

**PRESENCIA DE MICROFLORA SUBGINGIVAL ANAEROBIA EN NIÑOS
CON DENTICION MIXTA QUE PRESENTAN GINGIVITIS, ATENDIDOS EN
LAS CLINICAS DE ODONTOPEDIATRIA DEL COLEGIO
ODONTOLOGICO COLOMBIANO DURANTE EL I SEMESTRE DEL 2006.**

**DIEGO FERNANDO ARIAS ARAUJO
MARCELA BENAVIDES HERNANDEZ
JOUFFROY ANTONER MALDONADO BUITRAGO
MARIANA PARRA BERNAL
JORGE ARMANDO SAENZ RODRIGUEZ
EDNA MARCELA TRUJILLO COLLAZOS**

**Asesor Científico
JOSE MIGUEL PEÑALOZA
Odontólogo Especialista En Periodoncia Cirugía e Implantología**

**Asesor Metodológico
MARTHA LUCIA CAYCEDO
Odontólogo especialista en epidemiología**

**COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA
2006**

**PRESENCIA DE MICROFLORA SUBGINGIVAL ANAEROBIA EN NIÑOS
CON DENTICION MIXTA QUE PRESENTAN GINGIVITIS, ATENDIDOS EN
LAS CLINICAS DE ODONTOPEDIATRIA DEL COLEGIO
ODONTOLOGICO COLOMBIANO DURANTE EL I SEMESTRE DEL 2006.**

**Trabajo de Grado para Optar el Titulo de
Odontólogo**

**DIEGO FERNANDO ARIAS ARAUJO
MARCELA BENAVIDES HERNANDEZ
JOUFFROY ANTONER MALDONADO BUITRAGO
MARIANA PARRA BERNAL
JORGE ARMANDO SAENZ RODRIGUEZ
EDNA MARCELA TRUJILLO COLLAZOS**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
BOGOTÁ, D.C.,
2006**

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que creyeron en nosotros y
lucharon hombro a hombro por cumplir nuestras metas,
especialmente a nuestros padres, hermanos y en
general a nuestras familias.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos en primera instancia al Colegio
Odontológico Colombiano y todo su equipo
multidisciplinario, sin los cuales habría sido imposible
culminar con éxito el proceso de aprendizaje e
investigación, para convertirnos en profesionales
integrales, comprometidos con la salud oral
A la doctora Olga Cadena de Villamizar, Isabel de Fayat
quienes aportaron sin vacilación su tiempo y
conocimiento durante el proceso de investigación

CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCION	
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION	
1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	10
1.2. JUSTIFICACIÓN	11
1.3. PROPÓSITO	11
1.4. MARCO TEORICO	12
1.5. OBJETIVOS	59
1.5.1 GENERAL	59
1.5.2 ESPECIFICOS	59
2 ASPECTOS METODOLOGICOS	60
2.1 TIPO DE ESTUDIO	60
2.2 OBJETO DE ESTUDIO	60
2.3 POBLACIÓN EXPERIMENTAL	60
2.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	61
2.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSION	61
2.4 DEFINICIÓN DE VARIABLES	62
2.5 MUESTRA	62
2.6 PROCEDIMIENTO	64

3.	RESULTADOS	68
4.	DISCUSION	76
5.	CONCLUSION	81
6.	RECOMENDACIÓN	81
	BIBLIOGRAFIA	85
	ANEXOS	104

LISTA DE ANEXOS

ANEXO: 1. Formato de consentimiento informado

ANEXO 2. Resultados de las muestras Colegio Odontológico Colombiano

INTRODUCCIÓN

El ser humano es desdentado en el nacimiento y tiene una flora característica en este estado; cuando los dientes primarios comienzan a erupcionar, hay un cambio significativo en ese medio que se refleja en la flora oral. Una vez presente la dentición primaria, las condiciones son relativamente estables hasta que comienzan a erupcionar los dientes permanentes. Durante el periodo de la dentición mixta, las condiciones varían al tiempo que se pierden algunos dientes y erupcionan otros nuevos, produciendo estados ambientales variables que puedan afectar la flora oral; una vez presente la dentición permanente las condiciones se vuelven mucho más estables.

La variabilidad de la microflora oral se demuestra comparando la composición microbiana de muestras tomadas de sitios similares de distintas bocas. Distintos sitios de la cavidad oral de un mismo individuo tienen una microflora diferente. Aunque cada sitio tiene prácticamente todos los microorganismos en algún momento, cada uno de estos tiene una ubicación en la que predomina. La naturaleza de la microflora depende de sus requerimientos fisicoquímicos y nutricionales. Las necesidades de crecimiento de los microorganismos pueden ser provistos por la dieta del huésped, sus tejidos, o por otros microorganismos, por otro lado, las bacterias de la cavidad oral humana se agrupan para formar biofilms

bacterianos que en algún momento pueden interactuar adversamente con el periodonto y llegar a formar procesos patológicos como gingivitis y periodontitis (KINDER S.A, 1989).

Siendo la gingivitis una enfermedad que afecta principalmente a las encías, asociada a la deficiencia de higiene oral, facilitando la formación de placa bacteriana, esta formada por restos alimenticios, células epiteliales, mucina que proporcionan un medio ideal para la formación de microorganismos; ésta enfermedad es más frecuente en los adolescentes e infantes; también es una inflamación no dolorosa o degeneración del tejido de la encía, causada por el aumento de la placa bacteriana (una película de bacterias que se pega a los dientes en la línea de la encía). Es un proceso reversible, se manifiesta clínicamente por enrojecimiento intenso de la encía alrededor de los dientes siendo un signo clínico de la inflamación (MATSON L, 1978).

Entre los microorganismos de la microflora oral se han identificado varias especies que se han relacionado con gingivitis y periodontitis entre las cuales están *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forshythus*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. La microflora subgingival anaerobia en niños con dentición mixta no ha sido estudiada en el C.O.C; con esta investigación se pretende determinar la presencia de microorganismos anaerobios en placa subgingival en niños con dentición mixta con el objetivo de relacionar el grado de inflamación gingival y la presencia de placa bacteriana con los mismos.

1. ASPECTOS TEÓRICO CIENTÍFICOS

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La flora subgingival en relación con la dentición mixta y la presencia de gingivitis, en niños ha sido objeto de muchos estudios e investigaciones, pero a nivel institucional no se tiene ningún tipo de referencia sobre esta.

La placa bacteriana y el proceso de erupción dental han sido las variables más utilizadas junto con la saliva para la realización de estas investigaciones. La placa dental se forma con mayor rapidez en los niños de 8 a 10 años de edad; sin embargo, la erupción dentaria no causa por si sola la gingivitis. La inflamación surge de la acumulación de la placa, no tanto con la remodelación hística secundaria a la erupción. La retención de la placa alrededor de la dentición primaria facilita la formación de la placa en la periferia de los dientes permanentes contiguos.

Teniendo en cuenta la frecuente presencia de gingivitis en niños con dentición mixta cabe preguntarse: ¿Qué tipo de microflora subgingival anaerobia esta presente en niños con dentición mixta atendidos en la clínica de odontopediatría del Colegio Odontológico Colombiano durante el 14 febrero hasta 22 marzo?

1.2 JUSTIFICACIÓN

La salud oral es una preocupación a nivel mundial, especialmente si se refiere a la salud infantil, pues es en ésta etapa de la vida cuando se pueden prevenir la mayor cantidad de enfermedades bucales, como las relacionadas con la periodoncia.

En el colegio odontológico colombiano aun no se han realizado estudios referentes a la microflora subgingival anaerobia en niños con dentición mixta, por lo cual, la presente investigación es una ventana abierta a futuras investigaciones relacionadas con microorganismos asociados a enfermedades periodontales, y así lograr establecer soluciones para el control y la prevención de la enfermedad periodontal en la población infantil que asiste a las clínicas Pediátricas del Colegio Odontológico Colombiano.

1.3 PROPÓSITO

Identificar la presencia de microorganismos anaerobios en placa subgingival en niños con dentición mixta atendidos en las clínicas de odontopediatría del Colegio Odontológico Colombiano para recopilar información acerca de estos microorganismos dejando hipótesis abiertas que sirvan como punto de partida para investigaciones de periodoncia y odontopediatría, y como material de consulta sobre microorganismos anaeróbios asociados a placa bacteriana y su relación con la gingivitis en niños.

1.4 MARCO REFERENCIAL

Anatómicamente en la cavidad oral se pueden distinguir diferentes zonas cada una de ellas con características específicas debido a su configuración así:

La encía y el revestimiento del paladar duro que forma la mucosa masticatoria; el dorso de la lengua, cubierto por mucosa especializada y la mucosa bucal, que cubre el resto de la boca. La encía es un tipo de piel especializada que rodea los dientes y cubre el hueso que sostiene a los mismos por lo que forma parte el sistema de soporte de los dientes a los maxilares; anatómicamente se divide en: encía marginal, insertada e interdental. (PERSON P, 1965)

Según Carranza 2004, el surco gingival es un espacio circundante del diente que forma la superficie dental por un lado y el revestimiento epitelial del margen libre por el otro. Normalmente la profundidad del surco gingival es de 2 a 3 mm. Por otro lado, sostiene que, la encía insertada se continúa con la encía marginal; es firme y resistente y esta fijada con firmeza al periostio subyacente del hueso alveolar. La superficie vestibular de la encía insertada se extiende hasta la mucosa alveolar relativamente laxa y móvil, de la cual esta separada de la unión mucogingival. La encía interdental ocupa el espacio interproximal por debajo del área de contacto, puede ser piramidal o tener forma de "col". La forma de la encía es un espacio interdental determinado, depende del punto de contacto entre los dos dientes contiguos y de la presencia o ausencia de cierto grado de recesión.(CARRANZA, 2004)

Denis F & Finane, 2000, afirman que la encía saludable normal se caracteriza por su color rosado y su firme consistencia. Interdentalmente, los tejidos saludables de la encía, no sangran en sondeo suave y llenan el espacio bajo las áreas de contacto entre los dientes. La encía saludable a veces muestra una apariencia con un margen en borde de cuchillo entre tejidos blandos y el diente. La encía normal está libre de evidencia histológica de inflamación, pero esta condición ideal es muy poco vista en secciones de tejido microscópico. Esto se debe a que la mayoría de tejidos de encía humanos están (-no importa cuan saludable clínicamente en apariencia-) ligeramente inflamados debido a la constante presencia de placa microbiana. Incluso, en condiciones muy saludables, la encía tiene infiltrado leucocitario que está predominantemente comprendido de neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares. (MOMBELLI Y COL, 1995).

Microscópicamente el epitelio gingival constituye un revestimiento continuo de epitelio escamoso estratificado en el que se pueden definir tres áreas diferentes en términos morfológicos y funcionales: epitelio bucal, epitelio del surco y epitelio de unión. En este tipo de epitelios podemos encontrar queratinocitos, células claras como las de Langerhans, Merkel y melanocitos. La principal función del epitelio gingival es proteger las estructuras profundas y permitir un intercambio selectivo con el medio bucal que se puede lograr mediante la proliferación y diferenciación de queratinocitos. Por lo general, el color de la encía insertada y la marginal se describe como rosa coral y se debe al aporte vascular, grosor y grado de

queratinización del epitelio, así como la presencia de células que contienen pigmentos. El color varía entre las personas y parece relacionarse con la pigmentación de la piel. La mucosa alveolar es roja, uniforme y brillante. El epitelio de la mucosa alveolar es más delgado, no está queratinizado y carece de proyecciones epiteliales interpapilares. La melanina es la encargada de la tonalidad de la encía y las mucosas bucales. El tamaño de la encía corresponde a la suma total de la masa de elementos celulares e intercelulares de la encía y su irrigación. La superficie de la encía posee una textura similar a la cáscara de naranja y se alude a ella como graneada. La porción central de las papilas interdentes suele ser graneada, aunque los bordes marginales son lisos. Esta característica guarda relación con la edad; no la hay en la infancia, aparece en algunos niños alrededor de los cinco años, aumenta hasta la edad adulta y suele desaparecer en el anciano. (KOBAYASHI K, 1979)

Enfermedad periodontal asociada a microorganismos: gingivitis

Una de las enfermedades más común en la encía es la gingivitis, no suele producir dolor, por lo que muchas veces se padece sin saberlo. Los primeros signos y síntomas en aparecer, son sangrado espontáneo o al cepillado y enrojecimiento y agrandamiento de la encía. Cuando la patología gingival avanza, suelen aparecer otros síntomas como: recesión gingival, aparición de pus, halitosis, presencia de depósitos blandos y calcificados. (AINAMO J, 1975)

La gingivitis es una enfermedad inflamatoria que afecta las encías principalmente. Está asociada con la deficiencia de higiene oral, lo que facilita la formación de placa bacteriana que a su vez es formada por restos alimenticios, células epiteliales, mucina, que proporciona un medio ideal para el desarrollo de microorganismos presentes en la enfermedad. Clínicamente se manifiesta como un enrojecimiento en la encía alrededor del diente, asociada a una inflamación sin producir ningún tipo de sintomatología en su etapa inicial, a pesar de que exista un sangrado leve como respuesta a un estímulo externo.(NEVILLE BW, 1995)

Clínicamente la patología gingival inducida por placa aparece como una inflamación rojiza y una tendencia aumentada a que la encía sangre al más mínimo sondeo. En esta etapa, la inflamación gingival es reversible si la placa es retirada mediante efectivas medidas de control de placa. En etapas tempranas de gingivitis, los cambios clínicos son bastante sutiles. No obstante, el examen microscópico de los tejidos revela marcados cambios histopatológicos. Estos cambios incluyen alteraciones en la red de vasos sanguíneos y muchas camas capilares se abren las cuales deberían estar cerradas. Hay transudado inflamatorio lo que ocasiona inflamación a nivel clínico y hay un influjo de células inflamatorias o leucocitos dentro del tejido. Las células inflamatorias incluyen linfocitos, macrófagos y neutrófilos. Los macrófagos y neutrófilos son células fagocíticas que absorben y digieren la bacteria, mientras que los linfocitos están más involucrados en montar una respuesta inmune contra los microbios. (MOMBELLI Y COL, 1995).

