



Universidad Nacional Autónoma de México



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DETECCIÓN DE BACTERIAS ANAEROBIAS EN UNA MUESTRA DE PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA DE LA CLÍNICA DE PERIODONCIA DE LA FO. UNAM 2006

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

LETICIA CISNEROS PÉREZ

DIRECTOR: C.D. FERNANDO BETANZOS SÁNCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mis padres de quienes aprendí a no claudicar ni reparar en esfuerzos por alcanzar mis sueños, por entregarme todo su amor. Gracias infinitas por apoyarme en mis proyectos, en mis anhelos. Saben bien que están siempre en mi corazón, en mi mente... en mi vida. Los amo!!!

A Vianney, por ser mi mano derecha, mi confidente, mi amiga, mi alma gemela, mi hermana. Por ser un ejemplo para mí, por todo lo que te admiro... Te adoro!!!

A Martín que siempre estas al pendiente de mi... como un hermano. Sabes lo que significas para mi, gracias por todo tu apoyo incondicional y por compartir tu vida.

A Yola, a Oscar, a su familia, por su apoyo e interés en las buenas y en las malas.

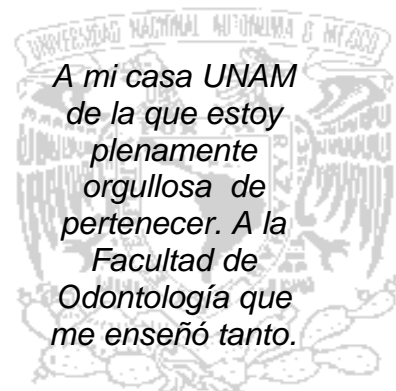
A mis amigos, Blanca, Hugo, Mari, Brenda, Fer, Vanesa, Diana, Iván, Isaías, Jenny, Claudia, Adriana, Ana, Elizabeth, Amparito, Cristina, Daniel, Fernando N. A, Victor D. por todo lo que hemos pasado juntos, por la gran amistad y cariño que nos une, saben que los quiero a todos, gracias por todo su apoyo. ☺

*Al Dr. Betanzos, por su apoyo,
sus consejos, por creer en mí,
en mis sueños, en mi capacidad.
He aprendido mucho de usted,
muchas gracias por su
dedicación.*

*Al Dr. Mandujano por su gran
e infinito apoyo incondicional,
por sus consejos, por su
tiempo, por sus enseñanzas.
Gracias por tener siempre fe
en mí.*

*Al Dr. Beltrán por todo su apoyo, por su
confianza en mí, por su amistad, por
todo lo que he aprendido de usted, por
estar siempre presente. Gracias.*

*A mis chiquitines que me acompañaron
todos estos años y de quienes he recibido
tanto cariño y a veces grandes
lecciones: Pánfilo, a mi nena Dulce (no
los olvidaré nunca), a Kapi, a Tuzita.*



*UNO COMIENZA A MORIR CUANDO
RENUNCIA A SUS SUEÑOS*

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	8
MICROBIOLOGÍA PERIODONTAL	10
PERIODONTITIS CRÓNICA	27
MICROBIOLOGÍA DE LAS BACTERIAS	32
CULTIVO MICROBIOLÓGICO	35
ESPECIFICIDAD ANTIBIÓTICA	49
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	51
JUSTIFICACIÓN	51
HIPÓTESIS	52
OBJETIVO GENERAL	52
OBJETIVO ESPECÍFICO	52
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	52
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	53
VARIABLES DE ESTUDIO	53
MÉTODO Y MATERIAL	54
TÉCNICA DE CULTIVO	54
RESULTADOS	56
ANÁLISIS DE RESULTADOS	59
DISCUSIÓN	59
CONCLUSIONES	61
ANEXO A	62
ANEXO B	63
FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	65

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos de la placa bacteriana constituyen el factor etiológico primario y posiblemente el único en la enfermedad gingivo-periodontal. El cultivo de muestras de casos avanzados de enfermedad periodontal demuestra el predominio de bacilos anaerobios gramnegativos.

Aunque las bacterias anaerobias fueron descubiertas a finales del siglo XIX, en la época dorada de la microbiología, no fue hasta los años 70 cuando se sentaron las bases del conocimiento actual.

Desde un punto de vista simplista, pero muy útil, se puede definir a las bacterias anaerobias como aquellas que para crecer en la superficie de un medio de cultivo necesitan una atmósfera sin oxígeno, ya que este elemento es tóxico para ellas. Con estos dos conceptos se puede inferir que existe un amplio abanico de microorganismos, desde los muy tolerantes y resistentes hasta los extremadamente lábiles a este gas cuando se intenta llegar a un diagnóstico de especie.

Son particularmente frecuentes en la boca (especialmente en la placa dental sobre todo en su porción subgingival). Su incompatibilidad con el oxígeno también condiciona una metodología microbiológica especial. Para el transporte de las muestras, particularmente si se quieren aislar las especies más sensibles, se requiere el empleo de medios adecuados que proporcionen un ambiente con un bajo poder de óxido-reducción. Los medios de cultivo, a demás de ser frescos, deben estar, en lo posible, libres de oxígeno e incubarse en una atmósfera anaerobia. Esta se puede conseguir bien por procedimientos catalíticos, en los que el oxígeno es eliminado combinándolo con hidrógeno en presencia de un catalizador, siendo las jarras de anaerobios el prototipo de este sistema, o por sustitución de la atmósfera normal por una mezcla de gases sin oxígeno, como ocurre en las cámaras de anaerobios y en ocasiones en las jarras.

El cultivo de muestras de casos avanzados de enfermedad periodontal demuestra el predominio de bacilos anaerobios gramnegativos. También hay cantidades importantes de espiroquetas.

La interpretación de los resultados obtenidos en las pruebas practicadas conduce a una identificación más o menos específica de la bacteria en estudio.

El objetivo del presente trabajo es cultivar y observar a nivel microbiológico la flora de la que se compone el surco gingival en presencia de periodontitis crónica; en dicha investigación nos enfocamos a la búsqueda y observación de la morfología bacteriana.

ANTECEDENTES

La historia de la microbiología bucal es paralela a la de la microbiología y la enfermedad infecciosa en general. Desde van Leeuwenhoek, muchos pioneros de la investigación dental han estudiado los microorganismos bucales para determinar su función en la caries dental y en la enfermedad periodontal.

Más tarde Bass, formuló la hipótesis de que un microorganismo específico, *Endoameba bucalis*, era la causa de la enfermedad periodontal y que podría aplicarse una vacuna desarrollada en contra de este microorganismo con el objetivo de prevenir la enfermedad.¹

En los últimos años se le ha dado especial atención al rol que cumple el laboratorio de Microbiología en el diagnóstico de los microorganismos de la cavidad bucal. Es por ello que se han desarrollado y perfeccionado diversas técnicas microbiológicas para conocer mejor la ecología microbiana y a su vez los mecanismos de patogenicidad de los microorganismos más importantes, asociados a diferentes enfermedades. En general, el objetivo del laboratorio de microbiología es proporcionar al clínico información sobre la presencia o ausencia de microorganismos que puedan estar implicados en un proceso patológico infeccioso.²

Actualmente, se define a la placa dental como una comunidad microbiana compleja que se encuentra en la superficie de los dientes, embebida en una matriz de origen bacteriano y salival.

En la revisión Guilarte encontró que: Moore (1987), estimó que es posible encontrar más de 300 especies bacterianas en la placa dental, pero solo un número reducido se relacionan con la periodontitis. Slots (1979), Leknes y col, (1997) y Timmerman y col, (2001), señalan, que la presencia de la placa dental con especies bacterianas anaerobias específicas, induce al desarrollo de la enfermedad periodontal.³

Es bien sabido que la periodontitis es una enfermedad de origen infeccioso, posee características propias que hacen difícil su conocimiento etiopatogénico, y en consecuencia, su tratamiento. Numerosos avances relacionados con el estudio microbiológico de la placa bacteriana se están llevando a cabo en los últimos años, con el objetivo de optimizar los recursos terapéuticos y ofrecer a los pacientes una atención clínica predecible basada en la evidencia científica.⁴

El diagnóstico microbiológico es un trabajo en equipo entre el clínico, que establece su diagnóstico presuntivo diferencial sobre la base del cuadro clínico y radiográfico, y el especialista en microbiología, que dependiendo del diagnóstico presuntivo, debe indicar como tomar y transportar la muestra clínica, así como también, orientar la metodología específica en el diagnóstico a seguir.²

Desde el siglo pasado se han acumulado una cantidad de evidencias sobre la etiología de la periodontitis, pero pocos microorganismos, han sido hasta ahora denominados patógenos periodontales, los cuales, están relacionados con la iniciación y progresión de la enfermedad. Aunque hay más de 300 especies que se aíslan en los sacos periodontales, solo un pequeño porcentaje de ellas se consideran etiológicamente importantes. El grupo de Bacilos Anaerobios Gram Negativos mayormente relacionados en la etiología de la enfermedad periodontal comprende los Géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*, los cuales están ubicados dentro de la familia *Bacteroidaceae*, según Bergey's Manual of Systemic Bacteriology (1994). La clasificación de estas bacterias ha sido difícil y por ello a lo largo de los años han emergido numerosas reclasificaciones taxonómicas, que posiblemente continúen en el futuro.⁵

MICROBIOLOGÍA PERIODONTAL

La cavidad bucal es el único ambiente del huésped que posee aspectos ecológicos que facilitan el establecimiento y crecimiento de una gran variedad de microorganismos que incluye bacterias, hongos, virus y protozoarios.

Los microorganismos del agua, alimentos, aire y los del ser humano en seguida entran a la cavidad bucal. El ambiente bucal es un incubador microbiano ideal porque su temperatura es de 35 a 37° C, es húmedo y hay constante abastecimiento de nutrientes variados. Estos comprenden sustancias en el líquido del surco gingival, células epiteliales y otras que se degradan, además de componentes salivales y nutrientes extrínsecos de alimentos. En la cavidad bucal se cubren los requisitos de oxígeno y pH necesarios para el crecimiento de muchas bacterias aeróbicas, facultativas y anaeróbicas.

El número de anaerobios aumenta con la edad, pero los tipos facultativos permanecen predominantes en número. Al contar los microorganismos de la saliva en el microscopio van desde 43 millones a 5.5 billones por mililitro, con promedio de 750 millones.

La población microbiana que se forma sobre la superficie de los dientes (placa) difiere de las poblaciones bacterianas encontradas en el surco gingival, en la lengua o en la membrana mucosa. Los microorganismos al entrar en la boca, primero hacen contacto con la saliva o con superficies mojadas por ésta. Por el flujo salival abundante, sólo se retienen las bacterias capaces de adherirse. En consecuencia, la adherencia es un factor ecológico importante en la flora bucal. Muchas de las especies bacterianas nativas colonizan lugares anatómicos específicos porque en ellas encuentran los requerimientos para adherirse y crecer. Conforme las condiciones ambientales cambian en el huésped o en la microflora, los microorganismos deben adaptarse o ser sustituidos por nuevas especies

que se adapten mejor al nuevo ambiente. Este fenómeno se denomina sucesión bacteriana. Es importante en la patogénesis de las infecciones bucales, en particular la gingivitis y la periodontitis.⁶

En las gingivitis asociadas a placa, la localización de ésta a nivel de la porción gingival del diente juega en su génesis un papel fundamental. Sin embargo, a veces también pueden influir tanto factores locales como otros que modifican la respuesta del hospedador.⁷

A mediados del presente siglo, la enfermedad periodontal era considerada como un resultado de la acumulación de la placa a través del tiempo en combinación con una menor reacción y mayor susceptibilidad del huésped con la edad.

