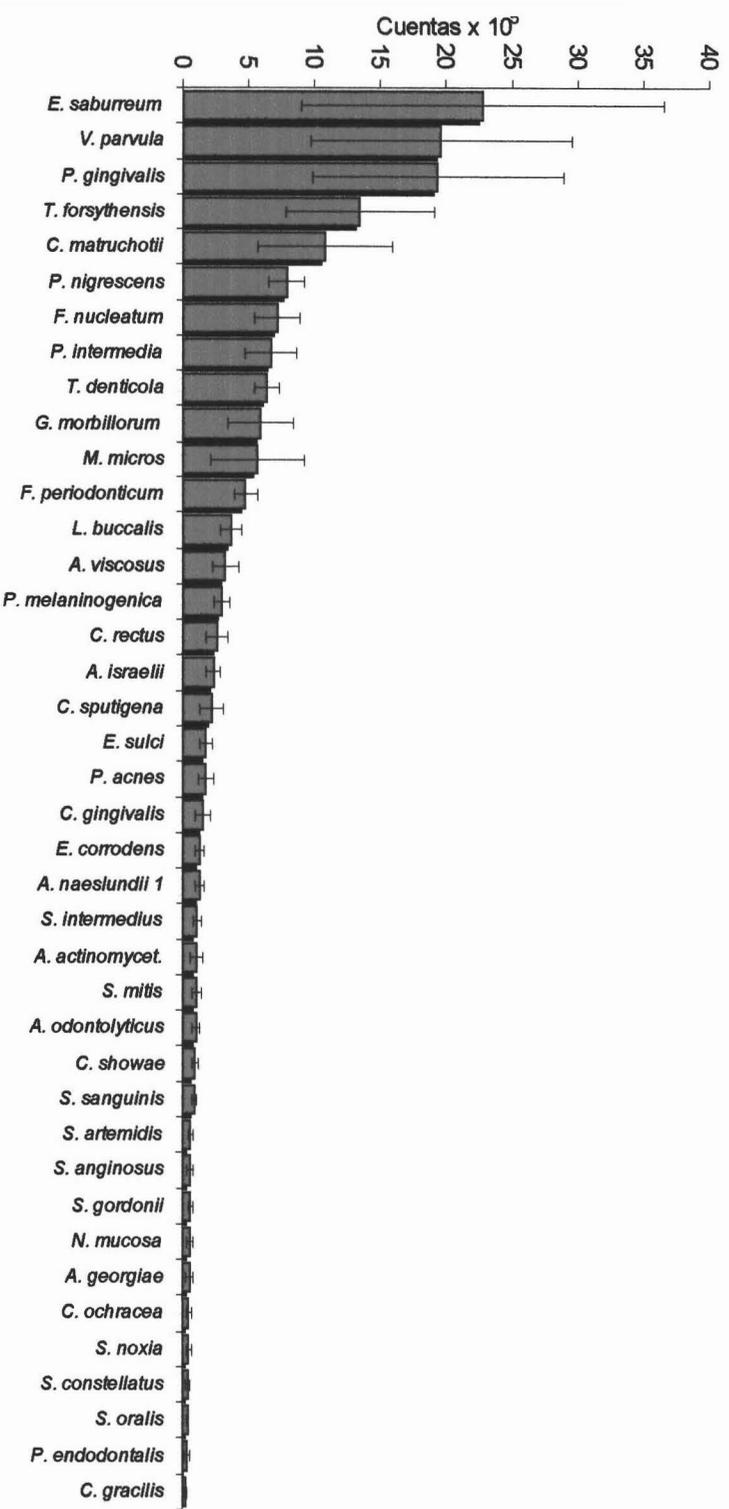


FIGURA 5. Niveles promedio (cuentas $\times 10^5 \pm$ EEM) de cada una de las 40 especies evaluadas en muestras de placa subgingival de 5 sujetos mexicanos con periodontitis crónica. Los niveles fueron calculados para cada especie en cada muestra de placa, promediados entre las muestras de cada sujeto y posteriormente entre los sujetos de la población.

