

**Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra  
Vicerrectoría de Postgrado  
Facultad de Ciencias de la Salud**



**Investigación Final para optar por el título de  
Maestría en Periodoncia e Implantología Oral**

**Análisis de la Composición Microbiana del *Biofilm* Subgingival en Pacientes con  
Periodontitis Crónica.**

**Sustentante(s):**

Dra. Alba Patricia Florián Durán	2013-6195
Dra. Rosanna J. Cuello Coste	2013-6407

**Asesor de contenido**

Dr. James Collins

**Asesor metodológico**

Dra. María Guadalupe Silva

**Santo Domingo, R.D**

**Diciembre, 2015**

*“Declaro, en mi calidad de autor de esta obra que cedo de manera formal, gratuita, permanente y absoluta a la PUCMM todos los derechos patrimoniales, de forma no exclusiva, que ostento sobre mi creación, pudiendo expresamente la PUCMM explotarla a su mejor conveniencia, recibiendo si así fuere el caso, regalías por usos onerosos; que como autor exonero a la PUCMM de cualquier responsabilidad por reclamos en contra de lo creado y que autorizo a que la misma sea protegida mediante las vías que a tales fines establece la ley, indicando siempre mi calidad de autor”*

---

Alba Patricia Florián Durán 2013-6195

---

Rosanna Josefina Cuello Coste 2013-6407

**Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra**

**Vicerrectoría de Postgrado y  
Centro de Desarrollo Profesional**

**Maestría en Periodoncia e Implantología Oral**

**Análisis de la composición microbiana del biofilm subgingival en pacientes con  
periodontitis crónica.**

Yo, Alba Patricia Florián Durán y Rosanna Josefina Cuello Coste, a través del presente documento, autorizo a la Biblioteca de la Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra a reproducir total o parcialmente mi tesis, tanto en soporte físico como digital, y a ponerla a disposición del público, mediante cualquier medio conocido (físico, en línea) o por conocer. Cualquier reproducción de este documento no debe ser para uso comercial o de lucro.

Fecha: \_\_\_\_\_ Firma del autor: \_\_\_\_\_

Firma del autor: \_\_\_\_\_

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo de investigación a Dios, por darme la salud, a mis padres, Frank y Damaris, quienes me dieron la fe, la fortaleza, y la esperanza para seguir adelante, por nunca dejarme caer, siempre darme la confianza en mí misma. A mis hermanos Frank Florián y Claudia Florián por su apoyo incondicional durante estos 2 1/2 años.

**Alba Patricia Florián Durán**

## **Agradecimientos**

Antes que todo me pongo ante la presencia del Señor, agradeciéndole cada mañana que pude ver el sol, cada día que viví y todas las noches que dormí, dándome las fuerzas necesarias para levantarme cada mañana, por permitirme llegar hasta este punto de mi carrera.

A mis padres, por fajarse conmigo durante este trayecto, por darme siempre el apoyo y por entender todos mis momentos de frustración, por escuchar todos mis problemas, pero sobre todo por el apoyo económico. A mis hermanos Frank y Claudia por prestarse siempre como conejillo de indias en aquellos momentos en los que tenía que practicar y por escuchar largas conversaciones acerca de temas que no entendían.

A mis compañeros de postgrado, gracias por acompañarme en esos momentos de desesperación, risas, compasión, llanto, pero sobre todo por su amistad. Los quiero!.

De manera muy especial a mi compañera de trabajo de investigación, Rosanna, amiga, muchísimas gracias por asumir este reto conmigo, por ir siempre de la mano, sin ti no hubiera sido posible.

Al personal docente de PUCMM por siempre poner la mejor disposición, por dar lo mejor de ustedes para formar la persona que soy el día de hoy. Pero de manera muy especial a la Dra. Guadalupe Silva, Dra. Aimee Cuesta y al Dr. James Collins por prestar su tiempo para ayudarnos a terminar este trabajo.

Muchas Gracias a todos!

## **Dedicatoria**

A Dios, por no abandonarme en ningún instante de mi vida, demostrándomelo día tras día, otorgándome la salud, la fuerza y firmeza necesaria para levantarme de nuevo cuando me sentía decaída por las adversidades que todos en numerosas situaciones vivimos en nuestras vidas. Gracias una vez más mi Dios por seguir presente en mi vida y darme la confianza de continuar este gran reto.

A ti mami, que desde el cielo estuviste a mi lado en todo momento, siguiendo paso a paso toda la evolución de este gran reto, porque aunque no estuviste físicamente, me serviste de soporte, cuando necesitaba recobrar fuerzas para seguir adelante, sé que estas súper feliz por este nuevo logro. Te amo y te amaré por siempre.

## **Agradecimientos**

A mi padre Juan Armando, que de una manera silente pero muy presente, estas incondicionalmente en cada etapa de mi vida, siempre lleno de optimismo. Gracias por procurar que nunca me faltara nada y por servirme de gran estímulo. Te amo.

A mi esposo Digno e hijos Miranda y Juan José

A ti Digno, Gracias por de una manera paciente saber entenderme y apoyarme a lo largo de este desafío, demostrándomelo a cada instante, gracias por tu apoyo. A Miranda y Juan José, que pese a su inocencia estaban siempre a mi lado, contagiándome de su alegría en los momentos más difíciles, gracias por cederme parte de su tiempo. Ustedes son mi mayor motivación. Los amo.

A mis hermanas Greybby, Patricia y Laura

Con quienes compartía mis preocupaciones y experiencias diarias, estando prestas para compartirlas conmigo y ayudándome en lo que fuera necesario, gracias por apoyarme en todo momento.

Greybby, gracias a ti entere a este proyecto, fuiste quien me hablo de él y me motivo a entrar. Gracias porque a pesar de no disponer de mucho tiempo por tu trabajo, estuviste siempre pendiente y cerca de mí, dispuesta a ayudarme, este logro en parte también es tuyo y a ti Patricia quien sin dudarlo te involucraste y llegaste a formaste parte de este proyecto.

A todos mis compañeros y amigos de postgrado

Gracias por compartir sus experiencias, conocimientos, anhelos y sueños, gracias por hacerme parte de sus vidas y por ustedes ser parte de la mía por estos dos años y medios, espero que con el paso del tiempo nuestra amistad de haga más fuerte. En especial a Patricia, a Gabriel y Olsen, gracias amigos por siempre estar ahí, por ayudarme aliviar mí carga. Los quiero!!.

Gracias a todos los docentes del programa por compartir con nosotros todos sus conocimientos, en especial al Dr. James Collins, gracias por su dedicación, compromiso, motivación y entrega, a la Dra. Guadalupe Silva, Dra. Aimee Cuesta y Dr. Michael Brache, por su colaboración y ayuda para culminar con éxito y a tiempo este proyecto.

**Rosanna Cuello Coste**

## Índice

Resumen.....	10
Introducción .....	11
1.1 Antecedentes del problema.....	12
1.1.1 Periodontopatógenos en países del África.....	12
1.1.2 Periodontopatógenos en países de Europa.....	12
1.1.2.1 España.....	12
1.1.3 Periodontopatógenos en países de América.....	14
1.1.3.1 Estados Unidos.....	14
1.1.3.2 Brasil.....	14
1.1.3.3 Chile.....	15
1.1.3.4 Colombia.....	16
1.1.3.5 Venezuela.....	16
1.1.3.6 Guatemala.....	16
1.1.3.7 República Dominicana.....	17
1.2 Descripción del problema .....	18
1.3 Preguntas de Investigación. ....	19
1.4 Objetivos.....	20
1.4.1 Objetivo General.....	20
1.4.2 Objetivos específicos: .....	20
1.5 Justificación de la investigación .....	20
1.6 Limitaciones y Delimitaciones de la Investigación .....	21
1.6.1 Limitaciones:.....	21
1.6.2 Delimitaciones: .....	21
1.7 Operacionalización de Variables .....	22
2. Revisión de la Literatura y Marco Teórico. ....	23
2.1 Enfermedad periodontal.....	23
2.1.1 Clasificación de la enfermedad periodontal.....	23

2.1.2 Tratamiento de la enfermedad periodontal .....	25
2.2 <i>Biofilm</i> .....	25
2.2.1 Etapas en el proceso de Formación del <i>Biofilm</i> .....	27
2.3 Microbiología de la Enfermedad Periodontal Crónica .....	28
2.3.1 Criterios de Socransky .....	28
2.4 Generalidades de las bacterias .....	30
2.4.1 Morfología Bacteriana .....	31
2.4.2 Características metabólicas .....	31
2.4.3 Oxígeno.....	32
2.4.3.1 Aerobios Obligados: .....	32
2.4.3.2 Anaerobios facultativos: .....	32
2.4.3.3 Microaerófilas .....	32
2.4.3.4 Anaerobios obligados: .....	33
2.4.3.5 Capnofílicos: .....	33
2.5 Virulencia de los Periodontopatógenos más destacadas .....	33
2.5.1 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> .....	33
2.5.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	34
2.5.3 <i>Tannerella forsythia</i> .....	34
2.4.4 <i>Prevotella intermedia</i> y <i>Prevotella nigrescens</i> .....	34
2.5.5 <i>Campylobacter rectus</i> .....	35
2.5.6 <i>Fusobacterium nucleatum</i> .....	35
2.5.7 <i>Peptostreptococcus micros</i> .....	35
2.5.8 <i>Capnocytophaga sp.</i> .....	35
2.5.9 <i>Eikenella corrodens</i> .....	36
2.6 Periodontitis Crónica: .....	36
2.6.1 Principales manifestaciones clínicas y características de la periodontitis crónica (Clasificación de 1999) .....	36
2.6.2 Según los criterios de su extensión y severidad se clasifica en: .....	37
2.7 Métodos microbiológicos de muestreo .....	38



2.7.1 Identificación por microscopía .....	39
2.7.2 Cultivo microbiológico .....	39
2.7.3 Análisis enzimáticos .....	41
2.7.4 Inmunoanálisis .....	41
2.7.5 Sondas de ácido nucleico .....	42
2.7.6 Análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	42
3. Metodología .....	43
3.1 Enfoque y Alcance o Tipo de la Investigación. ....	43
3.2 Población y Muestra .....	43
3.2.1 Selección de los sujetos. ....	43
3.3 Instrumentos de Recolección, Análisis y Medición de Datos.....	44
3.3.1 Toma de la muestra microbiológica.....	44
3.3.2 Cultivos microbiológicos .....	45
3.3.3. Transporte de la muestra España: .....	45
3.3.4 Procesamiento de las muestras microbiológicas.....	45
3.3.5. Microorganismos a evaluar.....	46
3.4 Plan de Análisis de los Datos.....	47
4. Resultados: .....	48
5. Discusión.....	53
Referencias bibliográficas .....	57
Anexos .....	61

## Resumen

El propósito: analizar la composición microbiana del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con periodontitis crónica.

Materiales y métodos: Se seleccionaron 20 pacientes adultos a los cuales se les tomaron muestras microbiológicas interproximales en sitios con profundidad al sondaje  $\geq 4$  mm. Se utilizó la técnica de cultivo para estudiar nueve microorganismos; *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *P. micros*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *Capnocytophaga sp*, *E. corrodens*. Las muestras fueron colocadas manualmente en un medio específico, además en placa de agar sangre no selectivo, para la identificación de las nueve especies a identificar.

Resultados: La microbiota subgingival en pacientes dominicanos de ambos géneros con periodontitis crónica se caracteriza por una alta prevalencia de *P. gingivalis* (21.252%) y baja de *A. actinomycetemcomitans* (0.105%).

## Introducción

La enfermedad periodontal es considerada una enfermedad infecciosa-inflamatoria, que de acuerdo al grado de compromiso puede llevar a la pérdida total de los tejidos de soporte del diente. Considerando que la etiología principal de la enfermedad es infecciosa (placa bacteriana), el tratamiento de la enfermedad se enfoca fundamentalmente en el control de la infección y reducción de la inflamación<sup>1</sup>.

Esta enfermedad afecta, a una gran proporción de la población mundial y representa un problema importante de salud oral en los países desarrollados y en desarrollo. Hay evidencia de que algunas familias evolutivas de bacterias se han adaptado a determinados grupos étnicos<sup>2</sup>.

Entre 2009-2012, un estudio reporta que el 46% de los adultos estadounidenses que representan un 64,7 millones de personas tenían periodontitis, de las cuales el 8,9% con periodontitis severa. La prevalencia de periodontitis fue mayor en los hispanos (63.5%) y los negros no hispanos (59.1%), seguido de los asiáticos-americanos no hispanos (50.0%), y la más baja en los blancos no hispanos (40.8%)<sup>3</sup>.

La microbiota subgingival implicada en la aparición y la progresión de la enfermedad periodontal, ha sido un tema de investigación importante durante más de 40 años. Se considera, que el conocimiento de esta, es fundamental para la aplicación de un tratamiento periodontal exitoso<sup>4</sup>, por lo que el presente estudio, bajo el convenio con la Universidad Complutense de Madrid, se pretendió analizar la composición microbiana del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con diagnóstico de periodontitis crónica.

## **1.1 Antecedentes del problema**

### **1.1.1 Periodontopatógenos en países del África**

Algunos autores<sup>5-7</sup> que han realizado investigaciones en el continente africano coinciden en que existe poca información actualizada sobre la prevalencia y distribución de los principales patógenos asociados a la enfermedad periodontal y todos concluyen que existe una alta cantidad de estos microorganismos asociados a la periodontitis crónica, entre los pacientes africanos. Haubek et al<sup>6</sup> en 1989 publicaron un estudio microbiológico utilizando la técnica de cultivo, en 20 pacientes adultos seleccionados al azar, de edades comprendidas entre 30 y 65 años, con enfermedad periodontal, de los cuales se obtuvieron muestras de dos sitios específicos de cada paciente: (a) la superficie palatina del primer molar superior derecho; y (b) la superficie mesiolingual del incisivo central inferior. La tasa de prevalencia en el primer sitio fue de *B. gingivalis* fue 70%; de *B. intermedius* 100% y de *A. actinomycetemcomitans* 40%; y en el segundo sitio un 50%, 90% y 28% respectivamente.

### **1.1.2 Periodontopatógenos en países de Europa**

#### **1.1.2.1 España**

En un estudio realizado por Sanz et al<sup>8</sup> en el 2000, se evaluó la prevalencia de ciertos microorganismos putativos de la enfermedad periodontal del adulto entre España y Holanda, pero que a su vez engloba una comparación de otros países de Europa. El estudio se realizó con muestras de cultivo que se sembraron en placas de agar-sangre de 30 pacientes de cada país, que presentaban los mismos estándares (estilo de vida, edad, consumo de tabaco, toma de medicamentos, etc.). Se observó que tanto en España como en Holanda se encontraban los mismos microorganismos, solo que en muchos casos la prevalencia variaba. Al comparar los datos de las dos poblaciones estudiadas se pudo identificar dos patrones distintos en su *biofilm* subgingival. El *biofilm* del grupo de pacientes españoles se caracteriza por una alta prevalencia de *P. gingivalis* y una baja prevalencia de *A. actinomycetemcomitans*, mientras que la flora del grupo holandés se ha caracterizado por una alta prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. micros*<sup>8</sup>.

En esta misma investigación, se hace una revisión de otros resultados de los distintos tipos de periodontopatógenos presentes en otros países de Europa. Haciendo mención del estudio de Kamma et al<sup>8</sup> en Grecia, en 10 pacientes entre los 25-35 años, utilizando la técnica de cultivo en agar-sangre, donde prevalecieron el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*; En Noruega, Ali et al<sup>8</sup>, evaluaron un grupo de 18 individuos entre los 30-61 años, se vio la presencia de periodontopatógenos cultivados en agar-sangre: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* (78%), *Fusobacterium nucleatum*. En Suecia, Papapanou et al, tomaron muestras de un grupo de 192 individuos en edades comprendidas 30-65 años. El cultivo fue también en agar-sangre: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*. En Suiza un estudio de 30 pacientes de edades comprendidas entre 35-44 años, McNabb et al, cultivaron en agar tripticasa soya: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*<sup>8</sup>.

