

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGIA
OFICINA DE GRADOS Y TITULOS



PROGRAMA DE TITULACION PROFESIONAL

AREA DE ESTUDIO: PERIODONCIA E IMPLANTOLOGIA

TITULO:

AVANCES EN LA MICROBIOLOGIA EN LA PERIODONTITIS

AUTOR:

BACHILLER JEAN CARLOS RIOS BAUTISTA

ASESOR: Mg. CD. SEBASTIAN PASSANO DEL CARPIO

LIMA – 2017

AGRADECIMIENTO

A mis padres, Margarita Bautista y Víctor Ríos, que estarán siempre a mi lado apoyándome en cualquier circunstancia. A mis hermanos Helard y Víctor Raúl por su cariño.

INDICE

INTRODUCCION.....	6
I. BIOFILM	7
I.1 BIOFILM ORAL	7
I.2 FORMACION DEL BIOFILM	9
I.3 PROPIEDADES DEL BIOFILM.....	11
I.4 FACTORES ORALES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS	13
I.5 CONTROL DEL BIOFILM	17
II. PERIODONTITIS	18
II.1 ETIOPATOGENIA.....	19
II.2 PAPEL DE LAS BACTERIAS EN LA PERIODONTITIS.....	20
II.3 PRINCIPALES PERIODONTOPATOGENOS.....	23
II.4 PAPEL DEL HUESPED EN LA PERIODONTITIS	27
II.5 TRANSMISION DEL AGENTE ETIOLOGICO.....	29
III TECNICAS MICROBIOLOGICAS.....	30
III.1 LA BOCA ARTIFICIAL: UNA GRAN HERRAMIENTA PARA LA INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA ORAL.....	36
III.1.1 DESARROLLO DE BIOFILMS.....	37
III.1.2 USOS DE LA BOCA ARTIFICIAL	38
IV. NUEVOS PATOGENOS PERIODONTALES	40
IV.1 FILIFACTOR ALOCIS	40
IV.2 FRESUBACTERIUM FASTIDIOSUM	44
IV.3 EUBACTERIUM ESPECIES	44
IV.4 SELONOMONAS SPUTIGENA.....	46
V. MICROBIOLOGIA PERIODONTAL EN AMERICA LATINA.....	47
V.1 EL FUTURO DE LA MICROBIOLOGIA PERIODONTAL EN AMERICA LATINA.....	48
VI. CONCLUSIONES.....	49
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	50

RESUMEN

En la cavidad oral existe una gran diversidad de nichos ecológicos donde las bacterias desarrollan biofilms (dientes, lengua, mucosas, amígdalas, etc.). La composición y distribución de los microorganismos en la boca depende de factores físico-químicos (la humedad, el pH salival, la temperatura y el potencial de óxido-reducción), factores de adhesión para evitar los fenómenos de eliminación natural (entrada de comida y bebida, respiración, flujo salival, higiene oral, descamación epitelial), factores nutricionales (obtención de nutrientes por la dieta y por secreciones del huésped) y factores protectores del huésped (la saliva, la integridad de la mucosa, el sistema inmune) que llevan al límite la supervivencia bacteriana en la boca.

Mediante el uso de distintas técnicas microbiológicas se ha podido observar, dentro de la estructura de los biofilms orales se puede destacar que entre el 15 – 20% del volumen está ocupado por microorganismos, mientras que el 85% restante corresponde a matriz extracelular compuesta por polisacáridos, proteínas y glicoproteínas, sales, restos celulares, DNA, RNA y agua; que posee continuidad temporal y potencialmente puede ser patogénico. En tal caso, su presencia se asocia al desarrollo de caries, gingivitis, periodontitis, mucositis periimplantaria y periimplantitis.

Además es necesario conocer su diversidad, sus dinámicas de crecimiento y su metabolismo tan variado. Las dificultades que existen a la hora de estudiar biofilms orales están relacionadas con el gran número de interacciones que tienen lugar entre las diferentes especies, la complejidad técnica para el análisis de los procesos internos y las consideraciones éticas asociadas a estudios microbiológicos en pacientes con enfermedad periodontal. Estas dificultades han llevado a los investigadores a desarrollar sistemas *in vitro* para la formación de biofilm, que intentan simular el ambiente oral.

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

Palabras clave: Biofilm, bacterias periodontopatógenas, enfermedad periodontal, Porphyromonas gingivalis, Filifactor alocis, diagnostico periodontal.

ABSTRACT

In the oral cavity there is a great diversity of ecological niches where bacteria develop biofilms (teeth, tongue, mucous membranes, tonsils, etc.). The composition and distribution of microorganisms in the mouth depends on physical and chemical factors (moisture, salivary pH, temperature and oxidation-reduction potential), adhesion factors to avoid natural elimination phenomena (food intake and drinking, breathing, salivary flow, oral hygiene, epithelial desquamation), nutritional factors (obtaining nutrients by diet and by host secretions) and host protective factors (saliva, mucosal integrity, immune system) to limit bacterial survival in the mouth.

Through the use of different microbiological techniques it has been observed, within the structure of oral biofilms it is possible to emphasize that between 15 - 20% of the volume is occupied by microorganisms, while the remaining 85% corresponds to an extracellular matrix composed of polysaccharides, proteins and glycoproteins, salts, cell debris, DNA, RNA and water; which has temporal continuity and potentially may be pathogenic. In this case, its presence is associated with the development of caries, gingivitis, periodontitis, peri-implant mucositis and periimplantitis.

It is also necessary to know its diversity, its dynamics of growth and its metabolism so varied. The difficulties that exist in the study of oral biofilms are related to the large number of interactions that take place between the different species, the technical complexity for the analysis of the internal processes and the ethical considerations associated to microbiological studies in patients with periodontal disease. These difficulties have led researchers to develop in vitro systems for the formation of biofilm, which attempt to simulate the oral environment.

It is well known that periodontitis is a disease of infectious origin, but it has its own characteristics that make its etiopathogenic knowledge difficult, and consequently its treatment. Numerous advances related to the microbiological study of bacterial plaque are being carried out in recent years with the aim of optimizing therapeutic resources and offering patients predictable clinical care based on scientific evidence.

KEYS WORDS: Biofilm, periodontopathogenic bacteria, periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis*, *Alois filifactor*, periodontal diagnosis.

INTRODUCCION

La enfermedad periodontal podría definirse como un trastorno de las estructuras de soporte de los dientes, incluyendo la encía, el ligamento periodontal y el hueso alveolar por lo cual se desarrolla a partir de una gingivitis preexistente. El concepto actual sobre la etiología de la enfermedad periodontal considera tres grupos de factores que determinan si la enfermedad periodontal ocurrirá: un huésped susceptible, la presencia de especies patógenas y la ausencia de las llamadas "bacterias benéficas".

Se acepta generalmente que el biofilm oral en asociación con las bacterias anaerobias es el principal factor etiológico en la enfermedad periodontal que consiste principalmente en microbios y proteínas hospederas que se adhieren a los dientes en cuestión de minutos de un procedimiento de higiene dental. El surco gingival sano tiene una flora dominada por proporciones iguales de cocos Gram positivos, especialmente *Streptococcus* spp, y *Actinomyces*. Posteriormente, la placa "madura" resulta en una flora que consiste en microorganismos anaeróbicos facultativos, espiroquetas y varillas móviles. Las proporciones de organismos estrictamente anaeróbicos, gram negativos y móviles aumentan significativamente de acuerdo con la gravedad creciente de la enfermedad, la actividad en la enfermedad periodontal puede extenderse desde la destrucción lenta, crónica y progresiva a estallidos episódicos breves y agudos con intensidad y duración variables.

AVANCES EN LA MICROBIOLOGIA EN LA PERIODONTITIS

I. BIOFILM

Los biofilms se definen como la formación de una comunidad de microorganismos unidos a una superficie que ha llegado a ser reconocido como un complejo proceso de desarrollo que es multifacético y de naturaleza dinámica. La transición del crecimiento planctónico a biofilm se produce en respuesta a los cambios ambientales, los biofilm se caracterizan por un primer grupo de microorganismos que se unen irreversiblemente a un sustrato, y se encuentran embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares, que ellas mismas producen, además exhiben un fenotipo alterado, respecto a su tasa de crecimiento y expresión genética. Estas estructuras no son agregados pasivos de células, sino sistemas biológicos dinámicos y estructuralmente complejos. Esta forma de vida les permite sobrevivir en ambientes hostiles y ambientes oligotróficos, optimizando la captación y distribución de los nutrientes entre los individuos de la comunidad. ^(2, 3)

I.1 BIOFILM ORAL

Estas comunidades persisten en todas las superficies como biopelículas multiespecíficas y forman el microbioma oral residente, que generalmente existe en armonía con el huésped, y proporciona importantes beneficios que contribuyen a la salud y el bienestar en general. Los microorganismos encontrados dentro de estos biofilms orales viven en estrecha proximidad uno con otro, que da lugar a una amplia gama de interacciones potenciales, que pueden ser sinérgicas o antagónicas. La composición del microbioma está influenciada por el ambiente oral, la edad, la dieta, la composición y velocidad del flujo salival, además de por factores sistémicos,

y los cambios en las condiciones locales pueden afectar las interacciones microbianas dentro de estas comunidades orales y determinar, en parte, si la relación entre el microbioma oral y el huésped es simbiótica o potencialmente dañina (disbiótica), aumentando así el riesgo de enfermedades como caries o enfermedades periodontales (Roberts & Darveau 2015). ⁽¹⁾

Durante los primeros días al nacer, la boca está estéril, pero en unas horas aparecen microorganismos, principalmente *Streptococcus salivarius*, en el momento de erupcionar los dientes temporales hay una microflora compleja. Los estreptococos son los microorganismos dominantes, y el número y variedad difieren de una persona a otra. ⁽⁴⁾

Aproximadamente de un 15% a un 20% del volumen de la placa dental o biofilm oral está constituido por bacterias, mientras que el restante 85% a 80% corresponde a una matriz compuesta que consta de materiales orgánicos e inorgánicos derivados de saliva, líquido crevicular gingival y productos bacterianos. Los componentes orgánicos de la matriz incluyen polisacáridos, proteínas, glucoproteínas y lípidos e inorgánicos son calcio, fósforo, indicios de magnesio, sodio, potasio y flúor. ⁽¹⁻⁴⁻⁵⁾

El biofilm se está formando continuamente en la cavidad oral, tiene potencial patógeno y su presencia se asocia al desarrollo de caries, gingivitis, periodontitis, mucositis periimplantaria y periimplantitis. ⁽⁵⁾



Figura 1. Microfotografía electrónica de un biofilm oral obtenida mediante SEM. Se observan diferentes morfologías de bacterias orales. (BIOFILMS ORALES. DENTAID EXPERTISE, 2009 (1), Pg. 6)

I.2 FORMACION DEL BIOFILM

El proceso de formación del biofilm oral sigue una pauta de colonización llamada sucesión autogénica, en la que los propios microorganismos inducen cambios físicos y químicos locales, que a su vez modifican la placa bacteriana. La colonización bacteriana en la que participan numerosos microorganismos de distintas especies se inicia con la formación de una película de proteínas salivales compuesta por (albúmina, glucoproteínas, proteínas ricas en prolina ácida, mucinas, etc.).⁽⁵⁾ La película adquirida tiene una función principalmente protectora, también limita la llegada de productos ácidos procedentes de la descomposición de los azúcares y pueden unirse a la película otros iones inorgánicos como el flúor que favorece la remineralización, también puede contener factores antimicrobianos como IgG, IgA, IgM, complemento y lisozima. Se cree que algunos componentes salivales ayudan a formar la placa al intervenir en la aglutinación bacteriana o al actuar como sustratos nutricionales, mientras que otros bloquean la adhesión microbiana a las superficies del huésped. ⁽⁴⁾

