

MICROFLORA SUBGINGIVAL PATÓGENA PRESENTE EN DIENTES ADYACENTES A UN ÁREA EDÉNTULA A REHABILITAR CON IMPLANTES EN PACIENTES SANOS CON HISTORIA DE ENFERMEDAD PERIODONTAL



Benavides M, Monroy X, Ríos G, Saiz M¹
Pedroza J²
Malaver P³
López de Mesa C⁴

RESUMEN

Objetivo: Identificar mediante cultivo la microflora subgingival patógena presente en dientes adyacentes a un área edéntula a rehabilitar con implantes en sujetos sanos con historia de enfermedad periodontal. **Método:** Estudio, descriptivo transversal. Se evaluaron 31 dientes adyacentes a zonas edéntulas que van a ser rehabilitadas con implantes en 13 pacientes atendidos en las Clínicas Odontológicas de la Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC durante el primer y segundo semestre del 2009. Se inició la recolección de datos teniendo en cuenta las variables utilizadas en el estudio, se procede a tomar la muestra se retira la placa supra-gingival luego se lava se seca con puntas de papel previamente esterilizadas y se lleva asépticamente al medio de transporte VMGA3 en la cual las bacterias anaeróbicas facultativas permanecen sin multiplicarse por 48 horas, durante este tiempo se llevaron las muestras al laboratorio para su siembra y su cultivo de acuerdo al protocolo de Slots. Se construyó una base en Excel, la cual fue validada en el programa SPSS versión 7 donde se utilizó una estadística descriptiva. **Resultados:** En este estudio las especies bacterianas que se identificaron en mayor proporción fueron el *Fusobacterium Nucleatum* en un 74.2%, el *Actinomyces* spp en un 71% y el *Campylobacter* spp en 51.6% y los microorganismos que se presentaron en menor proporción fueron, *Veillonella* spp, *Prevotella Loeschell* y *Tannerella forsyntensis* en un 3.2% para cada una. El *Campylobacter* estuvo presente mayor en el género masculino con un $P= 0.04$. **Conclusión:** Se puede referir que si el paciente asiste a mantenimiento periodontal, se va a mantener un equilibrio en la microbiota para prevenir que se desarrolle la enfermedad peri-implantar o la mucositis ya que se ha visto que el estado microbial de los dientes remanentes puede influenciar el destino de los implantes recién incorporados

Palabras claves: Microflora Subgingival, Patógena, Implantes, Pacientes Sanos, Enfermedad Periodontal.

ABSTRACT

Objective: To identify through a culture the pathogenic subgingival microflora present in teeth close to an edentulous area to rehabilitate with implants in healthy subjects with history of periodontal disease. **Methods:** Descriptive Cross-sectional study. 31 teeth close to edentulous zone that will be rehabilitate with implants in 13 patients treated in the Dentistry Clinics of the Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC during the first and second semester of 2009 were evaluated. The data were collected taking into account the variables used in the study, subsequently the sample was taken the supra-gingival plaque was removed, later it was washed and dried with previously sterilized paper points and it was carried aseptically to the transport media VMGA3 in which facultative anaerobic bacteria remained without multiply by 48 hours, during this time the samples were taken to the laboratory to be seeded and cultivated according to Slots protocol. An Excel database was constructed which was validated in the SPSS program versión 7 where it was used a descriptive statistic. **Results:** in this study the species of bacteria that were identify in higher extent were *Fusobacterium spp*, *Actinomyces spp*, and *Campylobacter spp*, 74.2%, 71%, 51.6% respectively and the microorganism presented in lower proportion were *Veillonella spp*, *Prevotella Loeschell* and *Tannerella forsyntensis* 3.2% for each. *Campylobacter* was presented in higher extent in males $P= 0.04$. Interestingly enteric bacilli were present in 12.9% (4 teeth) of 31 studied teeth, which was high compared with previous studies. **Conclusion:** according with the results it can be said that if the patient attends periodontal maintenance, it is possible to keep a balance in the microbiota in order to prevent the development of peri-implantar disease or mucositis since it has been seen that microbial state of the remaining teeth may influence the fate of recently installed dental implants.

Key Words: Pathogenic subgingival microflora, Implants, healthy patients, periodontal disease.