Más adelante en el 2008 Rylev et al<sup>9</sup>, compararon la microbiota periodontal de pacientes españoles y suecos, el *A. actinomycetemcomitans* era más prevalente en pacientes suecos que en españoles, mientras que la *P. gingivalis* era más prevalente en pacientes españoles que en suecos. Para este mismo año compararon la microbiota periodontal de individuos con periodontitis de Chile, España y Colombia. En este estudio fue evaluada la cantidad y frecuencia de nueve periodontopatógenos. Cuando se compararon las tres poblaciones, los pacientes colombianos presentaron mayor severidad de las periodontitis y mayores cantidades de sacos periodontales severos. Los resultados microbiológicos también mostraron diferencias significativas presentando la población colombiana mayor cantidad de patógenos. Por otro lado, en este estudio la *Tannerella forsythia* fue encontrada menos frecuente en pacientes chilenos, mientras que la *Parvimonas micra* y las entero bacterias diferían entre los tres grupos estudiados. Los investigadores concluyen que es importante identificar y clasificar los perfiles microbiológicos de cada grupo de individuos para poder definir estrategias preventivas y terapéuticas para cada población<sup>9</sup>.

### 1.1.3 Periodontopatógenos en países de América

#### 1.1.3.1 Estados Unidos

Un estudio realizado por Haffajee et al<sup>10</sup> en el 2004 en la población americana, se examinaron 79 pacientes saludables o mínimamente enfermos, mostrando una prevalencia de las especies *A. naeslundii* genotipo 2, *V. párvula* y *A. actinomycetemcomitans* en el grupo saludable. En otro estudio también realizado por Haffajee et al<sup>11</sup> en el 2005, donde se examinó la composición del *biofilm* subgingival con la técnica de hibridación *checkerboard* ADN-ADN en 115 pacientes con periodontitis crónica de diferentes países, incluyendo los Estados Unidos, los resultados mostraron una prevalencia significativa de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. naeslundii*.

Por otro lado, Chen et al<sup>12</sup> en el 2010, investigaron la prevalencia y distribución de los serotipos de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el *biofilm* subgingival de 161 sujetos norteamericanos a los cuales se les tomó 256 muestras, aisladas y analizadas con el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Un total de 82 cepas distintas de *A. actinomycetemcomitans* fueron identificadas. Este estudio demostró que el *A. actinomycetemcomitans* serotipo “c” es el dominante entre los sujetos con periodontitis en Estados Unidos. También las cepas de serotipo “a” fueron con más frecuencia detectadas en comparación con las cepas del serotipo “b”. Los serotipos “d, e, f” y las cepas no tipificables o bien no detectadas eran relativamente poco frecuentes en la población examinada<sup>12</sup>

#### 1.1.3.2 Brasil

Cortelli et al<sup>13</sup> en el 2005, evaluaron la prevalencia de varias especies bacterias y la destrucción periodontal asociada con la infección por la presencia alta de *A. actinomycetemcomitans* leucotóxica, en 203 brasileños (71 hombres y 132 mujeres) que padecían periodontitis agresiva (n=25) o periodontitis crónica (n=178). Las muestras fueron recolectadas de *biofilm* subgingival, y analizadas en PCR. La prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* y su subgrupo altamente leucotóxico se encontró elevado en los brasileños.

La alta presencia de *A. actinomycetemcomitans* leucotóxica fue más frecuente en la periodontitis agresiva y positivamente asociado con sacos profundos en pacientes con edad de 29 años, al igual que la mayor pérdida de inserción fue encontrada en los sujetos con alta presencia de *A. actinomycetemcomitans* leucotóxica que en sujetos con presencia mínima de la bacteria o sujetos no infectados<sup>13</sup>.

### 1.1.3.3 Chile

Haffajee et al<sup>10</sup>, 2004 usando la técnica de hibridización de *checkerboard* ADN, realizaron un estudio comparativo de la microbiota asociada con la enfermedad periodontal en varios países, entre ellos Chile. La muestra fue de 26 pacientes chilenos con periodontitis crónica. El *S. gordonii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Treponema socransky* fueron encontrados en proporciones elevadas en los individuos chilenos de este estudio.

En un estudio transversal realizado por la Universidad de Chile en el 2005, Gajardo et al<sup>14</sup> tomaron 36 muestras de la placa subgingival de pacientes con periodontitis agresiva, 30 localizadas, y 6 pacientes con generalizadas. Las muestras de 17 pacientes con periodontitis crónica avanzada (CP) fueron tomadas como controles. Las muestras recogidas de las cuatro bolsas periodontales más profundas de cada paciente se agruparon previamente en el líquido reducido de transporte (RTF) y luego cultivadas. Las bacterias periodontales se identificaron principalmente por la morfología de colonia bajo microscopio estereoscópico y pruebas bioquímicas rápidas. En los pacientes con periodontitis agresiva generalizada, las bacterias periodontopatógenas más predominantes fueron el *C. rectus*, *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *P. micros* y *Capnocytophaga sp.* Se encontró una diferencia estadística entre los pacientes con periodontitis agresiva y periodontitis crónica para la bacteria *C. rectus*, lo que sugiere que en la población chilena, las diferencias en la apariencia clínica pueden ser causadas por factores distintos de la composición microbiológica del *biofilm* subgingival de estos pacientes. En este estudio, la prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* fue mucho menor que la de *P. gingivalis* en pacientes con periodontitis agresiva<sup>14</sup>.

#### **1.1.3.4 Colombia**

Mayorga-Fayad et al<sup>15</sup> realizaron un estudio en el año 2007 acerca de la microbiota subgingival presente en pacientes con periodontitis crónica y agresiva en sujetos de Bogotá. Los resultados indicaron que *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia* / *P. nigrescens*, *C. rectus*, *Fusobacterium spp* y *E. corrodens*, constituyen parte importante del perfil microbiológico de las periodontitis en la población colombiana. En la periodontitis agresiva, la *P. gingivalis* se encontró más frecuentemente que el *A. actinomycetemcomitans*.

#### **1.1.3.5 Venezuela**

En un trabajo realizado por Guilarte et al<sup>16</sup> en el 2007, para determinar la presencia de especies de bacilos gram-negativos en pacientes con periodontitis crónica en 45 pacientes recluidos en la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela. Las muestras de los sacos periodontales de los pacientes con periodontitis fueron tomadas con conos de papel y sembradas en agar-sangre con base *Schaedler* para el aislamiento de anaerobios. La identificación se realizó a través de las pruebas enzimáticas RAPID ID 32A. Los resultados de las especies detectadas en este estudio fueron: *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella loescheii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Bacteriodes sp.*

#### **1.1.3.6 Guatemala**

Dowsett y et al<sup>17</sup> 2002, realizaron una investigación empleando la técnica de hibridación *checkerboard* ADN-ADN, con sondas de ADN genómico entero de 18 especies, para definir los perfiles microbianos de sujetos adultos en 45 familias de una comunidad rural previamente identificada de indígenas de Guatemala. Entre los resultados de la investigación, se pudo observar depósitos universales de *biofilm* y gingivitis generalizada, y sacos periodontales  $\geq 5$  mm altamente prevalentes (84% de los sujetos).<sup>17</sup>

El *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces naeslundii* genoespecie 2 y *Fusobacterium nucleatum* fueron significativamente más frecuentes en sitios pocos profundos. El *Actinomyces naeslundii* y *Peptostreptococcus micros* fueron significativamente más frecuentes en los sujetos periodontalmente sanos.



El *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* no se detectó en ninguna muestra. No se encontró asociación entre el estado de la enfermedad periodontal y la presencia de presuntos agentes patógenos periodontales<sup>17</sup>.

### 1.1.3.7 República Dominicana

Slots et al<sup>18</sup> en el año 1991 realizaron el primer estudio que analizó la microflora subgingival periodontal en pacientes dominicanos con periodontitis avanzada, fue realizado en 24 pacientes entre 18 y 60 años de edad. Se utilizó una técnica microbiológica convencional; el examen microscópico directo reveló que los organismos no móviles y cocos comprendían el 85% de microorganismos totales y las espiroquetas solo representaban el 3%. El cultivo no selectivo mostró un 53% de organismos gram-negativos, 15% de *Fusobacterium nucleatum*, 7% de anaerobios pigmentados de negro y 10% de *Peptostreptococcus micros*.

Collins et al<sup>19</sup> en el año 2015 publicaron un estudio comparando la prevalencia de periodontopatógenos y genes resistentes a distintos antibióticos en 77 pacientes dominicanos con diferentes condiciones periodontales; las muestras se obtuvieron de pacientes con salud periodontal, gingivitis, periodontitis crónica y periodontitis agresivas. Las bacterias estudiadas fueron: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra*, *Eikenella corrodens* y *Dialister pneumosintes*. Por otro lado, 11 genes resistentes a antibióticos fueron estudiados por el método de análisis microbiológico de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR *real time*). En los pacientes sanos periodontalmente, la *P. micra* con un 63.6% y la *P. intermedia* con 0% fueron los más y menos prevalentes, respectivamente. *T. forsythia* y *E. corrodens* estuvieron presentes en el 100% de los pacientes con gingivitis. Las bacterias del complejo rojo (*Porphyromonas gingivalis* 93.3%, *Treponema denticola* 90%, *Tannerella forsythia* 96.7%), *D. pneumosintes* 66.7% y *E. corrodens* 90% fueron significativamente más frecuentes en los pacientes con periodontitis crónica en comparación con los pacientes sanos. El *F. nucleatum* 92.3% y *T. denticola* 92.3% se detectaron con mayor frecuencia en las periodontitis agresivas. Por su lado, el *A. actinomycetemcomitans* fue el de menor prevalencia observada en todos los grupos.

Otro objetivo del estudio fue identificar el genotipo de fimA que tenían los pacientes con periodontitis. Los resultados demostraron que el genotipo fimA II fue el más frecuente en pacientes con periodontitis. Por otro lado, se detectaron siete genes resistentes a la tetraciclina. Tet (Q), Tet (32) y Tet (W) mostraron la mayor prevalencia y Tet (32) fue significativamente más frecuente en periodontitis crónica que en pacientes sanos con un 72.4%<sup>19</sup>.

## **1.2 Descripción del problema**

En el *Consensus report* de 1996 de la *American Academy of Periodontology* se concluyó que los estudios científicos que analizan la etiopatogenia de las enfermedades periodontales, frecuentemente enfrentan la dificultad que implica la complejidad del *biofilm* que coloniza el micro-ambiente subgingival y a las potenciales diferencias que podrían existir en su composición entre los distintos individuos. A pesar de estas dificultades, sólo pocos microorganismos constituyentes de la microbiota subgingival han sido identificados como potenciales agentes causales de las periodontitis<sup>20</sup>.

Socransky y Haffaje<sup>21</sup> 1997, tomando como base los postulados de Koch; establecieron criterios, para considerar a una determinada especie como agente causal de la enfermedad en el ámbito periodontal. Según Rylev et al<sup>22</sup> en el 2008, esta lista de potenciales patógenos periodontales está respaldada principalmente por: (1) estudios de asociación, (2) análisis de los distintos factores de virulencia que expresan y que explicarían su rol patogénico durante la enfermedad, y (3) la identificación y cuantificación de anticuerpos específicos contra ellos, producidos local y sistémicamente durante la respuesta inmune desplegada por el individuo enfermo.

La última investigación basada en la secuenciación del gen 16S rRNA ha identificado 800-1,000 especies bacterianas orales y arqueas, lo que representa 19.000 filotipos, y muchos de los organismos son incultivables. A pesar de la diversidad microbiana considerable, sólo alrededor de 50 especies bacterianas están estrechamente relacionados con destrucción periodontal.

La evidencia de la especificidad bacteriana en periodontitis proviene de estudios de cultivos sobre la presencia de microbios en la salud y la enfermedad y sobre los factores de virulencia *in vitro* e *in vivo* en modelos de estudio. Sin embargo, una gran parte de la microbiota periodontal sigue siendo incompleta; la virulencia y la inmunología de la bacteria recientemente identificados son esencialmente desconocidos<sup>4</sup>.

La distribución de las distintas especies de bacterias patógenas periodontales varía entre distintas localizaciones geográficas y entre los distintos grupos étnicos<sup>23</sup>. En la República Dominicana no se ha realizado recientemente un estudio de cultivo microbiológico describiendo la prevalencia de patógenos periodontales en el *biofilm* subgingival de pacientes con periodontitis crónica, que corrobore los resultados de estudios previos. Además, a pesar de que la periodontitis crónica representa un problema importante de salud oral, el país no cuenta con los recursos necesarios para realizar este tipo de investigación.

### **1.3 Preguntas de Investigación.**

1.3.1 ¿Cuáles son los principales patógenos periodontales en la microbiota del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con periodontitis crónica?

1.3.2 ¿Cuál es el complejo según el grado de virulencia que predomina en la microbiota del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con periodontitis crónica?

1.3.4 ¿Cuál de los microorganismos según sus propiedades metabólicas respiratorias es más prevalente en pacientes dominicanos con periodontitis crónica?

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo General**

1.4.1.1 Determinar la composición microbiana del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con periodontitis crónica.

### **1.4.2 Objetivos específicos:**

1.4.2.1 Determinar los patógenos periodontales más predominantes de la microbiota del *biofilm* subgingival en pacientes dominicanos con periodontitis crónica.

1.4.2.2 Determinar el complejo que predomina según el grado de virulencia en la microbiota del *biofilm* subgingival en pacientes con periodontitis crónica.

1.4.2.3 Determinar la prevalencia de los microorganismos según sus propiedades metabólicas respiratorias.

## **1.5 Justificación de la investigación**

Las interacciones huésped-parásito que han ocurrido a lo largo del tiempo (y de generación en generación), explica en parte las diferencias de prevalencia, severidad y respuesta al tratamiento periodontal en pacientes afectados de periodontitis de diferentes zonas geográficas y etnias<sup>23</sup>. Sin embargo, ciertos periodontopatógenos se encuentran de manera general en las personas que padecen de enfermedad periodontal, sin importar en qué lugar del mundo se encuentren. Del mismo modo, algunas investigaciones muestran que la prevalencia de uno u otro microorganismo varían de país en país<sup>8,20-23</sup>.

El análisis genético detallado de las bacterias ha demostrado una inesperada diversidad dentro de cada especie, éste a menudo revela familias evolutivas que están excesivamente asociadas con la infección<sup>24</sup>.

En este sentido, con el análisis de la composición microbiana del *biofilm* subgingival en pacientes con periodontitis crónica, se aportará varios beneficios: (1) Conocimiento científico sobre la composición, prevalencia y (2) Distribución de los principales patógenos periodontales en pacientes adultos dominicanos con periodontitis crónica; y finalmente (3) La identificación de estas bacterias puede ayudar al clínico a explicar las diferencias de prevalencia, severidad y comportamiento, así como elegir las estrategias de tratamiento más eficaces, como terapia antibiótica coadyuvante al tratamiento convencional.

## **1.6 Limitaciones y Delimitaciones de la Investigación**

### **1.6.1 Limitaciones:**

En la actualidad, la República Dominicana no cuenta con laboratorios clínicos especializados que se encarguen del procesamiento de muestras microbiológicas en el área odontológica, por lo que nos vimos en la necesidad de enviar las muestras de nuestro estudio al laboratorio de microbiología de la Universidad Complutense de Madrid, España.

### **1.6.2 Delimitaciones:**

Nuestra investigación se enfocó, en todos los pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica, que asistieron a la clínica de estomatología de la Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra (PUCMM), recinto Santo Tomas de Aquino, Santo Domingo, previo al llenado de la ficha de la historia médica/dental, evaluación clínica y radiográficas iniciales, y luego de que el paciente haya leído y firmado el consentimiento informado, durante el periodo académico Abril-Noviembre del año 2015.