La gingivitis inducida por placa bacteriana es vista comúnmente en individuos que dejan de cepillarse los dientes en un lapso de 10 a 20 días. Los síntomas clínicos se acrecientan y la encía es más edematosa e inflamada en individuos que atraviesan alteración hormonal, tal como en niños durante la pubertad y en las mujeres durante el embarazo. Algunas terapias de droga tales como la nefedipina (un bloqueador canal de calcio usado en pacientes hipertensos), fenitoina (usada para controlar la epilepsia), y la ciclosporina (una droga inmunodepresiva) pueden ocasionar un crecimiento excesivo en aproximadamente 30% de los individuos que toman estas medicinas. Este crecimiento exagerado gingival es una respuesta exagerada a la placa bacteriana que es necesaria para la gingivitis y por consiguiente a los efectos de la droga sobre la encía. La forma más frecuente de enfermedad gingival es la que se asocia a la presencia de placa bacteriana. Esta interacción entre microorganismos que se hallan en la biopelícula de la placa dental, los tejidos y las células inflamatorias del huésped puede alterarse por efecto de factores locales, generales, medicamentos y la desnutrición, que influye sobre la intensidad y la duración de la respuesta.(AINAMO J, 1975)

Carranza 2004, define la placa dentobacteriana como los depósitos blancos que forman una biopelícula adherida a la superficie dentaria u otras superficies duras en la boca, entre ellas las restauraciones removibles y fijas. La placa se diferencia de otros depósitos que pueden encontrarse en la superficie dental, como la materia alba y el cálculo. La materia alba se refiere a las acumulaciones blandas de bacterias y células hísticas que carecen de la estructura organizada de la placa

dental. El cálculo es un depósito sólido que se forma por mineralización de la placa dental; por lo general está cubierto por una capa de placa sin mineralizar. Según sea su posición sobre la superficie dental, la placa se clasifica, en términos generales, como supragingival o subgingival. La placa supragingival, se localiza en el margen gingival o por encima de este; si está en contacto directo con el margen gingival recibe el nombre de placa marginal. La placa subgingival se encuentra por debajo del margen gingival, entre el diente y el tejido del surco gingival. La placa dental está compuesta sobre todo por microorganismos. Un gramo de placa (peso húmedo) contiene aproximadamente 2×10^{11} bacterias. Dado que 1g de células estreptocócicas puras concentradas por centrifugación contiene 2.3×10^{11} bacterias, estas constituyen casi todo el peso de la placa. Estudios de cultivos, en los cuales las bacterias se aíslan y caracterizan en el laboratorio, indican que en la placa se hallan más de 500 especies microbianas distintas.(CARRANZA, 2004).

La gingivitis se relaciona con cambios patológicos debido a la presencia de microorganismos en el surco gingival. Esos gérmenes tienen la capacidad de sintetizar productos que dañan las células de los tejidos conectivos y epiteliales, así como los componentes intercelulares como la colágena, la sustancia fundamental y la cubierta celular. El ensanchamiento de los espacios intercelulares del epitelio de unión permite que agentes lesivos derivados de las bacterias o ellas mismas pasen al tejido conectivo (NEVILLE BW, 1995).

La secuencia del fenómeno en el desarrollo de la gingivitis se produce en tres

fases diferentes.

Lesión gingival, en esta etapa también es posible reconocer cambios sutiles en el epitelio de unión y en el tejido conectivo perivascular. El carácter y la intensidad de la respuesta del huésped determinan si la lesión inicial se resuelve con rapidez, con restitución del tejido a su estado normal, o si se convierte en una lesión inflamatoria crónica. (COTAYASHI K, 1979)

Lesión temprana, al microscopio la encía revela infiltrado leucocitario en tejido conectivo por debajo del epitelio de unión que se compone sobre todo de linfocitos, también incluye algunos neutrófilos migratorios, así como macrófagos, células plasmáticas y mastocitos (DENIS F Y FINANE, 2000).

Todos los cambios que se encuentran en la lesión inicial siguen intensificándose. Se observa un incremento en el grado de destrucción de colágeno; 70% se destruye entorno al infiltrado celular. Los principales grupos de fibras que se afectan son las circulares y dentogingivales (NEVILLE BW, 1995)

Lesión establecida; en cortes histológicos se observa una reacción inflamatoria crónica e intensa. Un rasgo clave que diferencia la lesión establecida es el incremento de la cantidad de células plasmáticas que llega a ser el tipo de células inflamatorias más abundantes (MOMBELLI Y COL, 1995).

Las células plasmáticas invaden el tejido conectivo no solo justo por debajo del

epitelio de unión sino también la profundidad del tejido conectivo, alrededor de los vasos sanguíneos y dentro de los haces de fibra de colágeno. También se observa en el epitelio de unión espacios intercelulares ensanchados ocupados por desechos de células granulares como lisosomas, linfocitos y monocitos destruidos. El epitelio de unión presenta proyecciones interpapilares y la lámina basal se destruye en algunas zonas. La profundidad promedio del surco gingival de la dentición primaria es 2.1 mas o menos 0.2 mm, el ancho de la encía insertada es mayor en la zona incisiva, disminuye en los caninos y aumenta de nuevo sobre los molares primarios y los molares permanentes (NEVILLE BW, 1995).

Durante el laxo de la dentición mixta es normal que la encía marginal en torno a los dientes permanentes sea bastante prominente, en particular en la región anterior superior; en esta fase de erupción dental la encía todavía se halla insertada en la corona.

Gingivitis marginal crónica se presenta cuando la placa dental se forma con mayor rapidez en los niños de 8 a 10 años de edad. La gingivitis relacionada con la erupción dentaria es frecuente y origina el término de gingivitis de la erupción. Sin embargo, la erupción dentaria no causa por si sola la gingivitis. La inflamación surge de la acumulación de la placa, no tanto con la remodelación hística secundaria a la erupción. La retención de la placa alrededor de la dentición primaria facilita la formación de la placa en la periferia de los dientes permanentes contiguos. (BIMSTEIN E, 1999)

La placa dental

La placa dental fue descrita por primera vez en 1898 por Black, como una masa microbiana que recubría las lesiones cariosas. En 1976, Bowen, define a la placa dental como depósitos blandos que forman una biopelícula que se adhiere a la superficie dentaria o a otras superficies duras de la boca.

Actualmente, Marsh y Martin (2000) definen la placa dental como una comunidad microbiana compleja que se encuentra en la superficie de los dientes, embebida en una matriz de origen bacteriano y salival.

La placa dental se clasifica según su localización en supragingival y subgingival, según sus propiedades en adherentes y no adherentes, y según su potencial patógeno en cariogénica y periodontopatógena. La placa dental supragingival se encuentra en las superficies dentales, y está constituida predominantemente por flora bacteriana sacarolítica gram positiva, en las cuales se encuentran microorganismos cariogénicos; sin embargo es posible que esta placa se extienda hasta el fondo del surco gingival, y entre en contacto con la encía, recibiendo la denominación de placa marginal. La placa dental subgingival, se encuentra por completo del surco gingival o de los sacos periodontales, y está constituida principalmente por flora bacteriana proteolítica gram negativa en la cual se encuentran microorganismos periodontopatógenos (MARSH PD, 2005)

La formación de placa dental es el resultado de una serie de procesos complejos que involucran una variedad de bacterias y componentes de la cavidad bucal del

hospedero. Estos procesos comprenden en primer lugar la formación de la película adquirida sobre la superficie del diente; seguido de la colonización por microorganismos específicos adheridos sobre la película adquirida; y finalmente la formación de la matriz de la placa (NEVILLE BW, 1995).

La formación de placa se da al cabo de uno o dos días de no realizar la higiene bucal. Su color es blanco, grisáceo o amarillento y tiene aspecto globular. El desplazamiento de los tejidos y los alimentos sobre los dientes causa la eliminación mecánica de la placa. Esa remoción es muy eficaz en los dos tercios coronarios de la superficie dentaria. En consecuencia, lo característico es observar la placa en el tercio gingival de la superficie dental, donde se acumula sin desorganizarse por el movimiento de los alimentos y tejidos sobre la superficie dental en el transcurso de la masticación. Los depósitos de placa también se forman de manera preferente en hendiduras, fosas y fisuras de la estructura dentaria. Así mismo, lo hace por debajo de restauraciones desbordantes y alrededor de dientes en mal posición. La localización, velocidad y formación de la placa varía entre los individuos. Factores determinantes incluyen la higiene bucal y elementos relativos al huésped como la dieta o la composición salival y la velocidad del flujo.(CARRANZA, 2004)

En las interacciones entre bacterias de la placa dental hay un grado elevado de especificidad, como muestran los estudios de coagregación. Esto es más evidente mediante ensayos llevados a cabo con microscopía óptica y electrónica sobre la

estructura de la placa dental formada in vivo. La placa supragingival presenta una organización característica estratificada de morfotipos bacterianos. Cocos grampositivos y bacilos cortos predominan en la superficie dental, mientras que en la superficie externa de la placa madura predominan bacilos y filamentos gramnegativos, así como espiroquetas. Interacciones muy específicas entre células también son evidentes en las estructuras en mazorca observadas a menudo. Las estructuras en mazorca aparecen entre células bacterianas con forma de bastoncillo (*Bacterionema Matruchoi* o *F. Nucleatum*) que constituyen el núcleo interno de la estructura y células cocicas que se fijan sobre la superficie de la célula con forma de bastoncillo. (CARRANZA, 2004)

La placa en contacto con el diente se caracteriza por bacilos y cocos grampositivos, entre ellos bacterias como *Streptococcus Mitis*, *S. Sanguis*, *A. Viscosus*, *A. Naeslundii* y especies de *eubacterium*. El margen apical de la masa de la placa se separa del epitelio de unión por una capa de leucocitos del huésped. Entre las bacterias de esa región apical en contacto con el diente hay mayor concentración de bacilos gramnegativos. (Carranza 2004). Según Suda R y colaboradores, 2003, el mayor porcentaje de patógenos que se encuentran en la placa bacteriana y afectan la salud periodontal son bacterias gram negativas, sostienen también que estudios recientes demuestran como la presencia de bacterias forman una compleja biopelícula la cual actúa de manera negativa afectando el periodonto (SUDA R, 2003)

Los dientes primarios móviles, exfoliados en parte, pueden ser causa de gingivitis. Otros factores que favorecen la acumulación de la placa son la impactación de alimentos y materia alba que se acumula a los dientes destruidos parcialmente por caries. (Carranza 2004). Un estudio adelantado por Gavin P. Gafan y colaboradores, sustenta que la presencia de bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *Tannerella forsythensis*, están implicadas directamente en la enfermedad periodontal, específicamente en la gingivitis, para sustentar tal hipótesis, analizaron dos grupos de niños con y sin gingivitis, extrajeron placa bacteriana y fue analizada en laboratorio, efectivamente a los niños que presentaban gingivitis se les encontró un mayor número de bacterias en la placa bacteriana.(GAVIN P Y COL, 2004)

La gingivitis sucede más a menudo y con mayor intensidad alrededor de los dientes en mal posición debido a su mayor tendencia a reunir placa y materia alba. Los cambios graves incluyen el aumento de volumen gingival, coloración roja azulada, ulceración y la formación de las bolsas profundas de las cuales es posible extraer el pus. La gingivitis aumenta en los niños con resalte y entrecruzamiento excesivo, obstrucción nasal y el hábito de respirar por la boca (GAVIN P Y SOL, 2004).

El infiltrado inflamatorio está formado casi por completo por linfocitos B sin transformar. Las lesiones clínicas resultantes no son progresivas ni destructivas. El infiltrado esta compuesto principalmente por células T que cambian a células B

cuando la lesión se torna destructiva. En la dentición mixta el periodonto de los dientes permanentes puede estar traumatizado porque los dientes permanentes soportan mayores cargas oclusivas cuando los dientes primarios vecinos se exfolian. (NEVILLE, 1995)

La variabilidad de la microflora oral se demuestra comparando la composición microbiana de muestras tomadas de sitios similares de distintas bocas. Distintos sitios de la cavidad oral de un mismo individuo tienen una microflora diferente. Aunque cada sitio tiene prácticamente todos los microorganismos en algún momento, cada uno de estos tienen una ubicación en la que predomina (WOOD SR, 2000).

En la microflora oral, como otras floras, es un reflejo de su ambiente. Su naturaleza depende de sus requerimientos fisicoquímicos y nutricionales. Los requerimientos de crecimiento de los microorganismos pueden ser provistos por la dieta del huésped, sus tejidos, o por otros microorganismos. La naturaleza y la cantidad de hidratos de carbono o proteínas determinarán cuáles habrán de florecer y cuáles simplemente existirán. Según Kamma JJ, y colaboradores, 2000, la erupción de los dientes primarios tiene una gran influencia para el desarrollo de nichos para la colonización bacteriana, así como el ecosistema oral que provee tal dentición (KAMMA JJ, 2000).

Las bacterias de la cavidad oral humana tienen una amplia variedad de

requerimientos de tensión de oxígeno. Se han detectado tanto aerobios obligados como anaerobios, anaerobios facultativos y microaerófilos.

Aunque ninguna toma contiene una muestra representativa de la flora oral en su conjunto, pueden hacerse censos significativos que representen principalmente la flora de tres focos principales: el dorso de la lengua, el surco gingival y la placa coronaria. Los habitantes del surco y la placa parecen evaluarse adecuadamente por el examen de raspados de estas zonas. Dado que la concentración de bacterias en estas muestras es de aproximadamente 100 veces la de la saliva, la contaminación bacteriana salival no afecta seriamente el resultado. Las tomas con hisopos de la cavidad oral, ya sea en forma local o general, han demostrado ser útiles en situaciones particulares, por ejemplo en niños muy pequeños (TANNER ACR, 2003).

La microflora oral es regulada por la saliva dado que es el medio de cultivo en el que los microorganismos orales deben vivir, crecer, reproducirse y realizar sus distintas funciones la saliva entera es una mezcla compleja de secreciones de la glándula parótida, submaxilar y sublingual, y numerosas glándulas menores de las mucosas de la cavidad oral, según Tanner ACR y colaboradores, 2002 aseguran que microorganismos como el streptococos mutans son transmitidos de madre a hijo por la saliva, favoreciendo enfermedades como la caries de infancia temprana.(MARSH PD, 2005)

La biopelícula de placa está formada mayormente de microbios y proteínas huésped que se adhieren a los dientes a los pocos minutos de una profilaxis dental. En la salud gingival, los organismos Gram. positivos como Actinomicetes y streptococci dominan la biopelícula de placa. En las posteriores etapas de formación de biopelícula de placa (por ejemplo, días o semanas de mala higiene oral), la placa "madura", ocasionando un cambio hacia los anaerobios Gram. negativos y organismos móviles. Algunos de los organismos más comunes asociados con enfermedades periodontales son Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Bacteroides forsythus, Campylobacter rectus, y Actinobacillus actinomycetemcomitans, así como los treponemas. Un estudio realizado por Kamma JJ, y colaboradores, sostiene que en la biopelícula formada por la placa dental se puede llegar a encontrar más de 34 especies de bacterias, las cuales se desarrollan en distintos sitios dentro de la cavidad bucal y siendo diferente según el tipo de dentición. (PAUL E Y CHRISTOPHER, 1982)

Marsh PD, en su estudio titulado "Placa Dental: significado biológico de una biopelícula y el estilo de vida de la comunidad", define la placa como una matriz de poblaciones microbianas adheridas a la superficie dental, como una biopelícula compuesta de una diversidad de microorganismos, los cuales, por los diferentes estilos de vida, costumbres y hábitos de higiene oral, han formado resistencia antimicrobial, generando una resistencia a o tolerancia incluso a los dentríficos (MARSH PD, 2005).

Para medir el acumulo de placa se utilizan algunos índices, en éste caso, el Índice de Loe y Silness, permite establecer grados de intensidad del acumulo de placa, no necesita la aplicación de sustancias descubridoras y puede utilizarse en piezas dentarias seleccionadas representativas de toda la boca, en cuatro sitios por diente, mesial vestibular distal y palatino.

