

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

E.A.P. DE ODONTOLOGÍA

**Aislamiento de *Porphyromonas gingivalis* del biofilm dental en pacientes
antes y después de un mes de tratamiento ortodóncico fijo**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

AUTOR

Vania Rodríguez Cruces

ASESOR

Sixto García Linares

Lima – Perú

2013

JURADO DE SUSTENTACION

PRESIDENTE: C.D. Esp. LUIS FERNANDO PÉREZ VARGAS

MIEMBRO: C.D. JUAN JOSÉ PAZ FERNÁNDEZ

MIEMBRO-ASESOR: CD. Esp. SIXTO GARCIA LINARES

DEDICATORIA

A mis padres y a mis
hermanos por su amor, confianza y
apoyo en todo momento de mi vida.

A todos aquellos que hicieron posible
este gran paso en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor CD. Esp. Sixto García Linares, por haberme brindado su amistad, confianza, apoyo y orientación durante todo el proceso de elaboración del presente trabajo de investigación.

A los miembros de jurado C.D. Esp. Luis Fernando Pérez Vargas y C.D. Juan José Paz Fernández, quienes con sus sugerencias y orientaciones permitieron la culminación de la presente tesis.

Al CD. Donald Ramos por su invaluable apoyo y su tiempo dedicado en el desarrollo de este trabajo.

Al Departamento de Microbiología de la Facultad de odontología UNMSM por facilitarme el laboratorio y especialmente a sus docentes, por su apoyo para la realización de mi trabajo.

A los residentes de ortodoncia de post grado de la Facultad de odontología UNMSM su amistad y colaboración, en el trabajo de investigación

A los pacientes por su enorme colaboración que aceptaron formar parte de este estudio.

Y a todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización del presente trabajo de investigación.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. MARCO TEORICO.....	12
2.1. Antecedentes.....	12
2.2. Bases Teóricas.....	21
2.2.1. Biofilm Dental.....	21
2.2.1.1 Definición	21
2.2.1.2 Composición.....	21
2.2.1.2.1. Película adquirida.....	22
2.2.1.2.2. Matriz.....	22
2.2.1.2.3. Bacterias cariogénicas.....	22
2.2.1.3 Etapa de formación de la biofilm dental	22
2.2.1.3.1 Formación de la película adquirida.....	22
2.2.1.3.2 Colonización primaria: Adherencia de la película adquirida.....	23
2.2.1.3.3 Colonización secundaria: Agregación interbacteriana y multiplicación bacteriana.....	24
2.2.1.3.4 Placa madura.....	25
2.2.1.3.5 Fase de mineralización.....	25
2.2.1.4 Microbiología.....	26
2.2.1.4.1 Placa supragingival,.....	26
2.2.1.4.2 Placa subgingival.....	27
2.2.1.5 Patogenia	27
2.2.2 Enfermedad Periodontal.....	27
2.2.2.1 Gingivitis.....	30

2.2.2.2 Periodontitis.....	32
2.2.3. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	35
2.2.3.1 Morfología.....	35
2.2.3.2 Taxonomía.....	36
2.2.3.3 Nutrición.....	37
2.2.3.4 Factores de virulencia.....	38
2.2.3.5 Aislamiento bacteriano.....	40
2.2.4. Microorganismos asociados a la enfermedad periodontal.....	41
2.2.4.1. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	41
2.2.4.2. <i>Fusobacterium nucleatum</i>	42
2.2.4.3. <i>Prevotella spp</i>	43
2.2.5 Biofilm asociado a aparatología ortodóntica.....	44
2.2.6 Control mecánico de la placa bacteriana durante el tratamiento ortodóntico.....	46
2.3. Planteamiento del problema.....	48
2.4. Justificación.....	48
2.5. Objetivos de la investigación.....	49
2.6. Hipótesis.....	49
III. MATERIALES Y METODOS.....	50
3.1 Tipo de Estudio.....	50
3.2 Población y Muestra.....	50
3.2.1 Población.....	50
3.2.2 Muestra.....	50
3.2.3 Criterios de inclusión y exclusión de la muestra.....	51
3.2.4 Unidad de muestreo.....	51

3.2.5 Unidad de análisis.....	51
3.3 Operacionalización de variables.....	52
3.4 Materiales y Métodos.....	53
3.5. Procedimientos y Técnicas.....	54
3.6. Recolección de Datos.....	56
3.7. Procesamiento de datos.....	57
3.8. Análisis de resultados.....	57
IV. RESULTADOS.....	58
V. DISCUSIÓN.....	65
VI. CONCLUSIÓN.....	68
VII. RECOMENDACIONES.....	69
VIII. RESUMEN.....	70
SUMMARY.....	71
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
X. ANEXOS.....	79
FOTOGRAFÍAS.....	90