## 1.7 Operacionalización de Variables

Objetivo	Constructo o Variable	Definición de la Variable	Indicadores	Dimensión
Determinar los patógenos periodontales más predominantes de la microbiota del <i>biofilm</i> subgingival en pacientes con periodontitis crónica.	Patógenos subgingivales	Microorganismo anáerobico que causa enfermedad periodontal	A. <i>actinomycetemcomitans</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>T. forsythia</i> <i>P. micros</i> <i>C. rectus</i> <i>F. nucleatum</i> <i>Capnocytophaga sp</i> <i>E. corrodens</i>	Unidad formadora de colonias o por ciento (%)
Determinar el complejo que predomina según el grado de virulencia en la microbiota del <i>biofilm</i> subgingival en pacientes con periodontitis crónica.	Patógenos		Rojo Naranja Verde Morado amarillo	Unidad formadora de colonias o por ciento (%)
Determinar la prevalencia de los microorganismos según sus propiedades metabólicas respiratorias.	Metabolismo microbiano	Conjunto de procesos por los cuales un microorganismo obtiene la energía y los nutrientes (carbono, por ejemplo) que necesita para vivir y reproducirse.	A. <i>actinomycetemcomitans</i> <i>P. gingivalis</i> <i>P. intermedia</i> <i>T. forsythia</i> <i>P. micros</i> <i>C. rectus</i> <i>F. nucleatum</i> <i>Capnocytophaga sp</i> <i>E. corrodens</i>	Capnofílico Microaerofílicas Anaerobio Obligado Anaerobio Facultativo

## **2. Revisión de la Literatura y Marco Teórico.**

### **2.1 Enfermedad periodontal**

La enfermedad periodontal es una infección bacteriana crónica caracterizada por una inflamación constante, la degradación del tejido conectivo y la destrucción del hueso alveolar. Esta inflamación crónica asociada con la enfermedad periodontal representa la respuesta del huésped a la placa bacteriana, que como resultado final tendrá la expulsión del diente<sup>25</sup>.

#### **2.1.1 Clasificación de la enfermedad periodontal**

La última vez que los científicos y clínicos en el campo de la periodoncia y áreas relacionadas acordaron un sistema de clasificación de las enfermedades periodontales fue en 1989 en el Taller Mundial de Periodoncia Clínica. Posteriormente, una clasificación más simple se acordó en el primer Taller Europeo de Periodoncia<sup>25</sup>.

Estos sistemas de clasificación han sido ampliamente utilizados por los clínicos e investigadores de todo el mundo. Por desgracia, la clasificación de 1989 tenía muchas deficiencias, incluyendo: 1) una considerable superposición de categorías de enfermedades; 2) ausencia de un componente de enfermedad gingival; 3) el énfasis apropiado en la edad de aparición de la enfermedad y las tasas de progresión; y 4) los criterios de clasificación inadecuados o poco claros<sup>25</sup>.

La clasificación europea 1993 carecía de los detalles necesarios para la caracterización adecuada de la amplia gama de enfermedades periodontales que se encuentran en la práctica clínica. Por lo que se destacó la necesidad de un sistema de clasificación revisado para estas enfermedades durante el Taller Mundial de Periodoncia de 1996. En 1997, la Academia Americana de Periodoncia respondió a esta necesidad y formó un comité para planificar y organizar un taller internacional para revisar el sistema de clasificación para enfermedades periodontales<sup>25</sup>.

Desde el 30 octubre al 2 noviembre del 1999, se llevó a cabo el Taller Internacional para una nueva clasificación de las enfermedades periodontales y las condiciones que afectan al periodonto<sup>25</sup>.

- I. Enfermedades gingivales**
- A. Enfermedades gingivales inducidas de placa dental**
1. **Gingivitis asociada a la placa dental solamente**
    - a. Sin otros factores locales contribuyentes
    - b. Con otros factores locales contribuyentes
  2. **Enfermedades gingivales modificadas por factores sistémicos**
    - a. **Asociadas con el sistema endocrino**
      - 1) En la pubertad
      - 2) En el ciclo menstrual
      - 3) En el embarazo
        - a) Gingivitis
        - b) Granuloma piógeno
      - 4) Gingivitis en diabetes mellitus
    - b. **Asociadas a discrasias sanguíneas**
      - 1) Gingivitis en la leucemia
      - 2) Otras.
    3. **Enfermedades gingivales influenciadas por medicación**
      - a. **Influenciada por drogas**
        - 1) Agrandamientos gingivales inducidos por drogas
        - 2) Gingivitis influenciada por drogas
          - a) Influenciada por anticonceptivos
          - b) Otros
      4. **Enfermedades gingivales modificadas por malnutrición**
        - a. Gingivitis por deficiencia de ácido ascórbico
        - b. Otras

**B. Enfermedades gingivales no asociada a la placa**

    1. **Lesiones originadas por bacterias específicas**
      - a. Neisseria gonorrea
      - b. Treponema pallidum
      - c. Estreptococal sp.
      - d. Otras variedades
    2. **Enfermedad gingival de origen viral**
      - a. **Infecciones por herpes**
        - 1) Gingivostomatitis primaria
        - 2) Herpes oral recurrente
        - 3) Varicela-zoster
      - b. **Otras**
    3. **Enfermedad gingival de origen fúngico**
      - a. Infecciones por Candida sp.
        - 1) Candidiasis gingival generalizada
      - b. Eritema gingival lineal
      - c. Histoplasmosis
      - d. Otras
    4. **Lesiones gingivales de origen genético**
      - a. Fibromatosis gingival hereditaria
      - b. Otras
    5. **Manifestaciones gingivales de ciertas condiciones sistémicas**
      - a. **Desórdenes mucocutáneos**
        - 1) Liqueen plano
        - 2) Penfigoide
        - 3) Pénfigo vulgar
        - 4) Eritema multiforme
        - 5) Lupus eritematoso
        - 6) Inducido por drogas
        - 7) Otros
      - b. **Reacciones alérgicas**
        - 1) **Materiales dentales**
          - a) Mercurio
          - b) Níquel
          - c) Acrílico
          - d) Otros
        - 2) **Reacciones atribuibles a**
          - a) Dentífricos
          - b) Enjuagues bucales
          - c) Aditivos del chicle
          - d) Alimentos y aditivos
        - 3) Otros
      6. **Lesiones traumáticas (iatrogénicas, accidentales, incidentales)**
        - a) Químicas
        - b) Físicas
        - c) Térmicas
      7. **Reacciones a cuerpo extraño**
      8. **No especificadas (NES)**

Figura 1. Sistema de Clasificación de Enfermedades y Condiciones Periodontales *American Academy of Periodontology* (AAP) 1999<sup>25</sup>.

- II. Periodontitis crónica**
- A. Localizada
  - B. Generalizada
- III. Periodontitis agresiva**
- A. Localizada
  - B. Generalizada
- IV. Periodontitis con manifestaciones de enfermedades sistémicas**
- A. **Asociada con desórdenes hematológicos**
    1. Neutropenia adquirida
    2. Leucemias
    3. Otras
  - B. **Asociada con desórdenes genéticos**
    1. Neutropenia cíclica y familiar
    2. Síndrome de Down
    3. Síndrome de deficiencia de adherencia de leucocitos
    4. Síndrome de Papillon-Lefevre
    5. Síndrome de Chediak-Higashi
    6. Síndrome de histiocitosis
    7. Enfermedad de almacenamiento de glucógeno
    8. Agranulocitosis genética infantil
    9. Síndrome de Cohen
    10. Síndrome de Ehlers-Danlos (tipo IV-VII)
    11. Hipofosfatasa
    12. Otras
  - C. **No especificadas (NES)**
- V. Enfermedades periodontales necrotisantes**
- A. Gingivitis ulcerativa necrosante (GUN)
  - B. Periodontitis ulcerativa necrosante (PUN)
- VI. Abscesos en el periodonto**
- A. Absceso gingival
  - B. Absceso periodontal
  - C. Absceso pericoronar
- VII. Periodontitis asociadas con lesiones endodóncicas**
- A. **Lesión combinada endoperiodontal**
- VIII. Deformidades y condiciones del desarrollo y adquiridas**
- A. **Factores localizados al diente que modifican o predisponen la acumulación de placa que inducen enfermedad gingival y periodontitis**
    1. Factores de la anatomía dentaria
    2. Restauraciones y aparatos dentales
    3. Fracturas radiculares
    4. Resorción radicular cervical y fisuras cementarias
  - B. **Deformidades mucogingivales y condiciones alrededor del diente**
    1. **Resesión gingival y de tejidos blandos**
      - A) Superficies vestibulares y linguales
      - B) Interproximal o papilar
    2. Falta de encía queratinizada
    3. Vestíbulo poco profundo
    4. Posición aberrante de frenillo / muscular
    5. **Excesos gingivales**
      - a) Bolsa gingival (pseudobolsa)
      - b) Margen gingival inconsistente
      - c) Despliegue gingival excesivo
      - d) Agrandamientos gingivales
    6. **Coloración anormal**
  - C. **Deformidades mucogingivales y condiciones de procesos edéntulos**
    - 1) Deficiencia horizontal / vertical del proceso
    - 2) Falta de tejido gingival queratinizado
    - 3) Agrandamiento de tejidos blandos/gingivales
    - 4) Posición aberrante de frenillo /muscular
    - 5) Vestíbulo poco profundo
    - 6) Coloración anormal
  - D. **Trauma oclusal**
    - 1) Primario
    - 2) Secundario

Figura 2. Sistema de Clasificación de Enfermedades y Condiciones Periodontales *American Academy of Periodontology* (AAP) 1999<sup>25</sup>.



### **2.1.2 Tratamiento de la enfermedad periodontal**

El tratamiento periodontal exige una interrelación entre el cuidado del periodonto y otras fases de la odontología. El concepto de tratamiento total radica en la eliminación de la inflamación gingival y los factores que la ocasionan (acumulación de la placa favorecida por el cálculo y la formación de bolsas, restauraciones inadecuadas y zonas de impacción de alimentos)<sup>26</sup>.

El resultado clínico favorable del tratamiento de estas enfermedades requiere la reducción de la carga bacteriana o el mejoramiento de la capacidad de los tejidos del huésped para defenderse o repararse. Los fundamentos tradicionales del resultado clínico favorable incluyen la educación de los pacientes acerca de hábitos diarios de higiene bucal, desbridamiento radicular mecánico quirúrgico y no quirúrgico para eliminar bacterias subgingivales y sus depósitos de las superficies radiculares y el tratamiento periodontal de soporte a intervalos de tres a seis meses. En ciertas clases de enfermedad periodontal, como periodontitis crónica avanzada, periodontitis refractaria, periodontitis agresiva y periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas, pueden requerirse sustancias químicas complementarias para controlar la afección<sup>27</sup>.

### **2.2 Biofilm**

La boca humana ofrece un ambiente único para la formación *biofilms* complejos; por ejemplo, que alberga más de 1.000 especies bacterianas con alta densidad celular (109 células / ml se encuentran en muestras de saliva humanas, que puede causar problemas graves, como la caries dental, la periodontitis y el fracaso de los implantes dentales<sup>28</sup>. Las enfermedades periodontales son infecciones causadas por microorganismos que colonizan la superficie del diente en el margen gingival o debajo de éste. Un *biofilm* es la forma de crecimiento más frecuente de las bacterias y se definió en un principio como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida e inmersa en un medio líquido. Posteriormente, lo definieron como: «una comunidad bacteriana inmersa en un medio líquido, caracterizada por bacterias que se hallan unidas a un substrato o superficie, o unas a otras, que se encuentran embebidas en una matriz extracelular producida por ellas mismas, y que muestran un fenotipo alterado en cuanto al grado de multiplicación celular o la expresión de sus genes<sup>29-31</sup>».

Esta matriz está compuesta principalmente por agua y sustancias disueltas y un material seco que es una mezcla de exopolisacáridos, proteínas, sales y material celular<sup>31</sup>.

Los *biofilms* tienen ciertas ventajas, pero la ventaja principal, es la protección que ofrece a la especie colonizadora frente a mecanismos competitivos procedentes de factores ambientales y de los mecanismos de defensa del huésped, así como productos químicos o antibióticos. Los *biofilms* pueden facilitar el procesamiento y la ingestión de nutrientes, la alimentación cruzada, la eliminación de productos metabólicos potencialmente dañinos, así como el desarrollo de un ambiente fisicoquímico apropiado<sup>31</sup>.

En la literatura, los *biofilms* pueden ser comparados con una ciudad. Las ciudades al igual que éstos, se transforman, mediante una adhesión inicial de los seres humanos, en un lugar que pueda ser habitable, seguido por la multiplicación de los habitantes existentes y la suma de nuevos habitantes. Las ciudades y los *biofilms* crecen y se desarrollan primero de forma lateral y luego en forma vertical, formando, con frecuencia, hábitats en forma de columnas. Los *biofilms*, como las ciudades ofrecen a sus habitantes diferentes beneficios, de los cuales se puede mencionar:

- Recursos compartidos y actividades interrelacionadas.
- Son capaces de llevar a cabo procesos metabólicos y funciones sintéticas que los individuos no podrían desarrollar en un estado no fijo (planctónico) o nómada.
- Protección frente a otros colonizadores potenciales de la misma especie, frente a especies exógenas y frente a cambios perjudiciales repentinos en el ambiente.
- Pueden desarrollar actividades conjuntas y tener un ambiente mucho más estable.
- Precisan medios (canales como tuberías) para conseguir los nutrientes y las materias primas y para deshacerse de los productos residuales<sup>29,31</sup>.

Dentro del *biofilm*, las bacterias tienen capacidad para comunicarse entre ellas, ya sea por medio de señales químicas o incluso mediante transferencia de material genético a través de mecanismos tales como la conjugación, la transformación, la transferencia de plásmidos y la transferencia de trasposones. La comunicación entre células bacterianas dentro de un *biofilm* es necesaria para un desarrollo óptimo de la comunidad. Se lleva a cabo mediante la producción de moléculas de señal como las que se encuentran el “*Quorum Sensing*” o quizá, mediante el intercambio de información genética<sup>29,31</sup>.

### **2.2.1 Etapas en el proceso de Formación del *Biofilm***

La etapa inicial del proceso de formación del *biofilm* es la adherencia sobre la superficie. En bacterias gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*) se ha visto que ciertos factores de virulencias tales como, los flagelos, las fimbrias de tipo I, IV y los curli son importantes para la etapa de adherencia primaria. Al parecer la movilidad ayuda a la bacteria a alcanzar la superficie y contrarrestar las repulsiones hidrofóbicas. Sin embargo, aunque la movilidad ayuda al proceso no parece ser un requisito esencial, pues muchas bacterias gram-positivas inmóviles como estafilococos, estreptococos y micobacterias son capaces de formar *biofilm*<sup>31</sup>.

En el caso de las bacterias gram-positivas se ha descrito la participación de proteínas de superficie en esta primera etapa de adherencia primaria. Una vez que la bacteria se ha adherido a la superficie, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia similar a como ocurre durante el proceso de formación de colonias en placas de agar. En una etapa posterior la bacteria comienza a secretar un exopolisacárido que constituye la matriz del *biofilm* y forma unas estructuras parecidas a setas (*mushrooms*) entre las cuales se observa la presencia de canales. Finalmente, algunas bacterias de la matriz del *biofilm* se liberan del mismo para poder colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo de formación del *biofilm*. Finalmente ésta liberación de las bacterias desde el *biofilm* es el proceso que menos se conoce<sup>31</sup>.

## 2.3 Microbiología de la Enfermedad Periodontal Crónica

### 2.3.1 Criterios de Socransky

Los criterios de Socransky tienen como fin poder identificar a las bacterias que son periodontopatógenas. Tomando como base los postulados de Koch a los cuales se les hicieron modificaciones para que se pudiesen aplicar a las bacterias de la cavidad oral; debido a que las bacterias que causan infecciones orales no cumplen exactamente con los postulados de Koch, pues son infecciones de origen polimicrobiano<sup>32</sup>.

- I. La mayor parte de las bacterias deben estar asociadas a la periodontitis.
- II. La eliminación de las bacterias debe coincidir con la detención de la progresión de la enfermedad.
- III. La respuesta del hospedador contra las bacterias debe ser clara.
- IV. En lo posible, debe demostrarse la patogenicidad mediante modelos animales.
- V. Deben indicarse los posibles mecanismos específicos de patogenicidad<sup>32</sup>.