Criterios clínicos para el índice de placa de Loe y Silness

Grado	Características
0	No hay placa
1	No hay placa a simple vista. Hay placa cuando se realiza el pasaje de sonda ó explorador por el área dentogingival
2	Hay placa bacteriana a simple vista
3	Hay placa bacteriana a simple vista rodeando el diente, incluso por espacios interdetales. Puede haber cálculos.

Se estima el promedio de las piezas seleccionadas para tal fin. Incluyendo las cuatro áreas del diente. Se estima que el paciente posea buen estado de salud bucal cuando el índice de O'Leary es inferior al 20% y el de Loe y Silness se mantiene en cero (0). Síntesis del índice gingival según Loe y Silness.

Grado	Características	Signos clínicos
0	Ausencia de inflamación	
1	Inflamación leve	Leve cambio de color y textura
2	Inflamación moderada	brillo moderado, enrojecimiento, edema e hipertrofia, sangre al sondaje (esperar 10 segundos).
3	Inflamación severa	Tendencia al sangrado espontáneo. Ulceración

FUENTE: Dra. Bordoni Noemi, Dra. Doño Raquel, Dra. Miraschi Clara
Organización Panamericana de la Salud 1992.

En cualquier estudio de investigación una cuestión clave es la fiabilidad de los procedimientos de medida empleados. Tradicionalmente se ha reconocido una fuente importante de error de medida en la variabilidad entre observadores. Consecuentemente, un objetivo de los estudios de fiabilidad debe consistir en estimar el grado de dicha variabilidad. En este sentido, dos aspectos distintos entran a formar parte típicamente del estudio de fiabilidad: de una parte, el sesgo entre observadores, dicho con menos rigor, la tendencia de un observador a dar consistentemente valores mayores que otro y de otra, la *concordancia* entre observadores es decir, hasta qué punto los observadores coinciden en su medición. Ciñéndonos a este segundo aspecto, la manera concreta de abordar el problema depende estrechamente de la naturaleza de los datos: si éstos son de tipo continuo es habitual la utilización de estimadores del coeficiente de correlación intraclase, mientras que cuando se trata de datos de tipo categórico el estadístico más empleado es el índice kappa, El índice **kappa** representa una aportación en esta dirección, básicamente mediante la incorporación en su fórmula de una corrección que excluye la concordancia debida exclusivamente al azar

FUENTE: www.fisterra.com

En el Taller Mundial de 1996 sobre Periodoncia Clínica, un grupo que estudiaba patógenos periodontales específicos como agentes causativos en la enfermedad periodontal, limitó sus descubrimientos a tres organismos. A. actinomicetencomitans, b. forshythus, y P. gingivalis. Aunque hay más de 300 especies que se aíslan en sacos periodontales, solo un pequeño porcentaje de

ellas se consideran etiologicamente importantes. Por consiguiente, se comenzará centrando en cada uno de estos tres organismos a su vez, con la advertencia que éstos no existen en aislamiento in vivo, pero son parte de una comunidad microbial. (TATSUJI Y COL, 2000).

GÉNERO *PREVOTELLA*

Las especies que conforman el Género *Prevotella*, anteriormente clasificadas dentro del Género *Bacteroides*; son bacilos cortos, pleomórficos, generalmente de 0,4µm por 0,6 a 1µm de longitud, inmóviles, no esporulados. Capaces de producir pigmentos, moderadamente fermentativos, sensibles a la bilis y resistentes a la vancomicina. Al igual que *Porphyromonas*, son exigentes en cuanto a Vitamina K, hemina y sangre para su crecimiento (TATSUJI Y COL, 2000).

Atendiendo a la producción de pigmento marrón oscuro o negro, característica que se observa de 2 a 3 semanas en sus colonias desarrolladas en agar sangre; las especies de interés odontológico se clasifican en dos grupos: 1) Especies pigmentadas: *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *P. loescheii*, *P. corporis*, *P. nigrescens*, *P. pallens*, y, 2) Especies no pigmentadas: *P. bivia*, *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. disiens*, *P. oralis*, *P. oris*, *P. oulorum*, *P. veroralis*, *P. heparinolytica*, *P. zooglyphiformans*

Todas estas especies, tienen su hábitat en la cavidad bucal, principalmente en el

surco gingival, y de todas ellas, *P. melaninogenica* y *P. loescheii* son las de mayor poder fermentador; las demás especies sólo poseen capacidad sacarolítica sobre un determinado número de azúcares. Cabe resaltar que *P. nigrescens*, fenotípicamente idéntica a *P. intermedia*, es una nueva especie derivada de un grupo genotípicamente diferenciado de cepas incluidas antiguamente en *P. intermedia*. Las especies más implicadas en la periodontitis son *P. intermedia*, *P. loescheii* y *P. melaninogenica*, en las que se han descrito fimbrias, como adhesinas, que intervienen en la adhesión y coagregación bacteriana. También se ha comprobado su capacidad para degradar inmunoglobulinas, su acción tóxica sobre fibroblastos, su actividad fibrinolítica, y el estímulo de su crecimiento por hormonas como estradiol y progesterona. Igualmente, se ha demostrado *in Vitro* que *P. loescheii* y *P. melaninogenica* tienen efecto inmunosupresor por inhibir la proliferación de linfocitos B e inmunoglobulinas. La significación patógena en el resto de especies no es bien conocida, por lo que se relacionan en esta enfermedad unida a otras bacterias, con carácter sinérgico y polimicrobiano (MOORE WEC, 2000).

PREVOTELLA INTERMEDIA

El género *Prevotella* son bacilos cortos, pleomórficos, generalmente de 0.4 µm X 0.6 a 1 µm de longitud inmóviles no esporulados capaces de producir pigmentos, moderadamente fermentativos, sensibles a la bilis y resistentes a la vancomicina. Al igual que porfirógenos son exigentes en cuanto a vitamina K, Hemina y sangre para su crecimiento (EMILIA C, 2004).

Prevotella intermedia en las que se ha descrito fimbrias como adhesivas que intervienen en la adhesión y la coagregación bacteriana. Se ha comprobado su capacidad para degradar inmunoglobulinas, su acción toxica sobre el fibroblasto su actividad fibrinolítica y el estímulo de su crecimiento por hormonas como estradiol y progesterona.

Es el segundo bacteroide de pigmentación negra que suscita gran interés. Los niveles de este bacilo gramnegativo, corto de extremo redondeado están particularmente elevados en la gingivitis ulcerativa necrozante aguda (Loesche Y Cols en 1982) y en ciertas formas de periodontitis.

Según Iván Darby & Michael Curtis 2000, en su estudio de microbiología de enfermedades periodontales en niños y adultos jóvenes, sostienen que la prevotella intermedia se encuentra asociado a enfermedades periodontales como el inicio de la periodontitis, sostienen también que ésta familia alcanza un 2,9% de la flora bacteriana en adultos jóvenes.

A. ACTINOMYCETEMCOMITTANS

Es una especie bacterial cuya asociación con la enfermedad periodontal localizada agresiva (antiguamente periodontitis juvenil localizada) ha sido más claramente demostrada. Es un bacilo pequeño, no móvil, gramnegativo, sacarolítico, capnofílico, de extremos redondeados y forma de aquellas colonias convexas con

un centro en forma de estrella cuando se cultiva en placa de agar sangre. Esta especie fue reconocida por primera vez como posible patógeno periodontal por su frecuencia en lesiones de periodontitis juvenil localizada. La prevalencia subgingival de *A. actinomycetemcomitans* varía ampliamente e incluso aumenta típicamente con la enfermedad. Por ejemplo, se encontró que 0-26% de niños saludables mostraban subgingivalmente *A. actinomycetemcomitans* es un agente causativo en la enfermedad periodontal agresiva localizada (LARS MATSON, 1978).

Interactúa con el huésped mediante la producción de diversos factores de virulencia. La leucotoxina, el factor de virulencia más estudiado hecho por *A. actinomycetemcomitans* es un RTX (Repeticiones en Toxina). Se ha mostrado que *A. actinomycetemcomitans* leucotoxina mata leucocitos polimorfonucleares de humanos y primates no humanos y monocitos de sangre periféricos, evadiendo de este modo la respuesta inmune innata atacándolo directamente. . La apoptosis o muerte de célula programada es un proceso en donde las células huésped experimentan degeneración nuclear, desencadenando su evacuación mediante fagocitos (KEIKO TSUDA Y COL, 1995).

A. actinomycetemcomitans podría beneficiar en alguna etapa en el proceso de la enfermedad (por ej. cuando ésta emerge de una célula epitelial gingival infectada) amortiguando su producción de leucotoxina y por consiguiente mitigando la respuesta inflamatoria. Teniendo en cuenta que se ha mostrado que *A. actinomycetemcomitans* penetra las células huésped, uno podría presumir que

este organismo podría beneficiarse de producir apoptosis. Las características estructurales de *A. actinomycetemcomitans* lipopolysacárida son típicos e incluyen una superficie anfígena compuesta de diversos azúcares, una profunda región lípida A dentro de la membrana externa, y un núcleo interno polisacárido (polysaccharide). (SUDA R, 2003)

Tal vez lo más relevante de la capacidad de *A. actinomycetemcomitans* para evadir las defensas innatas y sobrevivir a terapia periodontal mecánica es su capacidad de invadir los tejidos gingivales y en particular, invadir las células epiteliales. Se ha especulado que una vez que *A. actinomycetemcomitans* gana entrada dentro del tejido conectivo, su producción de colagenasa permitirá adquirir nutrientes y posiblemente diseminarlo. Uno de los clásicos hallazgos en periodontitis, podría ocasionar descomposición de colágeno. (TATSUJI N, 2000)

Discutiblemente la capacidad de un microorganismo para penetrar células huésped es un rasgo importante común en aquellos organismos que estén más probablemente asociados con la enfermedad. La capacidad de patógenos periodontales para encubrirse ellos mismos en células huésped podría permitirles sobrevivir a una terapia periodontal convencional y emerger ocasionando enfermedad nuevamente. En el World Workshop (Taller Mundial) de 1996, se conoció que la presencia de *A. actinomycetemcomitans* y pacientes más jóvenes era un indicador de riesgo para el desarrollo de enfermedad periodontal. (ARIE J, 2005)

Esto apoya la mayor parte del trabajo hecho antes de 1996 que indica que es la presencia de *P. gingivalis* o *B. forsythus* la que más frecuentemente se correlaciona con la enfermedad crónica progresiva. Por ello, se puede describir a *A. actinomycetemcomitans* como ser el iniciador de enfermedad agresiva. (TATSUJI N, 2000)

GÉNERO *FUSOBACTERIUM*

Las bacterias que conforman el Género *Fusobacterium*, se caracterizan por ser bacilos largos fusiformes, inmóviles, no esporulados y generalmente no fermentativos. La producción de ácido butírico como principal producto metabólico permite diferenciar *Fusobacterium* de *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Bacteroides*

Se han descrito varias especies que habitan en el surco gingival en la cavidad bucal, entre ellas las más comunes son *F. nucleatum*, *F. naviforme*, *F. periodonticum*, *F. alocis* y *F. sulci*. Estas especies han sido relacionadas con la enfermedad periodontal, sin embargo, su significación como patógenos es dudosa, a excepción de *F. nucleatum*, especie que se ha sido aislado con mayor frecuencia en el surco gingival. Se han descrito hasta los momentos cinco subespecies de esta especie bacteriana: *F. nucleatum nucleatum*, *F. nucleatum polymorphum*, *F. nucleatum fusiforme*, *F. nucleatum vincentii* y *F. nucleatum animalis*. De ellas *F. nucleatum nucleatum*, es significativamente frecuente en la periodontitis. Su poder patógeno está asociado a la presencia de fimbrias,

lipopolisacáridos, a la producción de factores solubles inhibidores de la quimiotaxis de los polimorfonucleares y a la elaboración de metabolitos que se comportan como compuestos tóxicos tisulares

FUSOBACTERIUM NUCLEATUM

Las bacterias que conforman este genero se caracterizan por ser bacilos largos fusiformes inmóviles no esporulados y generalmente no fermentativos. La producción de ácido butírico como principal producto metabólico permite diferenciar *F. Nucleatum*. Su poder patógeno está asociado a la presencia de fimbrias, lipolisacáridos a la producción de factores solubles inhibidores de la quimiotaxis de los polimorfonucleares y a la elaboración de metabolitos que se comportan como compuestos tóxicos tisulares

Es un bacilo fusiforme gramnegativo, anaerobio que ha sido considerado parte de la microflora subgingival durante más de 100 años. Esta especie constituye el cultivo más común hallado en los estudios de muestras de placa subgingival, llegando aproximadamente al 6- 10% de los cultivos totales de las diferentes situaciones clínicas (SUDA R, 2003).

La octava edición del Manual de Bergey reconoce 16 especies, siendo la especie tipo el *Fusobacterium Nucleatum*. El *F. Nucleatum* y el *F. Plauti* constituyen las especies reconocidas aisladas de la cavidad oral. El *F. Nucleatum* produce pequeñas colonias traslucidas en agar sangre de caballo.

Mecanismos patogenicidad

El rasgo sobresaliente de la periodontitis crónica es la destrucción de los tejidos del soporte del diente. La existencia de placa dental es fundamental en este proceso. La colonización de los tejidos periodontales por especies bacterianas patógenas es el primer paso para el desarrollo de esta enfermedad. Este proceso destructivo se debe a la entrada de la bacteria o de sus productos bacterianos a los tejidos periodontales. En consecuencia, la destrucción periodontal deriva de productos bacterianos que causan directa o indirectamente daño en los mismos (ARIE J, 2005)

Lindhe (2000), expresa que todos los tipos de enfermedad periodontal están asociados a la presencia de microorganismos patógenos en la placa subgingival, principalmente por especies Anaerobias Gram Negativas, que colonizan y proliferan en el tejido periodontal y a la susceptibilidad del hospedero. El resultado de esta interrelación, en el caso de la periodontitis, es la formación de un saco periodontal y una reacción inflamatoria del tejido mediada por células fagocíticas, plasmáticas, linfocitos T y B, las cuales podrían dañar estructuras del tejido conectivo y el hueso alveolar.

Marsh y Martin (2000), señalan que los determinantes de patogenicidad de los periodontopatógenos comprenden factores que favorecen a una especie bacteriana para colonizar e invadir el tejido periodontal, y mecanismos que permiten evadir las defensas del hospedero y causar daño en el tejido periodontal

1. Colonización e invasión de los periodontopatógenos en los tejidos: La adherencia de bacterias a diferentes superficies del medio como placa, dientes y tejidos, favorecen la colonización y posterior invasión de dichas bacterias a los tejidos periodontales. Las bacterias que colonizan inicialmente el tejido periodontal probablemente se fijan a la superficie dental, tal es el caso de *A. viscosus* que se adhiere mediante fimbrias a proteínas ricas en prolina presentes en las superficies dentales.