Colonización Inicial: Esta denominada por cocos gram positivos anaerobios facultativos compuesta principalmente de Streptococcus siendo el *S. sanguis* el más destacado ⁽⁵⁾, y se forma después de haberse formado la película adquirida aparecen las primeras bacterias depositándose directamente sobre el esmalte durante las primeras horas, los colonizadores iniciales son especies de Streptococcus (*S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis*) y poco después, se unen Actinomyces (*A. viscosus*) a la película produciéndose así la colonización primaria. ⁽⁴⁾

Colonización secundaria: Los colonizadores secundarios llegan a la placa después de los colonizadores primarios y aprovechan las ventajas de los cambios en el ambiente que el crecimiento y el metabolismo de los colonizadores primarios han producido. En primer lugar, los espacios intersticiales restantes formados por las interacciones de las bacterias antes descritas se llenan de cocos gramnegativos como especies de *Neisseria* y *Veillonella*. En segundo lugar,

después de 4-7 días de formación no controlada de placas, se desarrollará gingivitis. Durante este proceso, las condiciones ambientales cambiarán gradualmente provocando más cambios selectivos, que incluyen la abertura del surco gingival como lugar de crecimiento bacteriano y el inicio del flujo de líquido crevicular gingival. ^(4,5)

A su vez los microorganismos orales tienen una tendencia natural a adherirse a otros microbios y este proceso (coadhesión – adherencia). En una superficie facilita la formación de biopelículas multiespecíficas esto aporta más nutrientes provenientes del suero y permite que otras bacterias con diferentes necesidades metabólicas entren en la placa. ⁽¹⁾ Entre las que se incluyen son los bacilos gramnegativos como especies de Prevotella, Porphyromonas, Capnocytophaga, Bacteroides, Fusobacterium y este último va actuar como puente de coagregación entre los primeros colonizadores y las especies microbianas de la colonización tardía. A los 7-11 días aumenta la complejidad de la placa por la aparición de bacterias móviles como espiroquetas y Vibrios.

Estos colonizadores secundarios también forman los principales grupos de bacterias a partir de los que posteriormente se forma la placa subgingival. Por tanto, se crea una compleja microflora que representa un equilibrio de microorganismos o un ecosistema microbiano en la superficie del diente. ^(4,5)

A medida que la placa aumenta de grosor, la concentración de oxígeno en las zonas más profundas se reduce, por lo que las bacterias aerobias van desapareciendo de esta zona, siendo sustituidas por otras con un potencial de oxidorreducción más bajo. De este modo, los organismos aerobios se localizan en las zonas más superficiales del biofilm oral, los anaerobios estrictos o menos aero tolerantes en la zona más profunda, y los estreptococos en cualquier lugar de la misma. ⁽³⁾

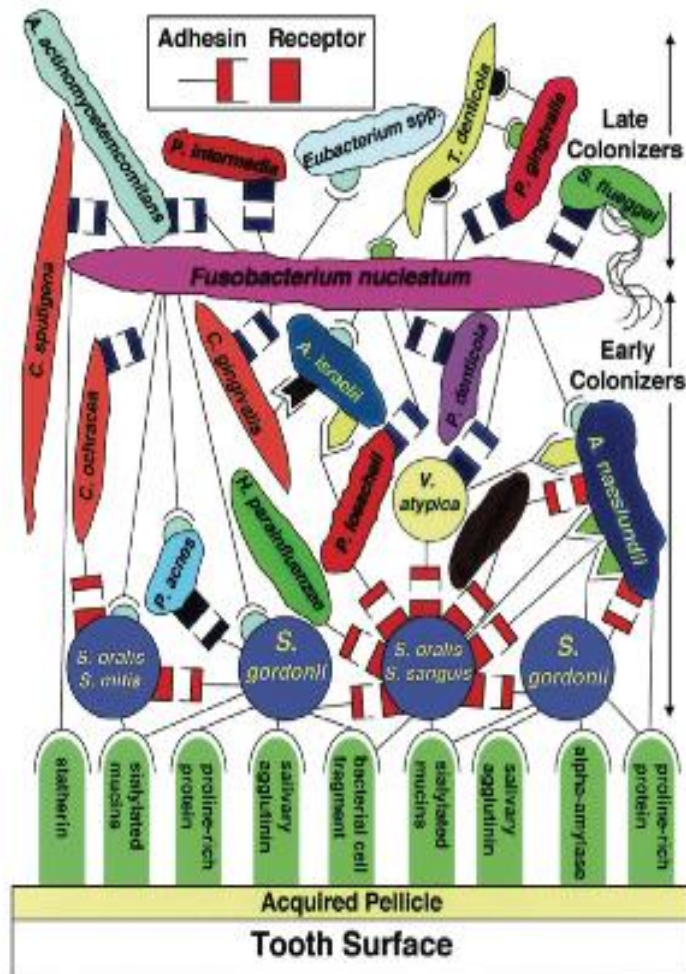


Figura 2. Modelo de colonización bacteriana. (Esquema reproducido de la American Society for Microbiology. Microbiology and Molecular biology reviews, 2002; 66(3): 486 – 505)

I.3 PROPIEDADES DEL BIOFILM

Coagregación:

Ha sido definida como el reconocimiento y la adhesión entre bacterias. Las interacciones entre bacterias ocurren a diferentes niveles como el contacto físico, el intercambio metabólico, el intercambio de material genético y el *quorum sensing*, que se define como el sistema de comunicación interbacteriana. Las interacciones bacterianas pueden ocurrir a muchos niveles, como por ejemplo el aprovechamiento por parte de algunas bacterias de metabolitos excretados

por otras; o bien el aprovechamiento de productos bacterianos fruto de la hidrólisis de ciertos sustratos por enzimas extracelulares.

Resistencia antimicrobiana:

La estructura que presenta un biofilm y los atributos fisiológicos de los microorganismos que lo componen les confieren una resistencia inherente a los agentes antimicrobianos, ya sean antibióticos, desinfectantes o germicidas. Los principales mecanismos descritos como responsables de la resistencia son: (I) dificultad del agente antimicrobiano para penetrar a través de la matriz del biofilm; (II) alteración de las tasas de crecimiento de los microorganismos que conforman el biofilm; (III) otros cambios fisiológicos debidos a la forma de crecimiento que presenta dicho biofilm.

Capacidad adaptativa:

En condiciones favorables de aporte de nutrientes y de medio ambiente, los biofilms deben mantener un equilibrio entre el crecimiento y el mantenimiento de su estructura. En condiciones desfavorables, los biofilms tienen capacidad para involucionar a estados anteriores, pero manteniendo su estructura y su adhesión a la superficie, pudiendo volver a desarrollarse cuando las condiciones mejoren. ^(3,6)

La capacidad para formar biofilm en diferentes tipos de superficies parece ser ilimitada para las bacterias. De ahí que puedan localizarse en diferentes tejidos humanos, causando muchas veces infecciones crónicas tales como endocarditis, otitis media, prostatitis crónica, fibrosis quística, periodontitis, etc. De la misma manera, se pueden establecer en válvulas cardiacas, catéteres venosos, sondas urinarias, lentes de contacto, aparatos intrauterinos y unidades dentales de suministro de agua ^(3,6)

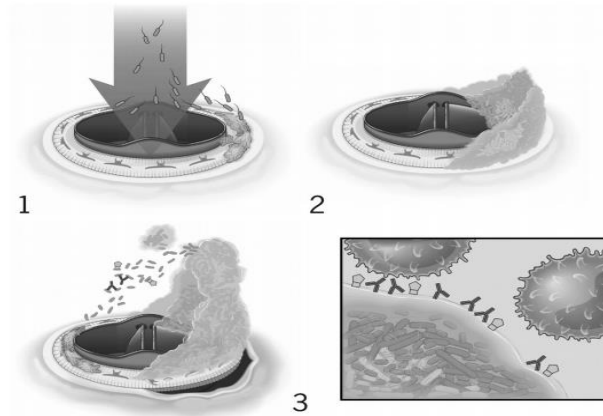


Figura 3. Hipótesis de biofilm. (1) Adherencia bacteriana. (2) Crecimiento y maduración de biofilm. (3) Biofilm recalcitrante causando inflamación persistente, dispersión de fragmentos de biopelícula causando embolización séptica, y formación de nuevo biofilm. Disponible: [http://dx.doi.org/10.1053/j.semtcvs.2015.12.005]

I.4 FACTORES ORALES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS

Fisicoquímicos:

La mayoría de los géneros y especies microbianas relacionados con el hombre crecen, se reproducen y viven en unas condiciones ambientales que permiten una cierta proliferación microbiana o simplemente la supervivencia. En los ecosistemas orales estas condiciones ambientales dependen de la humedad (agua), el pH de la saliva, la temperatura y el potencial de oxidorreducción.

El agua es un factor importante para el desarrollo microbiano en la cavidad oral, ya que en ella se realizan el intercambio de nutrientes, las reacciones metabólicas y la eliminación de productos de desecho. La disponibilidad del agua es elevada, pues es el componente principal de la saliva que baña todos los ecosistemas orales, excepto el surco gingival.

Un descenso del pH puede producirse en respuesta a la entrada de azúcares en la cavidad oral y la producción de ácidos fruto del metabolismo bacteriano. En cambio, las condiciones de ayuno y el metabolismo proteico tienden a elevarlo.

Las bacterias son susceptibles a los descensos de pH, por lo que tienden a desarrollar estrategias para tolerar los ácidos, mediante proteínas de estrés, activando la ATPasa, abriendo la puerta del lactato o inhibiendo sistemas de transporte intracelulares de hidratos de carbono. Igualmente pueden, por sí mismas, elaborar sustancias alcalinas a partir del catabolismo proteico mediante ureasas, desaminasas y otras enzimas. Aun así, es la saliva la que ejerce la función amortiguadora más importante al contener, entre otros, carbonatos, fosfatos, y proteínas ricas en histidina. ⁽⁵⁾

La caries dental se asocia con una mayor frecuencia de azúcar en la dieta consumo. Estos azúcares se metabolizan rápidamente en ácido (principalmente ácido láctico), y se genera un bajo pH dentro de la biopelícula. El lactato puede ser utilizado por *veillonellas spp.*, y otras especies, por ejemplo *Neisseria* (Hoshino y Araya 1980), *Haemophilus* (Traudt y Kleinberg 1996), *Aggregatibacter* (Brown y Whiteley 2007), *Porphyromonas* (Lewis et al. 2009) y *Actinomyces* (Takahashi y Yamada 1996), y se convierte en ácidos más débiles. ⁽¹⁾

La temperatura en la cavidad oral, los microorganismos tienen un gran poder para resistir las condiciones más desfavorables de temperatura, modificando su fisiología y activando la expresión de determinados genes relacionados con la virulencia (formación de fimbrias, producción de proteasas, síntesis de superóxido dismutasa, etc.) lo que afecta a su patogenicidad.