Diversas observaciones contradijeron tales conclusiones. Primero, algunos individuos con cantidades considerables de placa y cálculo; así como gingivitis, nunca presentaban periodontitis destructiva. También personas que sufrían periodontitis mostraban considerable especificidad en el patrón de distribución física de la enfermedad. Algunos sitios no estaban afectados, en tanto que otros contiguos exhibían enfermedad avanzada. El reconocimiento de las diferencias en la placa en sitios de diferente situación clínica condujo a una renovada búsqueda por patógenos específicos en las enfermedades periodontales y a la transición conceptual de una hipótesis de la placa no específica a otra específica.

Hipótesis de la placa no específica

En 1976, Walter Loesche, investigador de la University of Michigan, delineó las hipótesis de la placa no específica. La primera (no específica) afirma que la enfermedad periodontal surge de la “elaboración de productos nocivos por toda la microflora de la placa”. Según su punto de vista, el huésped neutraliza los productos nocivos cuando sólo hay cantidades menores de placa. De igual manera, considerables cantidades de placa provocarían grandes

cantidades de productos nocivos, que, en esencia, someterían a las defensas del huésped.

Hipótesis de placa específica

Afirma que sólo cierta placa es patógena, y que su patogenicidad depende de la presencia o el incremento de microorganismos específicos. Este concepto asevera que la placa que alberga patógenos bacterianos específicos causa enfermedad periodontal, dado que estos gérmenes producen sustancias que median la destrucción de los tejidos del huésped.

El reconocimiento de *Actinobacillus actinomycetecomitans* como patógeno en la periodontitis agresiva alentó la aceptación de la hipótesis de la placa específica.⁸

Recientemente, Marsh y Martin (2000), señalan la hipótesis de la placa ecológica, para explicar la etiología de enfermedad periodontal. Esta hipótesis propone que los cambios en las condiciones ambientales locales en la región subgingival, como es el incremento del fluido crevicular durante la inflamación, favorece el crecimiento de especies anaeróbicas estrictas proteolíticas, lo cual predispone a la zona gingival a la enfermedad.³

En términos generales el periodonto sano del ser humano se vincula con floras microbianas subgingivales y supragingivales mínimas. Dependiendo de los métodos utilizados para la toma de muestras y cultivo destacan varias formas. Estudios con el microscopio electrónico de la placa *in situ* localizada cerca de la encía marginal y en el área del surco gingival de partes sanas revelaron un estrato relativamente delgado (menos de 60 micras) de células cocoides grampositivas predominantes, con pocas formas móviles y espiroquetas. Estudios de cultivos de sitios con aspecto clínico norma revelaron abundancia de *Streptococcus* (es especial el *S. sanguis*) y especies facultativas de *Actinomyces*, es especial *A. viscosus*. Junto con *Rothia dentocariosa*, forman hasta el 85% de la flora total cultivable. Sin

embargo, los microorganismos gramnegativos también se pueden aislar como *Capnocytophaga*, especies de *Bacteroides*, *Campylobacter* y *Fusobacterium*.

Estudios para valorar las poblaciones microbianas en los sitios con pérdida de adherencia periodontal (sitios activos) en contraste con aquellos sin pérdida o con ganancia de esta adherencia (sitios inactivos) han definido ciertas bacterias, denominadas especies protectoras, que pueden tener una función importante en la prevención de que más bacterias patogénicas colonicen un sitio particular. Estas especies protectoras incluyen *S. sanguis*, *S. uberis*, *Veillonella parvula*, *R. dentocariosa*, *Capnocytophaga ochracea* y *Propionibacterium acnes*.

Los periontopatógenos poseen abundantes factores que les permiten dañar de forma directa al periodonto de manera individual para disparar una respuesta patológica del huésped.⁶

Mecanismos bacterianos patógenos en la enfermedad periodontal

☞ Invasión bacteriana

En los primeros estudios de la periodontitis, a nivel microscópico se consideraba que las bacterias que identificaban en el tejido gingival eran artefactos. No se pensaba que estas invadían el periodonto de manera activa sino que se infiltraban de forma pasiva siguiendo una rutina, por ejemplo, traumatismo gingival leve como el del cepillado dental, masticar sustancias duras y el raspado subgingival.

Se identificó la intervención de bacterias y leucocitos en la superficie del epitelio de la bolsa y bacterias entre las células del epitelio de unión y del epitelio que reviste la pared lateral de las bolsas, así como bacterias dentro del tejido conectivo. Junto con la invasión bacteriana se observa una alteración en la membrana basal del epitelio de la bolsa. En algunos

estudios se observa ausencia discontinua de antígenos de la membrana basal, lo que sugiere destrucción de la misma, talvez relacionada con invasión bacteriana.

☞ Exotoxinas

Las producen muchas bacterias pero no son frecuentes en la placa, excepto durante el transcurso de una infección sistémica. El *A. actinomycetemcomitans* produce un tipo de exotoxina que afecta a los leucocitos polimorfonucleares (PMN) de los seres humanos y facilita la colonización e invasión de estas especies en los tejidos gingivales.

☞ Constituyentes celulares

Los constituyentes celulares de las bacterias gramnegativas y grampositivas desempeñan una función en la enfermedad periodontal. Incluyen endotoxinas, los componentes de la superficie bacteriana y los componentes capsulares.

En la enfermedad periodontal el predominio de bacterias gramnegativas en las bolsas conduce a altas concentraciones de endotoxinas, un constituyente de las paredes celulares de las bacterias gramnegativas. La endotoxina, un complejo lipopolisacárido, suele ser común a todas las bacterias gramnegativas y se libera por la desintegración celular. Las endotoxinas son sustancias altamente tóxicas, afectan a los tejidos de manera directa y por medio de la activación de las respuestas del huésped. Es importante considerar su función en la enfermedad periodontal por su capacidad de:

- 1) Producir leucopenia.
- 2) Activar el factor VII (o factor de Hageman), que afecta al sistema de coagulación y conduce a coagulación intravascular.
- 3) Activar el sistema de complemento (C) por la vía alterna que empieza con la activación del C3 y evade el C1 C4 y C2.
- 4) Conducir al fenómeno de Shwartzman localizado con necrosis de tejidos subsecuentes a dos o más exposiciones a endotoxina.
- 5) Tener defectos citotóxicos en células como fibroblastos.
- 6) Inducir resorción ósea en cultivos de órganos. Las endotoxinas penetran el epitelio gingival.

Las bacterias grampositivas y gramnegativas subgingivales producen una variedad de productos finales tóxicos que también son capaces de destruir tejidos. Entre estas están los ácidos grasos y orgánicos como el barbitúrico y el propiónico, aminas, compuestos volátiles del azufre, indol, amoniac y glucanos.

Los peptidoglucanos, componentes de la pared celular, afectan una gran variedad de respuestas del huésped, entre ellas, la activación del complemento, la actividad del sistema retículo endotelial y las propiedades inmunopotencializadoras. También parecen ser capaces de estimular la resorción ósea y los macrófagos para producir prostaglandinas y colagenasas.

El material capsular y los constituyentes mucosos también son capaces de destruir los tejidos y permiten que las bacterias eludan algunos de los mecanismos protectores del huésped.

☞ Enzimas

Se producen por las bacterias bucales y algunas de ellas, como la *hialuronidasa* son capaces de influir en la permeabilidad gingival al permitir la

proliferación apical del epitelio de unión a lo largo de las superficies radiculares. Esta enzima se presenta en concentraciones más altas en las bolsas periodontales que en el surco normal. La destrucción de colágena que se observa en la enfermedad periodontal, aunque antes que nada es resultado de la liberación de colagenasa de los tejidos, también puede ser consecuencia de la *colagenasa bacteriana*. Los *Bacteroides* pigmentados de negro y algunas cepas de *A. actinomycetemcomitans* producen colagenasa.

Las otras enzimas bacterianas que se producen por periodontopatógenos sospechosos y que posiblemente causan destrucción periodontal incluyen gelatinasa, aminopeptidasa, fosfolipasa A, fosfatasa alcalina, fosfatasa ácida, DNAasa y RNAasa. La fosfolipasa A, puede comenzar la resorción de hueso alveolar como un precursor de la prostaglandina. Las fosfatasas alcalina y ácida también causan pérdida de hueso alveolar.

☞ Evasión de las respuestas del huésped

Los factores bacterianos también ayudan en la evasión de las defensas del huésped. Estos factores influyen en las respuestas celulares y humorales. Por ejemplo, las leucotoxinas, las sustancias quimiotáxicas y los inhibidores influyen en los leucocitos polimorfonucleares. Las proteasas activan o destruyen a las inmunoglobulinas. La respuesta del periodonto a los patógenos periodontales se determina por la combinación de los defectos directos de las bacterias en los tejidos periodontales y de los efectos que se obtienen por la influencia de las respuestas del huésped.

Factores bacterianos importantes en la
Evasión de las respuestas del huésped

Inhibición de PMN

Leucotoxina

Inhibidores quimiotáxicos

Fagocitosis disminuida y destrucción intracelular

Resistencia a la destrucción mediada por C

Alteraciones linfocíticas

Endotoxicidad

Proteasas IgA e IgG

Fibrolisina

Dismutasa superóxida

Catalasa

Con la acumulación de placa y el desarrollo de gingivitis, hay modificaciones cuantitativas y cualitativas en la placa.

Se presenta cambio en la flora en salud, de cocos y grampositivos a una que se caracteriza por aumento en las cantidades de bacterias filamentosas, cepas gramnegativas y espiroquetas. En las primeras fases de la gingivitis, las especies de *Actinomyces* son frecuentes. En las gingivitis de largo plazo, aumentan las bacterias gramnegativas como *Veillonella* y *Fusobacterium*, de manera tal que constituye aproximadamente el 25% de la flora.

En la periodontitis la flora cambia de manera continua hasta que se caracteriza por aumento de cepas gramnegativas. La flora es mucho más variada y compleja que la que se observa en salud o en gingivitis. Los estudios demuestran diferencias cualitativas en la flora subgingival de los sitios “activos” que se definen basándose en la pérdida de hueso alveolar resiente o de inserción, comparada con los sitios “inactivos” que no cubren dicha característica. Por lo general los sitios activos tienen cantidades

elevadas de *B. gingivalis*, *B. intermedius*, *A. actinomycetemcomitans*, *Bacteroides "fusiformes"*, *Wolinella recta*, especies de *Eikenella* y espiroquetas pequeñas. Por el contrario, los sitios tratados con éxito tienen pequeñas cantidades de *B. gingivalis*, *B. intermedius* y *A. actinomycetemcomitans* y aumento de las cantidades de *Streptococcus sanguis*.⁶

El predominio de bacterias gramnegativas dentro de las bolsas periodontales ocasiona altas concentraciones locales de endotoxinas de polisacárido; esta sustancia de alta toxicidad ejerce efectos citotóxicos en los tejidos del huésped, in Vitro estimula la resorción ósea osteoclástica y causa una reacción de Schwartzman localizada con necrosis hística. Los efectos indirectos abarcan, leucopenia, activación del factor XII (o factor Hageman), que trae como resultado coagulación intravascular y activación de la vía alterna del sistema de complemento. Además, tanto las bacterias gramnegativas como las grampositivas generan productos metabólicos tóxicos que pueden producir destrucción hística, entre ellos los ácidos grasos y los ácidos orgánicos como el butírico y propiónico, los aminos, componentes sulfúricos volátiles, el lidol y la amonia.