¹Estudiantes de Postgrado de Periodoncia UNICOC

²Asesor Científico

³Asesor Metodológico

⁴Asesor Estadístico

INTRODUCCION

En los últimos años se ha incrementado el uso de los implantes dentales, como una opción en el tratamiento dental. Sin embargo se ha encontrado que tiempo después de la colocación de los implantes, estos son colonizados por microflora, normal de la cavidad oral aerobia o anaerobia presente en la mucosa y en el surco gingival de los dientes adyacentes a las zonas implantadas, donde encontramos microorganismos periodonto-patógenos oportunistas que según sus factores de virulencia y la susceptibilidad del huésped pueden causar patologías peri-implantares a futuro por esto nos preguntamos ¿Cuál es la microflora subgingival presente en los dientes adyacentes a zonas edéntulas que van a ser rehabilitadas con implantes en pacientes sanos con historia de enfermedad periodontal?

Se hace necesario identificar microorganismos patógenos subgingivales relacionados con enfermedad periodontal en dientes adyacentes a zonas edéntulas que van a ser rehabilitadas con implantes puesto que estos periodonto-patógenos que están en la flora normal de la cavidad oral podrían producir patologías peri-implantares que ponen en riesgo el éxito o la supervivencia de la terapia implantológica.

Estudios longitudinales han mostrado que los implantes dentales son colonizados mediante flora gram-positiva, facultativa, la cual es establecida poco después de la implantación, (1).

En pacientes con pérdida ósea y formación de bolsas alrededor de implantes, una flora significativamente diferente ha sido encontrada: Bacterias anaerobias gram-negativas, en particular fusobacterias, espiroquetas y

organismos de pigmento negro tales como *Prevotella intermedia* están con frecuencia presentes en altas proporciones.¹

Teniendo en cuenta que estos microorganismos pueden estar presentes previamente a la terapia implantológica en el surco gingival de dientes adyacentes a la zona, la microflora asociada ha sido estudiada extensivamente. La presencia de *Porphyromona gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Agregatibacter actinomycetemcomitans* confiere un riesgo incrementado para periodontitis.² Se ha demostrado que la microbiota de sitios periodontales sanos y la de los sitios enfermos difiere la una de la otra.² Pequeños números de microorganismos y un menor número tipos morfológicos pueden ser encontrados en surcos gingivales sanos.² Los sitios enfermos albergan una microflora compleja con una proporción grande de microorganismos anaerobios gram negativos. La microflora en los sitios periodontales y los sitios peri-implantares puede ser identificados en biopelículas, las cuales son los métodos preferidos de crecimiento de las bacterias en un ambiente acuoso, compuestas de micro-colonias de células bacteriales que son distribuidas no aleatoriamente en una matriz formada o glicocalix.³ Se ha demostrado que existen asociaciones específicas entre las especies bacterianas en las biopelículas dentales.³ Socransky y col., 1998; examinaron más de 13.000 muestras de placa subgingival de 185 adultos y emplearon análisis de Clusters y técnicas de ordenación de comunidades para demostrar la presencia de grupos microbianos dentro de la placa dental. Se reconocieron seis grupos de especies bacterianas que incluían *Actinomyces*, un complejo amarillo que contenía variedad del género de *Streptococos*,

un complejo verde compuesto por especies de *Capnocytophaga*, un serotipo de *Agregatibacter Actinomycetemcomitans*, *E. Corrodens* y *Campylobacter Concisus* y un complejo violeta compuesto de *V. Párvula* y *Actinomyces Odontolyticus*. Estos grupos de especies son colonizadores iniciales de la superficie dentaria cuyo crecimiento suele preceder la multiplicación predominante de complejos rojos y naranjas de gram-negativos. El complejo naranja está compuesto de subespecies de *Campylobacter Gracilis*, *C. Rectus*, *C. Showae*, *E. Nodatum*, *F. Nucleatum*, *F. Periodonticum*, *P. Micros*, *P. Intermedia*, *P. Nigrescens* y *S. Constellatus*, mientras que el complejo rojo está compuesto de *B. Forsythus*, *P. Gingivalis*, y *T. Denticola*. Ambos complejos están compuestos de especies consideradas los agentes etiológicos más importantes de las enfermedades periodontales.⁴ El objetivo del presente estudio es Identificar mediante cultivo la microflora subgingival patógena presente en dientes adyacentes a una área edéntula a rehabilitar con implantes en sujetos sanos con historia de enfermedad periodontal.