La cavidad oral es un ambiente especialmente anaerobio por determinantes anatómicos (las criptas de la lengua, los surcos gingivales, las fisuras y las áreas proximales de los dientes limitan

la penetración de oxígeno) y microbianos (muchas especies consumen oxígeno y generan potencial de oxidorreducción local bajo).⁽⁵⁾

Tales cambios como el aumento en el pH y la temperatura en el medio ambiente local pueden alterar la expresión génica y aumentar la competitividad de especies tales como *P. gingivalis* dentro de las comunidades microbianas (Marsh et al. 1993).⁽¹⁾

De adhesión, agregación y coagregación:

La cavidad oral es un ecosistema abierto en el que constantemente se está produciendo entrada de microorganismos asociados a los alimentos sólidos o líquidos que se ingieren. Algunos de estos microorganismos pueden quedar retenidos en zonas protegidas de la cavidad oral, pero otros tendrán que vencer las fuerzas de eliminación mediante los mecanismos de adhesión (unión entre los microorganismos y los tejidos del hospedador), agregación y coagregación (unión entre diferentes especies).⁽⁵⁾ Los microorganismos orales tienen una tendencia natural a adherirse a otros microbios y este proceso (coadhesión - la adherencia de las células planctónicas ya adjunta organismos en una superficie) facilitando la formación de especies múltiples biopelículas (Kolenbrander 2011). Además de anclar una célula a una superficie, la coadhesión también promueve las interacciones microbianas mediante la colocación conjunta de organismos junto a especies asociadas fisiológicamente relevantes, facilitando así la cooperación nutricional y las cadenas alimentarias, la transferencia de genes.⁽¹⁾

Nutricionales:

Los microorganismos orales obtienen sus nutrientes de los tejidos circundantes, de las secreciones del hospedador (fuentes endógenas), de otros microorganismos (fuentes bacterianas) y de la dieta (fuentes exógenas).⁽⁵⁾

Los nutrientes primarios de los microorganismos orales son las proteínas del hospedador y las glicoproteínas, obtenidas principalmente de la saliva para organismos en placas supragingivales y del líquido crevicular gingival. ⁽¹⁾

Los canales de agua del biofilm oral constituyen un sistema circulatorio primitivo que permiten un intercambio metabólico entre las especies bacterianas, mediante el intercambio de nutrientes y aprovechamiento por parte de algunas bacterias de metabolitos excretados por otras. El aporte exógeno más importante para las bacterias es la sacarosa, con la que sintetizan polisacáridos de reserva; su fermentación produce un descenso del pH, limitando el desarrollo de los microorganismos sensibles. ⁽⁵⁾

Otras interrelaciones nutricionales complejas se desarrollan en las comunidades microbianas cuando los productos del metabolismo de un organismo (alimentador primario) se convierten en la principal fuente de nutrientes para el otro (alimentador secundario), dando como resultado el desarrollo de las cadenas de alimentos o redes de alimentación (Hojo et al. 2009). ⁽¹⁾

Protectores del hospedador:

La superficie del diente alberga una población microbiana que no sólo vive en armonía con los tejidos del huésped, sino que también cumple una función protectora ocupando un nicho ecológico que de otro modo sería colonizado por bacterias potencialmente patógenas. ⁽⁷⁾

La saliva es la primera línea de defensa para el mantenimiento de la salud oral por su capacidad tampón, su participación en la remineralización dental y su efecto antibacteriano (Lagerlof y cols., 1994). Contiene proteínas cuya función es retener la humedad y actuar como barrera de protección de las estructuras dentarias y peridentarias, al depositarse sobre las superficies formando la película adquirida.

Proteínas como la lisozima, la muramidasa y la beta defensinas poseen propiedades antibacterianas y la lactoferrina, con capacidad para unirse fuertemente al hierro, impide la utilización de este elemento a muchos microorganismos para los que es vital. Además, la saliva también contiene proteínas inmunológicas, entre las que predomina la inmunoglobulina A, que es secretada por células plasmáticas del tejido conectivo. Dichas proteínas antibacterianas y proteínas inmunológicas, retardan el crecimiento bacteriano y el deterioro dental. ⁽⁵⁾

I.5 CONTROL DEL BIOFILM

Las estrategias de intervención que actualmente se utilizan para el control del biofilm son: (I) prevenir la contaminación inicial del dispositivo; (II) reducir al mínimo su contaminación inicial; (III) eliminar el biofilm mediante métodos físicos; (IV) cambiar recurrentemente el dispositivo (Donlan y Costerton, 2002). Si nos centramos en nuestro campo, uno de los principales utensilios que suelen verse afectados por la aparición de biofilms son las unidades dentales para el suministro de agua. Haciendo una revisión bibliográfica, no parecen encontrarse resultados concluyentes respecto a los tratamientos más adecuados para su erradicación. En algún caso se ha sugerido que el enjuague y drenaje de los conductos de estos aparatos pueden reducir la carga microbiana en los mismos. Sin embargo, varios estudios han demostrado que el lavado no es eficaz por sí solo para reducir de forma significativa la contaminación bacteriana. Mills y colaboradores consiguieron una reducción de la carga bacteriana de entre cuatro y cinco órdenes de magnitud por mililitro en muestras de conductos contaminados al ser tratados con polivinilpirrolidona yodada. No obstante, los niveles de contaminación se recuperaron 22 días después del tratamiento. Fiehn y Henriksen demostraron que el tratamiento con 0,5 a 1 ppm de cloro libre durante 10 minutos cada día reducía la carga bacteriana en dos órdenes de magnitud. Al suspender el tratamiento, la carga bacteriana aumentaba nuevamente (Fiehn y Henriksen,

1988). Finalmente Murdoch - Kinch y colaboradores encontraron ineficaz la cloración (1:10 hipoclorito de sodio) de los sistemas ya contaminados con biofilms (Murdoch - Kinch et al, 1997). El problema puede residir en el hecho de que los circuitos odontológicos presentan diámetros muy pequeños, lo cual se traduce en una razón superficie/volumen muy elevada y un flujo muy bajo. Ambas condiciones son ideales para el desarrollo de biofilms por parte de bacterias acuáticas. ⁽³⁾

II. PERIODONTITIS

La periodontitis es una enfermedad de origen bacteriano que debe entenderse como enfermedad infecciosa asociada a la presencia de las bacterias que colonizan el nicho subgingival, sin embargo la periodontitis tiene ciertas características que la hacen única. Se caracteriza por la inflamación crónica, pérdida de hueso alveolar y la destrucción de la encía y el ligamento periodontal archivos adjuntos a los dientes. Su aparición se asocia también con enfermedades sistémicas tales como la enfermedad cardiovascular, la artritis reumatoide, la enfermedad de Alzheimer. Con más de 700 especies de bacterias identificadas en la cavidad oral humana, sólo un subconjunto de estos microbios que ahora incluye especies previamente no reconocidos y, sin embargo se asocian con la enfermedad. ⁽¹³⁾

Desde el punto de vista histológico, las características que podemos hallar son bolsas periodontales, localización de la unión epitelial apical a la línea amelocementaria, una pérdida de fibras colágenas, una elevada concentración de leucocitos polimorfonucleares en la unión y bolsa epitelial, y una migración del infiltrado celular inflamatorio hacia el tejido conectivo.⁽⁷⁾

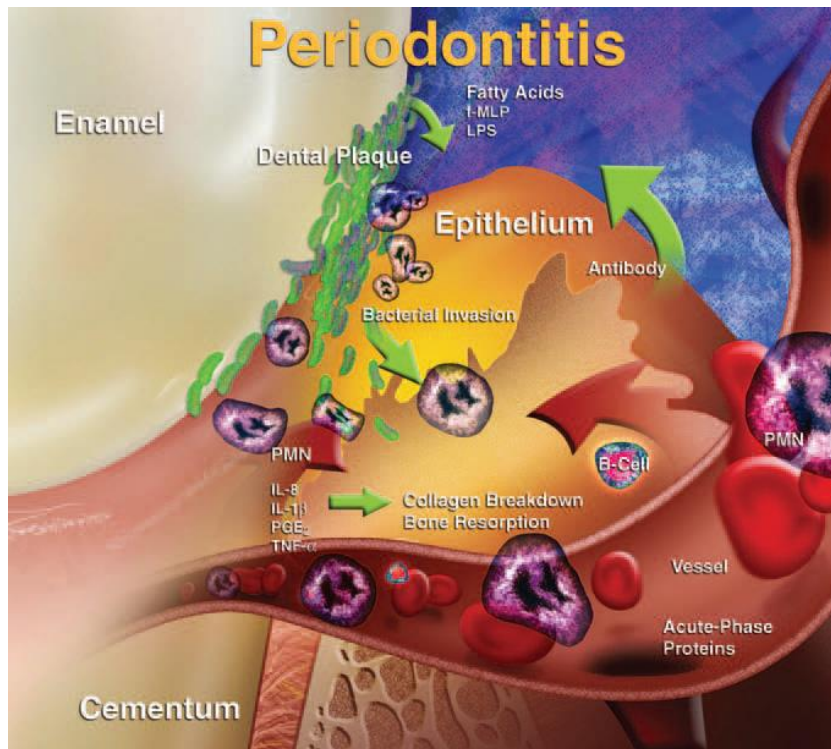


Figura 4. Periodontitis establecida (, A supplement to Compendium of continuing education in Dentistry. 2004; Vol. 25, N° 7)

II.1 ETIOPATOGENIA

El inicio parece ser después de 30 años, pero la condición también puede encontrarse en niños y adolescentes. Las cantidades de depósitos microbianos suelen asociarse con la gravedad de la enfermedad, aunque la periodontitis crónica puede ocurrir en una forma localizada y una forma generalizada, ambas formas parecen ser idénticas en su etiología y patogénesis. ⁽⁷⁾

En determinadas ocasiones, la enfermedad periodontal está relacionada con el sujeto, porque a pesar de la importancia de la placa en esta enfermedad, sólo algunas personas desarrollan una destrucción avanzada, y su progresión es continua, con breves episodios de exacerbación y remisión localizados. Por lo tanto, determinados individuos con defectos en su sistema inflamatorio o inmunitario pueden generar periodontitis; incluso, se podría llegar a demostrar cierta predisposición genética.

En conclusión, cuando se desarrolla periodontitis se debe al incremento cuantitativo específico microbiológico o al sobrecrecimiento de especies patógenas por encima de un umbral específico, y/o provocado por la reducción de la respuesta inmune del huésped, a través de causas genéticas, o ambientales, como son el tabaco, la mala higiene, determinada medicación inmunosupresora, stress, edad. ⁽⁸⁾

II.2 PAPEL DE LAS BACTERIAS EN LA PERIODONTITIS

Estudios microbiológicos realizados en los años cincuenta y sesenta no permitieron hacer una asociación entre bacterias específicas y la enfermedad periodontal, por lo tanto se pensó que la composición de la placa bacteriana era similar en todos los sujetos. En los años setenta estudios realizados sugirieron que la microbiota de la periodontitis agresivas era distinta en comparación con la gingivitis y periodonto sano por lo cual se adopta el término “hipótesis de la placa dental específica” para describir la etiología microbiana en la enfermedad periodontal.

En la década de los ochenta, *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectes*, *Fusobacterium nucleatum*, algunas especies como bacilos gram negativos son implicados en la etiología microbiana de la enfermedad periodontal.

A mediados de los noventa ciertos virus como el virus Epstein Bar – 1 y otros herpesvirus son adicionados a la lista de patógenos periodontales debido a la capacidad de afectar células del hospedador y permitir el crecimiento de las bacterias periodontopatógenas. ⁽¹³⁾

Se razonó que si la periodontitis se produce como una explosión episódica, las bacterias responsables de la enfermedad deben multiplicarse. Por lo tanto, un posible patógeno periodontal debería estar presentes en números elevados en sitios periodontales activos de

enfermedad y ausentes o reducidos en sitios que no eran activos de la enfermedad. Una prueba de esta propuesta reveló que *Campylobacter rectus* (anteriormente *Wolinella recta*), *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bacteroides forsythus* eran patógenos periodontales probables. Este estudio también sugirió que *Streptococcus mitis*, *capnocytophaga ochracea*, *Streptococcus sanguis* II, *Actinomyces* sp, Y *Veillonella párvula* se asociaron con enfermedad inactiva. ⁽⁹⁾

El estudio más importante de asociaciones de bacterias lo llevo a cabo el equipo de Socransky *et al.* En el que analizó 13261 muestras de 185 pacientes evaluando 40 especies subgingivales.