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos generales de los pacientes.....	58
Tabla 2. Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el Pretratamiento y Tratamiento....	59
Tabla 3. Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el Pretratamiento.....	60
Tabla 4. Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> con un mes de Tratamiento.....	61
Tabla 5. Tabla de contingencia de la presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Tratamiento * Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Pretratamiento.....	62
Tabla 6. Prueba Chi cuadrado de McNemar.....	62
Tabla 7. Frecuencia de periodontopatógenos en pacientes.....	63

INDICE DE GRAFICOS Y FIGURAS

Figura 1. Versión abreviada de la clasificación de la enfermedad periodontal del año 1999 AAP.....	29
Figura 2. Colonias negras pigmentadas de <i>Porphyromonas gingivalis</i>	36
Gráfico 1. Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el Pretratamiento.....	60
Gráfico 2. Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> con un mes de Tratamiento.....	61
Gráfico 3. UFC Pretratamiento y UFC Tratamiento.....	62

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos.....	80
Anexo 2. Consentimiento informado.....	81
Anexo 3. Tabla: Comparación de número de colonias y UFC entre el Pretratamiento y Tratamiento.....	82
Anexo 4. Tabla: Número de colonias pigmentadas y no pigmentadas del Pretratamiento.....	83
Anexo 5. Tabla: Número de colonias pigmentadas y no pigmentadas del Tratamiento...	84
Anexo 6. Tabla: Morfología, tipo de coloración y dilución en el Pretratamiento.....	85
Anexo 7. Tabla: Morfología, tipo de coloración y dilución en el Tratamiento.....	86
Anexo 8. Género de los pacientes de la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM.....	87
Anexo 9. Edad de los pacientes de la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM	87
Anexo 10. Frecuencia en la morfología del Pretratamiento.....	88
Anexo 11. Frecuencia en la morfología del Tratamiento.....	88
Anexo 12. Frecuencia en la coloración Gram del Pretratamiento.....	89
Anexo 13. Frecuencia en la coloración Gram del Pretratamiento.....	89

I. INTRODUCCION

La ortodoncia ha evolucionado a lo largo de los años, con respecto a los accesorios y dispositivos también en el desarrollo de instrumentos de diagnóstico y planificación del tratamiento ortodóncico. Sin embargo, este progreso no ha sido capaz de eliminar uno de los efectos negativos relacionados con la acumulación de biofilm dental.

En ortodoncia este problema es aún mayor debido a la presencia de ligas, accesorios y la resina muy utilizado para la unión de los soportes, lo que compromete la capacidad del paciente para eliminar eficazmente el biofilm dental, que de no ser removida adecuadamente, se convertirá en un sustrato que generará cambios cuantitativos en la flora microbiana.

Esta relación causa - efecto es evidente, debido a que los aparatos ortodóncicos fijos hacen que la remoción mecánica de placa sea más difícil para el paciente, lo que aumenta la susceptibilidad a la enfermedad periodontal.

Una adecuada motivación, control y educación en higiene oral permitirá minimizar los riesgos de daño periodontal en pacientes sanos y mantener condiciones de salud en pacientes previamente expuestos a aparatología ortodóncica ya que esta podría presentar mayor predisposición a una reacción adversa por acumulación de biofilm inducida por estos dispositivos.

Así, este estudio tiene como objetivo aislar la *Porphyromonas gingivalis* en pacientes con pre y tratamiento ortodóncico fijo.

II.MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

Zachrisson y col. (1972) presentaron un trabajo conformado por un grupo de 49 adolescentes con tratamiento ortodóncico fijo. Los pacientes recibieron instrucción sobre higiene y enjuagues bucales con solución fluorada semanalmente. Fueron analizados índice de placa, índice gingival, profundidad de sondaje. Se observó que en ese estudio la mayoría de adolescentes presento gingivitis moderada generalizada durante la terapia ortodóncica a pesar de la repetida motivación e instrucción de cepillado dental. Las condiciones gingivales mejoraron rápidamente después de la remoción de bandas ortodonticas.¹

Sinclair y col. (1987) estudiaron los efectos del tratamiento ortodóncico en la microbiota subgingival de individuos, que tenían entre 12 y 14 años de edad, en el momento de la instalación del aparato ortodóncico fijo y un año después. En todos los dientes fueron encontrados el incremento de la prevalencia de *Streptococcus mutans* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.²

Forsberg et al. (1991) realizaron una investigación donde se compararon las ligaduras metálicas con las ligaduras elásticas y observaron que en ambas hay un incremento significativo de las colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus sp.* en el flujo salival, y resultó ser más notorio en aquellos casos que se uso ligaduras elásticas.³