MÉTODO

Estudio descriptivo transversal. Se evaluaron 31 dientes adyacentes a zonas edéntulas que van a ser rehabilitadas con implantes en 13 pacientes atendidos en las Clínicas Odontológicas de la Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC durante el primer y segundo semestre del 2009

El estudio se presenta de acuerdo a requerimientos el permiso de dirección de clínicas y aprobación del Comité de Ética de la Institución Universitaria, con el consentimiento informado de los

pacientes. Los sujetos que participaron son tratados en la Institución Universitaria Colegios de Colombia en su área de Odontología, pacientes parcialmente dentados previamente tratados por enfermedad periodontal, en terapia de mantenimiento, registros periodontales normales con profundidades al sondaje menores a 3mm, ninguna otra medida fue tomada para no interferir con la flora presente en el surco gingival, los individuos fueron programados en su plan de tratamiento para ser rehabilitados con implantes dentales; la recolección de datos se realizó con las variables de género, edad, tipo de microorganismos y complejo bacteriano. Los criterios de exclusión fueron no tener una terapia antibiótica previa a tres meses de la toma de la muestra e índice de placa O'leary⁵ menor a 20%, se procedió a tomar 31 muestras, en el surco gingival de los dientes limitantes de la zona edéntula a ser implantada.

El procedimiento de toma de muestras fue: El margen gingival del diente a evaluar se secó con jeringa triple y se retiró la placa supragingival visible y la saliva, posteriormente se aisló la zona con rollos de algodón y se tomaron seis muestras del fluido crevicular de cada diente con puntas de papel absorbentes número 40 previamente esterilizadas, a través de la región subgingival de la superficie meso-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, meso-palatino o lingual centro-palatino o lingual y disto-palatino o lingual durante 20 segundos, las muestras fueron llevadas asépticamente al medio de transporte, frasco con 2,0 mL de VMGA III (*Viability Medium Göteborg Anaerobically*) preparado y esterilizado en la cual las bacterias anaeróbicas facultativas permanecen sin multiplicarse por 48 horas, con el objeto de obtener un grupo para el análisis y estas fueron transportadas al

Laboratorio de Microbiología Oral del Instituto UIBO (Unidad de Investigación Básica Oral) para su procesamiento en un tiempo no mayor a 24 horas después de tomada la muestra para evitar la pérdida de microorganismos anaerobios o facultativos. Y su cultivo antes de 48 horas.

Las muestras tomadas se incubaron por medio de cultivo microbiológico, a 32° C de 15 a 20 minutos, se realizó la licuefacción en un vortex, para el desprendimiento de las bacterias como *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia/P. nigrescens*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *M. micros*, *Fusobacterium* spp y *D. pneumosintes*, se hicieron cinco diluciones en base 10 a partir del medio VMGA III ; el cultivo de identificación de las especies se realizó de acuerdo con el protocolo de Slots,⁶ cuyas técnicas están estandarizadas en el laboratorio donde se analizaron las muestras; se sembraron 100 µL de las diluciones 10-3, 10-4 y 10-5 en agar brucella sangre enriquecido con hemina y menadiona (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD) y se llevaron a incubación a 36°C en atmósfera de anaerobiosis (Anaerogen, Oxoid, Hampshire, England) durante siete días. Para la identificación de *A. actinomy-cetemcomitans*, las muestras sin diluir y 10-1 se sembraron en agar TSBV (tripticasa soya bacitracina vancomicina) y se incubaron en atmósfera de 10% de CO2 (Campygen, Oxoid, Hampshire, England) durante tres a cinco días. Para el aislamiento de las bacterias entéricas, la muestra sin diluir se sembró en agar MacConkey, el cual se incubó en aerobiosis durante 24 a 48 horas a 37°C. Las bacterias entéricas se reconocieron por sus características morfológicas y tintoriales y su respuesta a la fermentación de la lactosa.

Posteriormente se realizaron las coloraciones de gram para el conteo de colonias reconociéndolas en un estereoscopio y mediante pruebas bioquímicas confirmatorias.

Se construyó una base en Excel, la cual fue validada en el programa SPSS versión 7 donde se utilizó una estadística descriptiva.

RESULTADOS

Se evaluaron 31 dientes adyacentes a zonas edéntulas que van a ser rehabilitadas con implantes en 13 pacientes atendidos en las Clínicas Odontológicas de la Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC durante el primer y segundo semestre del 2009; El promedio de edad y la desviación estándar es de 40.08 +/- 12.8 años, de 13 pacientes en un rango de 27 a 62 años.