Los resultados describen 5 grupos:

- Grupo rojo: *B. forsythus*, *P. gingivalis*, y *T. denticola*. asociado claramente a condiciones clínicas con mayor grado de sangrado y profundidad de bolsa.
- Grupo naranja. formado por *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. micros*, *F. nucleatum* (subespecies *vicentii*, *nucleatum* y *polymorphum*) y *F. periodonticum*, y un grupo de bacterias asociadas a ellas, como *Eu. nodatum*, *Campylobacter rectus*, *showae* y *gracilis*, y *St.constellatus*.
- Grupo amarillo. Dentro de este grupo *St. mitis*, *oralis* y *sanguis* tienen una muy relación muy fuerte, incluyéndose también *St. gordonii*, *St. intermedius*, y otras especies de *Sterptococcus*
- Grupo verde. Con *E. corrodens*, *Capnocytophaga gingivalis*, *sputigena*, *ochracea*, *Campylobacter concisus* y *A. actinomycetemcomitans* serotipo a.
- Grupo púrpura. Solo *Veillonela párvula* y *Actinomyces odontolyticus*, muy asociados entre sí, y algo menos con los grupos naranja, verde y amarillo.
- Sin grupo. Especies sin asociaciones claras eran *A. actinomycetemcomitans* serotipo b, *Actinomyces naeslundii* 2 (*A. viscosus*), y *Selenomonas noxia*. ⁽⁸⁾

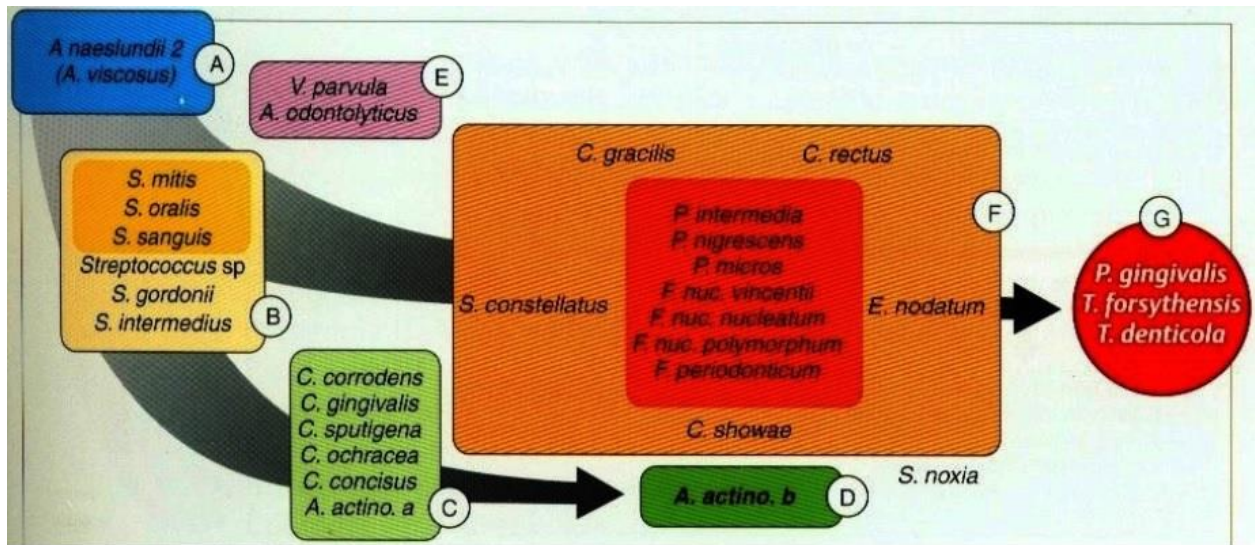


Figura 5. Desarrollo de complejos bacterianos (Herbert F. Wolf, Thomas M. Hassell. Periodoncia. Atlas a Color de Periodontología. 3ra Ed. Masson. 2005)

La (tabla 1) enumera algunas de las especies más frecuentemente asociadas con las enfermedades periodontales. Las especies asociadas con periodontitis crónica son predominantemente Gram-negativas con pocos anaerobios Gram-positivos. (7) La periodontitis agresiva es menos común que la periodontitis crónica y afecta principalmente a pacientes jóvenes, las formas localizadas y generales de la enfermedad difieren en la etiología y la patogénesis. La periodontitis agresiva localizada (LAP), comienza en el inicio de la pubertad e implica primeros molares e incisivos y exhibe muy poca placa dental, se caracteriza por una rápida pérdida de inserción y destrucción ósea en individuos clínicamente sanos mientras que la periodontitis agresiva generalizada presenta un cuadro clínico similar al LAP pero la pérdida ósea es generalizada. (7)

TABLA 1. Bacterias más frecuentes en la enfermedad periodontal

Bacterial species	Gingivitis	Chronic periodontitis	Aggressive periodontitis	
			Localised	Generalised
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (Aa)		+	+	+
<i>Campylobacter rectus</i>	+	+		+
<i>Capnocytophaga</i>	+		+	+
<i>Cryptobacterium curtum</i>		+		
<i>Eikenella corrodens</i>	+	+	+	+
Enterobacteriaceae		+	+	
<i>Eubacterium sapheum</i>		+		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	+	+	+	
<i>Micromonas (Peptostreptococcus) micros</i>		+	+	
<i>Mogibacterium (Eubacterium) timidum</i>		+		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	+	+		
<i>Porphyromonas endodontalis</i>		+		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	+	+		+
<i>Prevotella intermedia</i>	+	+	+	+
<i>Slackia (Eubacterium) exigua</i>		+		
<i>Tannerella forsythia</i>		+		+
<i>Treponema amylovorum</i>		+		+
<i>Treponema denticola</i>	+	+		+
<i>Treponema lecithinolyticum</i>				+
<i>Treponema maltophilum</i>		+		
<i>Treponema medium</i>	+	+		
<i>Treponema pectinovorum</i>	+	+		+
<i>Treponema socranskii</i>	+	+		+
<i>Treponema vincentii</i>	+	+		+
<i>Veillonella parvula</i>	+			

Charlene W.J. The Microbial Aetiology of Periodontal Diseases. Periodontal Diseases - A Clinician's Guide. Dr. Jane Manakil (Ed.). Croatia; 2012. Disponible [https://www.intechopen.com/books/periodontal-diseases-a-clinician-s-guide]

II.3 PRINCIPALES PERIODONTOPATOGENOS

Porphyromonas gingivalis

Esta bacteria, anteriormente conocido como Bacteroides gingivalis, es estrictamente anaerobia Gram negativa, la Porphyromonas gingivalis tiene una cápsula de hidratos de carbono en su

superficie exterior que impide la opsonización por el complemento e inhibe la fagocitosis y la destrucción por los neutrófilos. El lipopolisacárido que se produce no es muy fuerte, pero podría inhibir la quimiotaxis y la matanza por los leucocitos. Este organismo posee varios factores de virulencia putativos (incluyendo proteasas que degradan inmunoglobulina, complemento, fibras de colágeno, ácido hialurónico; adhesinas, endotoxinas, y citotoxinas) que pueden afectar directamente el periodonto u obtener funciones anfitrionas que resultan en el tejido gingival y daño óseo típico para la enfermedad periodontal. *Pg* expresa tres principales factores de virulencia, fimbrias y lipopolisacáridos. ⁽¹⁰⁾

Aggregatibacter Actinobacillus

Es un bacilo facultativo gram negativo no móvil, su presencia en la bolsa periodontal se asocia con preadolescentes (periodontitis agresiva localizada) y adulto con periodontitis agresiva generalizada, se informó de varios factores de virulencia dentro de ellos se destaca la leucotoxina, es la toxina más importante de hinchamiento citoletal, factores de inmunosupresión, e inhibe las funciones de los polimorfonucleares. La leucotoxina de *A. actinobacillus* podría matar leucocitos polimorfonucleares (PMN) y monocitos de sangre periférica. Así que, la respuesta inmune innata podría ser atacada directamente, la endotoxina tiene el potencial para contribuir a la destrucción del tejido. La capacidad del lipopolisacárido estimula los macrófagos para liberar interleucina IL-1, IL-1 β , y el factor de necrosis tumoral (TNF) es de gran importancia. Estas citoquinas, entre otras sus actividades, son capaces de estimular la resorción ósea. ⁽¹⁰⁾

Prevotella intermedia

Prevotella intermedia, ex *Bacteroides intermediarias*, es una bacteria gram negativa, esta especie es resistente a la fagocitosis, probablemente en virtud de su cápsula. Algunos estudios

indican que es una de los patógenos más frecuentes en la periodontitis agresiva localizada. ^(10, 29)

Fusobacterium nucleatum

Es un importante patógeno periodontal, particularmente en el comienzo de la enfermedad periodontal rápidamente progresiva. Se crea lipopolisacáridos muy fuertes, así como el ácido butírico como un producto final metabólico. ⁽¹⁰⁾

Tannerella forsythia

Conocida anteriormente como Bacteroides forsythus es un bacilo gram negativo anaerobio, posee varios factores de virulencia, incluyendo la producción de una proteasa similar a la tripsina y lipopolisacárido, tiene la capacidad de penetrar en las células huésped o inducir a la apoptosis.

⁽¹⁰⁾ La Tannerella forsythia según estudios muestra que tiene mayor presencia en aquellos pacientes con diabetes tipo 2 con moderado y mal control glicémico. ⁽²⁸⁾

Especies de Capnocytophaga

Capnocytophaga son bacilos gram micro-aerófilos negativos. Hay tres especies - C. ochracea (anteriormente Bacteroides ochracea), C. sputigena y C. gingivalis, están implicados en el comienzo de una periodontitis agresiva localizada y generalizada. Esta bacteria produce lipopolisacárido con actividad sobre el hueso alveolar, las proteasas extracelulares que podrían dañar las inmunoglobulinas. ⁽¹⁰⁾

Peptostreptococcus micros

(PM) es una bacteria anaeróbica gram positivo que está asociada con la enfermedad periodontal, así como varias otras infecciones en otras enfermedades sistémicas. En pacientes periodontales, la prevalencia de Pm fue mayor en aquellos con la enfermedad activa, que soporta un papel

etiológico de Pm en la pérdida de inserción progresiva. Este hallazgo fue apoyado en otro estudio donde Pm, *Wolinella recta*, y *Fusobacterium nucleatum* eran las únicas especies detectadas en una o más muestras de pacientes con sitios de enfermedad activa. Todos estos presentan una fuerte asociación de Pm en la enfermedad periodontal y periimplantitis. ⁽¹⁰⁾

Espiroquetas

Espiroquetas son microorganismos en forma de espiral con flagelos, ellos no están asociados con la enfermedad periodontal juvenil localizada, pero dos especies importantes como el *Treponema denticola* y *Treponema vincentii*, ellos podrían estar implicados en la enfermedad periodontal. Ambos de ellos producen un lipopolisacárido, y los productos finales metabólicos inusuales, sulfuro de hidrógeno, amoníaco, que son potencialmente tóxicos para las células huésped.