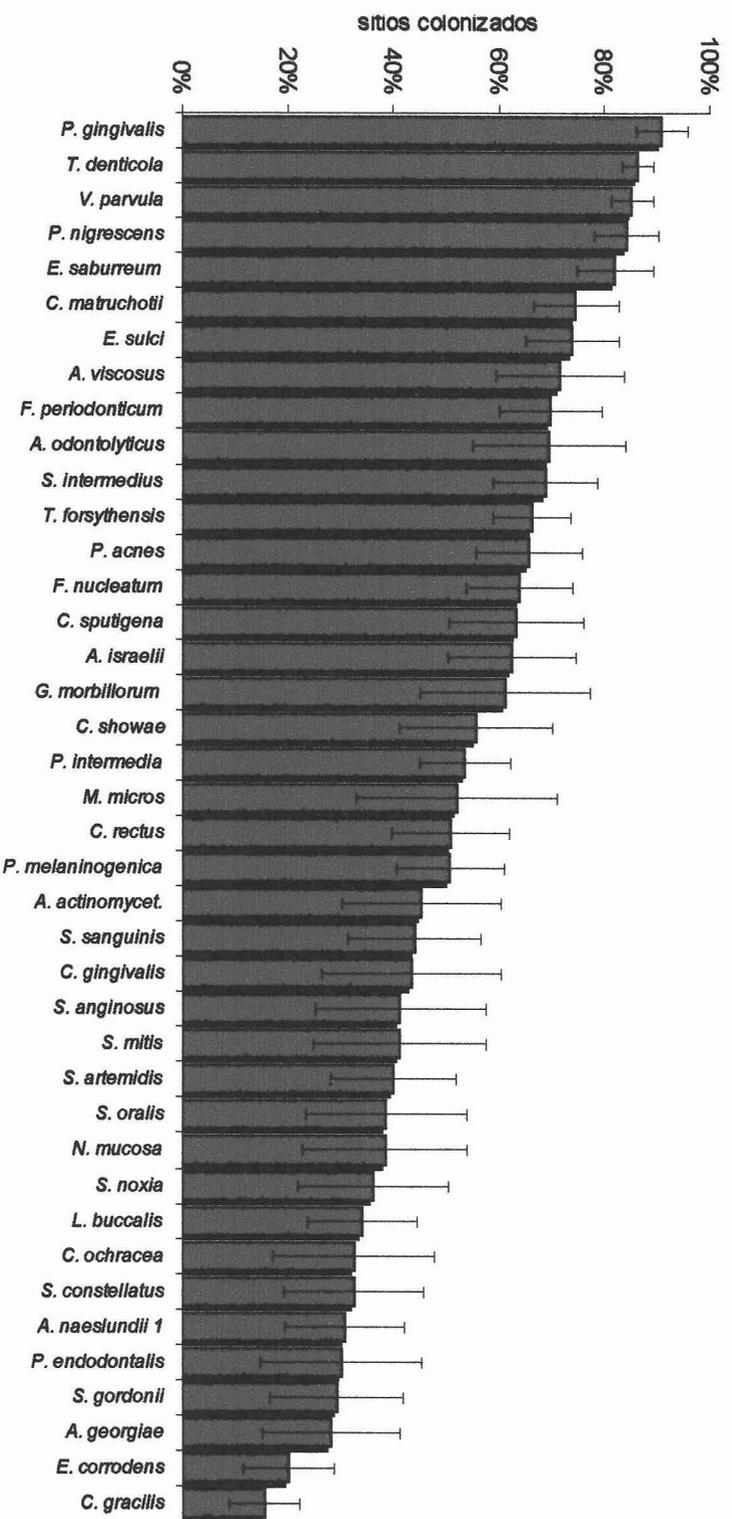


FIGURA 6. Prevalencia promedio (% sitios colonizados \pm EEM) de cada una de las 40 especies evaluadas en muestras de placa subgingival de 5 sujetos mexicanos con periodontitis crónica. La prevalencia fue calculada para cada especie en cada muestra de placa, promediada entre las muestras de cada sujeto y posteriormente entre los sujetos de la población.