En la distribución porcentual de tipos de microorganismos del total de los pacientes, se encontró que el 15.4% de los individuos observados (2 ptes) presentaron tres tipos de microorganismos, el 7,7% (1 pte) 4, el 7,7% (1pte) 6, el 15,4% (2 ptes) 7, el 15,4%(2 ptes) 8, el 15,4% (2 ptes) 10, el 7,7% (1 pte) 16, el 7,7% (1 pte) 17 y el 7,7% (1 pte) 19. (Figura 1).

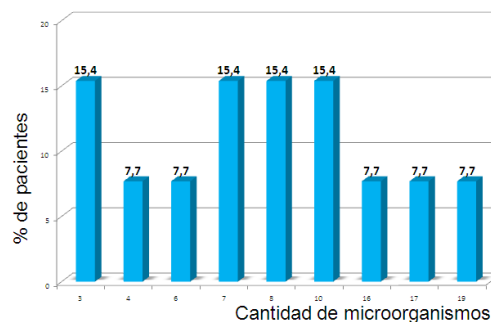


Figura 1 distribución porcentual de número de microorganismos por paciente

En la distribución porcentual del tipo de microorganismos por diente se encontró que en el 3.2% de los dientes (1dte) ninguno de los microorganismos cultivados estuvo presente, en el 12.9% (4dtes) se encontró 1 microorganismo, en el 9,7% (3 dtes) 2, en el 12,9% (4 dtes) 3, en el 16,1% (5 dtes) 4, en el 29% (9 dtes) 5, en el 12,9% (4 dtes) 6, y en el 3,2% (1dtes) 7 microorganismos.(Figura 2)

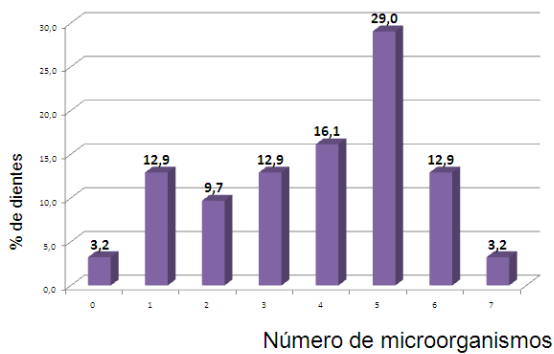


Figura 2 distribución porcentual de número de microorganismos por diente

En la distribución porcentual de microorganismos se encontró que el 74,2% de los dientes (23 dtes) presentaba *Fusobacterium spp*, el 71% (22dtes) *Actinomyces*, el 51,6% (16 dtes) *campylobacter*, el 48,4%(15 dtes) *Capnocytophaga*, el 48,4%(15 dtes) *Prevotella intermedia*, el 16,1% (5 dtes) *Eikenella corrodens*, el 16,1% (5 dtes) *Prevotella melaninogenica*, el 12,9% (4 dtes) *Micromonas micros*, el 12,9% (4 dtes) *Bacilos entéricas*, el 9,7 % (3 dtes) *Diaslister pnerunosintes*,6,5% (2 dtes) *Agregatibacter actinomycetemcomitan*, 6,5% (2 dtes) *Eubacterium*,3,2% (1 dtes) *Tannarella forsythensis*,3,2% (1 dtes) *Veillonella*, 0% *Porphyromona gingivalis* (Figura 3)

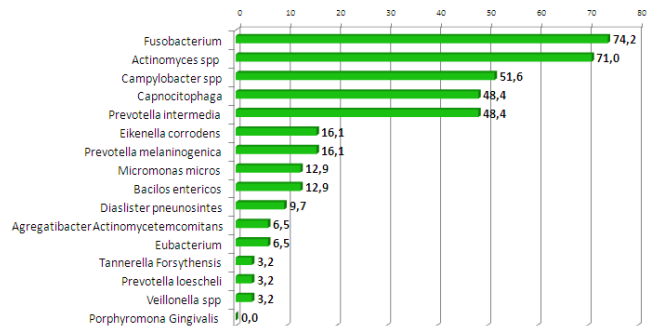
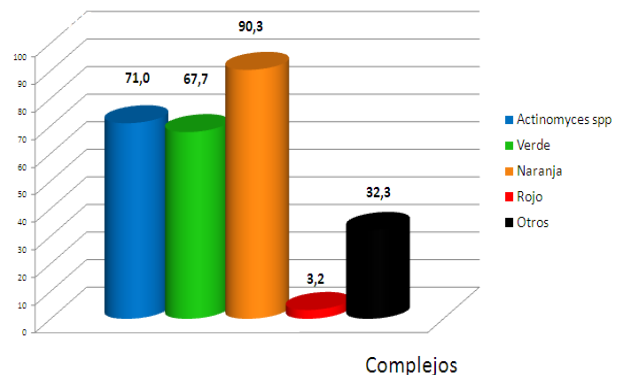


Figura 3 Distribución porcentual de los microorganismos.