Treponema denticola está compuesta de 50% de proteínas y 31% de lípidos totales, de los cuales el 95% y el 11% son fosfolípidos y carbohidratos, respectivamente es frecuentemente aislado en los pacientes con una enfermedad periodontal, ha demostrado adjuntar a los fibroblastos gingivales, proteínas de la membrana basal, así como otros sustratos por mecanismos de unión específicas, la unión de la espiroqueta de los fibroblastos gingivales humanos como resultado de la citotoxicidad y la muerte celular debido a las enzimas y otras proteínas. (Takeuchi et al 2001) encontró que *Treponema Socransky* (Ts), Td y Pg se detectaron con frecuencia en pacientes con una enfermedad periodontal mediante la técnica de PCR en muestras de placa y saliva. También encontraron que la presencia de Ts se asoció con periodontitis, así también fue detectado con mayor frecuencia en las muestras de placa de pacientes con periodontitis agresiva o crónicas que los de sujetos sanos. Diferentes estudios han reportado la alta prevalencia del Td en pacientes sistémicamente sanos con periodontitis no tratada y buen control glicémico en un 80% - 90%. ^(7 - 10 - 28)

II.4 PAPEL DEL HUESPED EN LA PERIODONTITIS

Virus y la enfermedad periodontal:

Nuestro conocimiento de las infecciones virales ha aumentado significativamente en el último par de décadas. Los herpesvirus pueden causar enfermedad por mecanismos directos, indirectos o relacionados con la respuesta inmune, y las enfermedades van desde enfermedad subclínica o leve hasta encefalitis, neumonía y otras infecciones potencialmente letales, e incluso a linfomas, sarcomas y carcinomas. En la cavidad oral, los herpesvirus están involucrados en infecciones agudas gingivales, enfermedad periodontal destructiva, periodontitis apical, ulceraciones de mucosa, quiste odontogénico, granuloma de células gigantes, enfermedad autoinmune y diversos tipos de neoplasia. Contreras y cols. (1999) sugirieron que la presencia de herpesvirus en los sitios periodontales podría jugar un papel en la patogénesis de la periodontitis. ⁽¹¹⁾

Hallazgos recientes han comenzado a proporcionar una base para una relación causal entre el virus del herpes y la periodontitis agresiva. A saber, los virus del herpes comprenden una fuente importante para la activación en la destrucción del tejido periodontal, en los estudios de la sección transversal, los virus en la familia Herpes se han aislado de las lesiones de pacientes con periodontitis. ⁽¹⁰⁾

El herpesvirus y otros virus humanos son adquiridos a menudo en la infancia y pueden ser identificados en la cavidad oral de la mayoría de los individuos adultos (Tabla 6). Los herpesvirus emplean diversas estrategias para interactuar y subvertir las defensas del huésped para asegurar su existencia y propagación continuas. Se han detectado genomas del virus del herpes simple tipo 1, citomegalovirus humano y virus de Epstein-Barr en bolsas periodontales, saliva y células inmunitarias, Herpesvirus se han asociado con periodontitis crónica, periodontitis agresiva,

gingivitis ulcerativa necrotizante aguda y abscesos periodontales. Los herpesvirus pueden ocasionalmente estar presentes en niveles bajos en sitios periodontales sanos. ⁽¹²⁾

Hábitos:

Tabaquismo: El efecto más evidente del tabaco es la tinción de los dientes, pero en numerosos estudios se ha observado que el tabaco influye en la prevalencia y gravedad de las enfermedades periodontales (Heitz-Mayfield, 2005). Se ha investigado el efecto del tabaco en el cúmulo de placa y cálculo, inflamación y sangrado gingival, profundidad de sondaje y pérdida ósea, además de la bacteriología de la placa y las características de la respuesta hística. Hay una posible hipótesis que el efecto del tabaco tiene efectos en el crecimiento y la maduración de la placa que conducen a una mayor producción de placa o a la presencia de bacterias diferentes o más virulentas. Se realizaron estudios donde los microorganismos y productos del tabaco podrían actuar sinérgicamente para producir efectos adversos en los tejidos periodontales. (Andreou et al. 2004) han demostrado que los arilo hidrocarburos derivados del humo y el lipopolisacárido (LPS) bacteriano pueden actuar de forma aditiva para inhibir la formación ósea que, en parte, puede explicar por qué la pérdida de hueso periodontal es mayor y la regeneración ósea es menos satisfactoria en fumadores que en no fumadores con infecciones periodontales. ⁽⁴⁾

En estudios actuales se comprueban que el paciente fumador puede estar asociado con una supresión de la función de las células B y una alteración en la supresión de inmunoglobulinas, produciendo una alteración del sistema inmune. Existe evidencia científica que demuestra que la respuesta inflamatoria gingival es reducida en fumadores, revelando menores localizaciones con sangrado al sondaje. El aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias (IL-4 aparte) en pacientes fumadores, añade evidencia sobre los efectos del tabaco en la enfermedad periodontal. Existe evidencia científica que el tabaco es un factor determinante en la composición

de la microflora en pacientes con periodontitis, seleccionando un cluster específico de patógenos compuesto por Bf, Pm, Fn y Cr. ⁽⁸⁾

Estrés y/o Depresión

Se propone una asociación entre el estrés emocional, la depresión y la periodontitis a través de estudios como los de Heckmann et al, en los que se ha observado una mayor pérdida de inserción y ósea en individuos que sufren estrés. El papel del estrés puede actuar tanto en la respuesta del huésped como a nivel del cambio del comportamiento del paciente: mayor consumo de tabaco, menor dedicación a la higiene y control de placa. ⁽⁸⁾

II.5 TRANSMISION DEL AGENTE ETIOLOGICO

Cabe la posibilidad de que la periodontitis como enfermedad infecciosa que es, pueda transmitirse entre sujetos, como ocurre con la gripe, la mononucleosis, o cualquier infección en la que el agente etiológico pueda colonizar un nuevo individuo a partir de otro previamente infectado. El origen de la transmisión de patógenos reside en la saliva. Es posible constatar la presencia de patógenos periodontales en la saliva de pacientes con periodontitis, de manera que es posible que ésta actúe de vehículo de transmisión y traslade las bacterias desde el individuo portador a su pareja. El análisis del DNA de las bacterias, ha hecho posible observar si las bacterias provienen de una misma cepa o de cepas distintas. En un estudio se demostró que, las parejas de algunos individuos portadores de *P. gingivalis* poseen asimismo esta bacteria en su placa bacteriana. Por otra parte, al estudiar el DNA de *P. gingivalis* en ambas partes de la pareja, se ha visto que el DNA de las bacterias de un porcentaje elevado de pacientes con periodontitis resulta prácticamente indistinguible del de sus respectivos cónyuges. Lo que por el momento se desconoce es el alcance clínico real de la transmisión de patógenos, ya que en ocasiones, a pesar de poseer el agente infectante, las parejas de los pacientes con periodontitis no desarrollan

la enfermedad. Esto puede ser atribuido a la respuesta del huésped, a sus mecanismos de defensa frente a las bacterias, aunque pudiera ser que en realidad se debiera a una menor capacidad infectante de las bacterias.

También se realizaron estudios entre padres e hijos por lo cual demostraron que había cierta correlación entre los individuos de la familia; de hecho se ha determinado la presencia del *A. actinomycetemcomitans*, en el cual aparece de forma agresiva en jóvenes, por lo cual en algún momento de la infancia haya habido algún contacto con un padre infectado. Hubo estudios donde se realizó estudios donde se buscaba la transmisión entre distintas especies, como un caso en 1988 donde describía la posibilidad de que los perros actuaban como vectores de infección. Con estos estudios queda demostrado de que determinadas bacterias puedan ser capaz de vencer a los mecanismos defensivos del huésped. ⁽¹²⁾

III. TECNICAS MICROBIOLÓGICAS

Hoy en la actualidad tanto el diagnóstico clínico y radiológico han sido durante mucho tiempo las técnicas rutinarias para plantear el diagnóstico de los pacientes con periodontitis, la posibilidad de que los tejidos periodontales estén colonizados por bacterias de origen exógeno cambia mucho el plan de tratamiento, ya que introduce la necesidad de combinar el tratamiento convencional con el tratamiento antibiótico, lo cual hace necesaria la incorporación de las técnicas de diagnóstico microbiológico para así saber a qué especies bacterianas vamos a enfrentarnos. Las técnicas empleadas hoy para el diagnóstico microbiológico permiten acotar cada vez más las bacterias implicadas en cada caso de periodontitis, sin embargo, todavía no se conoce la manera en que cada una de ellas interactúan con el hospedador para dar paso a la

enfermedad y, al mismo tiempo, todavía hoy existen especies bacterianas que no pueden ser diagnosticadas por los métodos de rutina. ⁽¹²⁾

¿Cuándo emplear el diagnóstico microbiológico en Periodoncia?

Son varios los métodos desarrollados para el diagnóstico microbiológico en los últimos tiempos. Sin embargo, el objetivo perseguido por ellos puede variar en algunos casos, ya que en ocasiones se emplean exclusivamente con finalidad investigadora mientras que, en otros casos, han sido modificados y adaptados a las necesidades clínicas.

TABLA 2. Comparación de las diferentes técnicas empleadas en periodoncia
Para la detección de microorganismos orales

CARACTERÍSTICAS	MICROSCOPIA	SONDAS DNA	INMUNO-DX	PCR	CULTIVO
Identificación de microorganismos específicos	-	+	+	+	+
Determinación de la proporción de los microorganismos en una muestra	+/-	-	-	+/- *	+
Microorganismos viables	-	-	-	-	++
Sensibilidad	-	++	+	+++	++
Sensibilidad antibiótica	-	-	-	-	+
Especificidad	-	+++	++	+++	+
Dificultad de la técnica	-	+	+	++	-

Las cruces muestran los diferentes grados de valor, a mayor número de cruces mejor será la característica (Escribano M, Matesanz P, Bascones A. Pasado, presente y futuro de microbiología de la periodontitis. Av Periodon Implantol 2005; 17 (2): 79 – 87)

Cultivo bacteriano

A pesar del avance del resto de técnicas, el cultivo sigue siendo el método de referencia (gold standard) para el diagnóstico microbiológico, ya que sirve para determinar la presencia de las diferentes especies bacterianas, así como para valorar las susceptibilidades de éstas a los

distintos antibióticos. Esta técnica se basa en la identificación de las características de las colonias que crecen en agares selectivos (agar sangre con hemina y menadioma o agar tripticasa de soya con Bacitracina y Vancomicina TSBV, específicas para cada especie microbiana) por otra parte esta técnica con el uso conjunto de pruebas de luz UV (ultravioleta) y pruebas bioquímicas como la catalasa, el CAAM (detección de actividad de tripsina) y el MUG (hidrolisis de lactosas) permite estimar el número total de bacterias aisladas y una determinación más aproximada del tipo de microorganismo.

Para la toma de la muestra microbiológica se emplean puntas de papel estériles #30 insertada por 15 segundos en la bolsa periodontal, previa eliminación de la placa supra gingival. Luego se colocan en un vial con tapa rosca que contiene medio de transporte VMGA III (transporte reducido que mantiene la viabilidad de los microorganismos anaerobios hasta por tres días) que será procesado en la próximas 24 hrs ; no obstante el tiempo que transcurre entre la toma de muestra y su procesado es crucial ya que autores como (Ali y otros) mostraron que después de transcurridas 24 horas las proporciones de los microorganismos anaerobios puede disminuir por el sobre crecimiento de bacilos entéricos gram negativos en el medio de transporte. Toda muestra que llegue después de 48 horas deberá ser descartada y tomada nuevamente.