Sallum E. (2002) presento un estudio cuyo objetivo fue evaluar los parámetros clínicos y microbiológicos asociado a la presencia de brackets ortodóncicos. Fueron pacientes en la fase final para la remoción de la aparatología ortodóncica entre las edades de 12-20 años. Se utilizaron los siguientes parámetros clínicos: índice de placa, índice de sangrado gingival y profundidad al sondaje. El examen microbiológico fue cadena de reacción de polimerasa encontrándose destacar *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*,

Prevotella nigrescens, *Bacteroides forsythus* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Se concluye que las bacterias asociadas a la inflamación gingival durante el tratamiento ortodóncico pueden ser reducidas después de la remoción del aparato ortodóncico y una profilaxis profesional.⁴

Lee SM y col. (2005) Tuvieron como objetivo detectar y comparar la presencia de periodontopatógenos en las placas subgingivales de las lesiones de gingivitis en adultos que usaron aparatos ortodóncicos fijos, a diferencia de los adultos que no usaban ningún aparatos de ortodoncia. Treinta y seis personas participaron en este estudio. Diecinueve de estas personas eran el grupo de control. Las otras 17 personas habían estado usando aparatos ortodóncicos fijos durante al menos 3 meses cada uno. Después de un examen periodontal, se recogieron muestras de placa subgingival de las lesiones gingivitis de cada paciente. Usando de PCR basado en el 16S rDNA, se detectó la presencia de seis especies periodontopatógenas, *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* (27.6%; grupo control, 24.7%), *Tannerella forsythia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Con respecto a la presencia de periodontopatógenos individuales, se encontró que *T. forsythia*, *T. denticola*, y *P. nigrescens* fueron significativamente más frecuentes en las muestras obtenidas de los pacientes de ortodoncia que en las muestras obtenidas de los controles de los pacientes no ortodóncicos. Los resultados mostraron que los cambios locales asociados con el uso de aparatos fijos de ortodoncia puede afectar la prevalencia de periodontopatógenos en la placa dental subgingival.⁵

Muraira M. (2007) tuvo como objetivo determinar, cuantificar y comparar el contenido de microorganismos presentes en la cavidad oral de pacientes tratados durante un mes con ligaduras elásticas y ligaduras metálicas. Se evaluó a 13 pacientes de edades de 16 a 35 años, tomándose muestras de 77 piezas dentales superiores e inferiores en tres zonas de la cavidad bucal. Las muestras fueron tomadas 3 tiempos, dos previas a la colocación en la boca del paciente: una la momento de abrir el paquete como la provee el fabricante y otra luego de la manipulación por parte del asistente; y la última de las tres zonas de la cavidad oral de cada paciente. Están fueron colocadas en una

solución salina como medio de transporte y sembradas en diferentes medios de cultivo. Como resultado se obtuvo una alta diferencia significativa entre el acúmulo de placa microbiana de los diferentes sectores de la cavidad bucal donde las medias menores se encontraron en las premolares. Se observó una mayor presencia de *Peptostreptococcus sp.* en los casos de ligaduras elásticas y una combinación de *Peptostreptococcus sp.* y *Veillonella sp.* en las ligaduras metálicas. Se concluye que el estudio cuantitativo y cualitativo de la flora microbiana de las tres zonas, no se encontraron diferencias significativas del acúmulo de placa microbiana entre las ligaduras elásticas y metálicas.⁶

Magalhães K. (2008) evaluó la efectividad de los procedimientos del control químico-mecánico. Se evaluaron 30 pacientes con edades entre 12 y 21 años que utilizaban aparato ortodóncico fijo. Fueron divididos en tres grupos siendo uno control y dos experimentales. El grupo control recibió instrucciones de cepillado dental mientras que los grupos experimentales recibieron instrucciones sobre higiene dental, dieta y kits de higiene y un enjuague bucal (uno de los grupos recibió un placebo y el otro un enjuague con acción microbiológica). En conclusión el grupo con enjuague bucal de acción microbiológica mostró una mejoría significativa en relación al biofilm; en comparación de los otros dos grupos los cuales no presentaron diferencia significativa.⁷

Van Gastel y col. (2008) evaluaron los cambios periodontales clínicos y microbiológicos después de un año de uso de aparatología ortodóncica y encontrar alteraciones de las concentraciones de citoquinas en el fluido crevicular gingival. Se encontró que la patogenicidad de las bacterias supra e infragingivales se incrementó en ese periodo pero no hubo diferencia entre ambas. No hubo diferencias significativas entre las concentraciones de citoquinas en el fluido crevicular gingival en ambos tiempos, pero si hubo incremento de las concentraciones de la interleucina-6 y la interleucina-8. Se concluyó que las concentraciones de la interleucina-6 y la interleucina-8 se mostraron como factores predictores significativos de algunos parámetros inflamatorios durante el tratamiento ortodóncico.⁸