De igual forma, las interacciones entre las especies bacterianas y diferentes superficies determinadas por moléculas específicas, llamadas adhesinas, son importantes en la colonización del tejido periodontal. Socransky (1991), describe las interacciones entre *A. viscosus* por medio de fimbrias a un receptor polisacárido de *S. sanguis*, entre *P. loescheii* a través de fimbrias a residuos de galactosil de *S. sanguis* y entre *F. nucleatum* por medio de proteínas de membrana externa a residuos de galactosil de *P. gingivalis* que se encuentran en la masa de placa dental (SINDER SA, 1989).

Moore (1991) y Kamma (1995), señalan que la colonización de los dientes por *Actinomyces sp.* y *Streptococcus sp.* coagregados con *F. nucleatum* y otras especies, producen irritación de los tejidos, sangramiento y exudado, y a su vez estimula el crecimiento de especies de *Porphyromonas*, *Prevotella* y de otros microorganismos asociados con la destrucción del tejido, confirmando así el escenario para el desarrollo de la enfermedad periodontal^{20,21}. Esta colonización

podría ser un paso crítico en el proceso de la invasión bacteriana y en consecuencia, permitir que *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *F. nucleatum* puedan fijarse a otras bacterias, a células epiteliales del tejido, al fibrinógeno y fibronectina del tejido.

La invasión por parte de las bacterias o de sus productos metabólicos a los tejidos del periodonto es esencial para el desarrollo de la enfermedad periodontal. Las bacterias pueden penetrar los tejidos a través de ulceraciones en el epitelio del surco gingival o del saco periodontal, por la penetración directa de las bacterias al interior del tejido conectivo del hospedero, y mediante la acción de enzimas como las colagenasas, fibrinolisin, hialuronidasa, entre otras.

Las especies bacterianas identificadas con capacidad para invadir los tejidos se asocian firmemente con sitios enfermos. Investigaciones realizadas han demostrado la capacidad de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. denticola* de invadir directamente las células del tejido del hospedero. Esta capacidad de invasión por parte de las bacterias, se ha descrito como un factor clave para distinguir las especies patógenas Gram Negativas de otras no patógenas.

2. Mecanismos de evasión o alteración de las defensas del hospedero:
La capacidad de las bacterias de adherirse a superficies, no permite que sea desplazada por secreciones en los tejidos del hospedero, y la invasión por parte de ellas a las células del tejido favorece la alteración de las barreras naturales de defensa de los tejidos del hospedero. Otros mecanismos mediante los cuales las

bacterias periodontales pueden evadir las defensas del hospedero se deben a la capacidad de algunos patógenos de producir proteasas que degradan inmunoglobulinas producidas por el hospedero, las cuales, operan para facilitar la fagocitosis de las bacterias o para bloquear la adherencia fijándose a la superficie de la célula bacteriana. (GAVIN P Y COL, 2004)

Se ha demostrado que *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica* y *Capnocytophaga*, producen proteasas con capacidad de destruir las inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgG), factores del complemento (C3, C4 y C5), y otras proteínas plasmáticas importantes en la iniciación y control de la respuesta inflamatoria como μ -2 macroglobulina, inhibidor de C1, antitrombina, μ -2 antiplasmina y plasminógeno. Asimismo, producen cambios en los polimorfonucleares, degradan proteínas transportadoras de hierro, como albúmina, haptoglobina, hemopoxina y transferina.

Diversos autores coinciden en señalar que las proteasas bacterianas pueden jugar un papel crítico en la colonización y supervivencia de las bacterias en sitios subgingivales y posterior progresión de la enfermedad periodontal. Estas enzimas alteran los mecanismos de defensa del hospedero, degradan las proteínas del mismo, incluyendo componentes del tejido periodontal, sin embargo, aun no se precisa la función de las proteasas bacterianas en la enfermedad, dado que enzimas similares en el medio periodontal podrían provenir de células de los tejidos del hospedero.

3. Mecanismos que inducen daño al tejido periodontal del hospedero: Muchas de las investigaciones sobre los factores de virulencia de los patógenos periodontales se han enfocado hacia las propiedades de las bacterias relacionadas con la destrucción de los tejidos del hospedero. Dichas propiedades han sido clasificadas como las que producen daño directamente a los tejidos y las que estimulan indirectamente la liberación de metabolitos biológicamente activos a partir de las células de los tejidos del hospedero.

Estudios realizados señalan que dentro del grupo de Bacilos Anaerobios Gram Negativos, *P. gingivalis* y *P. intermedia*, junto con otras especies menos patógenas, producen una variedad de enzimas, tales como hialuronidasas, condroitin sulfatasa, heparinasa, B-glucosidasa y N-acetilglucosaminidasa, mediante la cual pueden hidrolizar componentes del tejido, lo que favorece la destrucción del mismo

Es importante señalar la gran actividad colagenolítica que posee *P. gingivalis*, la cual le permite degradar el colágeno, principal constituyente de los tejidos gingivales humanos, favoreciendo así la colonización e invasión del microorganismo y posterior destrucción del tejido. Asimismo, produce ciertas proteasas tiolíticas y casenolíticas, conocidas como gingipainas, que contienen cisteína y poseen especificidad sobre proteínas que contienen arginina o lisina. Estas proteasas se comportan como colagenasas que actúan, degradando el colágeno, en consecuencia produce daño en el ligamento periodontal, tejido

conectivo del diente y resorción ósea; destruyen los eritrocitos para la obtención de hierro; y provocan destrucción de las inmunoglobulinas y proteínas reguladoras de la respuesta inmune

Grenier y Turgeon (1994), determinaron la presencia de bacterias proteolíticas en placa subgingival de pacientes adultos con periodontitis. *P. gingivalis* y *P. intermedia*, fueron las especies más frecuentes aisladas en sacos periodontales en 11 de 13 pacientes estudiados. Otras bacterias proteolíticas encontradas fueron *Capnocytophaga sp.*, *Actinomyces sp.*, *P. acnes* y *P. micros*, las cuales pueden contribuir significativamente a la actividad proteolítica en los sitios afectados. Los resultados obtenidos de este estudio demuestran que las proteasas elaboradas por estas bacterias, no solamente favorecen la progresión de la enfermedad, sino también afectan la integridad del tejido y los mecanismos de defensa del hospedero.

Por otra parte, algunos periodontopatógenos producen ciertos metabolitos que contribuyen con la destrucción del tejido periodontal, tales como: amoníaco, compuestos de sulfuro, ácidos grasos, péptidos e indol. Estos metabolitos también pueden inhibir la quimiotaxis leucocitaria, inducir la activación policlonal de los linfocitos B, ejercer una acción inhibidora de la proliferación fibroblástica, e incluso inducir a las células del hospedero a elaborar una procollagenasa, que determinaría, en ausencia de respuesta local del mismo, un fenómeno de autodestrucción (DENIS R Y FINANE, 2000)

Cabe destacar, que el sistema inmunológico del individuo es una compleja red de interacciones entre células y moléculas reguladoras. Los productos bacterianos pueden afectar dicho sistema, dando como resultado la inhibición del mismo. Una interacción bien definida abarca la liberación de interleuquina 1, factor de necrosis tumoral y prostaglandinas de macrófagos y monocitos expuestos a la endotoxina bacteriana (lipopolisacárido). Estas citocinas derivadas poseen el potencial de estimular la reabsorción ósea y activar o inhibir otras células inmunitarias. Dado que durante la investigación se encontraron ciertos organismos que probablemente ponen a un paciente en riesgo de enfermedad periodontal, es conveniente evaluar las similitudes de estas bacterias. Las tres principales similitudes de *A. Actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* y *Campilobacter* incluyen:

Todas son Gram. negativas y por consiguiente producen lipopolysacarida la cual puede modular la respuesta (reacción) inflamatoria en células huésped que expresan patrones receptores de reconocimiento. Las tres son capaces de invasión de la barrera mucosa en la infección y posiblemente de ser capturados dentro de células epiteliales. De este modo; "ellas pueden aguardar hasta que los malos tiempos terminen" y re-emerger cuando las condiciones sean permisivas para su crecimiento. Finalmente, todas producen factores que les permiten evadir las funciones antibacteriales de la respuesta inmune innata ya sea pasivamente (capsula anti-fagocítica) o activamente (leucotoxina, gingipains, otras proteasas, inducción de apoptosis). (WOOD SR, 2000)

Para conseguir una recuperación óptima de bacterias anaerobias es fundamental elegir correctamente los medios de cultivo primarios. La mayoría de estas bacterias requieren para su crecimiento vitamina K₁ y hemina. Para su aislamiento e identificación presuntiva se aconseja utilizar una combinación de medios enriquecidos no selectivos, selectivos y diferenciales, entre los que se incluyen:

- Un medio de agar sangre para anaerobios como agar *Brucella* o agar Schaedler con un 5% de sangre de carnero, a los que se añaden vitamina K₁ (1 µg/ml) y hemina (5 µg/ml). En estos medios crecen tanto las bacterias anaerobias facultativas como las anaerobias obligadas.

- Agar *Bacteroides* bilis esculina con amicacina (BBE). Es un medio selectivo para *Bacteroides* del grupo *fragilis* y *Bilophilia* spp. Contiene amicacina (100 µg/ml) que inhibe la mayoría de facultativos, bilis (20%) que con casi exclusividad sólo permite el crecimiento de las especies citadas y esculina que al ser hidrolizada en presencia de un indicador (citrato férrico) vira el medio a color negro. Permite una fácil detección de las especies de *Bacteroides* del grupo *fragilis* al ser esculina positivas. A veces, pueden crecer otras especies, como *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium varium*, algunas enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, levaduras, etc., aunque se distinguen de los *Bacteroides* del grupo *fragilis* por el tamaño de sus colonias, que normalmente es inferior a 1 mm de diámetro.

- Agar con alcohol fenil-etílico (PEA) con un 5% de sangre de carnero. El alcohol inhibe el crecimiento de bacilos gramnegativos facultativos, principalmente el

crecimiento en velo de las especies de *Proteus*. También evita el crecimiento en velo de algunas especies de *Clostridium* como *Clostridium septicum*, facilitando de este modo su aislamiento. Se aconseja sembrar en este medio las muestras purulentas o cuando sea previsible una infección mixta.

- Un agar sangre selectivo, como agar Schaedler con neomicina (75 µg/ml) y vancomicina (7,5 µg/ml) (SNV) o con kanamicina (75 µg/ml) y vancomicina (7,5 µg/ml) (SKV) o el clásico agar *Brucella* con kanamicina, vancomicina y en este caso sangre lacada (ASLKV). Son medios selectivos para bacilos gramnegativos como el grupo de *Bacteroides fragilis* y especies de *Prevotella*. La presencia de neomicina o de kanamicina inhibe a la mayor parte de los aerobios facultativos y la presencia de vancomicina inhibe la mayoría de los grampositivos y especies de *Porphyromonas*. A veces pueden crecer en estos medios levaduras y anaerobios facultativos resistentes a estos aminoglicósidos por lo que siempre debe realizarse una tinción de Gram y un ensayo de aerotolerancia a todos los aislados.

- Agar con yema de huevo (AYE). Cuando se sospecha la presencia de clostridios, para detectar la producción de lipasa y/o lecitinasa.

- Un agar selectivo para *Clostridium difficile*, cuando se investigue la presencia de esta especie, como agar fructosa-cicloserina-cefoxitina (CCFA) o agar yema de huevo-cicloserina-cefoxitina (CCEY).

Como medio líquido de enriquecimiento o de mantenimiento se recomienda usar caldo de tioglicolato sin indicador, suplementado con vitamina K₁ (200 µl) y hemina (20 µl). Este medio se utiliza para recuperar las bacterias anaerobias en caso de que falle la anaerobiosis en la incubación de los cultivos primarios, haya una

inhibición del crecimiento debido a antibióticos o a otros factores, o bien cuando las bacterias se encuentran en cantidades muy pequeñas. (MARSH, PD, 2005)

Sistemas de incubación en anaerobiosis

Su elección viene determinada por el coste, número de cultivos y limitaciones de espacio. Los más comunes son las cámaras, jarras o cajas y bolsas de anaerobiosis. Con independencia del sistema utilizado es importante monitorizar el ambiente anaerobio con una tira indicadora de azul de metileno o de resazurina, y la temperatura de incubación.

Las placas de agar brucilla se incuban en jarras para anaerobiosis que se cierran herméticamente con un sobre generador en su interior. Este sobre, mediante una reacción química, genera H_2 y CO_2 que desplazan al O_2 en interior de la jarra.

Existen diferentes modelos de cámaras para anaerobios, en las que se consigue una atmósfera anaerobia mediante una mezcla de gases que contiene 5% de H_2 , 5-10% de CO_2 y 85-90% de N_2 . Poseen un sistema de intercambio que consiste en un compartimiento rígido con una puerta interior y otra exterior. Las jarras son recipientes cilíndricos, de metal o de plástico rígido, que deben cerrarse herméticamente y en los que la atmósfera anaerobia se obtiene entre 1 y 2 horas después de introducir unos sobres (GasPak, Becton Dickinson) en los que, al añadir H_2O se libera H_2 y CO_2 . El H_2 se combina con el oxígeno existente formando

agua gracias a la presencia de un catalizador. Actualmente existen sistemas en los que no hace falta añadir H₂O o introducir el catalizador (Anaerogen Oxoid). Mediante una técnica automatizada, Anoxomat, también se puede lograr una atmósfera anaerobia en las jarras. Como ya se ha señalado debe introducirse un indicador de oxígeno, que suelen ser tiras de papel con azul de metileno, que se decoloran al desaparecer la presencia del oxígeno (KAMMA ACR, 2003).

También se encuentran disponibles en el mercado diferentes sistemas de bolsas de anaerobiosis de plástico transparente y flexible como GasPack Pouch (Becton Dickinson) o AnaerogenCompact (Oxoid) con generadores e indicadores adecuados. Se pueden utilizar tanto para el transporte de muestras al laboratorio como para la incubación de cultivos.

Tiempo de incubación

Inmediatamente después de su siembra las placas de cultivo se incuban a 35-37°C en el sistema de anaerobiosis disponible. Si se utiliza una cámara se pueden examinar a las 24 h, puesto que no es necesario sacarlas, mientras que si se emplean jarras o bolsas hay que esperar 48 h, a no ser que se busquen microorganismos de crecimiento rápido y se empleen medios selectivos como el BBE para el grupo de *Bacteroides fragilis* o el EYA para clostridios, en cuyo caso se pueden examinar a las 24 h.

Si en las placas no se observa ningún crecimiento se deben reincubar hasta

completar 7 días, al menos las de agar sangre no selectivo, ya que algunos anaerobios requieren este tiempo para formar colonias visibles (*Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Propionibacterium*, *Bilophila*,...). Se aconseja mantener la incubación del medio líquido de enriquecimiento entre 7 y 10 días y se deben realizar subcultivos, si se aprecia turbidez u otro signo de crecimiento, en agar sangre y agar chocolate que se incubarán en una atmósfera con 10% de CO₂, y en agar sangre para anaerobios incubado en anaerobiosis. Este mismo proceder se realiza al final del periodo de incubación si no se ha detectado crecimiento para considerarlo definitivamente estéril (TATSUJI Y COL, 2000).