Las enzimas producidas por bacterias bucales incrementan la permeabilidad de revestimiento epitelial del surco gingival, destruyen el tejido conectivo gingival y promueven la proliferación apical del epitelio de unión a lo largo de las superficies radiculares; entre estas enzimas está la colagenasa, producida por el *B. gingivalis* y por el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, y la hialuronidasa. Es muy probable que estas enzimas ocasionen el ensanchamiento de los espacios intercelulares e incrementen la permeabilidad del epitelio gingival. Las bacterias también producen factores que permiten a los microorganismos evadir los mecanismos de defensa del huésped; dichos factores incluyen cápsulas bacterianas, que inhiben la fagocitosis de los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, y leucotrienos que matan a los fagocitos.⁶

Evidencia indicadora de microorganismos específicos en la etiología de la enfermedad periodontal

Estudios transversales y longitudinales de la microflora cultivada predominante revelan que de las especies bacterianas que pueden estar en cavidad bucal, sólo un número reducido se relaciona con la enfermedad periodontal en los seres humanos. El concepto de especificidad bacteriana ha sido confirmado por observaciones clínicas, por el efecto terapéutico del tratamiento antiinfeccioso y por modelos experimentales de periodontitis, en animales gnobióticos y convencionales.

Una variedad de microorganismos predominantemente gramnegativos participa en la etiología de la enfermedad periodontal; entre ellos *A. actinomycetecomitans*, *B. gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, especie de *Capnocytophaga*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, y *Wolinella recta*, así como ciertas bacterias grampositivas como la especie *Eubacterium*.

Condición	Microorganismos predominantes
Salud	<p style="text-align: center;"><i>Streptococcus sanguis</i> <i>Streptococcus oralis</i> <i>Actinomyces naeslundii</i> <i>Actinomyces viscosus</i> <i>Veillonella spp.</i></p>
Periodontitis crónica	<p style="text-align: center;"><i>Porphyromonas ginigivalis</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Bacteroides forsythus</i> <i>Actinobacillus actinomycetecomitans</i> <i>Selenomonas spp.</i> <i>Capnocytophaga spp.</i> <i>Espiroquetas</i>¹⁵</p>

Debido a que la periodontitis se presenta en una zona que en condiciones normales está habitada por muchas bacterias, identificar los microorganismos específicos que causan dicha afección resulta difícil si se aplican los mismos principios que revelan los microorganismos causantes de monoinfecciones. Es decir, los postulados de Koch que se han utilizado para precisar el origen de enfermedades infecciosas causadas por microorganismos aislados que infectan sitios por lo demás estériles, no han sido de utilidad en los estudios de microflora periodontal.¹

Gérmenes Patógenos Periodontales y Factores de Virulencia Bacteriana

Actinobacillus actinomycetecomitans.

Este microorganismo tiene mucho que ver en la patogénesis de la periodontitis agresiva, también se vincula con los casos de periodontitis crónica en las que se presenta pérdida ósea alveolar a una velocidad inusitada.

El microbiólogo alemán Klinger lo aisló por primera vez en 1912, de lesiones de actinomicosis cervicofacial; el microorganismo fue aislado junto con *Actinomyces israelii*. El microorganismo fermenta azúcares, no requiere los factores X (hemina) o V (NADH), y es catalasa positivo. Pese a que se relaciona con especies bacterianas del género *Haemophilus*, se diferencia sobre las bases de los requerimientos de factores X y V y la producción de betagalactosidasa. El nicho ecológico bucal primario del *A. actinomycetecomitans* (es decir, el medio donde es más probable que se encuentre) es la placa dental.

Los patógenos periodontales como este microorganismo, son en verdad patógenos en el ser humano ya que causan enfermedad en sitios extrabucales como resultado de extensión directa o diseminación por vía sanguínea a partir de la cavidad bucal.

La relación de *A. actinomycetecomitans* y la enfermedad periodontal empieza con las descripciones clínicas de periodontitis o como se le conoce ahora como Periodontitis Agresiva. La gravedad de las lesiones clínicas es mucho mayor que la que se espera por las cifras bajas de la placa y cálculos en los sitios de lesión; el incremento de susceptibilidad de las familias a la Periodontitis Agresiva vinculada con este microorganismo puede deberse en parte al hecho de que a menudo presentan función deficiente de

neutrófilos. El cuadro clínico indica una etiología distinta de la simple acumulación de placa y cálculos para esta forma de enfermedad periodontal.

Los primeros estudios de microflora en lesiones de Periodontitis Agresiva revelan cantidades altas de un bacilo gramnegativo desconocido, que más tarde se identificó como *A. actinomycetemcomitans*; estudios posteriores demostraron que una gran proporción de la flora subgingival de estos pacientes estaba constituida por este microorganismo en los sitios de lesión, mientras que los adyacentes con salud periodontal tenían pocos o ninguno. Su prevalencia se determina en varios estudios diferentes y grupos de pacientes.⁶

Algunas cepas de *A. actinomycetemcomitans* son capaces de producir leucotoxina extracelular activa contra leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) en bolsas periodontales; la presencia de esta toxina le otorga especial patogenicidad.⁹

Bacteroides.

Es el microorganismo subgingival dominante en la gingivitis ulcerosa necrosante, donde constituye un 20% de la flora. En esta enfermedad las cifras de anticuerpos de un serotipo (B) de *B. intermedius* son elevadas, lo que incluye este germen en las causas de la GUN.⁹

Dicho germen es el microorganismo sugingival más abundante en especies con *B. gingivalis* afecta al 95% de estos, constituye del 20 al 50 % de la flora cultivable y también esta presente solo como el mayor componente de la flora subgingival de estos pacientes; se encuentra en pacientes con gingivitis y en más del 50 % de los sujetos normales, es heterogéneo, comprende dos tipos de homología de DNA y tres serogrupos. Se cree que ciertas especies son más virulentas que otras; si es así, las más virulentas se encuentran en las lesiones de los pacientes. En las de pacientes con periodontitis crónica las concentraciones de *B. gingivalis* y de

B. intermedius a menudo pueden estar relacionadas. Cuando hay cantidades altas de *B. gingivalis*, las cifras de *B. intermedius* son bajas, y viceversa. Se necesitan más estudios para precisar la función de *B. intermedius* en la enfermedad periodontal.

Otros bacteroides de pigmento negro parecen no tener una función importante en las alteraciones del periodonto, ya que a menudo no están relacionadas con sus lesiones. Sin embargo, el *B. endotelialis* es virulento y con frecuencia tiene que ver con abscesos de origen pulpar.¹

Porphyromonas.

Este género surge de una reclasificación del género *Bacteroides* y los microorganismos pertenecientes a él son bacilos inmóviles que carecen de metabolismo fermentativo y de las enzimas glucosa-6-fosfato deshidrogenada y 6-fosfoglucano deshidrogenasa. Especies gramnegativas, bacilos pleomórficos, hay seis serotipos basados en la capsula de polisacáridos (antígeno K), asacharolíticas. Requieren vitamina K y hemina para crecer¹⁵ y usan sustratos nitrogenados como fuente de energía.⁹

Entre las especies de interés odontológico se encuentra *Porphyromonas gingivalis* (ex *B. ginigvalis*), lo más importante de género; esta especie predomina en bolsas periodontales. Otras especies son *Porphyromonas endotelialis* y *Porphyromona catoniae*.

De estos bacteroides pigmentados *P. ginigvalis* tiene mayor importancia intraoral pues es el más virulento en infecciones experimentales, pues produce proteasa y hemolisina, provocando degradación enzimática de colágena y metabolitos citotóxicos, las fimbrias favorecen la adhesión.¹⁵

En condiciones de salud las distintas especies de *Porphyromonas* se pueden ubicar en la lengua, en las amígdalas e incluso en la saliva.⁹

Especies *Wolinella*.

Los microorganismos del género *Wolinella* son gramnegativos, anaerobios móviles que se encuentran como células bacterianas en espiral, curvas y rectas de 0.5 a 1 μm por 2 a 6 μm con puntas cónicas o redondas; abundan en la placa dental subgingival de pacientes con periodontitis del adulto y tal vez participan en su patogénesis; también se encuentran en conductos radiculares infectados. El género es parte de la familia de Bacteroidáceas, la cual incluye otros microorganismos de la placa dental subgingival, entre ellos los Bacteroides negro-pigmentados.

En microscopía de contraste de fase, los organismos *Wolinella* presentan una movilidad bacteriana rápida y de tipo activo mediante flagelos localizados en un polo de la célula. Las bacterias forman tres tipos de colonias en agar; una es pálida y traslúcida, amarilla y no se disemina; otra es gris traslúcida e confunde con una gota de agua en el agar; la otra colonia varía, puede, según el medio de cultivo, perforar la superficie del agar.¹

Dentro de este género se agrupan bacilos gramnegativos, anaerobios obligados, con un flagelo polar simple.

En un principio estos microorganismos fueron clasificados como *Vibrio succinogenes* y hace poco han sido redesignados como *Wolinella succinogenes*.

Otros microorganismos no necesitan fermentar carbohidratos pero su desarrollo se estimula en presencia de fumarato.

Se los relaciona con enfermedad periodontal, abscesos de origen dentario y periodontal y canales radiculares infectados.⁹

Espiroquetas bucales.

Los géneros *Treponema*, *Borreli*a y *Leptospira* son responsables de enfermedades en los seres humanos.

Obtienen energía del metabolismo de los aminoácidos, todos los *Treponemas* necesitan suero para su desarrollo.⁹

Las espiroquetas bucales de seres humanos son gramnegativas anaerobias estrictas, de 5 a 20 μm de longitud y de 0.1 a 0.5 μm de ancho, con una morfología celular que consiste en un citoplasma cilíndrico, muy flexible, rodeado por una envoltura o cubierta externa; entre esta última y el citoplasma hay una estructura celular, única en este microorganismo, conocida como filamento axial, fibrilla axial, flagelo axial o fibrilla periplasmática que se origina en las puntas subterminales del cilindro y es útil para clasificar las espiroquetas. Las espiroquetas más importantes en cavidad bucal son *Treponema denticola*, con dos o tres filamentos axiales, y *Treponema vicentii*, con cuatro o seis. A diferencia de otros microorganismos no forman colonias en medio de agar sino que forman “bruma espiroquetal” a medida que se mueven en el agar cuando se cultivan con técnicas de membrana filtrable o fuente de agar. Son abundantes y tiene una afinidad aparentemente en los tejidos del huésped.⁶

Eikenella corrodens.