Socransky et al, realizaron el estudio más importante de asociaciones de bacterias o taxones en el que analizaron 13,261 muestras de 185 pacientes, evaluando 40 especies subgingivales. Los resultados iniciales describieron 5 complejos, además de varias especies atípicas con poca relación entre sí y entre los demás grupos; posteriormente se sumó un nuevo complejo, cada uno con un código de color, para diferenciar la ecología subgingival<sup>33,34</sup>.

#### 1. Complejo amarillo:

Está constituido por los colonizadores pioneros, anaerobios facultativos, acidófilos y fermentadores lácticos, en su mayoría estreptococos de los diversos grupos orales<sup>33</sup>.

#### 2. Complejo azul:

Íntimamente asociado con el anterior mediante coagregación, está constituido por diversas especies del género *Actinomyces*<sup>33</sup>.

### **3. Complejo morado:**

Comprende microorganismos asociados a los anteriores como colonizadores secundarios, una vez consumido el oxígeno en el *biofilm*, como la especie *Actinomyces odontolyticus* y el coco anaerobio *Veillonella parvula*<sup>33</sup>.

### **4. Complejo verde:**

Compuesto de anaerobios característicos de placas maduras, como *Capnocytophaga*, *Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* *a*<sup>33</sup>.

### **5. Complejo naranja:**

En estrecha interacción con el complejo rojo, ocupa zonas más profundas de la placa y se caracteriza por la presencia de bacterias “puente” entre las comunidades pioneras y microorganismos característicos de *biofilm* patológicas maduras. Dichas bacterias puente son característicamente *fusobacterias* (*F. nucleatum* y *F. periodonticum*), bacilos del género *Prevotella* (*P. intermedia*, *P. nigrescens*) y *Peptostreptococcus micros*. Comúnmente asociadas al complejo naranja se encuentran otras especies características de la placa subgingival como *Synergistes*, *Eubacterium nodatum*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis* y *Streptococcus constellatus*<sup>33,34</sup>.

### **6. Complejo rojo:**

Característicamente enriquecido en casos patológicos (periodontitis), está constituido por tres microorganismos anaerobios invasivos en contacto con la mucosa y relacionados con la respuesta inflamatoria: *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*, esta última representativa del grupo de las espiroquetas. Se asociaba claramente a condiciones clínicas con mayor grado de sangrado y profundidad de bolsa 29,31.



Figura 3. Representación esquemática de las relaciones de las especies dentro de los complejos microbianos y entre los complejos microbianos<sup>33</sup>.

Socransky et al, examinaron la relación existente entre las especies bacterianas y parámetros clínicos, tomando en cuenta los diferentes complejos y la profundidad de la bolsa. Especies como la *P. gingivalis* y la *T. forsythia* del complejo rojo mostraron una relación muy fuerte con profundidad de la bolsa periodontal en relación a su prevalencia, mientras que la *T. denticola*, no mostraron relación. Del mismo modo, todas las especies del complejo naranja mostraron una asociación significativa con el aumento de profundidad de la bolsa<sup>33</sup>.

#### 2.4 Generalidades de las bacterias

Dado que las bacterias no tienen color y generalmente son invisibles, para visualizarlos se han desarrollado técnicas de tinción. La más útil es la tinción de gram, que separa los organismos en 2 grupos: bacterias gram-positivas (rojo) y gram-negativas (azul). Esta mancha también le permite al clínico determinar si el organismo tiene forma de coco o bacilo.

Ambos organismos gram-positivos y gram-negativos tienen más de una capa de protección para su citoplasma y núcleo desde el entorno extracelular, a diferencia de las células animales, que tienen sólo una única membrana citoplasmática compuesta de una bicapa de fosfolípidos. La capa que está justo fuera de la membrana citoplasmática bacteriana es la de peptidoglicano o pared celular. Está presente en tanto gram-positivos y gram-negativos. Las diferencias entre organismos gram-negativos y gram-positivos dan lugar a variadas interacciones con el medio ambiente. La espesa membrana o capa de peptidoglicano que tienen los gram-positivos no bloquea la difusión de compuestos de bajo peso molecular, por lo que las sustancias que dañan la membrana citoplasmática (tales como antibióticos, colorantes y detergentes) pueden pasar a través. Sin embargo, la membrana celular de los gram-negativos que contiene lipopolisacáridos bloquea el paso de dichas sustancias a la capa de peptidoglicano y sensible membrana citoplásmica interna. Por lo tanto, los antibióticos y productos químicos que intentan atacar la pared celular de peptidoglicano (como las penicilinas y lisozima) son incapaces de pasar a través de ella<sup>35</sup>.

#### **2.4.1 Morfología Bacteriana**

Las bacterias tienen 4 formas principales:

- 1) **Cocos:** esférica.
- 2) **Bacilos:** varillas, bacilos cortos se llaman cocobacilos.
- 3) **Espiral:** en forma de coma, en forma de “S”, o en forma de espiral.
- 4) **Pleomórfico:** carecen de una forma distinta (como gelatina).

Las diferentes bacterias se organizan juntas en patrones más complejos, como los pares (diplococos), ramilletes, tiras y bacterias individuales con flagelos<sup>35</sup>.

#### **2.4.2 Características metabólicas**

Las bacterias se pueden dividir en grupos basados en sus propiedades metabólicas. Dos propiedades importantes incluyen:

1) Cómo se desenvuelve el organismo con o sin oxígeno, y 2) lo que el organismo utiliza como fuente de carbono y energía. Otras propiedades incluyen los diferentes productos finales metabólicos que las bacterias producen tales como ácido y gas<sup>35</sup>.

### **2.4.3 Oxígeno**

Cómo las bacterias se desenvuelven en oxígeno es un factor importante en su clasificación. El oxígeno molecular es muy reactivo, y cuando pierde electrones, se puede formar peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), los radicales superóxido (O<sub>2</sub>i, y un radical hidroxilo (OH). Los macrófagos producen estos radicales de oxígeno para verter sobre las bacterias<sup>35</sup>.

Las bacterias se clasifican de acuerdo a sus características metabólicas. En un extremo están las que no necesitan oxígeno para poder vivir, tienen todas las enzimas protectoras precedentes, y en el extremo opuesto son las bacterias que no tienen las enzimas y necesitan la presencia de oxígeno:

#### **2.4.3.1 Aerobios Obligados:**

Estas bacterias son como los humanos que utilizan la glucólisis, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones con el oxígeno como aceptor final de electrones<sup>35</sup>.

#### **2.4.3.2 Anaerobios facultativos:**

Estas bacterias son aeróbicas. Ellas utilizan el oxígeno como aceptor de electrones en su cadena de transferencia de electrones y tienen catalasa y superóxido dismutasa. La única diferencia es que pueden crecer en ausencia de oxígeno mediante el uso de la fermentación para obtener energía. Así que tienen la facultad de ser anaeróbicas pero prefieren condiciones aeróbicas (aceptan indistintamente una situación u otra)<sup>35</sup>.

#### **2.4.3.3 Microaerofílicas**

También llamados anaerobios aerotolerantes. Estas bacterias utilizan la fermentación y no tienen ningún sistema de transporte de electrones. Ellos pueden tolerar pequeñas cantidades de oxígeno, ya que tienen la superóxido dismutasa (pero no tienen catalasa), pero no deben de exceder el 15% de este gas<sup>35</sup>.



#### **2.4.3.4 Anaerobios obligados:**

Estas bacterias no necesitan el oxígeno y no tienen enzimas para defenderse contra de ella<sup>35</sup>.

#### **2.4.3.5 Capnofílicos:**

Estos microorganismos se desarrollan mejor cuando hay altas concentraciones de CO<sub>2</sub> y se encuentran especialmente aumentadas en las personas con alteraciones periodontales<sup>35</sup>.

### **2.5 Virulencia de los Periodontopatógenos más destacadas**

Los microorganismos son los agentes etiológicos de muchas enfermedades infecciosas, como también de muchas patologías periodontales. En la periodontitis por lo general no se presenta una bacteria en particular, sino que son varias las que participan en el proceso destructivo del periodonto<sup>36</sup>.

Cada patógeno periodontal presenta un nivel de virulencia que lo caracteriza; esto a su vez explica el modo en cómo trabajan para provocar daño en los tejidos periodontales<sup>32</sup>.

#### **2.5.1 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Inicialmente llamado '*Bacterium actinomycetemcomitans*'. Es un bacilo inmóvil, sacarolítico, capnofílico, anaerobio gram-negativo. Mide de 0.4-1 micrones. Presenta serotipos que van de la *a* – *e*. Se cultiva en agar sangre. Lo que hace este microorganismo resistente, es que produce lipopolisacáridos (endotoxinas), leucotoxinas, lo que provoca poros en los granulocitos, monocitos y algunos linfocitos neutrófilos los cuales mueren después por presión osmótica. También produce colagenasa la cual provoca destrucción del tejido del conectivo, finalmente Libera proteasas, capaces de adherirse a IgG<sup>32,36</sup>.

### **2.5.2 *Porphyromonas gingivalis***

La *P. gingivalis* es considerado el segundo periodonto-patógeno en importancia. Con morfología de cocos o bacilos pequeños, son anaerobios no motiles, asacarolíticos, gram-negativos estrictos, del grupo de *Bacteroides melaninogenicus*, Se cultiva en agar sangre<sup>31</sup>. Es un patógeno periodontal agresivo, tiene actividad proteolítica (degradación de proteínas) fuerte, usa fimbrias (factor de virulencia) como medio de adhesión y su cápsula la defiende contra la fagocitosis. Produce hemolisina, la cual es una proteína de bajo peso molecular que produce lisis de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas mediante la producción de poros en la membrana citoplasmática. Puede inhibir la migración de leucocitos PMN a través de la barrera epitelial. Tiene capacidad de invadir tejidos blandos. Posee factores de virulencias en proteasas para destrucción de: Inmunoglobulinas, factores del complemento e inhibidores de la degradación de la colagenasa de la célula huésped<sup>32</sup>.

### **2.5.3 *Tannerella forsythia***

Tercer patógeno periodontal, en evidencia de fuerza de asociación, según el Consenso de Periodoncia del 1996. Descrito por primera vez como *Bacteroides fusiforme* en 1979. Es un bacilo inmóvil, anaerobio estricto gram-negativo. Necesita la presencia de otras especies como *F. nucleatum* para su crecimiento. Produce varias enzimas proteolíticas que pueden destruir inmunoglobulinas y factores del sistema del complemento. Induce también a una muerte celular apóptica<sup>32</sup>.

### **2.4.4 *Prevotella intermedia* y *Prevotella nigrescens***

Son *Bacteroides* pigmentados de negro, que se presentan como un bacilo redondeado, anaerobio. Son bastoncillos cortos, inmóviles, gram-negativos. En el grupo de las *Prevotellas* son las más patogénicas. Se cultivan en agar sangre. Son Capaces de producir infecciones al ser inoculadas en animales de laboratorio, y parece también ser capaz de invadir células epiteliales normales *in vitro*. Son menos virulentos y proteolíticos que la *P. gingivalis*<sup>32</sup>.

### **2.5.5 *Campylobacter rectus***

Vibrio mótil, anaerobio y gram-negativo. Asociado más comúnmente, y en mayores cantidades, a sitios enfermos comparados con sitios sanos, y todavía aún más en sitios que exhiben destrucción periodontal activa. Es de los pocos móviles que intervienen en periodontitis. Tiene forma de bastoncillo corto y es gram-negativo. Al igual que el *A. actinomycetemcomitans* produce leucotoxina. Es menos virulento y proteolítico que el *P. gingivalis*<sup>32</sup>.

### **2.5.6 *Fusobacterium nucleatum***

Es un bacilo gram-negativo que tiene forma de cigarro de extremos puntiagudos. Se cultiva en agar sangre. Se coagrega con casi todos los microorganismos bucales. Puede inducir a muerte apoptótica en células mononucleares y polimorfonucleares, también puede activar la liberación de citocinas, elastasas, radicales de oxígeno<sup>32</sup>.

### **2.5.7 *Peptostreptococcus micros***

Es uno de los pocos cocos en la periodontitis. Esta especie es gram-positiva y crece de manera anaeróbica estricta. Son microorganismos comensales en los seres humanos, que viven predominantemente en la boca, la piel, vaginal, vía urinaria, y compone una parte de la flora intestinal bacteriana. Bajo condiciones de inmunosupresión o condiciones traumáticas, estos organismos pueden llegar a ser patógenos<sup>32</sup>.

### **2.5.8 *Capnocytophaga sp.***

Pequeño facultativo, gram-negativo, en forma de rueda, su hábitat es la boca y nasofaringe, de manera comensal, y ha sido implicado en septicemia, meningitis, endocarditis. Es inmóvil, fermentador de glucosa, maltosa, sacarosa y manosa; no produce ureasa y la prueba del indol es negativa. *Capnocytophaga sp.* ha sido frecuentemente aislado en gran número de lesiones periodontales de pacientes con periodontitis agresiva (antigua periodontitis de inicio precoz) y otras formas de enfermedad periodontal<sup>32,37</sup>.

### **2.5.9 *Eikenella corrodens***

Es un bacilo gram-negativo de carácter oportunista que forma parte de la microbiota endógena de la boca, vías respiratorias superiores, tracto gastrointestinal y genitourinario. Se aísla en infecciones de cabeza y cuello, aparato respiratorio, heridas por mordedura humana y en abscesos de diferentes localizaciones. La infección que produce se caracteriza por ser de evolución lenta, generalmente polimicrobiana y suele acompañarse de una supuración fétida, simulando un proceso anaerobio. Sin embargo, es infrecuente que las infecciones invasivas causadas por esta bacteria desencadenen bacteriemia<sup>32</sup>.

### **2.6 Periodontitis Crónica:**

La clasificación de las enfermedades periodontales, han ido cambiando en función de nuevos conceptos que han surgido a través del tiempo. La periodontitis crónica se denominaba anteriormente “periodontitis del adulto” porque se pensaba que solo los adultos desarrollaban la enfermedad. A partir de Taller Internacional de la clasificación de las enfermedades periodontales del 1999, fue acordado la utilización de periodontitis crónica, ya que los datos epidemiológicos encontrados hasta esa fecha, había puesto de manifiesto la posibilidad de que la forma de periodontitis que se encuentra comúnmente en los adultos también puede ser vista en los adolescentes o en individuos de cualquier grupo de edad, e incluso en dentición primaria y a pesar de su ritmo generalmente lento de progresión, algunos individuos presentaban periodos cortos de exacerbación. El término crónico es menos específico pero no debe ser interpretado como no curable<sup>25,34</sup>.

#### **2.6.1 Principales manifestaciones clínicas y características de la periodontitis crónica (Clasificación de 1999)<sup>25</sup>:**

- Mayor prevalencia en adultos, potencialmente individuos de cualquier edad.
- La magnitud de la destrucción clínica es proporcional a los niveles de higiene oral.

- Velocidad de progresión lenta o moderada, aunque pueden presentarse episodios de progresión rápida, factores predisponentes locales (*biofilm* o cálculo supragingival y subgingival), medio ambientales y factores sistémicos de riesgo (como el estrés, tabaquismo, enfermedades sistémicas y afectación del sistema inmune del huésped).
- La composición de la placa microbiana es variable.
- La clasificación en función de su extensión y severidad.
- La progresión sólo puede confirmarse por exámenes continuos, normalmente en localizaciones en las que el tratamiento ha sido inadecuado o nulo.
- Edema.
- Eritema.
- Agrandamiento o recesión de la encía.
- Sangrado o supuración al sondaje o espontánea.
- Una mayor movilidad.
- Apiñamiento o exfoliación dental.
- La pérdida de nivel de inserción clínica
- Aumento de la profundidad de bolsa
- Inflamación gingival
- Pérdida ósea radiográfica<sup>34</sup>.