Los líquidos corporales habitualmente estériles, como ascítico, de diálisis peritoneal, articular, pericárdico, amniótico, pleural, sinovial, intraocular, etc. se inoculan en frascos de hemocultivo para aerobios y anaerobios, reservando un pequeño volumen para hacer una tinción de Gram. A diferencia de otros líquidos, el amniótico y los líquidos obtenidos por culdocentesis no necesitan centrifugarse antes de realizar esta tinción. La lectura se realiza diariamente durante 7 días. En el caso de que haya crecimiento, se extrae una muestra del frasco aerobio mediante jeringa y aguja para realizar subcultivos en medios sólidos para aerobios y facultativos (agar sangre, agar chocolate, agar sangre con colistina y ácido nalidíxico y agar MacConkey, por ejemplo). Del frasco anaerobio se hacen subcultivos en agar sangre, agar chocolate y agar sangre para anaerobios.

Las bacterias anaerobias raramente causan meningitis, por lo que el cultivo de rutina del líquido cefalorraquídeo no es necesario. Los anaerobios pueden estar

implicados en la formación de abscesos cerebrales, empiema subdural y absceso epidural y en estos casos no es útil el examen del líquido cefalorraquídeo. (SUDAR, 2003)

En el análisis microbiológico de una muestra clínica se pueden distinguir, al menos teóricamente, dos etapas. La primera esta dedicada a "buscar" los anaerobios que pueda contener, obtenerlos en cultivo puro, identificarlos de forma preliminar (a nivel de género o "grupo"), e informar al clínico lo antes posible. En una segunda etapa se debe intentar conseguir una identificación más precisa y estudiar la sensibilidad a los antibióticos que habitualmente tienen actividad sobre estas bacterias. Sería deseable que la primera etapa se realizara en todos los laboratorios de microbiología, mientras que la segunda puede quedar restringida a unos pocos, cuya experiencia debe servir de base para el conocimiento general de las bacterias anaerobias que se pueden encontrar en muestras clínicas correctamente obtenidas y su sensibilidad/ resistencia a los antibióticos habitualmente utilizados para su tratamiento.

Los medios con crecimiento deben observarse cuidadosamente para detectar todas las colonias diferentes, independientemente de su tamaño, y proceder a su subcultivo. Algunos anaerobios pueden formar colonias morfológicamente semejantes a las de los facultativos. Los subcultivos se realizan siempre a partir de una única colonia. Esta se inocula en una placa de agar sangre no selectivo para anaerobios (ver el apartado 7.2.4 Medios de cultivo) y en una de agar chocolate que se incuban en una atmósfera anaerobia y aerobia con 10% de CO₂,

respectivamente deben realizarse los reaislamientos necesarios para poder subcultivar colonias únicas de todos los tipos morfológicos. Las colonias subcultivadas que no crezcan en agar chocolate incubado en CO₂ se consideraran en principio anaerobios estrictos y se procede a su estudio. Hay que tener en cuenta que algunos bacilos grampositivos (*Actinomyces* spp., *Propionibacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., e incluso algunas especies de *Clostridium*) pueden ser lo bastante aerotolerantes como para crecer en CO₂ y sin embargo se deben considerar como anaerobias. Por el contrario algunos estreptococos pueden aparecer como anaerobios estrictos en el primer subcultivo y mostrarse como perfectamente facultativos tras un periodo más o menos largo de adaptación. Confirmado el carácter de anaerobio estricto de la bacteria aislada se comunica el hallazgo lo antes posible al clínico, aunque sólo se le da una información muy general e inespecífica. (KEIKO TSUDA Y COL, 1995)

IDENTIFICACIÓN SEGÚN EMILIA CERCENADO Y RAFAEL CANTON. PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGIA CLINICA 2004

El primer paso, el más básico pero imprescindible, es la observación detallada de las características de la colonia y de la tinción de Gram. Dado que entre los anaerobios hay especies que retienen de forma variable el colorante principal (cristal violeta), en ocasiones puede ser de gran ayuda un subcultivo con un disco de vancomicina de 5 µg para determinar el carácter de grampositividad o gramnegatividad. Con los datos obtenidos de estas observaciones ya se puede

informar sobre: cocos grampositivos anaerobios, *Clostridium* spp. (Visión adicional de esporas o morfología típica de *C. perfringens*) o bacilos grampositivos anaerobios, (en este último caso si la morfología es de *Propionibacterium* se puede notificar como tal si se detecta la producción de catalasa). Los cocos gramnegativos anaerobios se informan como tales o como *Veillonella* spp., puesto que este es el género más frecuentemente hallado en muestras clínicas. En el caso de los bacilos gramnegativos anaerobios es aconsejable informar de ellos una vez encuadrados en ciertos "grupos": grupo *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides/Prevotella*, *Prevotella/ Porphyromonas*, *Bacteroides ureolyticus/ Campylobacter*, *Fusobacterium*, o *Bilophila/ Sutterella*. Este encuadre preliminar se puede lograr con algunas pruebas adicionales como: capacidad para crecer en presencia de un 20% de bilis (resistencia a la bilis u *oxgall*), y su sensibilidad (S) o resistencia (R) (halos de inhibición) por el método de difusión con discos a vancomicina (con carga de 5 µg), kanamicina (de 1000 µg), y colistina (de 10 µg). La interpretación de estas observaciones es la siguiente:

1. Crecimiento en bilis (+), vancomicina R, kanamicina R, colistina R = grupo *Bacteroides fragilis*.
2. Crecimiento en bilis (+), vancomicina R, kanamicina S, colistina S = grupo *Bilophila/Sutterella*.
3. Crecimiento en bilis (-), vancomicina variable (V), kanamicina R, colistina V = grupo *Prevotella/ Porphyromonas*.

4. Crecimiento en bilis (-/+), vancomicina R, kanamicina S, colistina S = *Fusobacterium* spp. (dos especies bilis+).
5. Crecimiento en bilis (-), vancomicina R, kanamicina S, colistina S = grupo *Bacteroides ureolyticus/Campylobacter* (la diferenciación presuntiva entre este grupo y *Fusobacterium* tendría que basarse en las características morfológicas de la cepa). También estaría en este grupo el género *Leptotrichia*.

Aunque la sensibilidad a la vancomicina puede diferenciar los géneros *Prevotella* (vancomicina R) y *Porphyromonas* (vancomicina S), se sugiere la agrupación imprecisa de "grupo *Prevotella/Porphyromonas*" para los bacilos gramnegativos anaerobios que dan colonias negras, dada la dificultad que puede existir para conseguirlos en cultivo puro a pesar de su fácil detección por la pigmentación de sus colonias.

La identificación a nivel de género y especie de todos los aislamientos clínicos ayudaría a conocer con precisión su implicación en diferentes enfermedades infecciosas, su sensibilidad a los antibióticos y los posibles mecanismos de resistencia existentes. Sin embargo conseguir identificar la especie (e incluso en ocasiones el género) de todos los aislamientos es una tarea prácticamente imposible y seguramente ni siquiera necesaria. No obstante sería conveniente que al menos en algunos laboratorios con mayor capacidad se intentara su identificación con la mayor precisión posible.

Las bacterias se clasifican según su tolerancia al O₂ en; Anaerobias estrictas crecen con < 0.5 % de presión de O₂; Anaerobias facultativas toleran > 3 % de presión de O₂; Microaerofilas crecen con 5-10 % de presión de O₂; Aerobias estrictas crecen con > 10 % de presión de O₂; Las bacterias anaerobias constituyen la flora normal en el ser humano, especialmente en la boca. El cultivo de especies anaerobias es difícil por;

1. las dificultades técnicas para garantizar la anaerobiosis durante la manipulación de la muestra y su posterior cultivo.
2. La frecuente presencia de mezclas complejas de especies anaerobias y facultativas y
3. Los requerimientos nutricionales

Para considerar un aislado bacteriano con una especie anaerobia es necesario comprobar primero que no es aerotolerante. Para ello se subcultiva en dos medios incubando uno de ellos en condiciones de anaerobiosis y el otro es aerobiosis. Tras 24 horas de incubación se examinan las placas y se comparan los crecimientos.

En sus últimos documentos el NCCLS recomienda utilizar agar *Brucella* enriquecido con 5% de sangre de carnero lacada, vitamina K₁ (5 µg/ml) y hemina (5 µg/ml), en lugar del medio recomendado anteriormente, agar Wilkins-Chalgren, al comprobar que en el primero crecen mejor las bacterias anaerobias.

Preparación del inóculo: A partir de un cultivo en placas de agar *Brucella* enriquecido para anaerobios, de 24 horas o del tiempo necesario para conseguir

colonias de por lo menos 1 milímetro de diámetro, se suspenden de 3 a 5 colonias en un caldo de tioglicolato enriquecido sin indicador, que se incuba entre 6 y 24 horas o hasta que alcance una turbidez adecuada. Posteriormente, se ajusta la turbidez a una densidad equivalente al 0,5 de la escala turbidométrica de McFarland mediante la adición de caldo *Brucella* u otro caldo previamente reducido, o hervido y enfriado para eliminar el oxígeno. También se puede preparar el inóculo directamente haciendo una emulsión de las colonias y ajustándola a la turbidez mencionada partiendo del cultivo, medios citados y según el procedimiento anteriormente indicado. Las placas con medio de agar *Brucella* con antibióticos no deben dejarse en aerobiosis un tiempo superior a 30 minutos.

La inoculación en la superficie del agar se hace con la ayuda de un replicador de Steers. El inóculo final debe ser, aproximadamente, de 10^5 UFC por punto de inoculación. Se recomienda, tanto al principio como al final de cada serie, inocular dos placas control sin antibiótico, una se incuba en una atmósfera con un 5% de CO₂ y la otra en anaerobiosis, durante 42-48 h, con el fin de comprobar la viabilidad y pureza del inóculo. Se debe empezar a inocular siempre por la concentración más pequeña de cada antibiótico. A las 42-48 h de incubación en anaerobiosis a 35-37°C, se lleva a cabo la lectura examinando en primer lugar las placas control. La CMI (concentración mínima inhibitoria) se considera como aquella concentración de antibiótico en la que se observa una reducción marcada en el crecimiento de la bacteria al compararlo con el crecimiento de la placa

control, como es el cambio a una fina película, o a numerosas colonias pequeñas, o bien a una o varias colonias de tamaño normal.

MICRODILUCIÓN EN CALDO SEGÚN EMILIA CERCENADO Y RAFAEL CANTON. PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGIA CLINICA 2004

Como se ha mencionado solamente está aceptado por el NCCLS para las especies del grupo de *Bacteroides fragilis* y para ampicilina-sulbactam, cefoxitina, clindamicina, ertapenem, metronidazol, piperacilina y trovafloxacin. Para su realización se recomienda usar caldo *Brucella* suplementado con hemina (5 µg/ml), vitamina K₁ (1 µg/ml) y sangre lacada de caballo (5%). El inóculo puede prepararse siguiendo uno de los procedimientos descritos en el método de dilución en agar y debe ser de 1×10^5 UFC/pocillo. Se aconseja realizar un control de pureza de la suspensión del inóculo, haciendo un subcultivo de una parte alícuota en un medio enriquecido y no selectivo para incubar en aerobiosis y en anaerobiosis.

A las 48 horas de incubación en atmósfera anaerobia a 35-37°C, se realiza la lectura en un fondo oscuro, con luz indirecta o mediante un espejo. Se considera como CMI aquella concentración del antibiótico en la que se observa una reducción significativa del crecimiento bacteriano al compararlo con el crecimiento del pocillo control, ya sea una inhibición completa del crecimiento o un botón de crecimiento muy tenue.

Según Suda R. y col en el *Jornal Periodontology* 2003 para prevenir el ataque o progresión de la periodontitis se debe entender cuando se forman los patógenos periodontales, primero como ellos desarrollan el biofilm que causan la enfermedad periodontal. El propósito de este estudio fue determinar la relación entre el estado físico y el patógeno periodontal seleccionado en placa subgingival de niños escolares, este estudio se dirigió con 95 niños escolares de 8 a 11 años. La presencia y distribución de ocho patógenos periodontales. La primera prueba fue realizada en el primer molar superior por una técnica de inmunofluorescencia y se compararon con ciertos parámetros clínicos. De los 95 niños solo uno tenía todos los ocho patógenos, y 5 de ellos no tenían cualquiera de los ocho patógenos. El número de patógenos positivos fue de 3.5 ± 1.8 y el porcentaje de patógenos positivos 3.82 ± 4.22 %. El número y el porcentaje total de patógenos positivos se puso en correlación fuertemente con el índice de placa. El número de patógenos positivos fue puesto en correlación a la presencia de cálculos subgingival. El patógeno más frecuente que se encontró fue el campylobacter (4.2 %) y eikenella (83.2 %) y el menor actinobacilos actinomicetocomicans de (7.4 %). De los ocho patógenos la frecuencia y distribución de la porfiromona fue puesto con relación al índice de placa y la presencia de calculo, además las porfiromonas gingivales y el fusobacterium mostró una correlación con la inflamación gingival. En conclusión, la presencia de porfiromona gingivalis y fusobacterium puede ser un marcador de riesgo importante para el ataque de la enfermedad periodontal. (SUDA R, 2003).

En un estudio realizado sobre el perfil de la microflora subgingival en niños con dentición mixta en el departamento de periodoncia de la escuela de medicina en la universidad de Atenas en Grecia se encontró una gran variedad de microflora en niños a temprana edad. Fueron estudiados 40 niños de 7 a 8 años sistémicamente sanos escogidos aleatoriamente. Se tomaron muestras de placa subgingival en la región mesial de los dientes 21, 11, 16, 36 para permanentes y 53, 73, 64, 84 para deciduos y las muestras fueron cultivadas anaerobicamente usando medios selectivos y no selectivos y teniendo una concentración de 3 10 % de dióxido de carbono. Cuarenta y cinco especies microbianas diferentes fueron aisladas en ambos tipos de dentición. El desarrollo de la microflora oral relacionada con la edad y colonización de anaerobios es todavía inadecuadamente entendido. Ciertos gramnegativos han sido blanco de intensas investigaciones en microbiología oral y muchos otros estudios están enfocados en la composición de microflora oral en la periodontitis. Fueron halladas *prebotella*, *fusobacterium nucleatum* en niños de 5 a 7 años de igual manera en niños de 8 a 12 años con periodontitis. No fueron encontradas *porfiromonas gingivalis* y ocasionalmente se halló *actinobacilos actinomicetocomicans*. La examinación periodontal para este estudio incluyó la valoración profunda de el sondeo, placa y sangrado de seis zonas diferentes de los dientes (m-d-ml-dl) de todos los dientes. Las medidas fueron hechas a un milímetro usando la prueba periodontal de FOXS WILLIAMS. Toda la evaluación clínica fue realizada por un periodoncista. Los resultados arrojados por el estudio muestran que en niños con dentición mixta hay gran cantidad de bacterias anaerobias gram negativas que pueden estar

relacionadas con la patogénesis y la edad periodontal en la edad adulta (TATSUJI, N, 2000)

Un estudio realizado por Arie J. Van Winkelhoff en 2005 se determinó que por varios siglos la profesión medica ha sido usada en la microbiología medica tanto en el diagnostico como en la planeación del tratamiento de enfermedades infecciosas. La identificación de los agentes etiológicos han ayudado a la selección de la terapia farmacológica optima para el tratamiento de las enfermedades infecciosas. La microbiología clínica es utilizada en la odontología para el estudio de la caries de los implantes dentales y la periodoncia. Recientemente fue evaluado la microbiología en el diagnostico en periodoncia con diferentes técnicas para la detección y el conteo de bacterias (ARIE J, 2005).