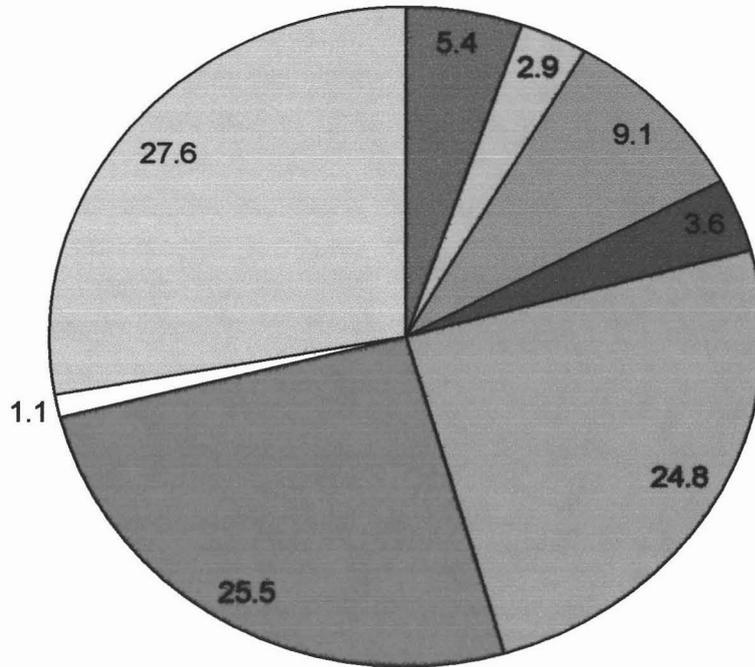


FIGURA 7. Proporción promedio (% de cuentas totales de las sondas de DNA) de complejos bacterianos en 5 sujetos con periodontitis crónica. Las 40 especies bacterianas evaluadas fueron agrupadas de manera similar a la descripción de complejos bacterianos en la placa subgingival (Socransky *et al.*, 1998). Las siguientes excepciones fueron incluidas en la agrupación: *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* serotipo 1 y *Actinomyces viscosus* se encuentran agrupados en el complejo azul; *Corynebacterium matruchotii*, *Selenomonas artemidis*, *Eubacterium saburreum*, *Porphyromonas endodontalis*, *Neisseria mucosa*, *Eubacterium sulci*, *Propionibacterium acnes*, *Prevotella melaninogenica*, *Gemella morbillorum* y *Leptotrichia buccalis* se encuentran agrupados en el complejo gris (no clasificados). La proporción de cada grupo de especies bacterianas fue calculada en cada una de las 28 muestras de cada sujeto de estudio, promediada para cada sujeto y después entre los sujetos de la población de estudio.

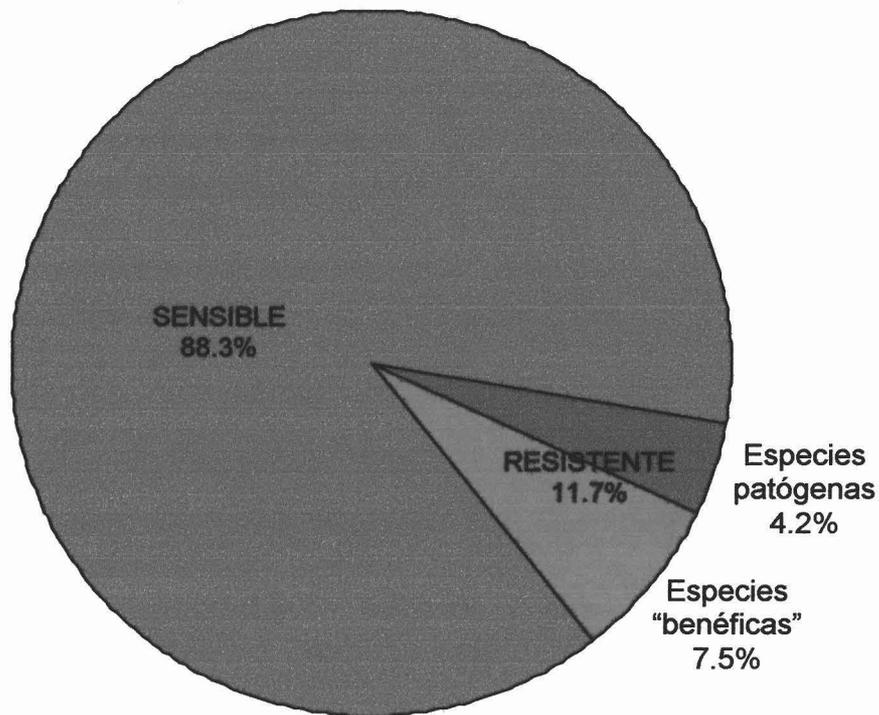


FIGURA 8. Inferencia de la proporción promedio (% de cuentas totales de las sondas de DNA) de especies bacterianas en muestras de placa subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica. Las especies fueron agrupadas de acuerdo con los resultados obtenidos en el experimento para determinar las CIMs de cepas de referencia como sensibles o resistentes utilizando el punto de corte sugerido por la NCCLS para clindamicina. La gráfica muestra la proporción de especies "benéficas" y patógenas periodontales que fueron resistentes a la clindamicina. La proporción de cada grupo de especies bacterianas fue calculada en cada una de las 28 muestras de cada sujeto de estudio, promediada para cada sujeto y después entre los sujetos de la población de estudio. La proporción de *Treponema denticola* y *Actinomyces georgiae* no fue considerada para los cálculos de la gráfica debido a que dichas especies no fueron evaluadas en el experimento para determinar las CIMs.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Forma de consentimiento informado.