Es un bastón anaerobio facultativo, gramnegativo, que puede perforar o corroer la superficie del agar donde se cultiva; estos tipos de colonias cambian de lugar en el agar mediante movimientos de tipo de contracción o “tirones”. A menudo se encuentra en la cavidad humana en el conducto respiratorio superior y en el urogenital. Se consideran patógeno oportunista, en especial en pacientes inmunoinfectados. Se le ha encontrado en lesiones extrabucales que incluyen actinomicosis cervicofacial y en abscesos cerebrales secundarios a infecciones dentales; también se halla en concentraciones elevadas en placa subgingival de adultos jóvenes con lesiones periodontales avanzadas y en pacientes con Periodontitis Agresiva. Tanner y col. (1979) examinaron el grupo anterior y descubrieron dos

pacientes con pérdida ósea alveolar avanzada, inflamación gingival grave y supuración; la microflora subgingival predominante estaba constituida por *E. corodens*, *B. intermedius* y especies *Bacteroides fusiformes* que más tarde se denominaron *Bacteroides forsythus*.

Los microorganismos de este género son cocobacilos gramnegativos, anaerobios facultativos; la especie más representativa es *Eikenella corrodens* (el término de *corrodens* obedece a su propiedad de producir oquedades en el agar en cultivos en cajas).⁶

Fusobacterium nucleatum.

Es un bacilo anaerobio obligado, gramnegativo, que a menudo se aísla de la placa dental subgingival de pacientes con periodontitis del adulto; estas células bacterianas son largas con puntas cónicas y gránulos intracelulares. Representan un grupo heterogéneo de microorganismos.¹

Bacteroides forsythus.

Antes conocido como bacteroides “fusiforme” es un anaerobio inmóvil gramnegativo que presenta forma de filamento con puntas cónicas y a veces con protuberancias centrales, fue el que se aisló primero de la placa dental subgingival de adultos jóvenes con periodontitis grave; se encuentra por lo regular junto con el *F. nucleatum* y de hecho parece utilizar factores de crecimiento de este microorganismo como parte de sus requerimientos nutricionales. Crece con lentitud, y es difícil de cultivar, se encuentra en proporciones altas en placa subgingival y proviene de sitios que están perdiendo inserción periodontal en comparación con las que no la padecen.¹

PERIODONTITIS CRÓNICA

Las enfermedades periodontales, sin un consenso universalmente aceptado para clasificarlas, son procesos que afectan a los tejidos de soporte dentario. La patogenia de las periodontitis es más compleja. Los microorganismos de la placa subgingival pueden ejercer una acción directa sobre los tejidos periodontales o modificar la respuesta del hospedador, mientras que la participación *per se* de la misma (normal, disminuida o aumentada) es tan decisiva como la acción de las propias bacterias en la aparición de la enfermedad. Los distintos tipos de periodontitis se asocian a determinados microorganismos, señalándose como mas periodontopatógenos a *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythensis*. Las periodontitis son el origen de complicaciones como caries radicular, procesos endoperiodontales y abscesos periodontales.⁷

De acuerdo con las observaciones clínicas e investigaciones científicas recopiladas por Carranza (1997), Marsh y Martin (2000) y Liebana (2002), la periodontitis se ha clasificado según la extensión de las lesiones (localizada o generalizada), según la evolución de la enfermedad (lenta, rápida y crónica), y según la edad de inicio en los individuos afectados en distintas formas clínicas. Recientemente, en el "International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions 1999", se discutió que muchas veces las periodontitis de comienzo precoz muestran una evolución lenta, mientras que otras de inicio más lento evolucionan de forma rápida. Es por ello que, los términos Periodontitis Prepuberal, Periodontitis Juvenil y Periodontitis Rápidamente Progresiva, fueron reemplazados por el de "Periodontitis Agresiva", e igualmente el término Periodontitis del Adulto por el de "Periodontitis Crónica".

Según estudios microbiológicos transversales y longitudinales, estas entidades han sido relacionadas con microorganismos específicos, como se describen a continuación:

En la Periodontitis Prepuberal, que se presenta en niños antes de los 11 años de edad, caracterizada por tener una evolución rápida, movilidad y pérdida dentaria; se ha encontrado una alta prevalencia de *P. intermedia*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *Capnocytophaga sp.* y en menor proporción *F. nucleatum* y *P. gingivalis*.

En la Periodontitis Juvenil, también llamada Periodontitis Juvenil Localizada, que se presenta durante la pubertad, entre 11 y 19 años de edad, caracterizada por movilidad y pérdida rápida de los dientes; los ensayos microbiológicos indican que *A. actinomycetemcomitans* conforma un 90% de la microbiota cultivable, siendo el agente etiológico primario en este tipo de enfermedad. No obstante, otros microorganismos asociados incluyen *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *E. capillus*, *Eubacterium brachy*, especies de *Capnocytophaga* y espiroquetas.

La Periodontitis Rápidamente Progresiva o de Avance Rápido, que afecta a individuos adultos jóvenes (antes del término de la pubertad) y adultos entre 30 y 35 años de edad, caracterizada por la pérdida extremadamente rápida de los dientes, tejido conectivo y hueso alveolar; los microorganismos relacionados en valores altos en lesiones severas son *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *C. rectus* y *B. forsythus*.

En la Periodontitis Crónica, la cual se inicia en el adulto joven y progresa durante toda la vida del individuo, siendo clínicamente significativa a partir de los 35 años de edad, caracterizada por la pérdida de la inserción del tejido conectivo con el diente, los microorganismos principalmente implicados son *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. loescheii*, *P. oralis*, *F. nucleatum*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *B. forsythus*, *Treponema sp.* y en menor proporción *P. micros*, *P. anaerobius* y *E. brachy*.

Los microorganismos *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *C. rectus* y *B. forsythus* parecen encontrarse en valores altos en sitios con pérdida reciente de inserción, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, se relacionan con

el incremento de la edad y *P. gingivalis* se encuentra en sacos periodontales más profundos. Asimismo, estas bacterias junto con *A. actinomycetemcomitans* se vinculan con la progresión de la enfermedad y la eliminación de estas especies bacterianas con tratamiento se relaciona con la mejoría clínica del individuo.

Por otra parte, investigaciones realizadas por Botero y col. (1995); Genco (1996); Umeda y col.(1998); Fleming (1999) establecen que existen una serie de factores de riesgo que pueden predisponer a los individuos a desarrollar esta enfermedad, tales como sexo, raza, edad, hábito de fumar, inadecuada higiene bucal, desnutrición, estrés, y el nivel socioeconómico de los individuos; algunas enfermedades sistémicas, como, Diabetes Mellitus, trastornos de la función de los neutrófilos, estados de inmunosupresión (SIDA, leucemias) y otras enfermedades como Tumores, Síndrome de Down, Síndrome de Papillon Lefevre, Síndrome de Chediak-Higashi, enfermedad de Addison, entre otras, también favorecen el desarrollo de esta enfermedad.

Además de los factores nombrados anteriormente, Wolff (1994); Genco (1996); Fleming (1999); Marsh y Martin (2000); Lindhe (2000), señalan que ciertas bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella loescheii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* y *Treponema sp.*, han sido comúnmente implicadas con la periodontitis y son consideradas como indicadores de riesgo para la progresión de dicha enfermedad.³

Desde el principio, el término “Periodontitis del adulto”, creó un dilema el diagnóstico para los clínicos. Los datos epidemiológicos y la experiencia clínica sugieren que la forma de periodontitis comúnmente encontrada en los adultos también puede verse en los adolescentes. Esta forma de periodontitis se ha caracterizado como una enfermedad lentamente progresiva. Los datos de muchas fuentes confirman que los pacientes que la padecen por lo general muestran lentas velocidades de progresión. Sin

embargo, también existen datos que indican que algunos pacientes experimentar cortos periodos con rápida progresión. Por lo tanto, la rapidez de la progresión no debe usarse para excluir a personas de recibir el diagnóstico de Periodontitis crónica.

El término “Periodontitis de Inicio Temprano” se usó en las clasificaciones de la AAP de 1989 y europea de 1993 como una designación colectiva para un grupo de enfermedades periodontales destructivas diferentes que afectan a los pacientes jóvenes. Los pacientes que cumplan con el criterio clínico de Periodontitis Juvenil Localizada o Periodontitis Juvenil Generalizada ahora se dice que tienen “Periodontitis Agresiva Localizada” o “Periodontitis Agresiva Generalizada” respectivamente.

Se ha descartado la designación de Periodontitis Rápidamente Progresiva (PRP). Los pacientes que anteriormente se clasificaron dentro de PRP serán, dependiendo de una variedad de otros criterios clínicos, asignados ahora como “Periodontitis agresiva Generalizada” o “Periodontitis Crónica”. Se debe recalcar que existen pacientes con formas rápidamente progresivas. Sin embargo, estas no presentan un grupo homogéneo.

La mayoría de los pacientes que han sido diagnosticados con Periodontitis Prepuberal Generalizada, de hecho tiene una variedad de condiciones sistémicas que interfiere con la resistencia a las infecciones bacterianas. Dichas condiciones incluyen la deficiencia de la adherencia del leucocito, inmunodeficiencia primaria congénita, hipofosfatasa, defectos crónicos del neutrófilo, o neutropenia cíclica. Bajo el nuevo sistema de clasificación dichos pacientes serían colocados bajo el encabezado de “Periodontitis como una Manifestación de las Enfermedades Sistémicas”.

A la “Periodontitis Refractaria” se refiere a las enfermedades periodontales en las cuales existe una progresión continua de periodontitis a pesar de un excelente cumplimiento por parte del paciente y la provisión de una terapia periodontal que tiene éxito en la mayoría de los pacientes. Realmente se considera posible que un pequeño porcentaje en todos los

casos de periodontitis puede no ser responsivo al tratamiento. La designación de refractaria pudiera aplicarse a todas las formas de periodontitis como la Periodontitis crónica refractaria, Periodontitis agresiva refractaria.¹¹

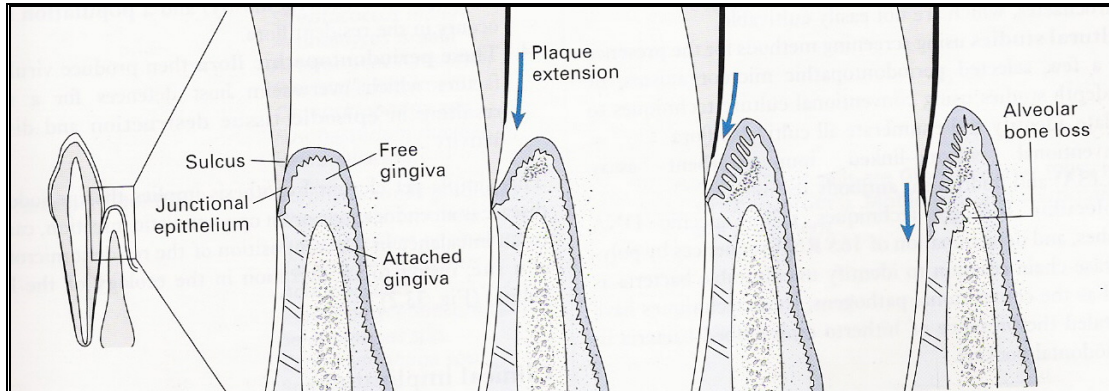


Figura 1. Progresión del periodonto marginal, de periodonto sano a enfermedad periodontal¹⁵



16



16

Figura 2. Paciente con periodontitis crónica¹⁶

Figura 3. Paciente con periodontitis aguda crónica¹⁶

MICROBIOLOGÍA DE LAS BACTERIAS

La forma de las bacterias depende de la pared celular, que les proporciona elasticidad y al mismo tiempo rigidez. Estos microorganismos se presentan habitualmente como elementos esféricos, conocidos como cocos, alargados denominados bacilos, e incurvados. Esta forma puede variar debido a distintas circunstancias exógenas, como la antigüedad del cultivo, factores nutricionales, tratamiento con antibióticos, etc. Por otra parte, a las bacterias que tienen deficiencias en su pared o carecen de ella, como los micoplasmas, los cambios ambientales les afectan con mayor intensidad, por lo que no puede decirse que tengan un aspecto determinado. En un caso u otro, a las bacterias que modifican de forma se les denomina pleomorfas y al fenómeno, pleomorfismo. Además, debido al proceso de división celular, puede que tras dividirse no permanezcan aisladas sino unidas entre sí formando agrupaciones que, al ser en algunos casos muy típicas, contribuyen a su identificación.