En esta misma investigación, se sostiene que la razón de la aplicación clínica de la microbiología periodontal en el tratamiento de tipos severos de destrucción en la enfermedad periodontal. El análisis microbiológico es usado para la identificación del potencial más efectivo en las estrategias de tratamiento. En conclusión el análisis microbiológico en periodoncia apostea a: La discriminación de diferentes tipos de microflora en la infección periodontal. Selección correcta de beneficios para la terapia sistémica antimicrobios. Asistencia en la selección del antibiótico mas apropiado para el tratamiento de acuerdo a la composición de la flora subgingival, ayuda a la disminución de la potencia de los agentes antimicrobiales y la emergencia de los microorganismos resistentes, ayuda en la selección

correcta de pacientes óptimos para implantes con historia de periodontitis. (ARIE, J, 2005)

Un estudio de Perrone, M. Profesor Titular. Instituto de Investigaciones Odontológicas "Raúl Vicentelli" Facultad de Odontología. Universidad Central de Venezuela. Dice que pocos microorganismos, han sido hasta ahora denominados patógenos periodontales, los cuales, están relacionados con la iniciación y progresión de la enfermedad. Aunque hay más de 300 especies que se aíslan en los sacos periodontales, solo un pequeño porcentaje de ellas se consideran etiologicamente importantes. El grupo de Bacilos Anaerobios Gram Negativos mayormente relacionados en la etiología de la enfermedad periodontal comprende los Géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides* y *Fusobacterium*, los cuales están ubicados dentro de la familia *Bacteroidaceae*, según Bergey's Manual of Systemic Bacteriology (1994). La clasificación de estas bacterias ha sido difícil y por ello a lo largo de los años han emergido numerosas reclasificaciones taxonómicas, que posiblemente continúen en el futuro.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo General.

Determinar la microflora subgingival anaerobia en niños con dentición mixta atendidos en la clínica de odontopeiatria del Colegio Odontológico Colombiano en el I semestre del 2006

1.5.2 Objetivos Específicos.

Relacionar las características sociodemográficas, edad y género de los niños del estudio con la microflora subgingival anaerobia

Determinar el grado de inflamación gingival y la presencia de placa de los niños atendidos en la clínica de odontopediatría del C.O.C en el 2005

Identificar la presencia de microorganismos anaerobios en placa subgingival.

2. ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo Transversal

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Microflora subgingival anaerobia

2.3 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Niños de 6 a 12 años con dentición mixta atendidos en las clínicas de odontopediatría del Colegio Odontológico Colombiano durante el I semestre del 2006.

2.3.1 Criterios de Selección:

2.3.1.1 Criterios de inclusión

- Niños con dentición mixta
- Niños con inflamación gingival
- Niños cuyos padres hayan firmado el consentimiento informado

2.3.1.2 Criterios de exclusión

- Niños que reporten compromiso sistémico en el cuadro de anamnesis
- Niños con algún tipo de discapacidad mental
- Niños que hayan tomado antibiótico 3 meses antes del estudio

2.4 MUESTRA

La muestra fue elegida por conveniencia según los criterios de inclusión y de exclusión

2.5. VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION	OPERACIONALIZACION	CATEGORIZACION	ESCALA DE MEDICION	INSTRUMENTO
Aspecto Sociodemográfico					
Edad	Edad: Años cumplidos medida de duración del vivir, lapso de tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el instante o periodo que se estima de la existencia de una persona	AÑOS: 6 7 8 9 10 11 12	Cuantitativa	Discreta	Instrumento de recolección
Genero	Genero: Tipo de sexo categoría de clasificación de los seres vivos	Femenino Masculino	Cualitativa	Nominal	Instrumento de recolección
Inflamación Gingival	Agrandamiento y enrojecimiento de la encía asociado a placa bacteriana.	0: Ausencia de inflamación 1: Inflamación leve 2: Inflamación moderada 3: Inflamación severa	Cualitativa	Ordinal	Visual
Placa Bacteriana	Película de bacterias que se pega a los dientes en la línea de la encía.	1: No visible 2: Visible	Cualitativa	Ordinal	Visual
Microflora Anaerobia 1. Prevotella Intermedia 2. Fusobacterium Nucleatum 3. A. Actinomiccenticomitans 4. Porfiromona Gingivalis 5. actinomyces 6. otros	Conjunto de microorganismos que crecen con CO2	1. Presencia 2. ausencia	Cuantitativa	Discreta	Estereoscopio

2.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Colegio Odontológico Colombiano MICROFLORA SUBGINGIVAL ANAEROBIA EN NIÑOS CON DENTICION MIXTA ATENDIDOS SEGÚN EL INDICE DE INFLAMACION GINGIVAL Y LA PRESENCIA DE PLACA EN LA CLINICA DE ODONTOPEDIATRIA DEL COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO EN EL I SEMESTRE DEL 2006 Arias Diego, Benavides Marcela, Maldonado Jouffroy, Parra Mariana, Saenz Jorge, Trujillo Edna.		
Nombre y Apellidos	Instrumento #__	
4 Aspectos sociodemográficos Edad: 6__ 7__ 8__ 9__ 10__ 11__ 12__ Genero: M__ F__		
2. Índice gingival: 1 Inflamación Moderada__ 2 Inflamación Leve__		
3. Índice de placa bacteriana Loe y Silness 1 No visible__ 2 Visible__		
4. Microflora Anaerobia		
	1 Presente	2 ausente
1. Prevotella Intermedia	_____	_____
2. Fusobacterium Nucleatum	_____	_____
3. A. Actinomiccenticomitans	_____	_____
4. Campilobacter	_____	_____

2.7. PROCEDIMIENTO

Para iniciar la prueba de campo de la investigación se procedió en primer lugar y antes de cualquier contacto clínico con los pacientes, a solicitar el permiso a dirección de clínica y la aprobación al comité de ética del Colegio Odontológico Colombiano, aclarando que este estudio no tenía ningún tipo de riesgo, ni daño a la integridad física de los participantes de la muestra. Una vez teniendo su aprobación se procedió a pedir su autorización (consentimiento informado) a los padres de los niños atendidos en la clínica de Odontopediatría del Colegio Odontológico Colombiano, atendidos en el primer semestre del 2006, aclarándoles de manera concisa y exacta el procedimiento a realizar (Ver Anexo 1).

Antes de proceder a la toma de muestras en boca se realizó una calibración de los examinadores teniendo como referencia el índice de Kappa, los resultados pueden observarse en los anexos 3 y 4. Se inició la recolección de datos, utilizando un instrumento que contiene: nombre, género, edad, grado de inflamación, presencia de placa y presencia o ausencia de microorganismos objetos de estudio, en pacientes niños de 6 a 12 años que no reportan ningún tipo de compromiso sistémico, ni consumo de antibióticos 3 meses antes de la muestra en el reporte de historia clínica.

Con el niño sentado cómodamente en la unidad de trabajo, se procede a

tomar la muestra de la siguiente forma: la encía que rodea el diente a evaluar clínicamente se seca con la jeringa triple para retirar exceso de saliva, la placa fue retirada con puntas de papel de segunda serie previamente estériles, dibujando esta una o dos veces, a través de la parte subgingival de la superficie bucal. Las muestras de placa fueron tomadas de la zona vestibular del primer molar superior permanente en boca, y fueron asépticamente transferidas al medio de transporte VGMA III en el cual las bacterias anaerobias estrictas y anaerobias facultativas permanecen viables sin multiplicarse por un periodo de 48 horas. Durante dicho lapso de tiempo, las muestras fueron transportadas al laboratorio de microbiología oral del instituto UIBO (unidad de investigación básica oral) para su procesamiento y cultivo.

El cultivo e identificación de las especies se realizó de acuerdo con las recomendaciones de Slots y col, cuyas técnicas fueron estandarizadas en el laboratorio donde fue realizado el análisis microbiológico (UIBO).

Para la identificación por cultivo de *Porphyromonas Gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella Nigrescens*, *Actinomyces*, *Eikenella Corrodens*, *Campylobacter Rectus*, *Micromonas micros*, *Fusobacterium spp* y *Dialister Pneumosintes*. Se realizó licuefacción en Vortex para realizar las mezclas respectivas, donde las perlas que contienen VGMAIII realizan el desprendimiento de las bacterias que vienen en las puntas de papel. se

hicieron diluciones en base 10 a partir del medio VGMA III, las cuales se sembraron 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 7 días. Para la identificación de *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, las muestras se sembraron en agar TSBV (Slots 1982) y se incubaron en atmósferas de 10% de CO₂ (Campygen, Oxoid, Hampshire, England) durante 3 a 5 días. Para el aislamiento de bacterias entéricas se utilizó agar Mac Conkey , el cual se incubó en aerobiosis durante 24 a 48 horas a 37°C.

Para la identificación de los diferentes microorganismos se analizó la morfología, pigmento y características de las colonias de cada uno de ellos y la coloración de gram.

Para *Porphyromonas Gingivalis* se tuvieron en cuenta, además, la prueba de luz ultravioleta negativa y la prueba de CAAM positiva. Para *Tamnerella Forsythia* se utilizó la prueba de CAAM; Para *Campylobacter Rectus* se reconoció por su movilidad y *Eikenella Corrodens* con las pruebas de nitritos y oxidasa. se realizaron además pruebas bioquímicas y enzimáticas confirmatorias para todos los microorganismos, utilizando el sistema de identificación comercial Rapid ANA II (Remel Apogent, Santa fe Drive, Lenexa KS 66215, USA) las capas presuntivas de *Actinobacillus*

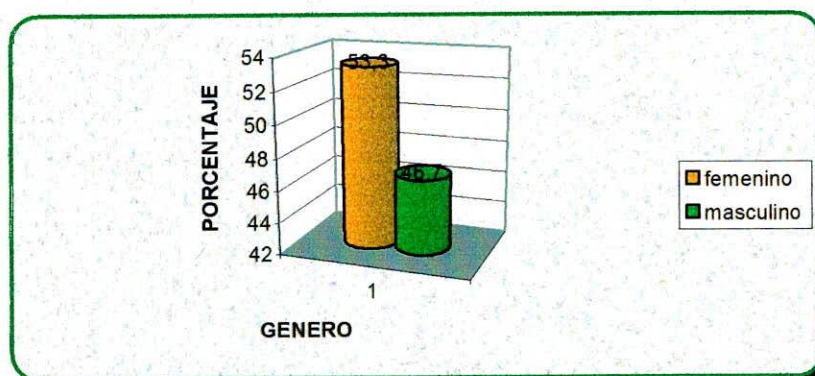
Actinomyces comitans fueron identificadas por la presencia de una estrella en el interior de las colonias y las pruebas catalasa positiva y MUG negativo. Las bacterias entéricas se reconocieron por sus características morfológicas y tintoriales y sus respuestas a la fermentación de la lactosa. Para la identificación de género y especie se utilizó el sistema de identificación BBL CRISTAL ENTERIC/NON FERMENTER.

Finalmente los resultados adquiridos durante el proceso de investigación y luego del análisis microbiológico, fueron tabulados en tablas y gráficas en hoja de cálculo Microsoft Excel para su mejor entendimiento y manipulación.

3. RESULTADOS

Se evaluaron 30 niños de 6 a 12 años con dentición mixta atendidos en las clínicas de odontopediatria del C.O.C durante el primer semestre del 2006, donde el 53.3% (16) corresponden al genero femenino y 46.7% (14) corresponden al genero masculino. El promedio +/- la desviación estándar de la edad fue 8.97% +/- 1.73%, donde el 20% (6) de los niños tenían 8 años de edad.

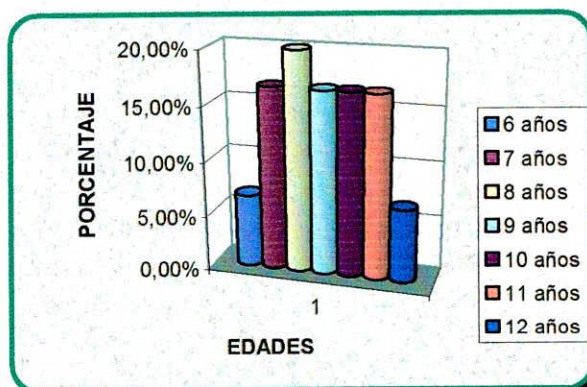
GRAFICA No. 1. PORCENTAJE DE PACIENTES POR GENERO



La tabla No. 1, Muestra el número de niños correspondiente a cada edad, y el porcentaje que cada grupo representa del total de la muestra (30 niños).

niños	edad	porcentaje
2	6	6,70%
5	7	16,70%
6	8	20%
5	9	16,70%
5	10	16,70%
5	11	16,70%
2	12	6,70%
TOTAL	30	100,20%

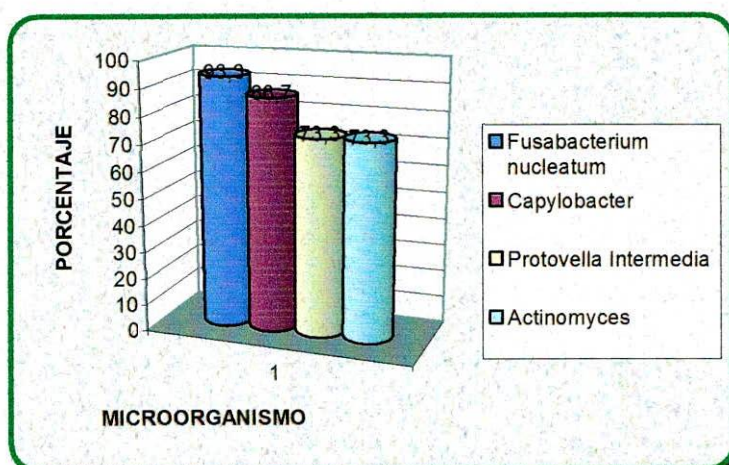
GRAFICO No. 2. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LAS EDADES



La tabla No. 2. muestra la distribución o presencia de los microorganismos estudiados sobre el total de la muestra y el porcentaje que ésta representa.

TABLA No. 2 . DISTRIBUCION PORCENTUAL DE LOS MICROORGANISMOS

Microorganismo Anaerobio	%	No. Niños
Fusabacterium nucleatum	93.3%	28
Campylobacter	86.7	26
Prevotella Intermedia	73.3	22
actinomyces	73.3	22

GRAFICO No. 3. DISTRIBUCION PORCENTUAL DE MICROORGANISMOS

No existe diferencia significativa entre el género y la prevotella intermedia ($P= 0.689$ -prueba exacta de fisher.), fusobacterium nucleatum ($P=1.00$ -prueba exacta de fisher), campylobacter ($P=0.602$ -prueba exacta de fisher), actinomyces ($P=0.689$ -prueba exacta de fisher), respectivamente, como lo muestra la tabla No. 3.