### 2.6.2 Según los criterios de su extensión y severidad se clasifica en:

#### Por su extensión:

**Localizada:** La que se presenta en menos de un 30% de localizaciones afectadas.

**Generalizada:** La que muestra en más de un 30% de localizaciones afectadas<sup>1, 34</sup>.

#### Por su severidad:

**Leve:** Cuando la pérdida de inserción es de 1 a 2 milímetros.

**Moderada:** Cuando la pérdida de inserción es de 3 a 4 mm.

**Severa o avanzada:** Cuando la pérdida de inserción es superior a 5 mm<sup>1, 34</sup>.

Los pacientes con periodontitis crónica, responden notablemente bien a los métodos tradicionales de tratamiento periodontal (instrucción de higiene bucodental, raspado y alisado radiculares y cirugía). Para estos pacientes, una reducción sostenida del número total de bacterias periodontopatógenas en sus bolsas, mediante control de placa profesional y personal, es generalmente suficiente para detener la progresión de la enfermedad. Sin embargo, hay algunos pacientes que no responden favorable al tratamiento periodontal tradicional, a los que a menudo se denomina «refractarios» al tratamiento. Estos continúan perdiendo inserción clínica a pesar de haber recibido el mismo tratamiento periodontal que tienen éxito en la mayoría de los pacientes. Además, suelen tener una higiene bucodental adecuada y cumplir las recomendaciones con respecto a la frecuencia de las visitas de mantenimiento<sup>34</sup>. Los pacientes con periodontitis refractaria crónica tienen una infección persistente que probablemente requerirá un enfoque diagnóstico y terapéutico diferente de los que se han intentado ya. Uno de estos enfoques sigue un modelo médico donde se realizan pruebas microbiológicas en una muestra clínica, se identifican los patógenos potenciales, y se administra el antibiótico apropiado. Como la mayoría de las enfermedades periodontales son infecciones mixtas, se efectúan pruebas microbiológicas para una batería de posibles patógenos. Se han desarrollado pruebas microbiológicas para identificar microorganismos periodontopatógenos seleccionados en el surco o bolsa gingival. Estas pruebas dan información que puede guiar al clínico en la determinación de si es necesario un agente antimicrobiano, y cuál debe ser éste, para obtener un mayor beneficio terapéutico para el paciente<sup>25</sup>.

## **2.7 Métodos microbiológicos de muestreo**

La información proporcionada por el análisis microbiológico de la placa recogida en sitios con enfermedad periodontal depende de la técnica de muestreo. Existen dos métodos principales para la recolección de la placa subgingival: recogida mediante curetas o mediante la adsorción con puntas de papel estéril para endodoncia. Ambos requieren una eliminación anterior cuidadosa de la placa supragingival en el sitio de muestreo, para no contaminar o licuar la muestra subgingival<sup>38</sup>.

Los datos procedentes de las muestras obtenidas mediante cureta, suele ser diferente de la obtenida de las muestras en puntas de papel, ya que la cureta recoge placa de toda la bolsa, mientras que la placa adsorbida en las puntas de papel procede principalmente de las capas más externas del *biofilm*, que pueden contener más microbiota patógena<sup>38</sup>. Existen varias técnicas para analizar muestras de placa: microscopía, cultivo bacteriano, análisis enzimáticos, inmunoanálisis, sondas de ácido nucleico y análisis de reacción en cadena de la polimerasa, entre otras<sup>38</sup>.

### **2.7.1 Identificación por microscopía**

Se han utilizado la microscopía de contraste de fase y de campo oscuro para la evaluación de muestras de placa, en ellas se veían organismos móviles y espiroquetas sin identificar ninguna especie concreta, sin embargo, por ello no suele utilizarse actualmente por la poca información que ofrece<sup>38</sup>. Como las especies individuales no pueden identificarse, la principal utilidad de la identificación microscópica es la observación de cambios en la apariencia de la flora con el tratamiento periodontal<sup>39</sup>.

Un beneficio significativo de la evaluación de la placa por microscopio, es que puede hacerse en la consulta. Sin embargo, no ayuda en la elección del agente antimicrobiano cuando se desea como parte del tratamiento<sup>38</sup>.

### **2.7.2 Cultivo microbiológico**

Los cultivos microbiológicos, son métodos diagnósticos fundamentales y básicos utilizados ampliamente como una herramienta de investigación en biología molecular. Los métodos de cultivo microbianos se consideran los métodos "*gold standard*" de referencia en periodoncia, con los cuales se comparan los otros procedimientos de identificación microbiológica. A pesar de la incapacidad para hacer crecer todos los microorganismos, la técnica está disponible para la identificación positiva de muchos microorganismos periodontopatógenos a través del uso de medios de cultivos selectivos y no selectivos, en ocasiones en combinación con otros criterios bioquímicos<sup>38-40</sup>.

El cultivo tiene una ventaja particular sobre todos los demás métodos de identificación microbiológica, es el único método válido para evaluar o determinar la sensibilidad a los antibióticos de los patógenos periodontales *in vitro* y es capaz de cuantificar todos los microorganismos viables de una muestra. El cultivo identifica sólo especies vivas a diferencia de los otros métodos. No obstante, tiene también limitaciones significativas, su incapacidad para detectar bajos niveles de microorganismos, el alto costo, la carga de trabajo, personal muy entrenado, el tiempo prolongado hasta que se obtienen los resultados y la incapacidad o dificultad para hacer crecer varias especies bacterianas<sup>38-40</sup>. La técnica del cultivo microbiológico consiste en la toma de una muestra de placa subgingival, previo el secado con aire de la superficie del diente y eliminación de la placa supragingival, mediante una punta de cureta cortada o con una punta de papel absorbente<sup>38, 40</sup>.

Se introduce en un medio de transporte con CO<sub>2</sub> y se remite al laboratorio lo antes posible. Se homogeneiza la muestra y se cultiva en medio anaeróbico en placa con agar y suplementado con distintos productos. Los medios no selectivos cuantifican las colonias que se desarrollan. Los medios selectivos emplean distintas sustancias que impiden el crecimiento de determinadas especies y facilitan otras. La identificación de las colonias se pueden realizar por medio a la morfología, afinidad de las tinciones, reacciones bioquímicas, patrones de fermentación, productos metabólicos y otras características conocidas, expresando el resultado en unidades absolutas o en proporciones de especies dentro del conjunto de la placa<sup>38,40</sup>. Una vez que el medio de crecimiento en la placa de Petri se inoculó con las bacterias deseadas, las placas se incuban a la temperatura óptima para el crecimiento de las bacterias seleccionadas<sup>39</sup>.

Otro método de cultivo bacteriano es de cultivo líquido, en el que las bacterias deseadas se suspendieron en caldo líquido, un medio nutriente. Estos son ideales para la preparación de un ensayo antimicrobiano. El experimentador inocula el caldo líquido con bacterias y se deja crecer durante la noche. Luego se tomarían alícuotas o parte de la muestra para la prueba de la actividad antimicrobiana de un fármaco o proteína específica<sup>39</sup>.



Como alternativa, el microbiólogo puede decidir utilizar cultivos líquidos estáticos. Estos cultivos no se agitan y se proporcionan los microbios con un gradiente de oxígeno. Colecciones de cultivos microbianos se centran en la adquisición, la autenticación, la producción, la conservación y distribución de cultivos viables de microorganismos de referencia normalizados, líneas celulares y otros materiales para la investigación en sistemática microbiana.<sup>39</sup>.

### **2.7.3 Análisis enzimáticos**

Se ha desarrollado un análisis enzimático que detecta las bacterias que poseen enzimas similares a la tripsina, como *T. forsythia*, *Treponema denticola* y *P. gingivalis*. Cuando una muestra de placa conteniendo cualquier combinación de estas tres bacterias se pone en una tira de papel impregnada con el sustrato incoloro N-benzoil-DL-arginina-2-naftilamida (BANA), la descomposición del sustrato de BANA produce un color negro azulado cuya intensidad es proporcional a la cantidad total de los tres organismos<sup>39</sup>.

Esta prueba, que puede realizarse en la consulta, no distingue entre las proporciones relativas de las tres bacterias, ni identifica otros microorganismos orales, pero los estudios sobre la prueba del BANA han demostrado que se relaciona bien con la profundidad de sondaje en sitios con enfermedad periodontal. Sin embargo, su utilidad como método diagnóstico es incierta, debido a su escasa fiabilidad para predecir la progresión clínica de la enfermedad. Puede tener más valor cuando se utiliza en combinación con otras pruebas microbiológicas realizables en la consulta, como la microscopía<sup>39</sup>.

### **2.7.4 Inmunoanálisis**

El inmunoanálisis identifica a las bacterias mediante anticuerpos monoclonales o policlonales contra antígenos específicos de cada especie. Se han comercializado varios métodos de detección que emplean inmunoanálisis, como microscopia de inmunofluorescencia, análisis de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), análisis de membrana y análisis de aglutinación en látex.<sup>39</sup>

En conjunto, estos métodos presentan varias ventajas importantes: tienen umbrales de detección bastante bajos, su coste es relativamente moderado, son rápidos y, de alguna manera, son cuantitativos. Sin embargo, no permiten evaluar la sensibilidad a los antibióticos de la flora<sup>39</sup>.

### **2.7.5 Sondas de ácido nucleico**

Las sondas de ácido nucleico consisten en secuencias de ácido nucleico marcadas con un indicador colorimétrico radiactivo o enzimático que se une a secuencias complementarias de ácidos nucleico del microorganismo correspondiente. Las secuencias de la sonda pueden ser del genoma completo, secuencias de ácidos nucleicos clonadas al azar u oligonucleótidos sintéticos (conocidos también como sondas de ARNr 16S)<sup>39</sup>. De las tres, las sondas de oligonucleótidos son las que tienen mayor especificidad y menor reactividad cruzada porque están dirigidas a genes específicos de una especie bacteriana. Las sondas del genoma completo y las sondas de secuencias de ácidos nucleicos clonados al azar pueden contener secuencias comunes a múltiples especies<sup>39</sup>.

### **2.7.6 Análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica de biología molecular para la replicación de alto rendimiento del ADN. Permite sintetizar un amplio número de copias a partir de muestras mínimas de ADN, en teoría, incluso tan pequeñas como una única bacteria, para facilitar análisis posteriores<sup>39</sup>.

Una modificación de la tecnología original de la PCR, es la PCR «en tiempo real», que permite no sólo la detección de microorganismos específicos en la placa, sino también su cuantificación. Los análisis de la PCR, cuando se usan en combinación con sondas de ARNr 16S sintéticas que son altamente específicas para especies individuales, permiten la detección virtualmente de cualquier microorganismo en una muestra de placa<sup>39</sup>.

### **3. Metodología**

#### **3.1 Enfoque y Alcance o Tipo de la Investigación.**

El presente estudio es descriptivo, clínico microbiológico.

#### **3.2 Población y Muestra**

##### **3.2.1 Selección de los sujetos.**

La selección de la muestra en el presente estudio, fue a conveniencia, por ser una población con características muy particulares para su selección. Se seleccionaron 20 pacientes que se encontraban en buenas condiciones de salud general, que asistieron a la clínica de estomatología del Campus Santo Tomás de Aquino de la Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra (PUCMM), Santo Domingo, luego de ser sometidos a una evaluación clínica y radiográfica, y que presentaran el diagnóstico de periodontitis crónica, de acuerdo a la clasificación de enfermedades y condiciones periodontales del 1999 según la Academia Americana de Periodoncia<sup>25</sup>.

Los criterios de inclusión de los sujetos estudiados fueron los siguientes: Mayores de 18 años de edad, haber leído y firmado el consentimiento informado, al menos 15 dientes, con un mínimo de 3 sitios periodontales interproximales no contiguos con profundidad al sondaje  $\geq 4$  mm. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: haber recibido terapia periodontal en los 12 meses previos al ingreso al estudio, tabaquismo, embarazo, lactancia, enfermedades y/o condiciones sistémicas que puedan afectar la progresión de la enfermedad periodontal, tratamiento con anti-inflamatorios de larga duración, necesidad de profilaxis antibiótica para realizar el examen periodontal o haber recibido terapia con antibióticos en los 6 meses previos.

### **3.3 Instrumentos de Recolección, Análisis y Medición de Datos.**

La recolección de datos en el presente estudio, se realizó en varias etapas:

1)- Durante la evaluación clínica inicial del paciente, con el llenado de la ficha de periodoncia (física) existente en Pre-grado y Post-grado de la clínica de estomatología del Campus Santo Tomás de Aquino de la Pontificia Universidad Madre y Maestra PUCMM, Santo Domingo y 2)- Luego de tomada la muestra se llenó la ficha electrónica (digital) microbiológica, suministrada por la Universidad Complutense de Madrid, donde se registraron los datos requeridos por el laboratorio de investigación, para el análisis y medición de datos.

#### **3.3.1 Toma de la muestra microbiológica.**

En cada paciente se seleccionaron 3 o 4 sitios periodontales con profundidad al sondaje (PS)  $\geq 4$ mm.

- Se eliminó toda la placa supragingival y restos, con curetas.
- Antes de la toma de muestras, los sitios fueron aislados de saliva mediante la aplicación de rollos de algodón y después se secaron suavemente con aire comprimido, con el fin de evitar la contaminación.
- Se tomaron muestras en los puntos no consecutivos con puntas de papel estéril número 30.
- Los conos papel se mantuvieron en su lugar durante 10 s y luego las muestras se agruparon y se transfirieron a un tubo de 1,5 ml (Eppendorf), en un vial de 2 ml de RTF. El medio de transporte RTF permite que la muestra se inocule hasta 48 horas después de la toma de muestras, aunque se recomienda no más de 24 horas<sup>41,42</sup>.
- Las muestras se colocaron inmediatamente en un ambiente frío (4°C) y se mantuvieron a 4 °C durante el transporte al laboratorio de investigación.
- Las muestras fueron enviadas con una plantilla que incluyó: nombre y edad del paciente, fecha de muestreo, datos clínicos de los sitios muestreados: profundidad sondaje, el nivel de inserción clínica, sangrado al sondaje, supuración, diagnóstico inicial, entre otros datos.

### **3.3.2 Cultivos microbiológicos**

Como ventaja, los métodos de cultivos permiten evaluar la sensibilidad antibiótica de los microorganismos, pero como desventaja, tienen que no detectan bajos niveles de microorganismos, además tienen un alto costo, son muy laboriosos, y toman un período prolongado de tiempo para poder notar los resultados, así como hay ciertos microorganismos que no se pueden cultivar<sup>38-40</sup>.

Los costos implicados en el análisis de las muestras fueron pagados, el 50% por el laboratorio Unión ubicado en Santo Domingo, República Dominicana y el 50% restante por la universidad Complutense de Madrid.

### **3.3.3. Transporte de la muestra España:**

Las muestras fueron transportadas a Madrid, España, en tubos de 1,5 ml (Eppendorf) con 2 ml de RTF, el mismo día de la recolección.

### **3.3.4 Procesamiento de las muestras microbiológicas.**

Procesamiento de las muestras microbiológicas, por medio a la técnica de cultivo microbiológico:

Las muestras fueron enviadas en un período de 24-36h luego de ser tomadas, para procesarlas en el laboratorio microbiano de la Universidad Complutense de Madrid, donde se homogeneizaron por agitación durante 30 s, y en el procedimiento estándar, se diluyeron en serie, con placa- PBS (0), donde el número significa la dilución de la muestra (en diluciones de diez veces,  $10^0=1$ ). Una vez más se repitió la dilución, tomando 0,1 ml desde el vial, y vertiéndolo en un nuevo tubo con 0,9 ml de PBS. 0,1 ml de esta dilución se colocó sobre placas con dilución TSBV (-1). Otros 0,1 ml se tomaron del tubo y se vertieron en otro tubo con 0,9 ml de PBS. Lo mismo se hizo con placa de dilución TSBV (-2), y las diluciones de placas agar sangre (-3), (- 4), (- 5)<sup>43,44</sup>. En el laboratorio, alícuotas de 0,1 ml se colocaron manualmente para la detección de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el medio específico Dentaid-1. Estas placas se incubaron durante 3 días en aire con 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Aislamientos sospechosos se identificaron sobre la base de la morfología de colonia (colonia pequeña, 1 mm de diámetro, con un borde oscuro y una "estrella" o "puros cruzados" en forma de estructura interna) y la reacción positiva de la catalasa.

Diluciones de la muestra también se sembraron en una placa de agar sangre no selectivo (Blood Agar Base II®, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra), suplementado con haemine (5 mg / l), menadiona (1 mg / l) y 5% de sangre de caballo estéril.