1. Cocos.

Su forma habitual es redondeada sin embargo a veces hay excepciones aparecen ligeramente ovoides, con un lado aplanado (con aspecto de riñón o reniformes) o con un extremo afilado (lanceolados). En cuanto a las agrupaciones, pueden ser en dos (diplococos), de cuatro en cuatro (tétradas), en cadenas (estreptococos) o en forma de cubos (sarcinas).

2. Bacilos.

Son alargados aunque en algunas ocasiones son más cortos, y se le denomina cocobacilos. Sus extremos pueden ser variables, lo que contribuye también a su identificación. Así existen bacilos con

terminaciones en ángulo recto, redondeadas, afiladas, engrosadas, en forma de maza, etc; ello puede deberse a la propia forma de la bacteria o a la presencia de inclusiones o esporos. Al contrario que los cocos, es raro que se agrupen, aunque pueden aparecer como diplobacilos, estreptobacilos o en grupos irregulares (p. ejemplo. letras, empalizadas, ovillos o paquetes con elementos entrecruzados). A veces a las formas individualizadas o alas agrupaciones se les da un determinado nombre por ser común en algunas bacterias (p. ejemplo. a los bacilos terminados en maza se les llama corineiformes porque así se presentan algunas corinebacterias; si se reúne en empalizadas se le denomina difteromorfos o difteroides porque así lo hacen el agente de la difteria y las bacterias relacionadas).

3. Formas incurvadas.

Son elementos generalmente aislados con una o varias curvaturas. Si presentan una sola, pueden adoptar un aspecto de coma (vibrios); a veces son varias de un solo plano (espirilos)., en ocasiones se sitúan en planos distintos, son flexiles y se mueven por filamentos axilares (espiroquetas).

Tamaño.

Debido al pequeño tamaño de las bacterias no se les puede aplicar las unidades utilizadas normalmente para medir seres macroscópicos. Por ello se emplean una serie de divisiones del milímetro; entre las que se usan más comúnmente se encuentra el micrómetro o micra (μm o μ); también puede utilizarse, para medir los orgánulos, el nanómetro (nm) o el ángstrom (Å). Aunque el tamaño de las bacterias varía enormemente de unas a otras, se puede establecer el patrón entre 0.5 a 1 μm de ancho y 1-10 μm de largo.

En teoría, a lo largo de la vida el tamaño de las bacterias no cambia salvo en el momento de la división. Esto es así porque no experimentan un crecimiento tal como se entiende en los seres superiores. Sin embargo, habrá bacterias más grandes o más pequeñas en relación con su forma innata y otras que modificarán su tamaño por factores exógenos (por ejemplo, retracción por colorantes, edad del cultivo o nutrientes disponibles).

Dado su pequeño tamaño, las bacterias tienen que observarse a través de dispositivos de aumento como los microscopios ópticos compuestos.

Además, en muchos casos se debe recurrir a métodos tintoriales o incluso, en algunas ocasiones, a tinciones especiales que incrementan sus dimensiones, como en las que se emplean sales de plata. Otros microorganismos de menor tamaño como los virus no pueden observarse con el microscopio óptico y debe recurrirse a los electrónicos. Incluso existen bacterias de reducido tamaño que no pueden visualizarse mediante técnicas convencionales de microscopía óptica.¹⁰

CULTIVO MICROBIOLÓGICO

Medios de cultivo bacteriano

Para llevar a cabo el diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas y estudiar las características de las bacterias, es necesario obtener un cultivo puro de las mismas. Para ello se deben utilizar en el laboratorio, de acuerdo con sus necesidades particulares, medios de cultivo que se les ofrezcan los nutrientes y las condiciones óptimas de crecimiento.

Concepto.

Son preparados que intentan reproducir artificialmente las condiciones del hábitat natural de los agentes bacterianos. Sus componentes deben cubrir todas las necesidades nutricionales de las bacterias que se van a estudiar y deben incorporarse en una mezcla justa y equilibrada; esto permitirá su crecimiento y su multiplicación, obteniéndose lo que denomina un cultivo microbiano. La inoculación del microorganismo (o muestra clínica de lo que contenga) en un medio de cultivo se denomina siembra. No todas las bacterias tienen las mismas características nutricionales; hay algunas poco exigentes que crecen en la mayoría de los medios, otras que necesitan algunas sustancias en particular, otras que son más difíciles de cultivar incluso las hay que no crecen en ningún medio conocido hasta la fecha.

Composición.

Hay una gran cantidad de sustancias que se añaden a los medios de cultivo, ya que como se ha señalado, deben satisfacer todas las necesidades nutricionales. A continuación se señalan las más importantes:

- Agua: Es un componente básico y universal para la vida
- Peptonas: Se obtienen por hidrólisis ácida o enzimática de proteínas. Se denominan según el origen de la proteína (por ejemplo: de gelatina, de carneo de soja) y según la enzima utilizada para su obtención (por ejemplo: pepsina, pépsica; tripsina, trípica; o papaína, papaínica). Constituyen una fuente fundamentalmente de hidrógeno, pero también de carbono y azufre.
- Hidratos de carbono: El utilizado universalmente es la glucosa, pero en algunos medios se agregan también otros monosacáridos como fructosa, disacáridos como maltosa o sacarosa o polisacáridos como almidón. Constituyen tras la degradación enzimática y de carbono.
- Extracto de carne: Es un concentrado de productos hidrosolubles de la carne de composición indefinida (por ejemplo corazón, cerebro, músculo o hígado de buey). Aporta elementos muy ricos como xantina e hipoxantina, glucógeno, ácido láctico, grasa, vitaminas, oligoelementos, etc.
- Extractos de levadura: Es un producto de la hidrólisis ácida o enzimática de la levadura de pan o de cerveza, previamente lisada por calor. Es una fuente importante de aminoácidos, vitaminas y otros factores de crecimiento.
- Suero o sangre de caballo o de carnero, líquido ascítico y vitaminas: Son elementos muy útiles para microorganismos exigentes.

- Cloruro de sodio: Equilibra la presión osmótica del medio a fin de evitar la lisis celular por choque osmótico.
- Minerales u otras sustancias que los microorganismos no pueden sintetizar: Este es el caso de la hemina, ácido glutámico, fósforo; calcio, hierro, manganeso, etc.
- Agentes solidificantes: Se incorporan para obtener medio de cultivo sólido o semisólidos. El más utilizado es el agar, que es un polímero obtenido de algas rojas como *Gelidium corneum*. Aunque es líquido a 45 a 100° C, por debajo de 45° C comienza a solidificar, dando lugar a un gel resistente a la hidrólisis bacteriana. Tiene el conveniente de no solidificar en medio ácido, lo que sí ocurre con el silicato sódico al 10% o silicagel, que se usa para medios definidos. La gelatina es otro compuesto de este tipo, pero no siempre puede emplearse ya que algunas bacterias la hidrolizan; por ello, se utiliza más como prueba de identificación de éstas (detección de gelatinasa) que como agente solidificante.

Preparación.

Para preparar un medio de cultivo, las sustancias que lo componen se disuelven en agua, se calientan para favorecer la disolución de la mezcla y, una vez obtenida una solución homogénea, se ajusta al pH óptimo. A continuación se reparte en tubos o frascos para su posterior esterilización en autoclave mediante calor húmedo. En algunos casos, los medios contienen sustancias termolábiles y requieren otro método de esterilización como la filtración por membranas o la tindalización. Una vez concluida la esterilización, se conservan en frigorífico, aunque se pueden verter en cajas de Petri en el caso de medios sólidos que se vayan a utilizar en breve.

Condiciones de cultivo.

Para conseguir el cultivo microbiano, se deben respetar las condiciones de incubación adecuadas.

- Temperatura: En general, salvo para algunas bacterias especiales, la óptima para el crecimiento bacteriano es de $36 \pm 1^\circ \text{C}$. Se consigue mediante estufas de cultivo.

- Atmósfera: Ésta depende del tipo de respiración que posea el microorganismo. Las bacterias aerobias o anaerobias facultativas se incuban en presencia de O_2 , las anaerobias estrictas requieren un 85% de N_2 , 10% de H_2 y 5% de CO_2 , y las microaerófilas un 5% de O_2 , 10% de CO_2 y 85% de N_2 . Para los microorganismos calófilos deberá ajustarse el nivel atmosférico de CO_2 . Si el tipo de incubación no es aerobio, los medios de cultivo se colocan dentro de las bolsas de plástico, jarras o estufas especiales, en las que se aporta la concentración gaseosa apropiada.

- Presión osmótica: Los medios de cultivo llevan una concentración de NaCl del 1% suficiente para lograr la osmolaridad requerida para la mayoría de las bacterias. En el caso de las bacterias halófilas, debe añadirse NaCl hasta su nivel requerido.

- Humedad: Favorece el crecimiento de todos los microorganismos.

- pH: La mayoría de las bacterias crecen muy bien a pH cercanos a la neutralidad. El ajuste de pH se logra con NaOH o KOH y ClH. Puede asegurarse su estabilidad en el medio mediante la adición de tampones como, por ejemplo, el sistema KH_2PO_4 .¹⁰

Clasificación de los medios de cultivo

Se hará en función de su contenido, de su estado y de su utilidad.

Según su contenido.

Definidos o sintéticos.

Se conoce perfectamente la composición química, ya que elaboran añadiendo productos puros e individualizados.

No sintéticos o empíricos.

No se conoce la composición exacta, se preparan con extractos de carne, de levadura, peptonas, etc. Su empleo se basa en la experiencia y son los medios más utilizados (por ejemplo caldo Schaedler, agar cerebro-corazón o agar Müller-Hinton).

Según su estado.

Líquidos.

Reciben el nombre de caldos (por ejemplo caldo Tioglicolato, caldo de cerebro-corazón, caldo nutritivo o caldo Schaedler). Los constituyentes están disueltos en agua sin sustancias solidificantes. Se utilizan sobre todo para inocular muestras o cuando se cultiva un único microorganismo, para obtener una masa microbiana u observar las características de crecimiento, también sirven para elaborar las curvas de crecimiento.

Semisólidos.

Contienen agar en escasa proporción (menos del 1%). Se utilizan como medios para analizar alguna característica especial de las bacterias, como por ejemplo la movilidad o la capacidad oxidativa-fermentativa.

Sólidos.