INVESTIGADOR RESPONSABLE: Dra. Laurie Ann Ximénez-Fyvie.

CLÍNICOS RESPONSABLES: Dra. Velia Jacobo-Soto.

Dra. Argelia Almaguer-Flores.

INSTITUCIÓN: Laboratorio de Genética Molecular

Div. de Estudios de Posgrado e Investigación

Facultad de Odontología, UNAM

TELÉFONOS: 5622-5565 (horas y días hábiles)

04455-2699-7530 (emergencias)

TÍTULO DE LOS PROYECTOS:

Factores microbiológicos y genéticos relacionados con las enfermedades periodontales en México.

(CONACYT # J-34909-M)

Influencia de niveles creviculares de citocinas sobre las enfermedades periodontales en México.

(DGAPA # IN205402)

Espiroquetas periodontales cultivables y no cultivables.

(NIH # DE-10374, NIDCR)

INVITACIÓN A PARTICIPAR: Usted está invitado a participar en cualquiera de tres estudios de investigación que analizan las bacterias de la boca así como las características genéticas y de defensa de las personas que padecen enfermedades de las encías. El primer estudio investiga la relación de algunas bacterias y de la resistencia que tienen las mismas a diferentes antibióticos con las enfermedades de las encías, así como las características genéticas de las personas que padecen dichas

enfermedades. El segundo estudio investiga la relación entre algunas características del sistema de defensa de las personas y el estado de salud de las encías. El tercer estudio investiga el papel que juegan algunas bacterias específicas en las enfermedades de las encías.

PROPÓSITO: Usted debe entender que los objetivos del primer estudio son determinar la presencia y cantidad de bacterias que se encuentran en la boca de personas con diferentes tipos de enfermedades de las encías, determinar la resistencia que tienen dichas bacterias a varios antibióticos y comparar las características genéticas entre personas con y sin enfermedades de las encías. El segundo estudio tiene por objetivo comparar la magnitud de la respuesta del sistema de defensa entre personas con y sin enfermedades de las encías y el tercer estudio tiene por objetivo determinar si los tipos de unas bacterias llamadas espiroquetas son diferentes entre personas con y sin enfermedades de las encías.

PROCEDIMIENTOS: Usted debe entender que para participar en estos estudios debe haber nacido en la República Mexicana, debe encontrarse en buen estado general de salud, debe tener por lo menos 20 dientes naturales en la boca, no puede haber recibido ningún tipo de tratamiento periodontal en el pasado, no puede haber recibido una limpieza dental profesional en el último mes y no puede haber tomado ningún tipo de antibiótico en los últimos 3 meses. Asimismo, en el caso de ser mujer, no puede estar embarazada ni lactando.

Usted debe entender que su participación en estos estudios de investigación requiere uno o más de los siguientes procedimientos:

- **La realización de una evaluación periodontal completa**, la cual consistirá en medir la profundidad de las pequeñas “bolsas” que se encuentran entre sus dientes y sus encías. Estas medidas serán tomadas con un instrumento especial llamado sonda que será introducido en dichas “bolsas” en 6 lugares diferentes alrededor de cada diente de su boca. Este es un procedimiento de rutina ampliamente utilizado en la práctica dental. Además de lo anterior, se le realizará una evaluación general de la salud de sus encías para saber si sangran, si están inflamadas, si están enrojecidas, etc.
- **La obtención de algunos de sus datos generales y médico**, lo cual consistirá en el llenado de una historia clínica con preguntas que le serán leídas por el clínico que lo atienda y la medición de su peso, estatura, presión sanguínea, pulso y porcentaje de grasa corporal.
- **La toma de un máximo de 36 muestras de placa dentobacteriana**, lo cual se realizará tomando, con un instrumento dental, una muestra de la película blanquecina que se forma naturalmente sobre la superficie de sus dientes (placa dentobacteriana) de todos los dientes de su boca y en algunos casos, dos muestras de un mismo diente. Este procedimiento no es doloroso aunque en algunas ocasiones puede ser un poco molesto. Cada muestra de placa dentobacteriana será colocada dentro de un tubo.
- **La toma de 1 muestra de 3 ml de sangre**, lo cual se realizará siguiendo los mismos procedimientos que se llevan a cabo en laboratorios de diagnóstico clínico acreditados. Dicho procedimiento consiste en colocar una liga gruesa ligeramente apretada alrededor de su brazo para facilitar la visualización de sus