TABLA No. 3 RELACION DE GENERO CON MICROORGANISMOS

Microorganismo anaerobio	Prueba exacta de Fisher
Fusobacterium nucleatum	P= 1,00
Campylobacter	P=0,602
Prevotella Intermedia	P=0,689
actinomyces	P=0,689

No existe diferencia significativa entre la edad y la prevotella intermedia (P=0.237-prueba Tau-b de Kendall), fusobacterium nucleatum (P=0.199-prueba Tau-b de Kendall), campylobacter (P=0.310-prueba de Tau-b de Kendall), actinomyces (P=0.792-prueba Tau-b de Kendall) respectivamente como lo muestra la tabla No. 4.

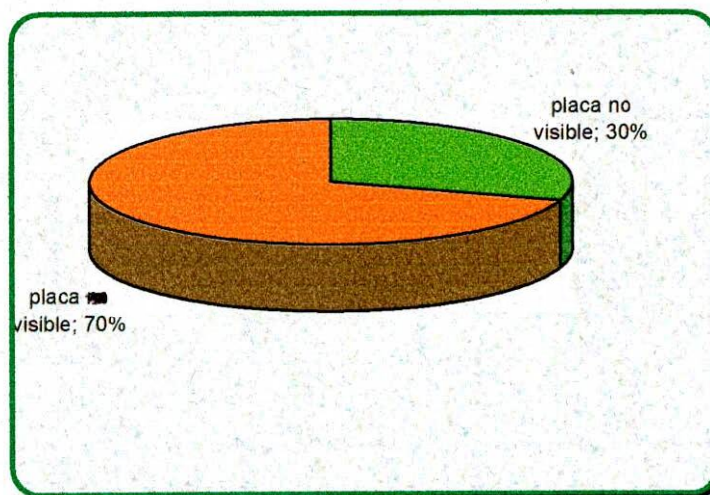
TABLA No. 4 RELACION DE EDAD CON MICROORGANISMOS

Microorganismo anaerobio	Prueba Tau-b de Kendall
Fusobacterium nucleatum	P= 0,199
Campylobacter	P=0,310
Prevotella Intermedia	P=0,237
actinomyces	P=0,792

El 70%(21) de los niños presentaron placa visible y el 30%(9) no visible; no existe diferencia significativa entre la presencia de placa y prevotella intermedia, como lo muestra la tabla No.5. (P=1.00-prueba exacta de Fisher), fusobacterium nucleatum (P=0.199- prueba exacta de Fisher), campylobacter (P=0.310- prueba exacta de Fisher), actinomyces(P=0.792-prueba exacta de Fisher) respectivamente

TABLA No.5. PRESENCIA DE PLACA SUBGINGIVAL		
	No. niños	Porcentaje
Placa no visible	9	30%
Placa visible	21	70%

GRAFICO No. 4. PRESENCIA DE PLACA SUBGINGIVAL



El 50% (15) de los niños presentaron grado de inflamación leve y 50%(15) grado de inflamación moderada. No existe diferencia significativa entre grado de inflamación y prevotella intermedia ($P=0.05$ -prueba Tau-b de kendall), fusobacterium nucleatum ($P=1.00$ -prueba de Tau-b de kendall), campylobacter ($P=1.00$ -prueba da Tau-b de kendall), actinomyces ($P=0.404$ -prueba de Tau-b de kendall) respectivamente, como lo muestra la tabla No. 6.

TABLA No. 6 RELACION INFLAMACION CON MICROORGANISMOS

Microorganismo anaerobio	Prueba Tau-b de Kendall
Fusabacterium nucleatum	P= 1,00
Campylobacter	P=1,00
Protovella Intermedia	P=0,05
Actinomyces	P=0,404

GRAFICO No. 5. PRESENCIA DE INFLAMACION

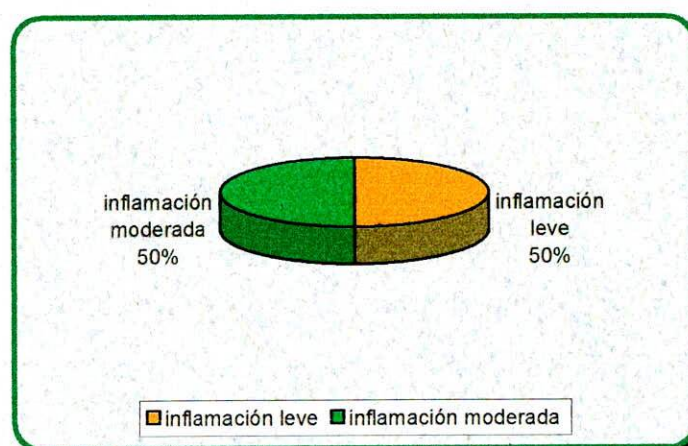


TABLA No.7. INDICE DE KAPPA / TAU-C DE KENDALL

	Placa bacteriana Kappa	Grado acuerdo	Inflamación gingival Tau-C Kendall	de Grado acuerdo
Examinador 1	-0.235	Error	0.551	No relación
Examinador 2	0.588	Media	0.551	No relación
Examinador 3	0.696		0.367	No relación
Examinador 4	1.00	Perfecto	0.401	No relación
Examinador 5	1.00	Perfecto	0.367	No relación
Examinador 6	0.696		0.612	No relación

4. DISCUSION

Al hablar de enfermedades periodontales, se debe tener en cuenta múltiples factores de riesgo que influyen de una u otra forma en su desarrollo, éste estudio pretende establecer la presencia de ciertos microorganismos en la placa bacteriana y su relación con la gingivitis en niños entre 6 y 12 años.

Según Bimstein 1999, una de las condiciones que favorece la gingivitis es la erupción de los dientes permanentes, la cual puede ser considerada como factor de riesgo, acompañada de la higiene oral, sin embargo, ningún autor confirma que las enfermedades periodontales estén relacionadas de alguna manera con el género de los pacientes (BEIMSTEIN E, 199916), lo cual no convierte dicha variable en un factor de riesgo, de hecho, los resultados muestran que no existe diferencia significativa entre el género y la *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter*, *Actinomyces*, respectivamente.

Según Lars Matsson 1978, la abstinencia de una correcta higiene bucal, genera depósitos bacterianos en los dientes, tanto en grupo de niños como en adultos jóvenes; los tipos de bacterias comienzan a aparecer en diferentes momentos, así como el grado de inflamación de las encías (MATSSON L, 1978). Sin embargo no encontró evidencia alguna que

establezca una mayor resistencia en niños que en adultos a la inflamación gingival. Por otro lado, Keiko Tsuruda y colaboradores en 1995, afirman que usando diferentes medios de conteo e identificación bacterial, no es posible establecer una diferencia significativa en los diferentes niveles de *P. Intermedia* entre pacientes en pubertad (10 – 16 años), hallazgo encontrado en el presente estudio (KEIKO TSUDA Y COL, 1995).

Existen según su evidencia, dos tipos de placa, la visible y la no visible, sin embargo los microorganismos que la conforman parecen ser los mismos. Los resultados arrojados por ésta investigación no sugieren ninguna diferencia significativa con respecto a la presencia de los microorganismos en pacientes con diferentes índices de placa (Tatsuji Nishihara & Takeyoshi Koseki., 2004).

Suda y colaboradores en el 2003, en un estudio de 95 niños escolares entre 8 y 11 años de edad buscaron la presencia y distribución de 8 patógenos periodontales determinados por una técnica de inmunofluorescencia indirecta y encontraron que el número total de patógenos positivos estaba relacionado fuertemente con el índice de placa (SUDA R, 2003).

Los patógenos encontrados mas frecuentemente fueron el *Campylobacter Rectus* 84, 2% y *Eikenella corrodens* 83.2 % y el menos encontrado fue el el *Actinobacillus actinomycetecomitans* con 7.4 %. Concluyeron que la

presencia de *Porphyromonas gingivalis*, o la asociación de *Porphyromonas gingivalis*, y *Tannerella forsythensis* puede ser un marcador de riesgo a tener en cuenta en el monitoreo para el inicio de enfermedad periodontal.

En el presente estudio los microorganismos hallados con mayor frecuencia fueron *Fusobacterium Nucleatum*, *Campylobacter*, *Prevotella intermedia* y *Actinomyces*. Al igual que en el estudio anterior, en esta investigación el microorganismo aislado en menor proporción fue el *Actinobacillus Actinomicetecomitans*. En contraposición a el estudio realizado por Suda y col, en la presente investigación no se halló la presencia de *Porphyromonas Gingivales*, a pesar de haber utilizado un medio selectivo para dicho microorganismo.

Otro hallazgo importante es que en el estudio anterior la presencia de placa bacteriana se relaciono con 8 patógenos periodontales determinados, en este, sin embargo, no existió una relación significativa entre los 4 patógenos periodontales seleccionados y la presencia de placa bacteriana.

En cuanto al grado de inflamación se encontró que el 50% (15) niños presentaron grado de inflamación leve y el 50% restante presentaron grado de inflamación moderada, sin embargo no se encontró diferencia significativa entre el grado de inflamación y *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter*, *Actinomyces*, respectivamente.

Gavin y colaboradores tomaron 3 patógenos periodontales seleccionados *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, y *Tannerella forsythensis* en niños con y sin inflamación gingival utilizando la técnica de PCR encontrando que no habían diferencias significativas entre los dos grupos con respecto a la presencia de *Porphyromonas gingivalis* o *actinobacillus actinomyceticomitans* en cada grupo (GAVIN P Y COL, 2004)

Solamente se concluyó que la presencia de *Tanarella forsythensis* esta asociada con placa bacteriana en sitios sin gingivitis, los resultados obtenidos en el presente estudio en cuanto a estas tres especies, por el contrario no representan un dato significativo que las relacione con la placa bacteriana ni con la presencia de inflamación gingival, de hecho *Porphyromonas gingivalis*, no fue encontrada en ninguna de las muestras analizadas.

Los hallazgos de este estudio demostraron que la presencia de microflora anaerobia en niños con dentición mixta atendidos en las Clínicas de Odontopediatría del Colegio Odontológico Colombiano no estuvieron relacionadas con el grado de inflamación gingival ni la presencia de placa contradiciendo hallazgos encontrados en investigaciones anteriores relacionados con la presencia de los mismos, el grado de inflamación gingival y el índice de placa.

5. CONCLUSION

Luego de analizar las muestras de placa bacteriana recogidas para el presente estudio, se encontró un número elevado de bacterias que conforman la biopelícula, sin embargo al observar la presencia de microorganismos como *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter*, *Prevotella Intermedia* y *actinomyces*, se concluye que su presencia no está relacionada con el género o la edad de los individuos, sin embargo no se puede asegurar que su presencia o ausencia no se vea transformada en edades más avanzadas.

A pesar de presentarse una diferencia significativa entre la presencia de placa visible (70%) y la no visible (30), se observó que no existe una diferencia notoria entre la presencia de placa y los microorganismos estudiados.

Al encontrar que el grado de inflamación presente en los niños estudiados fue de leve a moderada, se debe tener en cuenta que el proceso natural de erupción dental trae consigo un ligero enrojecimiento e inflamación de las encías, manifestaciones que no deben confundirse con una gingivitis asociada a placa bacteriana.

Puesto que en ninguno de los pacientes estudiados se pudo determinar la presencia de gingivitis asociada a placa bacteriana, se puede deducir que los hábitos de higiene oral presentes en los niños que asisten a las clínicas del C.O.C., no son tan deficientes como para alcanzar un grado elevado de acumulación de placa bacteriana e incubación de microflora bacteriana, pues para ello es necesario permanecer cierto número de días sin un cepillado adecuado.

Al encontrar en la mayoría de las muestras la presencia de los cuatro microorganismos analizados, se puede concluir que la placa bacteriana funciona como un micro sistema, donde los microorganismos interaccionan entre sí y con el ambiente en el que se desarrollan, es casi inseparable la presencia de un microorganismo en relación a los demás.

Para obtener unos resultados verosímiles, es necesario trazar un protocolo adecuado y realizar todas las actividades con rigurosidad, así como manipular las muestras conforme lo exigen las normas, por lo anterior, ésta investigación cumple con los requisitos, y los datos consignados en éste documento adquieren validez.

6. RECOMENDACIÓN

Dado que en una sola muestra no es posible encontrar todos los microorganismos presentes en la placa bacteriana, es recomendable ampliar el número de individuos para la toma de muestras, de ésta manera se podría tener mayor certeza de los microorganismos que se pueden observar en la biopelícula.

Realizar reportes periódicos de la presencia de microorganismos en la flora bucal de los pacientes que asisten a las Clínicas de Pediatría del C.O.C., con el fin de prevenir enfermedades de salud pública como la gingivitis asociada a placa bacteriana.

Partir de los resultados arrojados por la presente investigación para adelantar campañas de promoción y prevención de enfermedades periodontales, así como su manejo, tanto por parte de los odontólogos como de los pacientes.

Realizar futuras investigaciones que den continuidad a los resultados arrojados por éste trabajo, de tal manera que se pueda llevar una estadística real de la presencia o ausencia de microorganismos asociados a enfermedades periodontales como la gingivitis.

Tener en cuenta otros parámetros o variables en futuras investigaciones, como dieta, hábitos de higiene oral, enfermedades sistémicas, presencia de aparatología, y demás circunstancias que puedan llegar a convertirse en factores de riesgo.