Como desventajas requiere personal con entrenamiento adecuado en la identificación visual de las colonias de los microorganismos, cabe destacar la dificultad para mantener la viabilidad de las bacterias tras la toma de muestras, sin la cual se hace imposible el cultivo, Además, existen bacterias íntimamente relacionadas con la etiología de la periodontitis que no son cultivables y, por tanto, no detectables por medio de esta técnica, como *T. denticola* y *T. forsythensis*. ^(12,13)

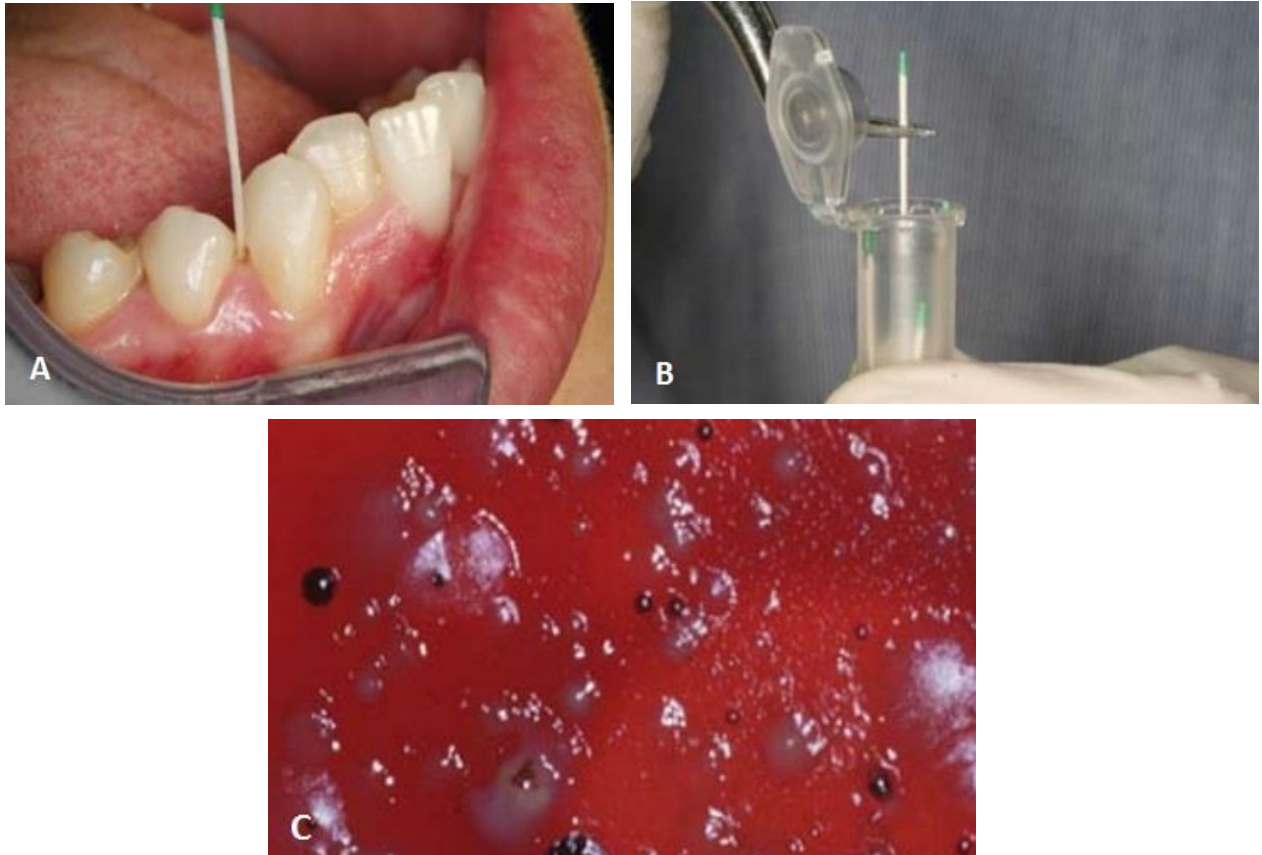


Figura 6. Pasos de un cultivo bacteriano: A) Puntal de papel introducido en el surco gingival para el cultivo; B) Medio de transporte específico TSBV; C) Placa agar sangre con crecimiento de bacterias periodontopatógenas. (Javier B, Roger A, Adriana J, Adolfo C. Diagnóstico microbiológico: su importancia en el tratamiento y pronóstico periodontal. Rev Fac Odont Univ Ant 2003; 14 (2): 41 – 50.

Microscopia de luz

La microscopia de contraste de fase y campo oscuro fueron empleados durante varias décadas para evaluar la composición microbiana de la placa bacteriana, este método ofrece información sobre la morfología y motilidad de los microorganismos. Si bien este método puede mostrar grandes cambios en cuanto a la maduración y composición microbiana de la placa bacteriana su utilidad es limitada debido a que no identifica especies involucradas. Este método también presenta desventajas como la incapacidad para detectar la mayoría de patógenos periodontales,

no permite establecer el progreso de la enfermedad periodontal y no permite determinar la sensibilidad antibiótica de la microbiota subgingival. ⁽¹³⁾

Métodos de diagnósticos inmunológicos

Dentro de este grupo pueden destacarse varias técnicas como la inmunofluorescencia directa, la inmunofluorescencia indirecta, la citometría del flujo, la aglutinación por látex, y el test de E.L.I.S.A (enzyme-linked immunoabsorbent assay). Todas estas técnicas nos sirven tanto para establecer la naturaleza de las bacterias que forman el biofilm como para calcular los porcentajes en que están presentes, además cuentan con una sensibilidad y especificidad ligeramente superior a las del cultivo. Sin embargo, a diferencia de la anterior, no sirven para evaluar las susceptibilidades bacterianas. ^(12,13)



Figura 7. Placa de Elisa, con anticuerpos específicos para reacción colorimétrica. (Javier B, Roger A, Adriana J, Adolfo C. Diagnostico microbiológico: su importancia en el tratamiento y pronostico periodontal. Rev Fac Odont Univ Ant 2003; 14 (2): 41 – 50.

Técnicas moleculares

Las pruebas moleculares para la detección de microorganismos se basan en que estos poseen un material genético (ARN o ADN) que es único para cada microorganismo. Se han desarrollado técnicas que emplean sondas de ADN marcadas con fluorocromos o isotopos radioactivos que hibridizan con las cadenas de ácido nucleico de las bacterias a detectar, dando un resultado colorimétrico. De esta forma se pueden detectar hasta 10 microorganismos en una muestra intraoral. Una ventaja de esta técnica es que permite discriminar entre cepas o serotipos de un mismo microorganismo, pudiendo identificar aquellos con mayor potencial de virulencia como es el serotipo B de *A. actinomycetemcomitans* que ha sido relacionado con la progresión de las formas agresivas localizadas de periodontitis.

El RCP o reacción en cadena de la polimerasa (PCR en inglés por Polymerase Chain Reaction) es un método muy versátil para la detección de microorganismos periodontopatógenos e incluso virus en muestras obtenidas de bolsas periodontales. Esta técnica permite amplificar secuencias específicas de ADN para cada bacteria, ADN o ARN para los virus y de esta forma detectar la presencia del material genético de un microorganismo, indicando su presencia en la muestra. Una gran ventaja es que tiene una alta sensibilidad y arroja resultados en menos de 48 horas, permitiendo detectar hasta 50 células de un organismo. Se han desarrollado técnicas específicas de RCP cuantitativo que permite cuantificar proporciones de *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *A. actinomycetemcomitans* y gracias a su rapidez y sensibilidad son de gran utilidad en los estudios epidemiológicos.

Estas técnicas moleculares son costosas y deben efectuarse por parte de personal capacitado, con reactivos y equipos especializados, una de las limitaciones de la RCP es que las muestras de organismos viables o no viables se ve limitado por falsos positivos en especial en técnicas ultrasensibles no cuantitativas como el RCP. ^(12,13)



Figura 8. Programador de tiempos y temperaturas para realizar los ciclos de la amplificación por PCR (Javier B, Roger A, Adriana J, Adolfo C. Diagnostico microbiológico: su importancia en el tratamiento y pronostico periodontal. Rev Fac Odont Univ Ant 2003; 14 (2): 41 – 50)

III.1 LA BOCA ARTIFICIAL: UNA GRAN HERRAMIENTA PARA LA INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA ORAL

No fue hasta mediados del siglo XX cuando Dietz y Pigman diseñaron modelos más parecidos a lo que hoy conocemos como boca artificial. Ellos fueron los primeros en obtener modelos para el estudio de las lesiones cariosas tempranas e incluso fueron pioneros en la evaluación de agentes anticaries. En sus experimentos incorporaron mediciones de pH y temperatura, así como modelos que alternaban fases de reposo con fases dinámicas que se asemejaban lo máximo posible a lo que ocurre alrededor de los dientes. Sin embargo, tenían muchas limitaciones y sus resultados no eran fácilmente reproducibles.

En 1991, el grupo de Sissons presentó un modelo de boca artificial asistido por ordenador mucho más completo y que de forma estandarizada permitía el crecimiento de múltiples biofilms controlando las condiciones de pH en todo momento, así como el suministro de nutrientes, gas y otros elementos. ⁽¹⁴⁾

III.1.1 DESARROLLO DE BIOFILMS

Uno de los primeros modelos en ofrecer un método menos complejo y más reproducible para desarrollar biofilms multiespecies supragingivales fue el creado por el grupo de investigación del doctor Guggenheim. ⁽¹⁵⁾ Los biofilms se desarrollaron en discos de hidroxiapatita inmersos en pocillos de microplacas a los que se les iba cambiando el medio. Éstos se incubaban durante varios días en condiciones controladas de temperatura, oxígeno y nutrientes. Además, se podían probar antisépticos por un espacio corto de tiempo, como ocurre con los productos de higiene oral. Una vez obtenidos los biofilms, se analizaban mediante técnicas de cultivo, tinción de vivas y muertas, y microscopía óptica de láser confocal.

Para el desarrollo de biofilms subgingivales, dos grupos de investigación españoles, el grupo de investigación ETEP de la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y el grupo de investigación DENTAID Research Center(DRC) de DENTAID— diseñaron un modelo mediante seis especies bacterianas como representantes de los diferentes tipos de colonizadores existentes en un biofilm maduro: iniciales, tempranos, secundarios y tardíos. ⁽¹⁶⁾ Los biofilms se desarrollaron en discos de hidroxiapatita bañados en saliva e inmersos en pocillos de microplacas a los que se les iba cambiando el medio de forma periódica.

En este caso, la estructura y la composición de los biofilms se analizaron mediante microscopía óptica de láser confocal junto con tinción fluorescente. Además, utilizando técnicas moleculares basadas en la digestión del DNA mediante enzimas específicas, se determinó la aparición

sucesiva de las especies colonizadoras y se establecieron picos de vitalidad y de grosor de los biofilms crecidos entre cuatro y seis días.

Más adelante, el mismo grupo diseñó un sistema en flujo para la formación de biofilms multiespecies que mejoraba sustancialmente al modelo anterior.⁽¹⁷⁾ Consistía en utilizar un biorreactor para hacer crecer los seis tipos de especies bacterianas mencionadas anteriormente en unas condiciones de pH, temperatura y nutrientes similares a las de la boca y crear un sistema en flujo por el cual el medio de cultivo se desplazaba por un dispositivo que albergaba discos de hidroxiapatita previamente bañados en saliva. Sobre esos discos crecían los biofilms y éstos se iban analizando en el transcurso del tiempo. Las técnicas que se utilizaron para analizar los biofilms fueron microscopía electrónica de barrido, microscopía óptica de láser confocal junto con tinción de vivas y muertas, y cultivo en placa.

III.1.2 USOS DE LA BOCA ARTIFICIAL

En definitiva, la boca artificial resulta una herramienta muy útil para el estudio de los biofilms que más se asemejan a los que se forman en la boca en condiciones normales. Gracias a ella se pueden comprender mejor los procesos de formación de los biofilms relacionados con las dos patologías más importantes de la cavidad bucal: la caries y las enfermedades periodontales.

Así, para la caries se pueden construir modelos *in vitro* sobre dientes naturales que reproduzcan lo que ocurre alrededor de los dientes cuando crecen biofilms cariogénicos. Es bien conocida la participación del *S. mutans* en los procesos cariosos, pero existen otras bacterias que también pueden estar asociadas a las caries, y su estudio puede mejorar el conocimiento de la enfermedad y las estrategias para combatirla.