En la Distribución porcentual de microorganismos según el complejo por dientes se encontró que en el 71% de los dientes (22 dtes) se hallaron microorganismos del complejo actinomicés; en el 67,7% (21 dtes) se encontraron microorganismos del complejo verde; en el 90, 3% (28 dtes) habían microorganismos del complejo naranja; en el 3,2% (1dte) se encontraron microorganismos del complejo rojo y en el 32,3% (10 dtes) se hallaron otros microorganismos entre ellos bacterias sobre infectantes como bacilos entéricos. (Figura 4)



n = 31 dientes

Figura 4 distribución porcentual de microorganismos según el complejo por dientes

El *Campylobacter* estuvo presente mayor en el género masculino con un P= 0.04

DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue identificar mediante cultivo la microflora subgingival patógena presente en dientes adyacentes a una área edéntula a rehabilitar con implantes en sujetos sanos con historia de enfermedad periodontal.

En este estudio las especies bacterianas que se identificaron en mayor proporción fueron el *Fusobacterium Nucleatum* en un 74.2%, el *Actinomyces spp* en un 71% y el *Campylobacter spp* en 51.6% y los microorganismos que se presentaron en menor proporción fueron, *Veillonella spp*, *Prevotella Loeschell* y *Tannerella Forsytensis* en un 3.2% para cada una. Estos resultados coinciden con lo reportado por Mombelli en 1995, alrededor de implantes.⁷

Los antecedentes de enfermedad periodontal y la periodontitis de los dientes presentes tienen un impacto significativo en la microflora periimplantar debido a la transmisión de periodonto patógeno a los implantes.⁷

Existe información sobre la composición de la microflora subgingival alrededor de implantes.

La colocación de implantes crea un nicho nuevo para la colonización bacteriana en cavidad oral. Se ha demostrado que cuando existe un alto número de microorganismos periodonto patógenos alrededor de los dientes, aumenta el riesgo de infección cruzada a los sitios peri implantares lo cual justifica el tratamiento periodontal de los dientes remanentes previo a la colocación de implantes con el objetivo de prevenir complicaciones peri implantares tempranas.⁸

Se han detectado muchos microorganismos en la periimplantitis como *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella Nigrescens*, *Agregatibacter Actinomycetencomitans*, *Campylobacter Rectus*, *Capnocytophaga spp* y *Fusobacterium Nucleatum*^{9,10,11}

Según Winkerlhoff y col en el 2000 se encontró que el patrón de presencia bacterial 6 meses después de la colocación del implante es estabilizado, conteniendo predominantemente *M. Micros*, *Fusobacterium Nucleatum* y *Prevotella Intermedia*.¹²

En el estudio de Buchmann y col 2002 donde se evaluó la flora peri-implantar después de 24 meses de función, se encontraron *P. Gingivalis*, *F. Nucleatum*, *M. Micros* y *Actinomyces Israelii*.¹³ Leonhardt y col en 1999⁹ y en el 2002¹⁰, y Hultin y col en el 2002,¹⁴ encontraron presencia de microflora peri-implantar similar. Al comparar estos resultados con los del presente estudio se puede determinar que hay una relación de la flora peri-implantar con la flora encontrada alrededor de dientes que han sido tratados periodontalmente. Este estudio fue realizado en pacientes sanos con historia de enfermedad periodontal como el primero de una serie de estudios que intentan describir la flora periodontal en este tipo de pacientes e identificar si se produce translocación a los nichos peri implantares.

Es importante destacar que en el presente estudio se encontraron especies de *Bacilos Entéricos* en un 12.9% (4 dtes) de los 31 dientes, este hallazgo puede estar asociado según lo reportado por Lafaurie y Col en el 2007 con aspectos étnicos, hábitos de dieta, uso de antimicrobiales sin fórmula médica, nivel de desarrollo y condiciones de salubridad. Cabe

destacar que el hallazgo de estos bacilos entéricos en este estudio fue muy elevado de acuerdo con lo reportado por otros estudios.¹⁵

CONCLUSIONES

En este estudio las especies bacterianas que se identificaron fueron el *Fusobacterium spp*, *Actinomyces spp*, *Campylobacter spp*, *Capnocytophaga*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella melaninogénica*, *Micromonas micros*, *Bacilos entéricos*, *Diaslister pnerunosintes*, *Agregatibacter actinomycetemcomitan*, *Eubacterium y Tannerella forsythensis*.