Después de 7-14 días de incubación anaeróbica (80% de N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> y 10% de H<sub>2</sub>), los recuentos totales y los recuentos de colonias representativas (aquellos con morfologías de colonias que sean compatibles con morfología agente patógeno diana) se llevaron a cabo en los platos más adecuados, aquellos que alberga entre 30-300 colonias<sup>43,44</sup>.

Las colonias sospechosas se identificaron además por microscopía, el estudio de la tinción de gram y la actividad enzimática (incluyendo N-acetil-β-D-glucosaminidasa, α-glucosidasa, α-galactosidasa, α-fucosidasa, esculina, indol y la actividad de tipo tripsina). Los recuentos de colonias se transformaron en unidades de formación por ml de muestra original. Recuentos totales anaeróbicas fueron calculados, así como cargos de los patógenos periodontales detectados (*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *P. micros*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, *Capnocytophaga sp*, *E. corrodens*). Adicionalmente a los datos microbiológicos cuantitativos, también se calculó la frecuencia de detección y proporciones para cada especie bacteriana. Para evaluar el crecimiento excesivo de otras especies, principalmente super-infectantes o bacterias oportunistas, como entéricos, se vigilaron placas con Dentaid-1<sup>43,44</sup>.

### **3.3.5. Microorganismos a evaluar.**

*A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *P. micros*  
*C. rectus*, *F. nucleatum*, *Capnocytophaga sp*, *E. corrodens*.

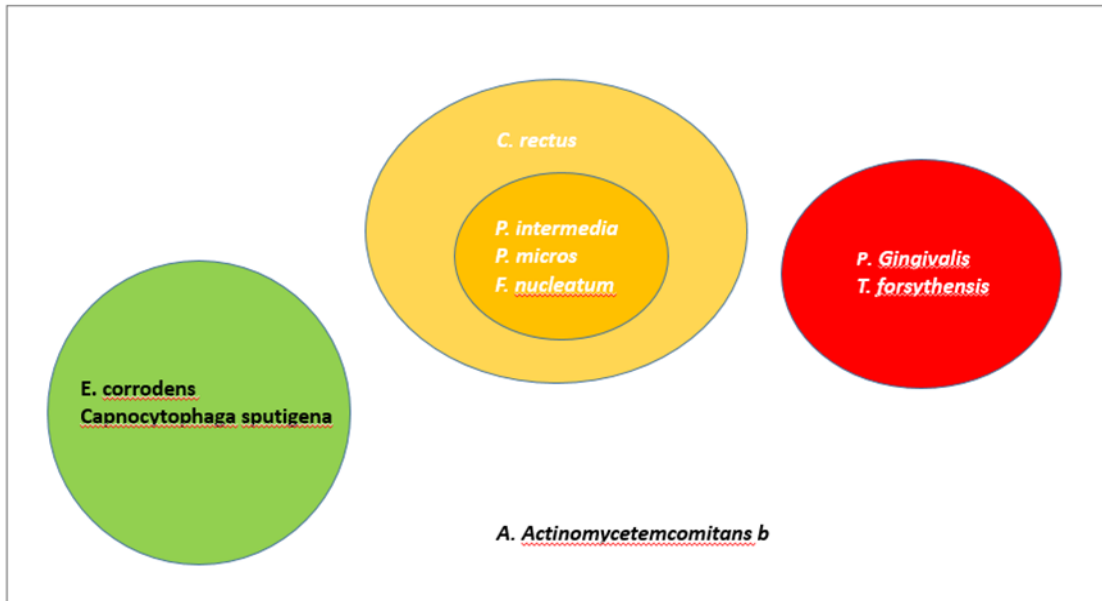


Figura 4. Representación esquemática según Socransky de los microorganismos a evaluar. Fuente: propia de los autores.

### 3.4 Plan de Análisis de los Datos.

El procesamiento y análisis estadístico se realizó mediante los programas Microsoft Excel 2010 ® y SPSS versión 17. Se estimaron medidas descriptivas a través de proporciones para frecuencia de las variables, se asumen intervalos de confianza del 95 %.

Se analizaron estadísticos descriptivos de frecuencia, medidas de tendencia central y dispersión como: la media, desviación estándar, rango, para presentar variables demográficas y los signos clínicos de inclusión en el estudio como sangrado, pérdida de inserción, profundidad de la bolsa y movilidad.

#### 4. Resultados:

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los sujetos del estudio

Características	Total	Media	Desv. Est.	Rango
<b>Genero</b>				
<i>Masculino</i>	8			
<i>Femenino</i>	12			
<b>Edad</b>		43.95	8.451	29-59
<b>Sangramiento de encía</b>				
<i>Si</i>	15			
<i>No</i>	5			
<b>Movilidad</b>				
<i>Grado 0</i>	13			
<i>Grado 1</i>	4			
<i>Grado 2</i>	2			
<i>Grado 3</i>	1			
<b>Dientes Examinados*</b>	78			2 a 4
Profundidad del Sondaje		3.906	1.14201	2.33-8.00
Perdida de Inserción		4.2179	1.77592	1.33-11.33

Fuente: propias del autor

En la Tabla 1 se describen las características clínicas y demográficas de los sujetos del estudio. De los 20 pacientes evaluados (12) mujeres y (8) hombres, representando el 60% y 40% respectivamente, con un rango de edad de 29-59 años, con una media de 43.95%. Las características clínicas generales evaluadas, el 75% de los pacientes presentaron sangramiento al sondaje; el 65% no presento movilidad al examen clínico, mientras que solo en el 5% hubo movilidad de grado 3. Se analizaron un total de 78 dientes, de los cuales a cada paciente se le analizaron de 3 a 4 muestras. La profundidad del sondaje del total de dientes analizados obtuvo valores de  $3.906 \pm 1.142$ , siendo su valor mínimo de 2.33 y el máximo de 8.00. Para la pérdida de inserción clínica de los dientes examinados se obtuvo una media de 4.2179 con desviación estándar de 1.77592, en este caso los valores estuvieron entre 1.33 a 11.33.



Tabla 2. Distribución de frecuencia de microorganismos encontrados

Microorganismos	No. De pacientes positivos	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	2	.1045	.1045	.0298	.0835	.1256
<i>P. gingivalis</i>	16	21.2515	14.7346	20.1140	.7299	76.9231
<i>P. intermedia</i>	18	5.1750	4.6090	4.4004	.0263	12.8205
<i>P. micros</i>	4	6.4960	4.0540	7.5326	.8547	17.0213
<i>F. nucleatum</i>	14	3.4323	1.3621	5.9832	.1486	22.7723
<i>T. forsythia</i>	11	4.4470	4.9296	2.8237	.4098	10.0806
<i>C. rectus</i>	3	1.6925	1.4599	1.0675	.7605	2.8571
<i>E. corrodens</i>	5	1.1959	.7143	1.2203	.2506	3.2258
<i>Capnocytophaga sp</i>	2	.8552	.8552	.8551	.2506	1.4599

Fuente: propias del autor

En la Tabla 2 el microorganismo más prevalente en la microbiota del biofilm subgingival fue la *P. gingivalis* con un promedio de 21.2515%, a pesar de que su frecuencia en pacientes positivos (16 pacientes) no fue la mayor, en comparación con la *P. intermedia* que presentó la mayor frecuencia en pacientes positivos (18 pacientes), pero su prevalencia fue de un promedio de 5.1750%, esto pudo deberse a la relación existente en la prevalencia de las especies bacterianas y la profundidad de las bolsas donde se tomaron las muestras<sup>26</sup>. La *P. micros* fue el segundo microorganismo de mayor prevalencia con un promedio de 6.4960% y los menos prevalentes y frecuentes en los pacientes fueron el *A. actinomycetemcomitans* (0.1045%) y la *Capnocytophaga sp* (0.8552%).

Tabla 3. Relación de la prevalencia de microorganismos por género

Microorganismos	Femenino		Masculino		Porcentaje de carga del microorganismos	
	No. Positivos	Promedio (%)	No. Positivos	Promedio (%)	Femenino	Masculino
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	1	.0800	1	.1300	0.96	1.04
<i>P. gingivalis</i>	9	13.8911	7	30.7129	18.52	35.10
<i>P. interdica</i>	11	5.3955	7	4.8300	5.89	5.52
<i>P. micros</i>	1	1.2500	3	8.2400	15.00	21.97
<i>F. nucleatum</i>	10	3.6850	4	2.8000	4.42	5.60
<i>T. forsythia</i>	6	4.0433	5	4.9300	8.09	7.89
<i>C. rectus</i>	2	2.1600	1	.7600	12.96	6.08
<i>E. corrodens</i>	3	.7900	2	1.8050	3.16	7.22
<i>Capnocytophaga sp</i>	2	.8550	0	.0000	5.13	--

Fuente: propias del autor

En la Tabla 3, el microorganismo que tuvo mayor prevalencia en cuanto a participantes positivos, tanto en el género femenino como en el masculino, fue la *P. gingivalis* presente en un promedio de 13.89% de las mujeres y un promedio de 30.71% para hombres, sin embargo en los masculinos la prevalencia de este microorganismos fue mayor que en el femenino (como se observa en el porcentaje de carga de microorganismos), un escenario muy parecido sucedió con el *P. micro*. Los de menor prevalencia en las mujeres fue el *A. actinomycetemcomitans* con un promedio de 0.08% femeninas positivas, se hace notar que la *Capnocytophaga sp* no apareció en los hombres.

Tabla 4. Relación de la prevalencia de microorganismos por edad

Microorganismos	Grupo de Edad (años)							
	Hasta 35		36-45		46-55		Más de 55	
	Pacientes +	Promedios (%)	Pacientes +	Promedios (%)	Pacientes +	Promedios (%)	Pacientes +	Promedios (%)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	0	0.0000	0	0.0000	2	.1050	0	0.0000
<i>P. gingivalis</i>	3	17.4100	8	27.7588	3	20.2067	2	2.5450
<i>P. intermedia</i>	3	6.7100	8	5.9425	5	2.0420	2	7.6400
<i>P. micros</i>	1	6.8500	1	0.8500	2	9.1350	0	0.0000
<i>F. nucleatum</i>	2	3.4250	6	6.0167	4	1.0000	2	0.5500
<i>T. forsythia</i>	3	6.0367	4	4.1425	3	4.6067	1	0.4100
<i>C. rectus</i>	1	0.7600	2	2.1600	0	.0000	0	0.0000
<i>E. corrodens</i>	2	1.8050	2	1.0600	1	.2500	0	0.0000
<i>Capnocytophaga sp</i>	0	0.0000	1	1.4600	1	.2500	0	0.0000
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>--</b>	<b>32</b>	<b>--</b>	<b>21</b>	<b>--</b>	<b>7</b>	<b>--</b>

Fuente: propias del autor

En la Tabla 4 se observa que los pacientes del grupo de edad de 36-45 años presentaron un porcentaje promedio más alto de microorganismos presentes en relación a los otros grupos de edad estudiados.

Tabla 5. Distribución de los microorganismos por complejo

Microorganismos	No. De pacientes positivos	Media	Mediana	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
<b>Complejo Rojo</b>						
<i>P. gingivalis</i>	16	21.252	14.735	20.114	.730	76.923
<i>T. forsythia</i>	11	4.447	4.930	2.824	.410	10.081
<b>Complejo Naranja</b>						
<i>P. intermedia</i>	18	5.175	4.609	4.400	.026	12.821
<i>P. micros</i>	4	6.496	4.054	7.533	.855	17.021
<i>C. rectus</i>	3	1.692	1.460	1.068	.760	2.857
<i>F. nucleatum</i>	14	3.432	1.362	5.983	.149	22.772
<b>Complejo Verde</b>						
<i>Capnocytophaga sp</i>	2	.855	.855	.855	.251	1.460
<i>E. corrodens</i>	5	1.196	.714	1.220	.251	3.226
<b>Complejo negro</b>						
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	2	.105	.105	.030	.083	.126

Fuente: propias del autor

La prevalencia del complejo rojo se observa en la Tabla 5, con un total de (25.699%) del total de la flora analizada, seguido del complejo naranja con un (16.795%) y el de menor prevalencia fue el complejo negro (asignando arbitrariamente) al *A. actinomycetemcomitans* especie atípica dentro del esquema; corroborando la relación de los microorganismos anaerobios invasivos, característicos de *biofilm* patológico maduro de la periodntitis crónica<sup>29</sup>.

Tabla. 6 Distribución de los microorganismos por propiedades metabólicas respiratorias

Microorganismos	No. De pacientes positivos	Media (%)	Mediana (%)	Desv. típ. (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)
<b>Capnofílico</b>						
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	2	.105	.105	.030	.083	.126
<i>E. corrodens</i>	5	1.196	.714	1.220	.251	3.226
<b>Microaerofílicos</b>						
<i>C. rectus</i>	3	1.692	1.460	1.068	.760	2.857
<b>Anaerobio Facultativo</b>						
<i>Capnocytophaga sp</i>	2	.855	.855	.855	.251	1.460
<i>F. nucleatum</i>	14	3.432	1.362	5.983	.149	22.772
<b>Anaerobio Obligado</b>						
<i>P. micros</i>	4	6.496	4.054	7.533	.855	17.021
<i>T. forsythia</i>	11	4.447	4.930	2.824	.410	10.081
<i>P. gingivalis</i>	16	21.252	14.735	20.114	.730	76.923
<i>P. intermedia</i>	18	5.175	4.609	4.400	.026	12.821

Fuente: propias del autor

En la Tabla 6, la familia de microorganismos según sus propiedades metabólicas respiratorias más abundante fueron los anaerobios obligados, siendo la *P. intermedia* la más frecuente y la menos prevalente en pacientes positivos fue la familia de los capnofílicos.

## 5. Discusión

La interpretación de los datos epidemiológicos de la enfermedad periodontal es difícil, debido a inconsistencias en la metodología utilizada. Cuando ocurre una infección por colonización oral por patógenos periodontales, es bien sabido que se involucran un sinnúmero de factores multidisciplinarios. Entre los causantes de la colonización se incluyen mecanismos de defensas específicos y no específicos del huésped, una predisposición genética a la colonización microbiana, y factores del medio ambiente, tales como estrés psicológico u otras enfermedades infecciosas.

En los resultados del presente estudio, realizado en dominicanos se muestra una alta prevalencia de *P. gingivalis*, seguido de la *P. micros*, luego de la *Prevotella intermedia* y del *F. nucleatum* y una muy baja prevalencia del *A. actinomycetemcomitans*, muy similares a los hallazgos encontrados en países del continente africano<sup>6</sup>, quienes también han analizado la composición de la flora subgingival en pacientes con características clínicas de periodontitis.

En cuanto a países del continente americano, los autores examinaron la composición del *biofilm* subgingival con la técnica de hibridación *checkerboard* ADN-ADN en pacientes con periodontitis crónica de diferentes países<sup>10</sup>, los resultados mostraron una prevalencia significativa de *P. gingivalis*, resultado que coincide con el presente estudio, sin embargo bacterias como la *T. forsythia* ocupa el tercer lugar y la *A. naeslundii* no fue evaluada.

Otro estudio realizado en el 2004, utilizando también la técnica de hibridación de *checkerboard* ADN-ADN, para comparar la microbiota asociada con la enfermedad periodontal en varios países, entre ellos Chile<sup>10</sup>. El *S. gordonii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium periodonticum*, *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Treponema socransky* fueron encontrados en proporciones elevadas en los individuos chilenos de ese estudio, a diferencia del presente estudio donde solo encontramos la *P. gingivalis* en proporciones elevadas y el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en proporciones disminuidas.

En un trabajo en donde los autores querían determinar la presencia de especies de bacilos gram-negativos en 45 pacientes con periodontitis crónica<sup>16</sup>.

Utilizando el mismo método de recolección de muestras y cultivo bacteriano que el presente trabajo. Los resultados de las especies detectadas en ese estudio fueron: *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella loescheii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y *Bacteriodes sp.* Coincidiendo la presencia de las bacterias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*.