En el caso de las enfermedades periodontales, la secuencia de formación del biofilm es esencial para entender el papel de los distintos colonizadores en el tiempo. Además, se podría entender

mejor la estructura de los biofilms patogénicos y cómo interactúan entre sí las distintas especies que los componen. Finalmente, y no menos importante, es el estudio de los antisépticos destinados a eliminar o controlar las bacterias relacionadas con las caries, las enfermedades periodontales e incluso con la halitosis. En este ámbito, la boca artificial nos puede resultar de gran ayuda para valorar la efectividad de los distintos agentes antimicrobianos que se utilizan en la cavidad bucal. (16,17)



Figura 9. Biorreactor utilizado para el crecimiento de los biofilms en el sistema de boca artificial. (DENTAID EXPERTISE. LA BOCA ARTIFICIAL DE DENTAID UNA REVOLUCIÓN EN INVESTIGACIÓN BUCODENTAL 2013; n° 18)

IV. NUEVOS PATOGENOS PERIODONTALES

Debido al desarrollo de métodos de identificación microbiana mejorada, utilizando muestras clínicas ha confirmado la importancia de las bacterias periodontales clásicos en la enfermedad y ha permitido para la detección de numerosos comensales recién identificados y potencialmente especies patógenas que son relevantes para el establecimiento de la enfermedad, el desarrollo y la progresión. Varios de estos organismos recién identificados, destacan el *Fastidiosum Fretibacterium*, *Alocis Filifactor*, y *Eubacterium* especies, *Selomona sputigena* ahora son considerados como patógenos periodontales. Esta nueva aparición de bacterias es el resultados de varios estudios de asociación que usaron diferentes técnicas microbiológicas para identificar nuevos agentes patógenos periodontales para evaluar las relaciones entre composición de la placa, los metabolitos salivales, y los parámetros clínicos periodontales en un modelo de crecimiento biofilm excesivo. Por lo tanto, el papel de estas especies en el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal requieren más investigación. ^(18,19)

IV.1 FILIFACTOR ALOCIS

Es así que el *Alocis Filifactor* fue Aislado por primera vez en 1985, en el surco gingival como *Alocis Fusobacterium*. A través del análisis filogenético que más tarde llevo un su reclasificación de como *Alocis Filifactor* (1999). *F. alocis* es una bacterias Gram-positiva, sacarolítica y anaerobia, al igual que *P. gingivalis* y *T. denticola*. Su alta incidencia en la bolsa periodontal ha generado importancia en el desarrollo de la enfermedad infecciosa. ⁽²¹⁾

F. alocis También se ha descubierto en los canales de los dientes de raíz llenas con lesiones periapicales y está asociado con signos y síntomas de las infecciones endodónticas. También se

ha identificado como uno de los filotipos prevalentes en los casos de fracaso del tratamiento endodóntico. Hay pruebas documentadas de que *F. alocis* está asociada con periimplantitis. Tamura et al; han demostrado que el surco alrededor de los implantes orales con periimplantitis alberga altos niveles de bacilos gram-positivos anaerobios sacarolítica (AAGPRs) que incluye *F. alocis* que es uno de los más destacados en que el medio ambiente. En conjunto, estos estudios implican *F. alocis* como uno de los pocos organismos asociados con múltiples infecciones orales.

(22)

Los factores de virulencia

F. alocis parece tener propiedades únicas, tales como la resistencia al estrés oxidativo con su crecimiento estimulado bajo estas condiciones y genes que codifican para una vía metabólica de aminoácidos bien desarrollado que puede permitir colonizar y sobrevivir con otros patógenos periodontales tradicionales en el entorno de la tensión de la bolsa periodontal. Estas propiedades únicas de *F. alocis* además de su capacidad para interactuar con otras especies microbianas la formación de una relación sinérgica polimicrobiana puede mejorar su capacidad invasiva y causar inflamación crónica en condiciones adversas incluyendo fluctuaciones en la disponibilidad de nutrientes, temperatura, pH y la tensión de oxígeno imperante. Además, un impacto de *F. alocis* es su capacidad para inducir citoquinas pro inflamatorias que desencadenan la apoptosis de las células epiteliales gingivales. Otras interacciones con el huésped han disparado en *F. alocis* la regulación al alza de varias proteínas (por ejemplo, proteasas, proteínas implicadas en sistemas de secreción y proteínas con motivos de anclaje de la pared celular). En conjunto, estas observaciones implican específica *F. alocis* que pueden ser de importancia en el proceso patogénico. (20)

La colonización del *F. alocis* con otros patógenos periodontales sugiere que Filifactor podrían estar involucrados en los eventos de congregación que tienen lugar durante el establecimiento y la maduración de las biopelículas y que se cree que desempeñan un papel crucial en la formación de biopelículas. Al igual que el grupo treponemas, *F. alocis* predominantemente coloniza el tercio apical y medio de los portadores y podría sólo casualmente ser detectado en el tercio cervical. Lo más interesante, el organismo se instala preferentemente en el lado del tejido soporte frente a los tejidos blandos. ⁽²²⁾

Co-existencia, la sinergia polimicrobiana y la formación de biopelículas

La composición bacteriana oral varía durante la progresión de la enfermedad periodontal a partir de un biofilm son factores iniciador primario de la enfermedad periodontal que implica la formación de biopelículas. Mientras que algunas interacciones entre especies puede inhibir la formación de biopelículas, la *P. gingivalis* co-cultivadas con *F. alocis* mostraron aumento significativo en la formación de biopelículas. Esta capacidad de formación de biofilm puede ser debido a la capacidad de ambas especies de autoagregado y expresar componentes únicos. Esto podría indicar una relación de comensalismo entre *F. alocis* y *P. gingivalis*. Así, *F. alocis* y *P. gingivalis*, cada uno con diferentes tasas de crecimiento, podría formar un biofilm de especies mixtas y coexistir, como resultado, *F. alocis* podrían permitir *P. gingivalis* a proliferar y difundir a partir de estas biopelículas, facilitando así su virulencia. ⁽²⁰⁾

Prevalencia en la enfermedad periodontal

Se usaron técnicas basadas en el ADN utilizando hibridación para investigar la prevalencia de *F. alocis* en sujetos con GAP, PC, y en un grupo de sujetos resistentes a la periodontitis (PR).

Además, se empleó una técnica de hibridación in situ fluorescente (FISH) para analizar la disposición espacial y la función de *F. alocis* en las bolsas periodontales. En los últimos años, recientemente el *F. alocis* se detectó en números elevados en pacientes con PC con deterioro periodontal en comparación con los pacientes con una condición periodontal estable y por lo tanto fue propuesto como un marcador potencial para la enfermedad activa.

Debido a la alta presencia del organismo en pacientes del 77,8% en pacientes GAP y en el 76,7% de los que sufren de PC que sugiere una convincente participación de *F. alocis* en la enfermedad periodontal. Filifactor Alocis es el tercero más frecuente para GAP y el segundo más frecuente para los pacientes con PC y por lo tanto se consideran clave en la enfermedad periodontal. ⁽²²⁾

(Lafer Sch et al) investigaron la epidemiología de *F. alocis* en las Bolsas periodontales y analizaron la distribución espacial y la función del organismo en las biopelículas subgingivalmente cultivados. Estos estudios Llegaron a la conclusión de que El *F. alocis* contribuye en la patogenicidad del biofilm presente en la inflamación periodontal y puede considerarse un organismo marcador para la enfermedad periodontal. ⁽²¹⁾

Sin embargo, la relevancia de *F. alocis* está apoyado por varios otros estudios epidemiológicos realizados en los últimos años usando técnicas basadas en el ADN. *F. alocis* se detectó en los pacientes con GAP, así como en pacientes con PC con tasas de prevalencia varía entre 45 % y 90 % , en función de los métodos empleados. ⁽²²⁾

Schlafer et al. También investigaron la prevalencia de *F. alocis* en Relación a la Profundidad del sondaje. Las Zonas se dividieron en cuatro Grupos (I: 1-3 mm, II: 4-6 mm, III: 7-9 mm, IV:> 9 mm). Encontraron porcentaje ligeramente mayor de *F. alocis* en el grupo III que en el grupo II en Pacientes con GAP y PC. ⁽²¹⁾. Algunos estudios mostraron que había crecimiento activo después

de la terapia periodontal no quirúrgico. En una prevalencia, 33% y 53% había crecimiento activo de *P. gingivalis* o *F. alocis*, respectivamente. Además, la evidencia sugiere que el uso de antibióticos puede no tener un efecto tan grande sobre la respuesta a la terapia periodontal no quirúrgico en comparación con la composición de la microbiota oral antes de tratamiento. ⁽²³⁾

IV.2 FRESUBACTERIUM FASTIDIOSUM

Es una cepa del synergistales phylum descrito por (Jumas-Bilak et al., 2009), se aisló de la cavidad oral por medio de enriquecimiento de colonias de hibridación dirigida y co-cultivo con otras bacterias orales asilándose de la bolsa periodontal. La cepa sigue dependiendo de la estimulación por otras bacterias orales para el crecimiento en cultivo que hace de caracterizaciones fenotípicas difíciles. Es susceptible a la amoxicilina, ampicilina, cefadroxil, cloranfenicol, metronidazol y penicilina, moderadamente susceptibles a la eritromicina, gentamicina, vancomicina y resistente a la bacitracina, la ciprofloxacina, trimetoprima.

Es una bacteria anaeróbica gram negativa móvil, bacilos curvados, requiere la estimulación de una cepa *Fusobacterium* (*Fusobacterium nucleatum* sub sp). para un buen crecimiento, tanto en placas de agar y en caldo de cultivos. La temperatura óptima de crecimiento es 37°, con un crecimiento mínimo en 25 ° y 42 °. El pH óptimo para el crecimiento es 6-7, con un crecimiento mínimo a pH 8 y no crecimiento a pH 5 o pH 9. ⁽²⁴⁾

IV.3 EUBACTERIUM ESPECIES

Se han presentado varios informes sobre el aislamiento de las especies de *Eubacterium* en las infecciones orales, pero debido a que en general son de crecimiento lento y tienen exigencias nutricionales, no se han estudiado ampliamente. De hecho en varios estudios de la microbiota asociada con la enfermedad periodontal, las especies de *Eubacterium* no se mencionan en

absoluto, mientras que en otras en las que se han aislado, no se ha hecho ningún intento de especiación. No obstante, (Moore et al). Descubrieron que *E. brachy*, *E. nodatum*, *E. timidum*, *E. alactolyticum*, *E. sahurreum* y 17 taxones no nombrados constituían una proporción significativa de la microbiota subgingival en periodontitis crónica y agresiva generalizada. (Wade et al) encontró que las especies de *Eubacterium asaccharolíticas* comprenden el 10,8 por ciento de la microbiota subgingival en la periodontitis avanzada, mientras que las tasas de aislamiento más altas han sido reportadas por Uematsu y Hoshino , que encontraron que el género constituía el 54 por ciento de la microbiota anaeróbica de las bolsas periodontales . *Eubacterium spp*, También fueron aisladas en número de sitios afectados en periodontitis juvenil donde, cuando estaban presentes, se encontró que comprendían el 10,2% del aislado. Además, las especies de *Eubacterium* están regularmente aisladas de dentina cariada, infecciones endodónticas y peri-apicales, se ha demostrado que el *Eubacterium C₁*, uno de los taxones todavía no mencionado, está fuertemente asociado con los abscesos dentoalveolares.

Aspectos taxonómicos

La secuencia de rRNA 16s ha confirmado que *E. brachy*, *E. nodatum*, *E. timidum* y *E. saphenum* se encuentran en una rama profunda de los gram positivos G + C bajos con algunos miembros del género *Peptostreptococcus* como sus parientes más cercanos. Dos taxones no nombrados se agrupan por separado y en otro lugar entre este grupo que incluye las especies clostridiales. Debido a que las especies de *Eubacterium* están relacionadas con los géneros *Clostridium* y *Peptostreptococcus*, en sí dos géneros de considerable incertidumbre taxonómica, se aconseja precaución antes de crear una serie de nuevos géneros que pueden necesitar ser revisados en una fecha posterior.

IV.4 SELONOMONAS SPUTIGENA

Es bacteria anaeróbicas gram negativa, no formador de esporas de bacillus en la placa dental, la microflora subgingival de la periodontitis crónica y agresiva generalizadas exhibió una mayor proporción de Selenomonas sp. Todavía es necesario identificar su papel etiopatogénico en enfermedades periodontales ya que no hay una información disponible acerca de su número absoluto , proporciones para distinguir los sitios sanos y enfermedades, su respuesta al tratamiento, así como también los productos bacterianos involucrados en la colonización de la cavidad oral y los mecanismos de inducción de la destrucción del tejido son desconocidos. Las técnicas moleculares han superado muchas limitaciones de los métodos de cultivos microbianos. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (PCR) puede detectar menos de 10 *S. sputigena*. La identificación de *S. sputigena* ahora se hace fácil mediante el diseño de secuencias específicas de especie de las secuencias de ADNr 16S.