Se obtiene agregando agar al medio líquido en una cantidad suficiente para que solidifiquen (generalmente 1.5-2%). Según su utilización, se distribuirán en tubos o en placas de Petri. Los primeros se pueden inclinar para que al solidificar tengan una superficie donde sembrar; se dice entonces que se tienden en pico de flauta y la inoculación se puede efectuar superficialmente o por picadura del medio; se utilizan principalmente para pruebas de identificación bioquímica (por ejemplo bilis esculina agar). La inoculación en placas de Petri permite la obtención de las colonias bacterianas.

Diferenciales

Estos medios llevan incorporadas determinadas sustancias que pondrán de manifiesto visualmente la presencia de alguna característica bioquímica de la bacteria. Así, si se les añade glucosa y un indicador de pH las bacterias fermentadoras del azúcar producirán metabolitos ácidos que disminuirán el pH y habrá un cambio de color; en cambio las bacterias que no fermenten la glucosa no producirán viraje del indicador de pH no modificación del color (medios cromogénitos). Muchos de estos medios diferenciales son los que generalmente se utilizan para llevar a cabo la identificación bacteriana, por lo que algunos autores los denominan medios de identificación.

Estos son los cuatro medios fundamentales que se emplean para el diagnóstico bacteriológico. Además, es interesante saber que existen:

- a) Medios especiales que son los que se emplean para cultivar bacterias con características peculiares (por ejemplo las bacterias anaerobias no pueden crecer en presencia de O₂ por lo que se añaden al medio sustancias reductoras como el tioglicolato de sodio);
- b) Medios para estudios de sensibilidad a antibióticos en los que sus componentes no deben interferir con la actividad de los antimicrobianos y no deben incluir sustratos que las bacterias usen como vía metabólica alternativa a la vía inhibida;
- c) Medios de transporte que permiten la viabilidad de una muestra durante cierto tiempo y contienen la cantidad justa de nutrientes que no produzca una proliferación excesiva de las bacterias, esto podría favorecer el crecimiento de algunas inhibiendo el desarrollo de otras;
- d) Medios de conservación que sirven para mantener a los microorganismos viables en el laboratorio a fin de realizar diversos estudios (aunque el método ideal para conservarlas es la liofilización) se pueden usar medios con glicerol o leche que se mantienen a bajas temperaturas);
- e) Medios de recuento que son sólidos, selectivos o no, y que permiten conocer la calidad de bacterias que hay en una muestra a través de un recuento en placa evaluando el número de colonias que aparecen.¹⁰

Detección de bacterias específicas en la bolsa periodontal.

En la actualidad existen múltiples posibilidades técnicas y metodológicas para identificar periodontopatógenos en la microbiota subgingival de los pacientes con enfermedades periodontales asociadas a placa. Así es posible no sólo diagnosticar las formas clínicas de enfermedad periodontal, sino también determinar que zonas sufren destrucción activa y controlar la respuesta al tratamiento.

Actualmente, se dispone de algunas pruebas innovadoras y rápidas para detectar bacterias específicas en la bolsa, ya que los investigadores han podido confirmar que la presencia de éstas significa destrucción periodontal activa. Junto con las técnicas convencionales de cultivo, se pueden utilizar otras de diagnóstico rápido como las sondas ADN, PCR o anticuerpos mononucleares, inmunofluorescencia y enzimoimmunoanálisis.

La especificidad de sitio es una limitación de la información aportada por los estudios microbiológicos. Es bien conocido que las especies bacterianas pueden variar de un diente a otro incluso de una superficie a otra, por lo que para excluir la presencia de un determinado patógeno habría que hacer un muestreo de todas las superficies dentarias presentes en la boca, lo cual es inviable. Desde determinadas zonas se pueden contaminar otras adyacentes, lo que favorecería la recidiva en zonas correctamente tratadas. Por tanto, se ha planteado la necesidad de conocer el número de muestras representativas o, lo que es igual, cuántas zonas tienen que ser examinadas para poder afirmar con un grado suficiente de confianza que un paciente no está infectado por un determinado periodontopatógeno. Los hallazgos sugieren que diferentes especies requieren un número de muestras específicas.

En los casos de respuesta insuficiente al tratamiento, la administración de una antibioticoterapia no dirigida mediante antibiograma puede originar resistencias o una aparición de nuevos patógenos

periodontales como especies entéricas, por lo que el cultivo es el método de elección. Aunque el costo y la complejidad de estos estudios limitan el uso sistemático; cuando haya que realizar tratamientos de rehabilitación comprometidos o en implantes, también están justificados, ya que la pérdida de soporte periodontal puede afectar a la viabilidad de estos procedimientos tan costosos.¹⁰

Principios de cultivo microbiológico

Los métodos de laboratorio proporcionan información preliminar acerca de las bacterias involucradas, así entonces se requiere de crecimiento bacteriano para la identificación y caracterización definitivas. El cultivo bacteriano tiene tres propósitos:

1. Facilitar el crecimiento y aislamiento de todas las bacterias presentes,
2. Determinar cuáles de las bacterias que se desarrollan son probables que sean la causa de la patología y cuáles son los probables contaminantes o colonizadores,
3. Obtener el desarrollo suficiente de las bacterias relevantes en clínica para permitir su identificación y caracterización.¹³

En primer lugar, la muestra clínica a ser tomada representa una porción o cantidad de material biológico que es sometida a pruebas para determinar la presencia o ausencia de microorganismos específicos. Es importante destacar que para la toma de una muestra deben tenerse en cuenta los siguientes requisitos:

1. Ser seleccionada del área afectada, con el fin de aislar e identificar los agentes etiológicos del proceso infeccioso;
2. Obtener una cantidad adecuada, para realizar las diferentes pruebas diagnosticas;
3. Evitar arrastrar flora microbiana que habita normalmente en piel y mucosas; y debe ser tomada antes de administrar antimicrobianos al paciente.
4. Después de realizar la toma de la muestra, esta debe ser rotulada con el nombre del paciente, número de historia clínica, fecha, y origen de la misma. Esta información debe corresponder con los datos de la orden de solicitud del estudio microbiológico.

Finalmente, la muestra debe ser enviada inmediatamente al laboratorio, pues existen factores que pueden modificar la composición inicial, tales como:

1. Temperatura
2. Humedad
3. Algunas sustancias que producen los microorganismos que pueden inhibir el crecimiento de otros.

Si se sospecha de la existencia de microorganismos aerobios o anaerobios en el proceso infeccioso, las muestras pueden ser transportadas al laboratorio por diversos procedimientos. Sobre este punto es importante recordar que la mayor parte de los microorganismos asociados a las enfermedades de la cavidad bucal son anaerobios facultativos o anaerobios estrictos, esta premisa deberá tenerse en cuenta a la hora de efectuar el transporte de muestras al laboratorio, ya que deben tomarse en cuenta ciertas precauciones, como por ejemplo, el

uso de medios de transporte especiales que permitan la viabilidad de los microorganismos hasta ser sembrados en los medios de cultivo selectivos.

El examen microscópico directo de las muestras obtenidas de la cavidad bucal permite orientarnos hacia la morfología predominante: cocos, bacilos, espiroquetas, así como para conocer la existencia de hongos y protozoarios, y si se trata de microorganismos Gram negativos o Gram positivos. Aunque, se ha recomendado realizar de forma rutinaria estudios microscópicos directos, el valor de los mismos, en las enfermedades infecciosas bucales, es bastante limitado. No obstante, conviene precisar que se trata de un método fácil, sencillo y económico para cualquier laboratorio.

La identificación de los microorganismos aislados y purificados, se inicia con el examen microscópico previa coloración y la observación macroscópica de las colonias, seguido del análisis a través de pruebas bioquímicas convencionales o por pruebas rápidas que incluyen sistemas microbioquímicos y enzimáticos manuales o automatizados, que permiten la identificación definitiva.

Conviene señalar finalmente, que el diagnóstico microbiológico es una herramienta importante que puede ser utilizada por el Odontólogo para estudiar, conocer e investigar la etiología microbiana de las enfermedades infecciosas de la cavidad bucal. No obstante, la clave del diagnóstico microbiológico, va a depender de una adecuada toma de muestra, su cuidado en la manipulación y transporte al laboratorio, por parte del clínico.²

Toma de muestras

Dejando a un lado el análisis de la sangre periférica, tanto el estudio del líquido gingival como el de la placa subgingival no están exentos de

problemas. Se ha propuesto efectuar tomas de muestras con curetas Gracey Morris 00, introducidos en la bolsa periodontal, efectuando desplazamientos en dirección coronal a lo largo de la superficie del diente y del recubrimiento epitelial del surco. Otra forma, quizá mas idónea, sea efectuarlas a través de una aguja hueca en la que se inserta un alambre abrasivo o un tiranervios endodóncico; la aguja es introducida en el surco o la bolsa y el alambre es impulsado a través para obtener una muestra sin contaminar; a continuación es retraído al interior de la aguja, antes de retirarla de la boca. Esta técnica no parece haber sido superada para la obtención de placa por la de las puntas e papel absorbente o de tubos capilares. Éstos se introducen en las bolsas recogiendo por capilaridad del líquido gingival, y no tanto la placa; los capilares son tapados con cera y enviados al laboratorio. En todos los casos, las zonas deben ser aisladas con algodón, hay que secar la corona clínica y el margen gingival, y arrastrar la placa subgingival con algodón estéril y curetas de Gracey. Recogidas las muestras, en especial para estudios de placa, éstas deben ser procesadas inmediatamente, o bien hay que colocarlas en medios de transporte adecuados.¹⁰



Figura 4. Toma de muestras con puntas de papel absorbente, insertadas en el surco gingival.

Transporte de la muestra

Lo ideal es que las muestras se transporten al laboratorio dentro de los 30 minutos posteriores a la recolección. Todos los recipientes para las muestras deberán ser a prueba de filtraciones, y las muestras se deberían transportar dentro de las bolsas de plástico que se puedan sellar y sean a prueba de filtraciones, con una sección separada para información sobre el papel; para este fin son comunes las bolsas que se vuelven a sellar o tienen un sello permanente. Muchos microorganismos son susceptibles a las condiciones del medio, como la presencia de oxígeno (bacterias anaerobias), o variaciones de temperatura o de pH. En consecuencia, para asegurar la viabilidad del microorganismo (supervivencia) es importante el uso de medios especiales de conservación o de soporte para el transporte de las muestras que se retrasen más de 30 minutos.

Conservación de la muestra

Los medios de soporte mantienen la viabilidad de los microorganismos presentes en una muestra sin favorecer su proliferación. Así, los microorganismos permanecen en estado latente, por lo que ninguno crece hasta superar a los demás, ni muere.



Figura 5. Medio de soporte, contenido en tubos a prueba de filtraciones

Selección de los medios de cultivo

Los medios de cultivo principales se clasifican en varias categorías. La primera comprende los medios nutritivos, por ejemplo, agar sangre y agar chocolate, que permiten la proliferación de un amplio espectro de microorganismos y se consideran no selectivos, dado que, en teoría, permiten el crecimiento de la mayoría de los microorganismos. Los medios de cultivo también pueden ser diferenciales, pues permiten distinguir los microorganismos sobre la base de ciertas características de crecimiento que se evidencian en el medio. El agar sangre se considera un medio nutritivo y a la vez diferencial, dado que permite diferenciar microorganismos en alfa hemolíticos, beta hemolíticos y gamma hemolíticos.