Las especies bacterianas que se identificaron en mayor proporción fueron el *Fusobacterium spp*, en un 74.2%, el *Actinomyces spp* en un 71% y el *Campylobacter spp* en 51.6% y los microorganismos que se presentaron en menor proporción fueron, *Veillonella spp*, *Prevotella Loeschell* y *Tannerella Forsytensis* en un 3.2% para cada una. Estos resultados coinciden con otros estudios, alrededor de implantes, pero en diferentes proporciones.

El 7,7% de los pacientes presentaron una frecuencia de 19 periodonto-patógenos.

El 90, 3% de los periodonto-patógenos pertenecían al complejo naranja.

Se puede sugerir que si el paciente asiste a mantenimiento periodontal, se va a mantener un equilibrio en la microbiota para prevenir que se desarrolle la enfermedad peri implantar o la mucositis ya que se ha visto que el estado microbial de los dientes remanentes puede influenciar el destino de los implantes recién incorporados.

RECOMENDACIONES

Realizar futuros estudios que relacionen la dieta del paciente con las bacterias entéricas.

En próximos estudios verificar los resultados de *Bacilos Entéricos*, para descartar contaminación, ya sea en el momento de la muestra o al cultivarlas.

Realizar análisis microbiológico por PCR molecular, para identificar el total de la muestra.

REFERENCIAS

1. Mombelli A. Microbiology of the Dental implant, *Ady, Dent. Res* 1993, 7(2): 202-6 August.
2. Gerber J, Wenaweser D, Heitz, Mayfiel L, Long N, Persson G, Comparasion of bacterial Plaque samples from titanium implant an tooth surfaces by different methods. *Clin Oral Impl. Res.* 2006, 17: 1-7
3. Sutherland, I.W. Biofilm matrix polymers mole in adhesion. *Dental Plaque Revisted* 1999, 49-62.
4. Socransky S, Haffajee Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology* 2000. 2002, 28: 12-55.
5. Oleary TJ; Drake RB, Naylor JE, Plaque control record. *J Periodontol.* 1972, 43: 38.
6. Slots J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiol Immunol* 1986,1:48-57.
7. Mombelli A, Marxer M, Gaberthiel T, Grunder U, Lang NP: The microbiota of osseointegrated implants in patients

with a history of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995, 22: 124-130.

8. Quirynen M, Papaioannou W. and Van Steenberghe D. Intraoral transmission and the colonization of oral hard surfaces. *J Periodontol* 1996, 67: 986-993.

9. Leonhardt, A., Renvert, S. & Dahle´n, G. Microbial findings at failing implants. *Clinical Oral Implants Research*. 1999, 10: 339–345.

10. Leonhardt, A., Gro¨ndahl, K., Bergstro¨m, C. & Lekholm, U. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. *Clinical Oral Implants Research*. 2002, 2: 127–132.

11. Mombelli A, Van Oosten MAC, Schiirch E, Lang NP. The microbiota associated with successful or failing osseointegrated titanium implants. *Oral Microbiol Immunol* 1987; 2: 145-151.

12. Van Winkelhoff, A.J., Goene´ , R.J., Benschop, C. & Folmer, T. Early colonization of dental implants by putative periodontal pathogens in partially edentulous patients. *Clinical Oral Implants Research*. 2000, 11: 511–520.

13. Buchmann, R., Khoury, F., Pingel, D. & Lange, D.E. The microflora recovered from the outersurfaces of the Frialit-2 implantoprosthesis connector. *Clinical Oral Implants Research*. 2002, 14: 28- 34.

14. Hultin, M., Gustafsson, A., Hallstro¨m, H., Johansson, L.-A.,

Ekfeldt, A. & Klinge, B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2002, 13: 349–358.

15. Lafaurie GI, Contreras A, Baro´n A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, Giraldo A, Gonza´lez F, Mantilla S, Botero A, Archila LH, Dı´az A, Chaco´n T, Castillo DM, Betancourt M, Del Rosario Aya M, Arce R Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study *J Periodontol*. 2007, Apr;78(4):629-39.