En el año 1991, en el país se realizó el primer estudio que analizó la microbiota subgingival periodontal en pacientes dominicanos con periodontitis avanzada, fue realizado en 24 pacientes entre 18 y 60 años de edad. Se utilizó una técnica microbiológica convencional, el examen microscópico directo reveló que los organismos no móviles y cocos comprendían el 85% de microorganismos totales y las espiroquetas solo representaban el 3%. El cultivo no selectivo mostró un 53% de organismos gram-negativos, 15% de *Fusobacterium nucleatum*, 7% de anaerobios pigmentados de negro y 10% de *Peptostreptococcus micros*<sup>18</sup>. A diferencia del presente estudio, ellos evaluaron la morfología microbiana sugingival.

Más recientemente, se publicó estudio en la Republica Dominicana<sup>19</sup> donde los autores compararon la prevalencia de periodontopatógenos y genes resistentes a distintos antibióticos en 77 pacientes dominicanos, teniendo como resultado una predominancia del complejo rojo (*Porphyromonas gingivalis* 93.3%, *Treponema denticola* 90%, *Tannerella forsythia* 96.7%), *D. pneumosintes* 66.7% y *E. corrodens* 90% fueron significativamente más frecuentes en los pacientes con periodontitis, coincidiendo con el presente estudio la *Porphyromonas gingivalis* en primer lugar y la predominancia del complejo rojo.

En otros estudios realizados en países europeos como España y Holanda, utilizando los mismos criterios de inclusión y exclusión, así como también el mismo método de recolección de muestra y cultivo<sup>8</sup>. Se observó que tanto en España como en Holanda se encontraban los mismos microorganismos, solo que en muchos casos la prevalencia variaba. Al comparar los datos de las dos poblaciones estudiadas, se pudo identificar dos patrones distintos en su *biofilm* subgingival.

El *biofilm* del grupo de pacientes españoles se caracteriza por una alta prevalencia de *P. gingivalis* y una baja prevalencia de *A. actinomycetemcomitans*, mientras que la flora del grupo holandés se ha caracterizado por una alta prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. micros*. Los resultados coinciden con el grupo de pacientes españoles y no con el grupo de pacientes holandeses. Este estudio más adelante fue comparado con otros países europeos, como Grecia y Noruega, donde prevalecieron el *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus* coincidiendo con los resultados del presente estudio<sup>8</sup>.

También en otro estudio realizado en el 2008<sup>9</sup>, donde se comparó la microbiota periodontal de pacientes Españoles y Suecos el *A. actynomicetemcomitans* era más prevalente en pacientes Suecos que en Españoles mientras que la *P. gingivalis* era más prevalente en pacientes Españoles que en Suecos. A diferencia de los resultados de los pacientes suecos, el presente estudio coincide con el resultado de los pacientes españoles con una prevalencia de *P. gingivalis* y una mínima presencia de *A. actynomicetemcomitans*.

La población del presente estudio consistió en 12 mujeres y 8 hombres, a pesar de que había ligeramente una mayor cantidad de mujeres, hubo una mayor prevalencia de periodontopatógenos en el género masculino que en el femenino, esto puede ser debido a que las mujeres tienden a solicitar mayor atención odontológica que los hombres<sup>45</sup>. El periodontopatógeno con mayor prevalencia en ambos géneros fue la *P. gingivalis* y la edad promedio que tuvo mayor cantidad de patógenos fue 36-45 años, pacientes relativamente jóvenes, resultado final que no coincide con los resultados del estudio de Slots en 1990<sup>45</sup>, mientras que los resultados obtenidos en muestra población si concuerda con los resultados reportados por el NHANES 2009-2012<sup>3</sup>.

La familia de microorganismos según sus propiedades metabólicas respiratorias más abundante fueron los anaerobios obligados, siendo más frecuente la *P. intermedia*.

Se sabe que las bacterias anaerobias obligadas están estrechamente relacionada con las enfermedades periodontales, cuando las medidas de higiene son deficientes, se acumula la placa, se consume la mayor parte de oxígeno y comienzan a aparecer bacterias anaerobias y microaerofílicas de especies gram-negativas. Una atmosfera rica en oxígeno anula o amortigua gradualmente su actividad. Estos resultados ayudan a entender un poco más el papel de las bacterias en las enfermedades periodontales.

Estudios de análisis de composición microbiana subgingival han sido realizados en diferentes países alrededor del mundo, aunque las cifras de prevalencia varían con la raza y región geográfica. Estos resultados nos ayudan a entender mejor los patógenos periodontales y su papel en el inicio y progresión de las enfermedades periodontales. Estos datos de la microbiota subgingival serán importantes para el mejor entendimiento de la enfermedad periodontal y su tratamiento ya que la presencia de ciertos microorganismos subgingivales ha demostrado ser factores de riesgo verdaderos.

Considerado las limitantes del presente estudio en cuanto a la toma, procesamiento y análisis de las muestras microbiológicas, así como las diferencias en cuanto a las variables de los criterios de inclusión, exclusión de los distintos estudios analizados, es recomendable que para estudios futuros limitantes sean tomadas en cuentas al momento de plantear los objetivos. Se necesitan más estudios de análisis de la composición de la microbiota subgingival en pacientes con periodontitis crónica en la República Dominicana, recomendamos empezar una línea de investigación microbiológica a nivel nacional, en donde tal vez se podría encontrar diferencias en la microbiología subgingival de pacientes con periodontitis de diferentes zonas del país.



## Referencias bibliográficas

1. Botero JE., Bedoya E. Determinants of Periodontal Diagnosis. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral 2010; 3(2): 94-99.
2. Ali RW, Johannessen AC, Dahlén G, Soeransky SS, Skaiig N. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in Northern Cameroon. J Clin Periodontol; 1997; 24: 830- 835.
3. Eke PI, Dye B, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans G, Borgnakke W et. al. Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 – 2012. J Periodontol. 2015; 86 (5): 611-622.
4. Contreras A. Microbiología periodontal en Latinoamérica. Periodontology 2000, 2015; 67: 58–86.
5. Ali RW, Bakken V, Nilsen R, Skaug N. Comparative detection frequency of 6 putative periodontal pathogens in Sudanese and Norwegian adult periodontitis patients. J Periodontol. 1994; 65 (11): 1046-1052.
6. Dahlén GG, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Black-pigmented Bacteroides species and Actinobacillus actinomycetemcomitans in subgingival plaque of adult Kenyans. J Clin Periodontol. 1989; 16: 305-310.
7. Haubek D, Ennibi O, Poulsen K, Poulsen S, Benzarti N, Kilian M. Early-onset Periodontitis in Morocco is Associated with the Highly Leukotoxic Clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Dent Res. 2001; 80(6): 1580-1583.
8. Sanz M, Winkelhoff AJ, Herrera D, Dellempijn-Kippuw N, Simón R, Winkel E. Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographical origin. A comparison between Spain and The Netherlands. Eur J Oral Sci 2000; 108(5): 383-392.
9. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. J Clin Periodontol 2008; 35(8): 346–361.
10. Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, López NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol 2004; 31: 996–1002.

11. Haffajee AD, Japlit M, Bogren A, Kent Jr RL, Goodson JM, Socransky SS. Differences in the subgingival microbiota of Swedish and USA subjects who were periodontally healthy or exhibited minimal periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2005; 32: 33–39.
12. Chen C, Wang, T, Chen, W. Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotypes in subgingival plaque from United States subjects. *Molecular Oral Microbiology*, 2010; 25: 207–214.
13. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Peridontol* 2005; 32: 860–869.
14. Gajardo M, Silva N, Gomez L, Leon R, Parra B, Contreras A. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. *J.Periodontol*. 2005; 76(2), 289–294.
15. Mayorga-Fayad I, Lafaurie G, Contreras A, Castillo D, Barón A, Aya M. Microflora subgingival en periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. *Biomédica* 2007; 27:21-33
16. Guilarte C., Perrone M. Detección de especies de bacilos anaerobios gram negativos en pacientes con periodontitis crónica. *Acta odontol. venez [revista en la Internet]*. 2007 Septiembre – Diciembre [Acceso Mayo 2015]; 45(1). Disponible en: [http://www.actaodontologica.com/ediciones/2007/1/pdf/especies\\_bacilos\\_anaerobios\\_gram\\_negativos.pdf](http://www.actaodontologica.com/ediciones/2007/1/pdf/especies_bacilos_anaerobios_gram_negativos.pdf)
17. Dowsett SA, Kowolik MJ, Archila LA, Eckert GJ, LeBlanc DJ. Subgingival microbiota of indigenous Indians of Central America. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 159–167
18. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie G. Subgingival Microflora of Advanced Periodontitis in the Dominican Republic. *Periodontol* 1991; 62:543-547.
19. Collins JR, Arredondo A, Roa A, Valdez Y, León R, Blanc V. Periodontal pathogens and tetracycline resistance genes in subgingival biofilm of periodontally healthy and diseased Dominican adults. *Clin Oral Investig*. 2015; Jun 30.

20. Consensus report Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*, 1996; 1: 926-932.
21. Socransky SS, Haffajee AD. The Nature of Periodontal Diseases. *Ann Periodontol*. 1997; 2(1): 3-10.
22. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol* 2008; 35 (8): 346–361.
23. Papapanou PN. Periodontal diseases: epidemiology. *Ann Periodontol*. 1996; 1(1): 1-36
24. Dumitrescu AL, Zetu L, Teslaru S. Aesthetic Periodontal Therapy-Root Coverage. En: Yamamoto, Sho L. *Periodontal Disease: Symptoms, Treatment, and Prevention*. Hauppauge, N.Y: Nova Science. 2010. Págs: 1-29.
25. Armitage GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4:1-6.
26. Carranza FA. Fundamentos del tratamiento periodontal. En: Carranza. *Periodontología Clínica*. 9ª Edición. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana; 2004. págs. 536 -541.
27. Jolkovsky D, Ciancio S. Sustancias quimioterápicas en el tratamiento de las enfermedades periodontales. En: Carranza F. *Periodontología Clínica*. 9ª ed. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana; 2004. Págs. 715-728.
28. Song, Koo H, Ren D. Effects of Material Properties on Bacterial Adhesion and Biofilm Formation. *J Dent Res* 2015; 94(8): 1027–1034.
29. Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla?. *RCOE*, 2005; 10(4): 431-439.
30. Lasa I, Lasa J. Del Pozo L, Penadés JR, Leiva J. Bacterial biofilms and infection. *An. Sist. Sanit. Navar*. 2005; 28 (2): 163-175.
31. Socransky SS., Haffajee AD. Biofilms dentales: objetivos terapéuticos difíciles. *Periodontology 2000 (ed esp)* 2003; 3: 12-55.
32. Ezzo PJ, Cutler CW. Microorganismos como indicadores de riesgo de las enfermedades periodontales. *Periodontology 2000 (Ed Esp)*. 2004; 7: 24-28.
33. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-144.


34. Escudero-Castaño N, Perea-García M, Bascones-Martínez A. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol.* 2008; 20, 1: 27-37.
35. Gladwin M, Trattler B. *Clinical Microbiology made ridiculously simple.* United States. Medmasters. 2001. Pages: 1-7
36. Ramos D, Moromi H, Martínez E, Mendoza A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans: Patógeno importante en la periodontitis.* *Odontol Sanmanr.* 2010; 8(2): 110-116.
37. Lozano GT. Bacteriemia fulminante asociada a *Capnocytophaga sputigena* en un paciente con linfoma no Hodgkin tipo T. Diagnóstico por secuenciación genética del ARNr 16S. *Revista Argentina de Microbiología.* 2012; 44: 170-172
38. Bullón Fernández P. Diagnóstico por el laboratorio de las enfermedades periodontales y periimplantarias. Diagnóstico de la periodontitis. *Av Periodon Implantol.* 2004; 16, 1:35-45.
39. Loomer PM. Microbiological diagnostic testing in the treatment of periodontal diseases. *Periodontology 2000.* 2004; 34, 49-56.
40. Frías-López M, Uria-Ovando V, Carasol-Campillo M. Métodos de diagnóstico microbiológico en la enfermedad periodontal. *Cient Dent.* 2009; 6(2): 93-101.
41. Wikstrom M, Renvert S, Dahlén G, Johnsson, T. Variance in recovery of periodontitis-associated bacteria caused by sampling technique and laboratory processing. *Oral Microbiology and Immunology.* 1991; 6, 102-106.
42. Syed SA, Loesche WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Applied Microbiology.* 1972; 24, 638-644.
43. Dahlén G, Renvert S, Wikstrom M, Egelberg J. Reproducibility of microbiological samples from periodontal pockets. *Journal of Clinical Periodontology.* 1990; 17, 73-77.
44. Alsina M, Olle E, Frias J. Improved, low-cost selective culture medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Clinical Microbiology.* 2001; 39, 509-513.

## Anexos


### Anexo 1. Carta de convenio para trabajo conjunto entre Universidad Complutense de Madrid y Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

	<b>UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID</b> <b>FACULTAD DE ODONTOLOGIA</b>
Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid Teléfono: +34 913942010 e-mail: <a href="mailto:davidher@ucm.es">davidher@ucm.es</a> <a href="http://www.ucm.es/centros/webs/fodon">http://www.ucm.es/centros/webs/fodon</a>	
Prof. Dr. James Collins Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra Santo Domingo, República Dominicana Facultad de Odontología - Postgrado de Periodoncia	
Madrid, 21 de Marzo de 2015	
Estimado Prof. James Collins:	
Por la presente, quiero acreditar que nuestro grupo de investigación trabajará conjuntamente con el suyo en el proyecto <b>"Análisis de la Composición Microbiana del Biofilm Subgingival en Pacientes con Periodontitis Crónica Severa"</b> .	
Nuestro grupo de investigación se compromete a preparar el protocolo adecuado, a procesar las muestras y a participar en el análisis de los resultados	
Estoy seguro de que esta cooperación científica traerá beneficios a ambas instituciones.	
Para que así conste donde convenga.	
Recibe un cordial saludo,	
	
David Herrera Profesor Titular de Periodoncia Co-director del Grupo de Investigación "Etiología y Tratamiento de las Enfermedades Periodontales" (ETEP), Universidad Complutense de Madrid, España	

Anexo 2. Hoja de recolección de datos para envío a Laboratorio (Universidad Complutense de Madrid)

Laboratorio de Investigación			CLAVE			
Siglas:						
Año nacimiento:			Fumador:			
Clínica:			Ultimo antibiótico:			
Fecha de toma:						
Causa de toma:						
Salud general:						
Medicamentos:						
Otros comentarios						
Momento toma:	pre-RAR	(pre-RAR, post-RAR, post-QCO, MTO, control)				
					CÁLCULOS	
	1	2	3	4		
Localización					Total anaerobios	0
Profundidad bolsa					<i>A. actinomyc.</i>	0
Recesión					<i>P. gingivalis</i>	0
Sangrado					<i>P. intermedia</i>	0
Placa					<i>T. forsythia</i>	0
Supuración					<i>P. micra</i>	0
Movilidad					<i>C. rectus</i>	0
					<i>F. nucleatum</i>	0
					<i>Capnocytophaga</i>	0
Comentario resultados (solo laboratorio)					<i>E. corrodens</i>	0
					<i>Eubacterium sp.</i>	0

Anexo 3. Ficha Clínica, Maestría Periodoncia e implantología Oral, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA MADRE Y MAESTRA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SAULD**  
**ESTOMATOLOGÍA**

Fecha: \_\_\_/\_\_\_/20\_\_

Ficha Clínica – Maestría Periodoncia e Implantología Oral No. \_\_\_\_\_

Paciente: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
 Alumno: \_\_\_\_\_ Mat.: \_\_\_\_\_ Docente: \_\_\_\_\_

**1. Historia de salud:**

¿Se encuentra en buen estado de salud? : Si ___ No ___	¿Ha tenido algún problema o trastorno de su salud en los últimos dos (2) años?: Si ___ No ___ ¿Cuál/ cuáles? _____ _____	¿Está tomando alguna medicina actualmente? Sí ___ No ___ ¿Cuál/ cuáles? _____ _____
--	---	---

¿Ha padecido o padece de?: (Favor responder marcando con una X en caso de respuesta afirmativa)