Condiciones de incubación

Los agentes anaerobios no pueden crecer en presencia de O_2 , y la atmósfera de las jarras, bolsas o cámaras de anaerobiosis se compone de 5-10% de hidrógeno (H_2), 5-10% de CO_2 , 80-90% de nitrógeno (N_2) y 0% de O_2 .¹³

ESPECIFICIDAD ANTIBIÓTICA

Mientras que en las gingivitis asociadas a placa suele ser suficiente el control mecánico de la misma, con el uso además, por ejemplo, de la clorhexidina, y sobre todo, educación sanitaria para la mejora de la higiene oral y, en su caso, corregir los factores locales y los que modifican la respuesta del hospedador, la actitud terapéutica ante las periodontitis es bien diferente. Aparte de corregir factores comportacionales y sobreañadidos, como en los procesos anteriores, se ha propuesto el uso de antisépticos locales, entre otros la ya señalada clorhexidina, y de antibióticos tópicos (p. ej.: tetraciclinas y metronidazol), los resultados obtenidos no parecen mejorar el simple alisado y raspado radicular, sobre todo en lo referido a estos últimos. Entre otras circunstancias adversas están el favorecer la resistencia de la microbiota subgingival. Su uso sólo podría ser beneficioso cuando se producen recaídas y/o ante la negativa del paciente a otras medidas de mantenimiento periodontal repetidas. La administración sistémica de antibióticos sí puede aportar una mejoría del estado clínico periodontal ya que a través del suero pueden acceder de manera fácil a las zonas más profundas del periodonto enfermo. Un ejemplo claro es lo que ocurre con las tetraciclinas que por vía general erradican *A. actinomycetemcomitans* y no cuando se administra por vía local. Además los antibióticos pueden eliminar periodontopatógenos de otras zonas de la cavidad oral que actúan como reservorios con el consiguiente efecto profiláctico. En un trabajo sobre el uso de estos fármacos por vía sistémica, los autores realizan una amplia revisión sobre el tema. En ella se analizan múltiples estudios realizados por numerosos profesionales e investigadores; sin embargo, existen multitud de variables entre las que destacan las clínicas, en relación al tipo de periodontitis, las microbiológicas como los estudios realizados por cultivo o biología molecular, las referidas a pautas de dosificación, las medidas periodontales asociadas como raspado, alisado o cirugía, etc. Como puede

suponerse los resultados son tan dispares que no cabe establecer unas medidas universalmente aceptadas, tanto que podría hablarse de que cada individuo tiene su propio tratamiento. Parece claro que en muchos enfermos el simple raspado y alisado radicular no es suficiente para la eliminación de periodontopatógenos.⁷

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

Es bien sabido que la periodontitis es una enfermedad de origen infeccioso, pero posee características propias que hacen difícil su conocimiento etiopatogénico, y en consecuencia, su tratamiento. Numerosos avances relacionados con el estudio microbiológico de la placa bacteriana se están llevando a cabo en los últimos años, con el objetivo de optimizar los recursos terapéuticos y ofrecer a los pacientes una atención clínica predecible basada en la evidencia científica.

Diversas investigaciones reportan especies de bacterias Anaerobias Gram Negativas Pigmentadas, razón por la cual, es necesario aislarlas y si es posible identificarlas para conocer la frecuencia de estos microorganismos en esta enfermedad. Para lo cual primeramente deben ser identificadas las formas microbiológicas para después realizar la diferenciación bacteriana.

JUSTIFICACIÓN

El conocimiento de las formas microbiológicas nos permitirá aislar y conocer las bacterias Anaerobias Gram Negativas Pigmentadas asociadas a la periodontitis crónica, y en un futuro poder identificarlas.

Esta información beneficiara al odontólogo en cuanto tendrá más elementos que puede tomar en cuenta durante el diagnóstico de la enfermedad periodontal y de esta manera establecer un tratamiento más racional asociado a la causa de la enfermedad. De igual manera los pacientes obtendrán una atención y tratamiento más eficaz y por ende más profesional.

HIPÓTESIS

La placa dentobacteriana en pacientes con periodontitis crónica esta dominada por bacterias cocoides.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la forma de las bacterias presentes en los pacientes con Periodontitis Crónica.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar la forma de las bacterias anaerobias en pacientes con periodontitis crónica por medio de un medio de cultivo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes que asistan a la clínica de periodoncia de la F.O. UNAM.
2. Pacientes con diagnóstico clínico y radiográfico de Periodontitis Crónica.
3. Pacientes que no hayan sido sometidos a antibioticoterapia.
4. Pacientes con periodonto sano.
5. Pacientes sin enfermedad sistémica.
6. Pacientes sin Síndromes.
7. Pacientes mayores de 18 años.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes menores de 18 años.
2. Pacientes que estén sometidos a antibioticoterapia.
2. Pacientes con periodontitis agresiva.
3. Pacientes con enfermedades sistémicas.
4. Pacientes con algún Síndrome.

VARIABLE DE ESTUDIO

1. Edad
2. Sexo
3. Diente afectado

MATERIAL Y MÉTODO

Técnica de cultivo

De la población de pacientes que asistieron a consulta odontológica de la FO. UNAM se eligieron 10 pacientes de edad y sexo indistinto con diagnóstico clínico y radiográfico de periodontitis crónica, sin haber recibido terapia antibiótica. Posteriormente se eligieron 10 pacientes con periodonto sano, que no hayan recibido terapia antibiótica, que servirían como grupo control y con el que se lograría el punto comparativo.

Posteriormente a cada paciente se le tomó una muestra microbiológica de las bolsas periodontales que al sondeo registraron más de 4 mm, en los dientes indistintamente a afectados. Se tomó muestra de surco gingival de pacientes con periodonto sano. Se tomó la muestra con dos conos de puntas de papel previamente esterilizadas en autoclave de calibre 20 y 25.

Se introduce la punta de papel en la bolsa periodontal en la cara vestibular y la cara distal, el o los dientes afectados previamente aislados con rollos de algodón y secado con aire a presión utilizando la jeringa triple de la unidad dental. Para mayor control en el registro se utilizó punta de papel 20 en la cara vestibular y 25 para la cara distal. Se introdujo la punta de papel y se mantuvo dentro del surco durante 20 segundos. Se extrajo la punta de papel y se llevó al medio de transporte Caldo Tioglicolato pre-reducido cuya composición favorecería el crecimiento bacteriano, posteriormente se realizó la siembra en medio de cultivo Agar CDC Anaeróbico con sangre de carnero al 5%.

Las condiciones de anaerobiosis se proporcionaron mediante Jarras anaeróbicas (Gaspak) y el sobre generador de CO₂ y H₂, dichas jarras se incuban a una temperatura a de 37° C durante 72 horas y se observó el crecimiento bacteriano a través de un microscopio esteroscópico.

Tipo de estudio

Observacional descriptivo.

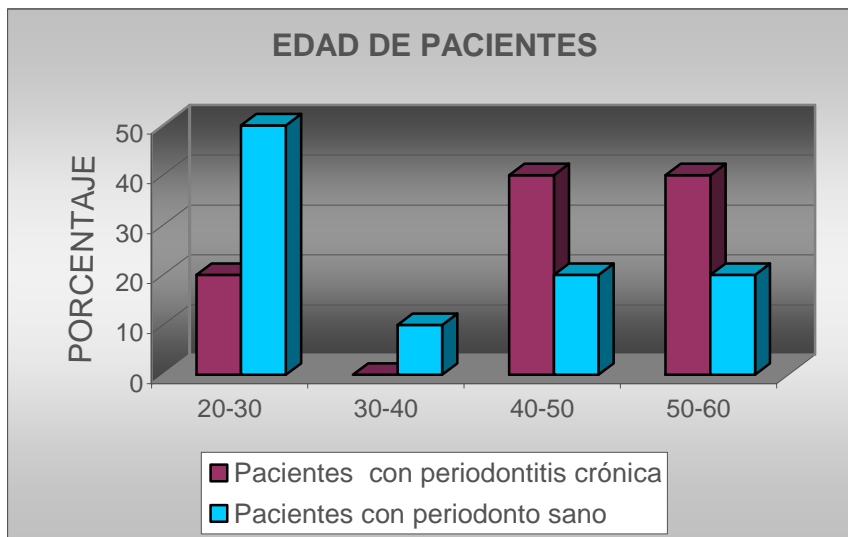
Población de estudio y muestra

La muestra para este estudio se escogió libremente de los pacientes que asistieron a la clínica de Periodoncia de la FO. UNAM y que fueron diagnosticados con periodontitis crónica.

RESULTADOS

Fueron estudiadas 20 muestras que acudieron a consulta en la Facultad de Odontología de la UNAM, de los cuales 10 presentaron periodontitis crónica diagnosticada y 10 con periodonto sano, este grupo se tomó como grupo control.

De los 10 pacientes con periodontitis crónica 2 pertenecen al grupo ubicado entre 20 y 30 años, 0 ubicado entre 30 y 40, 4 ubicado entre 40 y 50 años y 4 ubicado entre 50 y 60. Con respecto al grupo control con diagnóstico de periodonto sano de los 10 pacientes, 5 pertenecen al grupo ubicado entre 20 y 30 años, 1 ubicado entre 30 y 40 años, 2 ubicado entre 40 y 50 años y 2 ubicado entre 50 y 60 años. Se estudiaron en total 8 pacientes del sexo masculino y 12 pacientes del sexo femenino.



Gráfica 1. Total porcentual por edad de pacientes

Fuente directa

Pacientes con periodontitis crónica

EDAD	NO. DE PACIENTES	PORCENTAJE
20-30	2	20
30-40	0	0
40-50	4	40
50-60	4	40

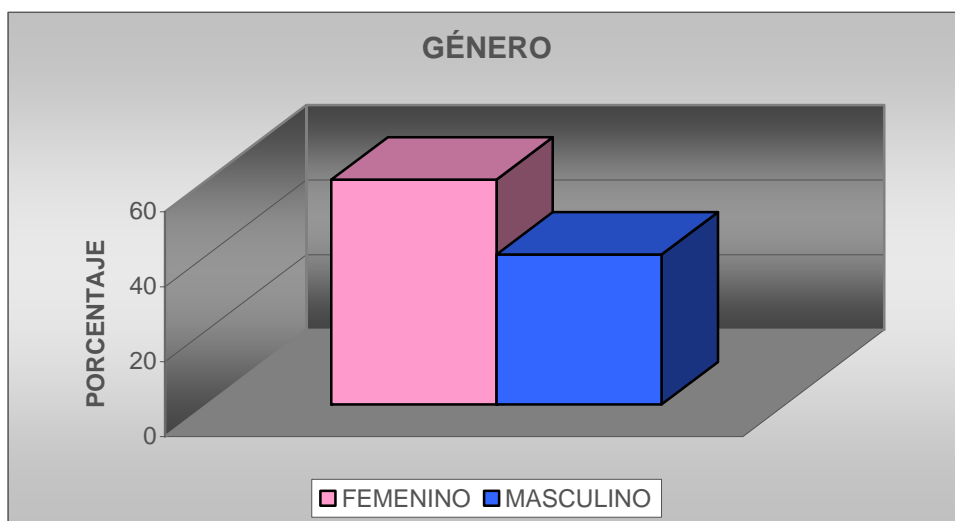
Tabla 1. Relación porcentual de pacientes con periodontitis crónica

Pacientes con periodonto sano

EDAD	NO. DE PACIENTES	PORCENTAJE
20-30	5	50
30-40	1	10
40-50	2	20
50-60	2	20

Tabla 2. Relación porcentual de pacientes con periodonto sano

Fuente directa



Gráfica 2. Total porcentual de género

Género	Periodontitis crónica	Periodonto sano	Total %
Femenino	6	6	60
Masculino	4	4	40

Tabla 2. Total de pacientes en relación con el género

Fuente directa

El crecimiento bacteriano en el Agar CDC fue claramente evidenciado, por la aparición de cocos, bacilos y espiroquetas.