venas. Posteriormente, se introduce una aguja a una vena de alguno de sus brazos y se deposita la sangre en un tubo de vidrio conforme sale de la vena. La liga y aguja serán retiradas y el sitio de punción será cubierto con un curita una vez que el clínico determine que ha dejado de sangrar. Este procedimiento puede causarle dolor o molestias principalmente en el sitio de la punción.

- **La toma de 4 muestras de fluido de sus encías**, lo cual se realizará colocando una tira de papel en el espacio entre sus dientes y sus encías en 4 dientes de su boca. Este procedimiento no conlleva ninguna molestia. Cada muestra será medida en un aparato para determinar la cantidad de fluido y colocada en un tubo.

Usted debe entender que todos los procedimientos serán realizados en una sola visita que tendrá una duración máxima de 2 horas y que en estos estudios participarán aproximadamente 500 (quinientas) personas.

Usted debe entender que su participación en estos estudios no implica que será sometido a ningún tratamiento diferente o adicional a aquellos tratamientos que su clínico tratante considere necesarios para su caso.

RIESGOS: Usted debe entender que los riesgos que usted corre con su participación en estos estudios son mínimos. La evaluación periodontal que se le realizará es la misma que realiza cualquier dentista para determinar la salud de sus encías. Las muestras de placa se tomarán siguiendo procedimientos similares a los que se realizan durante una limpieza dental. Las muestras de fluido de sus encías no conllevan ninguna molestia y la muestra de sangre puede causarle algunas molestias menores pero no duraderas en el sitio de la punción.

Debe entender que todos los procedimientos serán realizados por profesionales calificados y con experiencia, utilizando procedimientos de seguridad aceptados para la práctica clínica. Todo el personal que le atenderá utilizará guantes desechables, bata y cubrebocas para su propia protección y la de usted. Todos los materiales e instrumental que serán utilizados serán desechables y/o estarán esterilizados para su protección.

BENEFICIOS: Usted debe entender que su participación no le proporcionará ningún beneficio inmediato ni directo. Sin embargo, gracias a su participación, se obtendrá información nueva y más extensa sobre las causas y los factores que intervienen en las enfermedades de las encías en la población de México, lo cual podría ayudar en un futuro no sólo al mejor entendimiento de dichas enfermedades, sino también a la búsqueda y empleo de nuevos tratamientos para nuestra población.

COMPENSACIONES: Usted debe entender que no existe ninguna compensación monetaria por su participación pero que tampoco incurrirá en ningún gasto adicional.

CONFIDENCIALIDAD: Usted debe entender que toda la información que sea obtenida tanto en sus historiales clínicos como en el análisis de sus muestras será mantenida en estricta confidencialidad. Así mismo, si cualquier publicación resultara de estas investigaciones, no se le identificará jamás por nombre.

RENUNCIA/RETIRO: Usted debe saber que su participación en los estudios es totalmente voluntaria y que puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin que esto represente algún perjuicio para su atención dental presente ni futura en las clínicas de la Facultad de Odontología de la UNAM. También debe entender que si cualquiera de los responsables de estos estudios decidieran no incluirle en las investigaciones, pueden hacerlo si así lo creyeran conveniente.

DERECHOS: Usted tiene el derecho de hacer preguntas y de que éstas le sean contestadas a su plena satisfacción. Puede hacer sus preguntas en este momento, antes de firmar la presente forma o en cualquier momento en el futuro. Si desea mayores informes acerca de su participación en estos estudios de investigación o sobre sus derechos como sujeto de estudio, puede contactar a cualquiera de los responsables llamando a los números de teléfono que se encuentran en la parte superior de la primera página de esta forma.

ACUERDO: Al firmar en los espacios provistos a continuación usted constata que ha leído y entendido esta forma de consentimiento y que está de acuerdo con su participación en estos estudios. Al terminar la visita recibirá una copia de esta forma.

Nombre del Sujeto

Firma del Sujeto

Fecha
(Dia/mes/año)

Nombre del Clínico Responsable

Firma del Clínico Responsable

Fecha
(Dia/mes/año)