El rol de *S. sputigena* está bien establecida en la periodontitis agresiva, su papel en la periodontitis crónica todavía no está claro. Hay escasa literatura disponible sobre su prevalencia en la periodontitis crónica.

S. sputigena se han detectado en las bolsas periodontales, pero no en los surcos gingivales sanos usando PCR sugiriendo que podría tener el potencial de estar involucrado en la patogénesis de periodontitis. Los niveles de prevalencia que han sido determinados en diferentes estudios varían considerablemente. Mientras que algunos autores concluyeron altas tasas de prevalencia entre el 70% y el 100% para diferentes Selenomonas aisladas y serotipos. Otros grupos encuentran la prevalencia sea inferior al 30% en ambos periodontitis crónica y periodontitis agresivas generalizadas. ⁽²⁶⁾

V. MICROBIOLOGIA PERIODONTAL EN AMERICA LATINA

BRASIL

Brasil es el país latinoamericano líder en la investigación de la microbiología periodontal y el *A. actinomycetemcomitans* en la enfermedad periodontal grave ha sido un tema particularmente importante de estudio. En la periodontitis crónica, la prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* periodontitis fue del 18% con un predominancia de biotipo II.

Las bacterias del complejo rojo (*P. gingivalis*, *T. parasyntia* y *T. denticola*) se encuentra en niveles elevados en pacientes latinoamericanos con periodontitis y periimplantitis. Los implantes dentales pueden albergar bacterias relativamente únicas, pero también pueden compartir la microbiota de la periodontitis. Faveri et al. Sugirieron que dorso de la lengua actúa como un reservorio de bacterias periodontopáticas y puede ser una fuente de transmisión microbiana y recolonización de sitios periodontales. ⁽³⁰⁾

(Yang et al. 2004) los datos apoyan la noción de que *A. actinomycetemcomitans* es un patógeno importante en la etiología de periodontitis agresiva localiza (LAP). Esta especie fue más prevalente y presente a niveles y proporciones mayores en sujetos con LAP en comparación con los sujetos periodontalmente sanos. ^(28,29)

Estudios realizados en Brasil han examinado la relación microbiana entre la enfermedad periodontal y enfermedades sistémicas. *Helicobacter pylori*, que está implicado en la úlcera gástrica y cáncer gástrico, se puede recuperar a partir de la saliva y de la placa supragingival y subgingival, lo que sugiere que la cavidad oral puede servir como un depósito para el organismo, la presencia de bacterias no orales en sitios periodontales puede estar relacionado con la inmunosupresión, la malnutrición, las malas condiciones sanitarias, o un uso indiscriminado de antibióticos. Los resultados aquí presentados indican que la sub- microbiota gingival de los

brasileños con periodontitis crónica son similares a las especies bacterianas predominantes en la microbiota de los adultos en las poblaciones en todo el mundo. ⁽³⁰⁾

V.1 EL FUTURO DE LA MICROBIOLOGIA PERIODONTAL EN AMERICA LATINA

La enfermedad periodontal tiene una distribución mundial, muchos pacientes con periodontitis de América Central y del Sur no reciben la terapia periodontal adecuada debido a restricciones económicas, sociales y a la escasez de servicios dentales asequibles. Hay una necesidad de métodos seguros y efectivos para controlar las infecciones periodontales en las poblaciones de América Latina con un acceso limitado a la atención dental profesional.

Aunque la investigación en microbiología periodontal es cada vez mayor en América Central y América del Sur, varios temas de investigación en periodoncia permanecen sin resolver la atención y el mérito. Es muy importante establecer una clara definición de las enfermedades periodontales y diagnósticos periodontales adecuados para hacer los estudios comparables. Los estudios que comparan la microbiología de la enfermedad periodontal en diversos grupos socioeconómicos aún no se han llevado a cabo en la mayoría de los países latinoamericanos. Finalmente, la creciente conciencia de que las infecciones periodontales pueden dar lugar a una enfermedad sistémica, quizás especialmente en individuos inmunocomprometidos, debería ser un tema de investigación de alta prioridad. La investigación en microbiología periodontal está preparada para generar descubrimientos que pueden formar las bases para enfoques más eficaces en la prevención y el tratamiento de la enfermedad periodontal en América Latina. ⁽³⁰⁾

VI. CONCLUSIONES

- Hay que tener una comprensión sobre los factores microbianos, su patogenicidad, así como los factores del huésped son de importancia esencial para la patogénesis de la enfermedad periodontal en especial la periodontitis. De esta manera podría ser posible tratar a los pacientes con enfermedad periodontal de manera adecuada.
- Las técnicas microbiológicas nos han aportado información más exacta sobre la presencia de los periodontopatógenos; es en este punto donde surgen las nuevas investigaciones sobre la resistencia bacteriana dentro de los biofilms, la patogenicidad de las bacterias ya establecidas, las que se han descubierto y tienen potencial patógeno y las que todavía quedan por descubrir. Así como también los nuevos avances microbiológicos como la boca artificial como un instrumento clave a la hora de estudiar los biofilms in vitro aportando una información muy valiosa para el estudio de diferentes antisépticos y desarrollar estrategias dirigidas a controlar clínicamente las infecciones orales más importantes del ser humano.
- La periodontitis es una de las enfermedades infecciosas más prevalentes a nivel mundial y Latino América no es la excepción. Brasil es el país que más estudios ha realizado sobre la microbiología periodontal que es un tema particularmente importante de estudio, y en menor medida países como Argentina, Venezuela, Colombia, Chile. Por lo cual existe la necesidad de encontrar métodos seguros y efectivos para controlar las infecciones periodontales en las poblaciones latinoamericanas con acceso limitado al cuidado dental.

En el Perú la investigación sobre microbiología periodontal es a nivel local, por lo cual no se sabe con exactitud la prevalencia de la enfermedad periodontal en nuestro país, se recomienda darle más importancia a una de las enfermedades orales que tiene gran prevalencia a nivel global.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol*. 2017; 44 (Suppl. 18): S12–S22.
2. Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren S. Bacterial Biofilms: Development, Dispersal, and Therapeutic Strategies in the Dawn of the Postantibiotic Era. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013; 3(4): a010306.
3. Blanc V. Últimos avances en el estudio de biofilms orales, *Dentaid Expertise* 2009;(1):4 – 7
4. B.M. Eley, M. Soory, J.D. Manson. *Periodoncia*. 6ta ed. España. Elsevier; 2012.
5. Blanc V. Biofilms bucales. *Perio Expertise* [Internet].2014 [acceso junio del 2017] Disponible en:http://www.perioexpertise.com/sites/default/files/BIOFILMS%20BUCALES_Dra%20Vanesa%20Blanc.pdf.
6. Serrano-Granger J, Herrera D. La placa dental como biofilm. ¿Cómo eliminarla?. *RCOE* 2005; 10 (4):431 – 439.
7. Charlene W.J. The Microbial Aetiology of Periodontal Diseases. *Periodontal Diseases - A Clinician's Guide*. Dr. Jane Manakil Ed. Croatia; 2012. Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/periodontal-diseases-a-clinician-s-guide>.
8. Escudero-Castaño N, Perea-García MA, Bascones-Martínez A. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Av Periodon Implantol* 2008; 20 (1): 27-37.
9. Goodson J. Diagnosis of Periodontitis by Physical Measurement: Interpretation From Episodic Disease Hypothesis. *J Periodontol* 1992; 63 (4):373 – 382.
10. Kesic L, Milasin J, Igic M, Obradovic R. Microbial Etiology of periodontal disease – mini review. *Medicine and Biology* 2008; 15 (1): 1 – 6.
11. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, García J, Vernal R, et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci* 2015; 23 (3): 329 – 55.

12. Escribano M, Matesanz P, Bascones A. Pasado, presente y futuro de microbiología de la periodontitis. *Av Periodon Implantol* 2005; 17 (2): 79 – 87.
13. Javier B, Roger A, Adriana J, Adolfo C. Diagnostico microbiológico: su importancia en el tratamiento y pronostico periodontal. *Rev Fac Odont Univ Ant* 2003; 14 (2): 41 – 50.
14. Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. *Journal of Dentistry* 2003; 31: 161–171.
15. Guggenheim B, Giertsen E, Schüpbach P, Shapiro S. Validation of an *in vitro* biofilm model of supragingival plaque. *J Dent Res* 2001; 80 (1): 363 – 370.
16. Sánchez MC, Llama-Palacios A, Blanc V, León R, Herrera D, Sanz M. Structure, viability and bacterial kinetics of an *in vitro* biofilm model using six bacteria from the subgingival microbiota. *J Periodontal Res* 2011; 46 (2): 252 – 260.
17. Blanc V, Isabel S, Sánchez MC, Llama-Palacios A, Herrera D, Sanz M, León R. Characterization and application of a flow system for *in vitro* multispecies oral biofilm formation. *J Periodontal Res* 2014; 49 (3): 323 – 332.
18. Marchesan J, Morelli T, Moss K, Barros S, Ward M, Jenkins W, et al. Association of Synergistetes and Cyclodipeptides with Periodontitis. *J Dent Res* 2015, 94(10): 1425–1431
19. Oliveira R, Fermiano D, Feres M, Figueiredo L, Teles F, Soares G, Faveri M. Levels of Candidate Periodontal Pathogens in Subgingival Biofilm. *J Dent Res* 2016, 95 (6): 711–718.
20. Aruni W, Mishra A, Dou Y, Chioma O, Hamilton B, Fletcher H. Filifactor alocis a new emerging periodontal pathogen. *Microbes Infect* 2015; 17(7): 517– 530.
21. Gino M.G, Cristina S.B. Filifactor alocis, una amenaza a la salud periodontal. In *Crescendo. Ciencias de la Salud*; 2015; 2(2): 546 – 554.
22. Sebastian S, Birgit R, Ann L.G, Annett P, Julia H, Moritz B, Anton F, Ulf B.G, Annette M. Filifactor alocis - involvement in periodontal biofilms. Schlafer et al. *BMC Microbiology* 2010, 10:66. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/66>.

23. Ralee S, Kris M.W, Peter L.H, KyuLim L, Gerard A.C, Özlem Y. In Situ Anabolic Activity of Periodontal Pathogens *Porphyromonas gingivalis* and *Filifactor alocis* in Chronic Periodontitis. *Sci Rep* 2016; 6: 33638.
24. Vartoukian S, Downes J, Palmer R, Wade W. *Fretibacterium fastidiosum* gen. nov, isolated from the human oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013; 63(2): 458 – 563.
25. Wade w. The Role of Eubacterium Species in Periodontal Disease and Other Oral Infections. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1996; 9(6): 367-370. [citado 11 Jul 2009] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3109/08910609609166480>.
26. Medikeri R, Lele S, Jain P, Mali P, Medikeri M. *Selenomonas sputigena* and Chronic Periodontitis in Smokers. *J Clin and Diagnostic Res* 2015; 9(4): ZC13-ZC17.
27. Colombo A, Teles R, Torres M, Souto R, Rosalem W, Mendes C, Uzeda M. Subgingival Microbiota of Brazilian Subjects with Untreated Chronic Periodontitis. *J Periodontol* 2002; 73(4): 360 – 369.
28. Quintero A, Prada P, Inostroza C, Chaparro A, Sanz A, Ramírez V, Morales H. Presencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en el biofilm subgingival de pacientes diabéticos tipo 2: estudio transversal. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral* 2011; 4(2): 54 – 58.
29. Ana Paula V, Ricardo P. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002; 73 (4): 360 – 369.
30. Contreras A, Moreno S, Jaramillo A, Pelaez M, Duque A, Botero J, Slots J. Periodontal microbiology in Latin América. *Periodontology* 2000 2015; 67: 58 – 86.