En el grupo de pacientes con periodontitis crónica, se registraron en el sexo femenino 6 casos (60%) y 4 (40%) casos fueron registrados en el sexo masculino. Al relacionar las bacterias anaerobias aisladas con la edad de los pacientes con periodontitis, se encontró que los cocos eran la morfología

bacteriana más frecuentemente aisladas en pacientes mayores, especialmente en el grupo de 40 a 50 años.

Con respecto a las características clínicas, se pudo observar que todos los casos (100%) presentaban inflamación, sacos periodontales entre 4 y 13 mm, así como sangramiento, recesiones gingivales, exudado purulento y movilidad dentaria. Al relacionar las bacterias anaerobias aisladas con la profundidad de los sacos periodontales, se encontró que la morfología estaba caracterizada por cocos con mayor frecuencia en aquellos pacientes que presentaron sacos periodontales con una profundidad de 5 mm o más.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Del análisis de estos resultados, se puede observar que de los 20 pacientes con periodontitis crónica y periodonto sano, se obtuvo mayor registro de morfología cocoide.

DISCUSIÓN

La periodontitis constituye un conjunto de alteraciones del tejido de sostén del órgano dentario, generalmente precedida de gingivitis, debido a que se afectan el ligamento periodontal, el hueso alveolar, y los tejidos blandos alrededor de los mismos.

De los tipos de periodontitis, la Periodontitis crónica es la más común y frecuente. Esta enfermedad se caracteriza por presentar diversos grados de inflamación, por la formación de sacos periodontales y por la pérdida del hueso alveolar. La encía puede sangrar al ser examinada y en etapas más avanzadas hay retracción de la misma, y movilidad dentaria.

Varios autores coinciden que la periodontitis afecta a individuos de diferentes edades, y de todas, el tipo más frecuente es la Periodontitis crónica, que puede iniciarse en el adulto joven y progresa durante toda la

vida, pero en general es clínicamente significativa a partir de 35 años de edad. En este estudio, el mayor porcentaje de pacientes con periodontitis estuvo representado en los adultos mayores de 30 años de edad, especialmente entre 40 y 50 años.

En cuanto al sexo, algunos autores señalan que la periodontitis crónica no tiene preferencia por ninguno de los sexos; sin embargo, se puede presentar una exagerada inflamación en el tejido durante los períodos de cambios hormonales, inducidos por el incremento de estrógenos y progesterona circulantes; al parecer las hormonas femeninas estimulan el crecimiento de ciertos periodontopatógenos.

Autores como Genco (1990), Wolff (1994) y Page (1995), indican que existen otros factores que pueden predisponer a dicha enfermedad, independientes a las condiciones clínicas del paciente, tales como edad avanzada, pocas visitas al odontólogo y escasa higiene bucal. En el presente estudio, estos factores pudieron haber influido para que los pacientes desarrollaran periodontitis.

La inflamación, sangrado gingival, exudado purulento, profundidad del saco periodontal, movilidad y pérdida ósea, son signos clínicos que facilitan el diagnóstico y a su vez proveen información sobre la extensión de la periodontitis y la condición actual de los tejidos.

La periodontitis está relacionada con una microbiota compleja, la cual comprende bacterias anaerobias Gram negativas y Gram positivas, así como bacterias anaerobias facultativas, de ellas las bacterias AGNP juegan un papel importante en el desarrollo de la Periodontitis crónica.

De los resultados obtenidos en este estudio, se puede observar que de los 20 pacientes estudiados con periodontitis o periodonto sano, se obtuvo una mayor presencia de cocos en muestras de pacientes con enfermedad periodontal.

Investigaciones realizadas indican algunas diferencias cualitativas y cuantitativas con respecto a la microbiota periodontal. Estas variaciones

pueden explicarse por las diferencias en la severidad y patrones de periodontitis reportadas en distintas partes del mundo; así como también por el número de pacientes y sitios de muestras recolectadas, y por los métodos de diagnósticos utilizados mucho más específicos y sensibles que los cultivos bacterianos.

Los hallazgos de este estudio nos permitirán continuar el presente trabajo examinando pacientes de diferentes grupos de edad con o sin periodontitis, antes y después de aplicar un tratamiento periodontal, ya que en nuestro medio, no existen suficientes reportes acerca de las bacterias anaerobias en la etiología de la Periodontitis crónica.

CONCLUSIONES

1. El mayor porcentaje de pacientes con Periodontitis del Adulto fue representado por los pacientes mayores de 30 años de edad, especialmente en el grupo de 40 – 50 años, y por el sexo femenino.
2. La mayor frecuencia de morfología predominante en cocos se observó en el sexo femenino, con 12 casos (60%), y 8 casos (40%) casos fueron observados en el sexo masculino.
3. La morfología cocoide se aisló con mayor frecuencia en aquellos pacientes que presentaron sacos periodontales con una profundidad de 5 mm o más.
4. De los 20 pacientes estudiados, se obtuvo registro de morfología en todos los cultivos, siendo prevalente en pacientes con periodontitis crónica.

ANEXO A

Tabla 3. Registro de pacientes en la clínica de Periodoncia de la FO. UNAM 2006

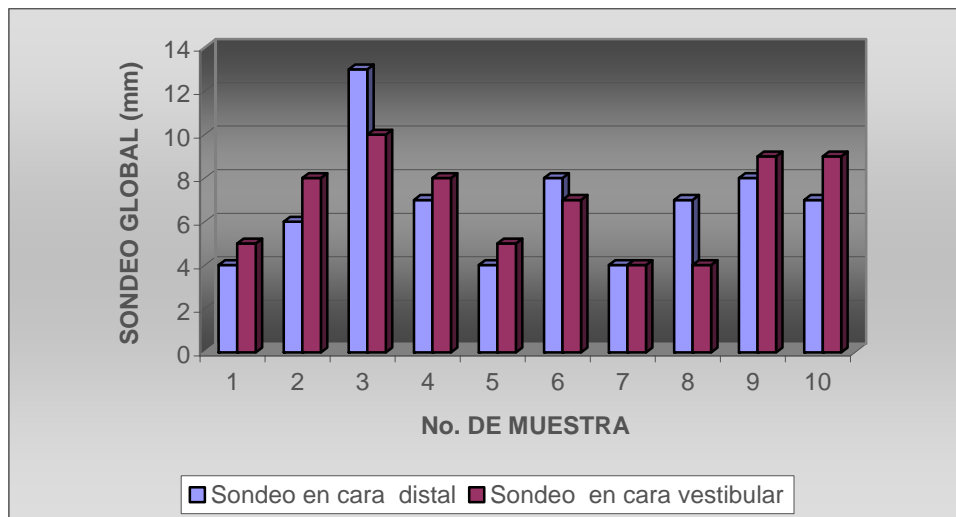
MUESTRA	EDAD	SEXO	DIENTE AFECTADO	MM DE BOLSA PERIODONTAL	
				DISTAL	VESTIBULAR
1	52	Femenino	33	4	5
2	50	Femenino	13	6	8
3	44	Femenino	23	13	10
4	50	Masculino	17	7	8
5	53	Masculino	42	4	5
6	45	Femenino	27	8	7
7	24	Femenino	32	4	4
8	41	Femenino	26	7	4
9	27	Masculino	12	8	3
10	48	Masculino	26	7	3
11	24	Femenino	11	1	1
12	25	Femenino	16	1	2
13	24	Masculino	37	2	2
14	47	Femenino	16	2	2
15	52	Masculino	45	3	2
16	26	Femenino	26	3	3
17	25	Femenino	25	2	1
18	31	Masculino	17	2	2
19	43	Masculino	37	1	1
20	52	Femenino	36	2	1

1-10 Pacientes con Periodontitis crónica

11-20 Pacientes con periodonto sano

Fuente directa

ANEXO B



Gráfica 3. Sondeo global, se demuestra que la cara distal de los dientes afectados por la enfermedad periodontal es la cara distal

SONDEO GLOBAL CARA DISTAL EN PACIENTES CON PERIODONTITIS	
	4
	6
	13
	7
	4
	8
	4
	7
	8
	7
TOTAL	68

Tabla 3. Total de sondeo en cara distal en dientes con enfermedad periodontal

SONDEO GLOBAL CARA VESTIBULAR EN PACIENTES CON PERIODONTITIS	
	5
	8
	10
	8
	5
	7
	4
	4
	9
	9
TOTAL	69

Tabla 4. Total de sondeo en cara vestibular en dientes con enfermedad periodontal

Fuente directa

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Genco, Periodoncia. E. Interamericana, McGraw-Hill, 1993. p.p 157-159, 162-165
2. Guilarte, Importancia del diagnóstico microbiológico en la Odontología, Universidad Central de Venezuela. Volumen 40 No. 1, 2002
3. Guilarte, Microorganismos de la placa dental relacionados con la etiología de la periodontitis, Universidad Central de Venezuela. Volumen 42 N° 3, 2006
4. Bascones, Pasado, presente y futuro de la microbiología de la periodontitis, 2005,17, 2: 79-87
5. Guilarte, Bacterias periodontopatógenas: Bacilos anaerobios gram negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. Universidad Central de Venezuela. Volumen 43 No. 2/2005
6. Glickman, Periodoncia Clínica. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 7ª ed. 1993. México. P.p 389-396, 402-404,407-408.
7. Liébana J, Castillo A, Alvares, M. Enfermedades periodontales: consideraciones microbiológicas. Med Oral Pathol Oral Cir Bucal 2004; 9Suppl:S75-91. p.p 75, 81-82.
8. Carranza, Periontología Clínica, 8ª ed. McGraw-Hill, México, 1997. 836 p.p. 96,97

9. Negroni, Microbiología estomatológica. Ed. Panamericana, Buenos Aires, 2001 p.p 197, 209.
10. Liebana Ureña, Microbiología oral, McGraw-Hill. Ed. Interamericana. 2002 Madrid p.p 17-19, 83-86, 677, 578 - 579
11. Armitage. G. La creación de un sistema de clasificación para las enfermedades y condiciones Periodontales. Periodontology 2000 Vol 30 2002, 9, 23.
12. Loomer. P; Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases Periodontology 2000 Volume 34 Pag 49 February 2004
13. Forbes, Sham, Weissfeld, Baley y Scout. Diagnóstico microbiológico. 11a ed. Ed. Panamericana, Argentina, 2004. p.p 10-18, 12-14, 137, 138
14. Armitage. G. Enfermedad Periodontal: Diagnóstico. Revista fundación Juan J. Annals of Periodontology. 1996
15. Samanarayake, L. P. Esencial Microbiology of Dentistry. Second edition, 2002. p.p 209, 225, 227
16. Armitage G, Periodontal diagnostic and classification of periodontal diseases. Periodontology 2000, Vol 34. Pag 9 February 2004
17. <http://www.gaceta dental.com/articulos.asp?aseccion=cienciaavol->