Dolores frecuentes de cabeza	Fiebre reumática	Algún tipo de cáncer _____
Mareos o desmayos frecuentes	Artritis	Ubicación _____
Trastornos nerviosos	Gripes frecuentes	Tratamiento _____
Alteraciones presión sanguínea	Dolor garganta	En caso de respuestas afirmativas, marcadas con una X favor especificar : _____ _____ _____ _____
Enfermedad cardiovascular	Sinusitis	
Enfermedad gastrointestinal	Diabetes	
Enfermedades renales	Epilepsia	
Enfermedades hepáticas	Alteraciones tiroideas	
Enfermedades respiratorias	Discrasias sanguíneas	
Infecciones de transmisión sexual	Procesos alérgicos	
Problemas con anestésicos	Embarazada ___ Meses ___	
Alteraciones emocionales		

**2. Anamnesis Periodontal**

Motivo de la Consulta: _____			
Causa Pérdida Dientes: _____			
Tratamiento Periodontal Previo	No [ ] Sí [ ]	Fecha: _____	TPS No [ ] Sí [ ] Fecha: _____
Antecedentes Familiares de EP	No [ ] Sí [ ] Quién: _____	Problemas Anestesia	No [ ] Sí [ ] Qué: _____
Dolor	No [ ] Dientes [ ] Encías [ ] Otros [ ]	Explique: _____	
Sangramiento Encías	No [ ] Provocado [ ] Espontáneo [ ]	Explique: _____	
Movilidad Dentaria	No [ ] Sí [ ]	Migración o Extrusión Dentaria	No [ ] Sí [ ]
Cepillo Dental	Suave [ ] Medio [ ] Duro [ ]	Frecuencia cepillado: _____	
Duración cepillo	___ meses	Otros Elementos de HO	No [ ] Sí [ ] Cuál: _____
Hábitos Nocivos	[ ] Bruxismo	[ ] Interposición lingual	[ ] Fuma _____ [ ] Otros: _____
	[ ] Consumo de cítricos	[ ] Interposición de objetos	Cantidad: _____
	[ ] Respiración bucal	[ ] Onicofagia	Tiempo: _____

Anexo 4. Ficha Clínica, Maestría Periodoncia e implantología Oral, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

3. Características de la Encía

Color	
Forma	
Tamaño	
Consistencia	
Superficie	
Alteraciones	
Mucogingivales (tipo, ubicación, características)	

4. Índice Gingival (Löe y Silness)

Fecha: \_\_\_/\_\_\_/20\_\_

Superficie	1.6	2.1	2.4
V			
M			
D			
P/L			
Boca	IG=	IG=	IG=
Superficie	4.4	4.1	3.6
V			
M			
D			
P/L			
Boca	IG=	IG=	IG=

Leyenda 0:Ausencia inflamación 1:Inflamación Leve 2:Inflamación moderada 3:Inflamación severa

5. Índice de Placa Bacteriana (O'Leary)

	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Superficies																
	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8
Superficies																
	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Superficies																
	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8
Superficies																



Anexo 5. Ficha Clínica, Maestría Periodoncia e implantología Oral, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

**6. Factores de Riesgo**

Locales:

---

---

---

Sistémicos:

---

---

---

Medioambientales:

---

---

**7. Hallazgos RX**

---

---

---

---

---

**8. Diagnóstico y Fundamentos**

---

---

---

---

**9. Pronóstico y Fundamentos (McGuire, M. 1991)**

General:

---

---

---

---

Particular:

---

---

---

---

---

---

---

---



**Anexo 7. Ficha Clínica, Maestría Periodoncia e implantología Oral, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra**

**Periodontograma**  
Superior

Vestibular	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Pos. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																
Perdida Niv. Inserción																


Palatino	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Pos. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																
Perdida Niv. Inserción																

Inferior

Lingual	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Pos. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																
Perdida Niv. Inserción																

Vestibular	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Pos. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																
Perdida Niv. Inserción																

Anexo 8. Ficha Clínica- Periodoncia. Pre-grado, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA MADRE Y MAESTRA**  
**CAMPUS SANTO TOMÁS DE AQUINO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CLÍNICA ESTOMATOLÓGICA**

**Ficha Clínica-Periodoncia** No. \_\_\_\_\_

Paciente: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_/\_\_\_/20\_\_\_  
 Alumno: \_\_\_\_\_ Docente: \_\_\_\_\_

**1. Anamnesis Periodontal**

Causa Perdida Dientes \_\_\_\_\_

Tratamiento Periodontal Previo No  Sí  Fecha: \_\_\_\_\_ TPS No  Sí  Fecha: \_\_\_\_\_

Antecedentes Familiares de EP No  Sí  Quién: \_\_\_\_\_ Problemas Anestesia No  Sí  Qué: \_\_\_\_\_

Dolor: No  Dientes  Encías  Otros  Explique: \_\_\_\_\_

Sangramiento Encías No  Provocado  Espontáneo  Explique: \_\_\_\_\_

Movilidad Dentaria No  Sí  Migración o Extrusión Dentaria No  Sí  Halitosis No  Sí

Cepillo Dental Suave  Medio  Duro  Frecuencia cepillado \_\_\_\_\_

Duración cepillo \_\_\_\_\_ meses Otros Elementos de HO No  Sí  Cuál: \_\_\_\_\_

Hábitos Nocivos  Bruxismo  Interposición lingual  Fuma  cantidad: \_\_\_\_\_  
 Respiración bucal  Interposición de objetos  tiempo: \_\_\_\_\_  
 Consumo de cítricos  Onicofagia  Otros: \_\_\_\_\_

**2. Características de la Encía**

Color \_\_\_\_\_

Forma \_\_\_\_\_

Tamaño \_\_\_\_\_

Consistencia \_\_\_\_\_

Superficie \_\_\_\_\_

Alteraciones Mucogingivales (tipo, ubicación, características) \_\_\_\_\_

**3. Índice Gingival (Lóe y Silness)**

Superficie	1.6	2.1	2.4
V			
M			
D			
P/L			
Boca	IG= _____ Fecha: _____	IG= _____ Fecha: _____	IG= _____ Fecha: _____
Superficie	4.4	4.1	3.6
V			
M			
D			
P/L			

Legenda 0: Ausencia inflamación 1: Inflamación leve 0: Inflamación Moderada 0: Inflamación severa

Anexo 9. Ficha Clínica- Periodoncia. Pre-grado, Clínica Estomatología, Pontificia  
 Universidad Católica Madre y Maestra

**4. Índice de Placa Bacteriana (O'Leary)**

	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Superficies																
	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.8
Superficies																

% IP=

Fecha:

% IP=

Fecha:

% IP=

Fecha:

**5. Factores de Riesgo**

**Locales:**


**Sistémicos:**


**5. Hallazgos RX**


**Diagnóstico y Fundamentos**

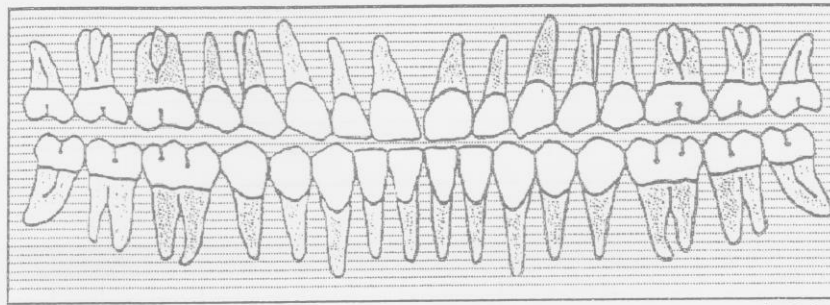

**Pronóstico y Fundamentos**

**General:**


**Particular:**


Anexo 10. Ficha Clínica- Periodoncia. Pre-grado, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

Palatino	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Posic. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																



Derecho

Izquierdo

Lingual	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Posic. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																

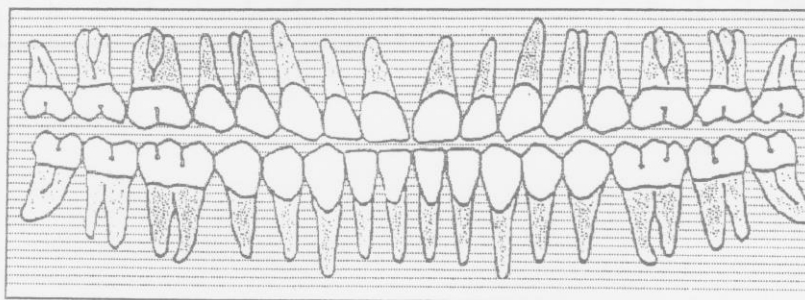
Anexo 11. Ficha Clínica- Periodoncia. Pre-grado, Clínica Estomatología, Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

Plan de Tratamiento							
Fase Etiológica	IHO						
	Pulido Coronario						
	Destartraje Supragingival						
	Destartraje Subgingival						
	Pulido Radicular						
	Tratamiento Quirúrgico						

Paciente: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /20\_\_

Vestibular	1.8	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Posic. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																



	Derecho								Izquierdo							
Vestibular	4.8	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	2.7	2.8
Supuración																
Sangramiento																
Movilidad																
Furca																
Posic. Encía																
Prof. Surco																
Niv. Inserción																

## Anexo 12. Consentimiento Informado



Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra

Facultad de Ciencias de la Salud

Departamento de Estomatología, campus STA.

Proyecto de Investigación: **“ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN MICROBIANA DEL BIOFILM SUBGINGIVAL EN PACIENTES DOMINICANOS CON PERIODONTITIS CRÓNICA”**.

Académico Responsable: Dr. James R. Collins C

Consentimiento Informado – Adultos

### Antecedentes Generales:

Usted ha sido invitado a participar voluntariamente en un estudio internacional titulado: **“ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN MICROBIANA DEL BIOFILM SUBGINGIVAL EN PACIENTES DOMINICANOS CON PERIODONTITIS CRÓNICA”**. Las enfermedades periodontales (gingivitis y periodontitis) corresponde a una infección de los tejidos alrededor del diente y con el tiempo y sin tratamiento puede generar una lesión destructiva en los tejidos que rodean la raíz del diente. El tratamiento de estas lesiones es la eliminación de la placa bacteriana acumulada alrededor del diente, con el objetivo de eliminar la infección y evitar las complicaciones asociadas a esta enfermedad.

En términos generales, el objetivo del presente estudio es identificar y caracterizar la presencia de diferentes bacterias localizadas alrededor del diente y conocer su potencial virulento y la presencia de algunos indicadores de riesgo para la destrucción de la encía y el hueso.

Con este fin se incluirán adultos con periodontitis crónica generalizada (enfermedad en estudio) y otros adultos sanos, en los que además del tratamiento periodontal de eliminar la placa bacteriana, el tártaro presente y efectuar la enseñanza de técnica de cepillado, se procederá a tomar muestras microbiológicas de la placa bacteriana





## Anexo 13. Consentimiento Informado

Este formulario será explicado por los investigadores y se entregará a los participantes para su lectura. El participante podrá retirarse del estudio en cualquier momento que lo desee y sus datos serán eliminados a partir de ese momento.

### Descripción de los criterios de inclusión y exclusión:

Aproximadamente veinte sujetos van a participar en este estudio. Para ser seleccionado, usted debe cumplir con ciertos criterios:

1. Usted debe estar en buen estado de salud en general.
2. Usted debe tener como mínimo treinta (30) años de edad y no ser mayor de setenta y cinco (75) años de edad.
3. Usted debe tener disponibilidad mientras dure el estudio.
4. Si usted es mujer, no debe estar embarazada ni dando lactancia materna a un infante.
5. El examinador dental debe establecer que la condición de sus dientes y encía esté en condiciones para formar parte de este estudio.
6. Usted debe haber sido diagnosticado por el investigador principal con periodontitis crónica generalizada
7. Usted no debe tener ninguna patología bucal, antecedentes de alergias a los productos a prueba.
8. Usted no está tomando medicamentos que puedan interferir con la cicatrización del hueso y los tejidos blandos ni tendrá que empezar a tomar dichos medicamentos durante el estudio.
10. Usted no está participando en otro estudio clínico.



## Anexo 14. Consentimiento Informado

### **Procedimiento toma de las muestras:**

Se incluirán pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica generalizada que no presenten enfermedades generales. Una vez realizado el diagnóstico se tomará una única muestra biológica microbiológica mediante una cureta Gracey en el surco gingival (encía). La duración del estudio será por tanto solo en el momento inicial del diagnóstico clínico cuando se recolecte la muestra en el paciente. El diagnóstico y financiamiento del tratamiento será responsabilidad del paciente, y el análisis de muestras serán financiados por el proyecto. El total de muestras y datos obtenidos serán registrados e identificados por el investigador responsable mediante códigos para su utilización exclusiva en el desarrollo del presente estudio. Las muestras bacterianas serán descartadas luego de identificar y registrar los microorganismos cultivados en el laboratorio. Los datos personales e identificación de los sujetos participantes serán confidenciales y se utilizarán códigos para mantener oculta la identidad de los participantes. En caso de manifestar interés en los resultados de los análisis efectuados, los interesados pueden acceder a esta información solicitándola al investigador responsable.

### **Ventajas de participar en el estudio:**

Como ventaja de participar en el presente estudio, a todos los pacientes participantes del mismo se les hará entrega de elementos necesarios para la higiene bucal (pasta dental y enjuagatorios).

Otra ventaja es que se les dará a conocer y se consignará en su ficha clínica los resultados de los análisis microbiológicos que resulten de las muestras tomadas a los pacientes. También es un procedimiento rápido que tiene como promedio 10 minutos de duración y no compromete de ninguna manera el tratamiento por el cual usted ha acudido a la clínica.

### **Desventajas de participar el estudio**

La desventaja de participar en el presente estudio, es que los pacientes seleccionados serán sometidos a la toma de muestra de placa dento bacteriana. Podría presentarse la ocasión en que el paciente sea citado en otra ocasión para llenar o reconfirmar algunos datos.



## Anexo 15. Consentimiento Informado

### **Riesgo potencial**

En general, no existen efectos secundarios adversos por la toma de muestras microbiológicas. También este procedimiento no requiere anestesia, y es inocua para el paciente.

En caso de alguna dificultad, los teléfonos de contacto del investigador responsable:  
James Collins, son: 809-535-0111 Ext. 2291 y 809-481-0572.

### **El derecho de abandonar el estudio**

Su firma colocada al final significa que usted comprende y está de acuerdo con lo mencionado anteriormente, y afirma que por su propia voluntad ha decidido participar. Además, usted asegura que tiene 35 años de edad o más, que tuvo la oportunidad de hacer preguntas acerca de este estudio, y en caso de ser mujer, usted además asegura que no está dando lactancia materna y que no está embarazada. Usted se puede retirar de este estudio en cualquier momento sin perjuicio de su tratamiento odontológico.

Este estudio está siendo realizado por el Dr. James Collins, quien le puede responder cualquier pregunta relacionada a los procedimientos del estudio. Cualquier pregunta pertinente acerca de esta investigación o de los derechos que conciernen su participación en este estudio pueden ser resueltas en las oficinas de la Pontificia Universidad Católica Madre y Maestra campus STA, Santo Domingo, República Dominicana, teléfono: (809) 535-0111 EXT. 2291.

### **Compensación:**

Usted comprende, que su participación en este estudio es voluntaria. Usted no recibirá una compensación monetaria ni de la PUCMM ni del Dr. Collins.



## Anexo 16. Consentimiento Informado

### Declaro:

Haber comprendido las explicaciones que se me han facilitado, en un lenguaje claro y sencillo, y el facultativo me ha permitido realizar todas las observaciones y preguntas necesarias, resolviéndome todas las dudas que le he planteado, señalándome además que habrá absoluta confidencialidad en los datos por mi entregados.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto para participar en el presente Proyecto de Investigación, y que frente a cualquier duda puedo además consultar con el Presidente del Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la PUCMM, Padre. Diego López, en el teléfono: 809-383-2304 Ext. 4389

Además se me ha aclarado, que en caso de no dar mi consentimiento, el profesional procederá de todas maneras a realizar el mencionado tratamiento periodontal.

### Identificación Paciente

### Identificación Dentista

Nombre: \_\_\_\_\_ Nombre: \_\_\_\_\_

Cédula: \_\_\_\_\_ Cédula: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Av. Abraham Lincoln esq. Rómulo Betancourt. Santo Domingo, República Dominicana.