Estudiar los microorganismos encontrados en la placa bacteriana según el sitio bucal donde se ubique, especialmente en los diferentes dientes, pues algunos resultan ser un hábitat más adecuado para el establecimiento y desarrollo de la microflora bucal.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Kinder SA, Holt SC: Characterization of coaggregation between *Bacteroides gingivalis* T22 and *Fusobacterium nucleatum* T18. *Infect Immun* 1989; 57: 3425
- 2 Mattson L: Development of gingivitis in preschool children and young adults. A comparative experimental study. *J Clin Periodontol* 1978; 5:24.
- 3 Person P, Felton J, Fine A: Biochemical and histochemical studies of aerobic oxidative metabolism of oral tissues. III. Specific metabolic activities of enzymatically separated gingival epithelium and connective tissue components. *J Dent Res* 1965; 44: 91
- 4 Carranza, *Periodontología Clínica* MacGraw Hill, Novena Edición México 2004.
- 5 Andrea Mombelli, Alexandra Rutar, and Niklaus P. Lang. Correlation of the periodontal status 6 years after puberty with clinical and microbiological conditions during puberty. *J. Clin Periodontol*, 1995; 22: 300 – 305
- 6 Kobayashi K, Rose GG: Ultrastructural histochemistry of the dentoepithelial junction. III. Chloramine T-silver methenamine. *J Periodont Res* 1979; 14: 123.
- 7 Ainamo J, Bay I: problems and proposals for recording gingivitis

- and plaque. *Int Dent J* 1975; 25: 229
- 8 Neville BW, damm DD, Allen CM, et al: oral and maxillofacial pathology. Philadelphia, saunders, 1995.
 - 9 Bimstein Enrique CD & Lars Matsson, DDs. Growth and development considerations in the diagnostic of gingivitis and periodontitis in children. *Pediatric Dentistry*; 21: 3. 1999.
 - 10 Marsh PD. Dental plaque: biological signifacance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 (suppl . 6): 7 – 15. 2005
 - 11 Suda R. Kurihara C y colaboradores. Determination of eight selectes periodontal pathogens in the subgingival plaque of maxillary first molars in Japanese shool children age 8 – 11 years. *J periodont Res* 2003; 38: 28- 35.
 - 12 Gavin P. Gafan & colaboradores. Prevalence of periodontal pathogens in dental plaque of children. *Journal of clinical Microbiology*, septembrer 2004, p 4141 – 4146, vol 42. No. 9
 - 13 Wood SR, Kirkham J and Marsh PD, et al: architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *J Dent Res* 2000; 79:21.
 - 14 KammaJJ,Diamantini-kiptoti A, and col.” Profile of subgingival microbiota in children whit mixed dentition”.*Oral and microbiology. Athens, Greece,Munksgaard,15,2000,103-111.*
 - 15 Tanner ACR, Milgrom PM, Kent y col. Similarity of the oral

- microbiota of pre-school children with that of their caregivers in a population-based study. *Oral Microbiology Immunology*, 2003; 17: 379 – 387.
- 16 Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 (suppl . 6): 7 – 15. 2005
 - 17 Paul Esso & Christopher E Cutler. En: BURNET GEORGE W microbiología oral y enfermedad infecciosa. Schuster Georg S. Editorial Panamericana 1982 Capitulo V Pag 170
 - 18 Tatsuji Nishihara & Takeyoshi Koseki. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology* 2000. vol. 36, 2004, 14-26Ivan Darby & Michael Curtis. Microbiology of periodontal diseases in children and young adults. *Periodontology* 2000, vol, 26, 2001, 33 – 53.
 - 19 Marsh PD. Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol*, 2005; 32 (suppl . 6): 7 – 15. 2005
 - 20 Moore WEC, Moore LVH, The bacteria of periodontal disease. *Periodontology* 2000 1994; 5:66,77
 - 21 Emilia Cercenado Y Rafael Canton.Procedimientos En Microbiología Clínica 2004
 - 22 Arie J, van Winkelhoff & Edwin G. Winkel. Microbiological diagnostics in periodontics: biological significance and clinical validity. *Periodontology*, 2000, vol 39, 2005, 40 – 52.
 - 23 Lars matsson development of gingivitis in pre – school of dentistry-,

- malmo, Sweden, a comparative experimental study, journal of clinical periodontology, 1978: 5: 24 – 34.
- 24 Keiko Tsuruda y col. Microbiological features of gingivitis in puberal children. J Clin periodontal, 1995: 22 : 316 – 320.
 - 25 Suda R. Kurihara C y colaboradores. Determination of eight selectes periodontal pathogens in the subgingival plaque of maxillary first molars in Japanese shool children age 8 – 11 years. J periodont Res 2003; 38: 28- 35.
 - 26 Tatsuji Nishihara & Takeyoshi Koseki. Microbial etiology of periodontitis. Periodontology 2000. vol. 36, 2004, 14-26Ivan Darby & Michael Curtis. Microbiology of periodontal diseases in children and young adults. Periodontology 2000, vol, 26, 2001, 33

ANEXOS

ANEXO 1. FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO

PERFIL DE LA MICROFLORA EN NIÑOS CON DENTICION MIXTA ATENDIDOS EN LA CLINICA DE PEDIATRIA DEL COLEGIO ODONTOLOGICO EN 1 SEMESTRE DEL 2006

Dejo constancia que he comprendido que el objetivo de este estudio es determinar el perfil de la microflora oral en niños con dentición mixta atendidos en las clínicas de odontopediatria del colegio odontológico.

En el Colegio Odontológico Colombiano aun no se han realizado estudios referentes al perfil de la microflora oral en niños con dentición mixta y nuestro fin es una vez identificados, clasificarlos de acuerdo al grado de inflamación gingival y presencia de placa bacteriana. Esto nos permitirá recopilar información acerca de cada microorganismo presente en boca que sirva como punto de partida para investigaciones en periodoncia, odontopediatria , como material de consulta sobre estos y su relación con la gingivitis en niños.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PROYECTO DE INVESTIGACION COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO CLINICA DE ODONTOPEDIATRIA

FECHA _____

YO _____

Identificado con cedula de ciudadanía No _____ de _____, autorizo a los estudiantes DIEGO FERNANDO ARIAS, EDNA TRUJILLO, JORGE SAENZ, JOUFFROY MALDONADO, MARIANA PARRA Y MARCELA BENAVIDES (Tel 311 8488673) del colegio odontológico colombiano, para que diligencien el instructivo correspondiente sobre la información necesaria con mi hijo(a) _____ que es para su proyecto de investigación y así mismo para que realicen las actividades de toma de muestra de placa y saliva en cavidad oral con puntas de papel en la parte distal del 6 superior, teniendo en cuenta que no hay ningún tipo de riesgo ni complicación para mi hijo, que no me representa ningún costo participar en la investigación, que la duración del estudio es de 15 minutos, que tengo la capacidad de elegir en participar o no en la investigación, y que puedo retirarme en cualquier momento.

Teniendo en cuenta además mis deberes como lo son suministrar la información, seguir indicaciones, asistir a la cita y no recibir beneficios monetarios.

ANEXO 2. RESULTADOS DE LAS MUESTRAS COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO

RESULTADOS MUESTRAS COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO

Numero laboratorio	No. de paciente	UFC TOTALES	Microorganismo	UFC	%
908coc	muestra No. 1	120000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	44000	3,66
			<i>Capnocytophaga spp</i>	20000	0.16
			<i>Eikenella corrodens</i>	16000	0.13
			<i>Campylobacter spp</i>	10000	0.33
909coc	muestra No.2	760000	<i>Capnocytophaga spp</i>	120000	1.57
			<i>Fusobacterium spp</i>	20000	0.26
			<i>Actinomyces spp</i>	150000	1.97
			<i>Campylobacter spp</i>	130000	1.71
			<i>Capnocytophaga spp</i>	120000	1.57
910coc	muestra No.3	1360000	<i>Capnocytophaga spp</i>	180000	1.32
			<i>Eikenella corrodens</i>	120000	0.88
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	420000	3.08
			<i>Dialister pneumosintes</i>	10000	0.07
			<i>Campylobacter spp</i>	120000	0.88
			<i>Fusobacterium spp</i>	180000	1.32
911coc	muestra No.4	1610000	<i>Capnocytophaga spp</i>	600000	3.72
			<i>Micromonas micros</i>	120000	0.74
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	240000	1.49
			<i>Fusobacterium spp</i>	100000	0.62
			<i>Campylobacter spp</i>	540000	3.35
			<i>Dialister pneumosintes</i>	10000	0.06

912coc	muestra No. 5		CULTIVO NEGATIVO PARA BACTERIAS ANAEROBIAS		
			Bacterias entericas (<i>Serratia ficaria</i>)	INCONTABLE	
913coc	muestra No.6	1100000	<i>Actinomyces</i> spp	220000	2.00
			<i>Campylobacter</i> spp	700000	6.36
			<i>Fusobacterium</i> spp	180000	1.36
			<i>Capnocytophaga</i> spp	80000	0.07
914coc	muestra No.7	1530000	<i>Actinomyces</i> spp	940000	6.14
			<i>Eikenella corrodens</i>	140000	0.91
			<i>Capnocytophaga</i> spp	60000	0.39
			<i>Campylobacter</i> spp	80000	0.52
			<i>Fusobacterium</i> spp	120000	0.78
915coc	muestra No.8	235000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	26000	0.11
			<i>Fusobacterium</i> spp	25000	0.10
			<i>Campylobacter</i> spp	107000	0.45
			<i>Capnocytophaga</i> spp	24000	0.10
			<i>Actinomyces</i> spp	42000	0.17
			<i>Eikenella corrodens</i>	4000	0.01
			<i>Eubacterium</i> spp	4000	0.01
			<i>Dialister pneumosintes</i>	1000	0,004
916coc	muestra No.9	12000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	24000	0.19
			<i>Campylobacter</i> spp	26000	0.21
			<i>Actinomyces</i> spp	34000	0.28
			<i>Capnocytophaga</i> spp	30000	0.24
			<i>Fusobacterium</i> spp	8000	0.06
917coc	muestra No.10	57000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	4000	0.03
			<i>Fusobacterium</i> spp	9000	0.07

			<i>Campylobacter</i> spp	13000	0.10
			<i>Capnocytophaga</i> spp	11000	0.09
918coc	muestra No.11	69000	<i>Fusobacterium</i> spp	7000	0.10
			<i>Actinomyces</i> spp	6000	0.08
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	2000	0.02
			<i>Campylobacter</i> spp	11000	0.15
			<i>Eubacterium</i> spp	25000	0.36
			<i>Capnocytophaga</i> spp	6000	0.08
			<i>Dialister pneumosintes</i>	3000	0.04
919coc	muestra No.12	500000	<i>Campylobacter</i> spp	40000	0.80
			<i>Fusobacterium</i> spp	50000	1.00
			<i>Capnocytophaga</i> spp	200000	4.00
			<i>Actinomyces</i> spp	10000	0.02
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	20000	0.04
920coc	muestra No.13	36000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	2000	0.05
			<i>Capnocytophaga</i> spp	8000	0.22
			<i>Campylobacter</i> spp	22000	0.61
			<i>Fusobacterium</i> spp	4000	0.11
921coc	muestra No.14	72000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	12000	0.16
			<i>Campylobacter</i> spp	8000	0.11
			<i>Fusobacterium</i> spp	12000	0.16
			<i>Actinomyces</i> spp	10000	0.14
			<i>Capnocytophaga</i> spp	30000	0.41
922coc	muestra No.15	650000	<i>Capnocytophaga</i> spp	160000	2.46
			<i>Fusobacterium</i> spp	40000	0.61
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	50000	0.76
			<i>Campylobacter</i> spp	330000	4.58

			<i>Dialister pneumosintes</i>	1000	0,004
923coc	muestra No.16	141000	<i>Capnocytophaga</i> spp	100000	0.51
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	2000	0.01
			<i>Actinomyces</i> spp	13000	0.06
			<i>Fusobacterium</i> spp	4000	0.02
			<i>Campylobacter</i> spp	22000	0.11
924coc	muestra No.17	109000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	52000	0.47
			<i>Actinomyces</i> spp	16000	0.14
			<i>Capnocytophaga</i> spp	5000	0.04
			<i>Campylobacter</i> spp	22000	0.20
			<i>Fusobacterium</i> spp	7000	0.06
			<i>Eubacterium</i> spp	7000	0.06
925coc	muestra No.18	56000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	10000	0.18
			<i>Campylobacter</i> spp	15000	0.26
			<i>Fusobacterium</i> spp	5000	0.08
			<i>Actinomyces</i> spp	11000	0.19
			<i>Capnocytophaga</i> spp	5000	0.08
			<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	272	0,004
926coc	muestra No.19	122000	<i>Campylobacter</i> spp	92000	0.75
			<i>Capnocytophaga</i> spp	16000	0.13
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	6000	0.04
			<i>Actinomyces</i> spp	1000	0.008
			<i>Fusobacterium</i> spp	2000	0.01
			<i>Dialister pneumosintes</i>	5000	0.04
927coc	muestra No.20	470000	<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	130000	2.76

			<i>Fusobacterium</i> spp	50000	1.06
			<i>Campylobacter</i> spp	90000	1.91
			<i>Eikenella corrodens</i>	20000	0.42
			<i>Actinomyces</i> spp	130000	2.76
			<i>Capnocytophaga</i> spp	50000	1.06
928coc	muestra No.21	494000	<i>Campylobacter</i> spp	144000	0-29
			<i>Actinomyces</i> spp	112000	0.22
			<i>Eubacterium</i> spp	120000	0.24
			<i>Capnocytophaga</i> spp	80000	0.16
			<i>Fusobacterium</i> spp	38000	0.07
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	100000	0.20
929coc	muestra No.22	18000	<i>Campylobacter</i> spp	5000	0.27
			<i>Actinomyces</i> spp	5000	0.27
			<i>Fusobacterium</i> spp	2000	0.11
			<i>Capnocytophaga</i> spp	6000	0.33
930coc	muestra No.23	118000	<i>Actinomyces</i> spp	430000	2.98
			<i>Campylobacter</i> spp	360000	3.05
			<i>Capnocytophaga</i> spp	180000	1.52
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	90000	0.76
			<i>Fusobacterium</i> spp	110000	0.93
			<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	5000	0,042
931 coc	muestra No.24	410000	<i>Actinomyces</i> spp	30000	0,73
			<i>Campylobacter</i> spp	180000	4,39
			<i>Capnocytophaga</i> spp	100000	2,43
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	100000	2,43

			<i>Fusobacterium</i> spp	12000	0,29
932 coc	muestra No.25	537000	<i>Actinomyces</i> spp	116000	0,21
			<i>Campylobacter</i> spp	388000	0,72
			<i>Capnocytophaga</i> spp	18000	0,03
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	6000	0,01
			<i>Fusobacterium</i> spp	12000	0,02
933 coc	muestra No.26	780000	<i>Actinomyces</i> spp	270000	3,46
			<i>Campylobacter</i> spp	250000	3,2
			<i>Capnocytophaga</i> spp	90000	1,15
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	60000	0,76
			<i>Fusobacterium</i> spp	30000	0,38
			<i>Dialister pneumosintes</i>	80000	1,02
934 coc	muestra No.27	790000	<i>Actinomyces</i> spp	80000	1,01
			<i>Campylobacter</i> spp	330000	4,17
			<i>Capnocytophaga</i> spp	180000	2,27
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	90000	1,13
			<i>Fusobacterium</i> spp	20000	0,02
			<i>Dialister pneumosintes</i>	80000	1,01
935 coc	muestra No.28	1650000	<i>Actinomyces</i> spp	200000	0,12
			<i>Campylobacter</i> spp	870000	5,27
			<i>Capnocytophaga</i> spp	320000	9,93
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	160000	0,96
			<i>Fusobacterium</i> spp	160000	0,96
			<i>Dialister pneumosintes</i>	90000	0,54
936 coc	muestra No.29	930000	<i>Actinomyces</i> spp	90000	0,96
			<i>Campylobacter</i> spp	430000	4,62
			<i>Capnocytophaga</i> spp	250000	2,68

			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	90000	0,96
			<i>Fusobacterium</i> spp	40000	0,43
			<i>Dialister pneumosintes</i>	30000	0,32
			<i>Serratia liquefaciens</i>	INCONTABLE	
			<i>Stenotrophomona maltophila</i>	INCONTABLE	
937 coc	muestra No.30	54000	<i>Actinomyces</i> spp	22000	0,4
			<i>Campylobacter</i> spp	13000	0,24
			<i>Capnocytophaga</i> spp	7000	0,12
			<i>Prevotella intermedia/nigrescens</i>	8000	0,14
			<i>Fusobacterium</i> spp	1000	0,01
			<i>Dialister pneumosintes</i>	3000	0,05