Alves de Souza R. y col. (2008) evaluaron los cambios periodontales y microbiológicos existentes derivados del uso de dos métodos para ligar arcos: las ligaduras metálicas y las ligaduras elásticas. Se midieron los siguientes parámetros: índice de placa, índice de sangrado gingival, profundidad de sondaje, y muestras de biopelículas de 14 pacientes sin signos clínicos de inflamación gingival antes de la colocación de los aparatos de ortodoncia y después de 6 meses de tratamiento. Todos los arcos de ortodoncia se fijaron con ligaduras elásticas en un lado de la línea media, y con ligaduras metálicas en el lado opuesto. Para detectar la presencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *P. nigrescens* se usó el análisis de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las ligaduras elásticas se asociaron a niveles más elevados del índice de placa y del índice de sangrado gingival que las ligaduras metálicas, así como mayores positivos de *T. forsythia* y *P. nigrescens* ($P < 0.05$). Se concluyó que las ligaduras elásticas favorecen la existencia de estos dos periodontopatógenos y alteran las condiciones gingivales.⁹

Thornberg (2009) evaluó los niveles de patógenos periodontales en adolescentes, antes, durante y después del tratamiento ortodóncico con aparatología fija, encontrando que los patógenos *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* y *Fusobacterium nucleatum* se incrementan significativamente en número después de seis meses de la instalación de la aparatología.¹⁰

Choi DS y col. (2009) evaluaron los cambios que se producen en la microbiota subgingival después de la remoción de los aparatos ortodóncicos fijos usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El estudio se realizó en treinta pacientes de ortodoncia (11 hombres y 19 mujeres, con una edad promedio de 20 ± 7.3 años). Se tomaron muestras de placa subgingival se reunieron desde el surco gingival distovestibular de los incisivos centrales superiores e inferiores, y del surco gingival mesiovestibular de los primeros molares superiores e inferiores, en dos momentos diferentes: 2 semanas antes de la

remoción del aparato ortodóncico (T1), y 3 meses después de la remoción del aparato ortodóncico (T2). Se extrajo el ADN de las muestras y el 16S rRNA basado en método de detección por PCR se utiliza para determinar la prevalencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, y *Treponema denticola*, que se consideran como periodontopatógenos. La presencia de *Porphyromonas gingivalis* en T1 y T2 fue 13.3% y 6.7% respectivamente. Se concluye que los periodontopatógenos durante el tratamiento ortodóncico se redujeron significativamente en los 3 meses después de retirar los aparatos.¹¹

Demling (2009) estudió los parámetros clínicos y microbiológicos después de la colocación de brackets linguales. Para lo cual se tomó la profundidad al sondaje, sangrado al sondaje y el índice de placa en 10 pacientes (29 ± 4.7 de edad) que recibieron tratamiento ortodóncico lingual antes (T0) y después de 3 meses del inicio del tratamiento (T1). En la parte microbiológica se usó el método de PCR para identificar a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis* en el fluido crevicular. Como resultado se obtuvo diferencias significativas en los parámetros clínicos de las zonas linguales. Sin embargo a nivel microbiológico no hubo diferencia en la prevalencia de los periodontopatógenos.¹²

Pandis N. et al (2010) estudió el efecto de tipo de brackets (convencional y de autoligado) en los niveles de *Streptococcus mutans* y conteo de bacterias en saliva de pacientes ortodóncicos. Se evaluó a 32 adolescentes divididos en dos grupos por el tipo de brackets. Se toma la primera muestra de saliva antes del tratamiento y la segunda después de 2-3 meses. Se obtuvo que no hubo diferencia significativa de los niveles de *Streptococcus mutans* en ambos tipos de brackets. Los niveles de pre-tratamiento de S. mutans son predictores significativos después de la colocación de aparatos de ortodoncia, si bien este no fue el caso para el total de la carga bacteriana.¹³

Vizitiu Th. y col. (2010) Tuvieron como objetivo de este estudio evaluar los cambios de la flora microbiana oral durante el tratamiento de ortodoncia. Se evaluaron 24 pacientes jóvenes, con edades entre 7-16, que iban a iniciar el tratamiento de ortodoncia. El grupo I estuvo formado por los 24 pacientes antes de usar cualquier aparato de ortodoncia (T0) y grupo II estuvo representada por 15 pacientes del grupo inicial, 3 meses después del inicio del tratamiento (T1). Placa coronaria y subgingival se recogió para el aislamiento e identificación de las especies bacterianas involucradas. El método de dilución en serie se utilizó para determinar la concentración de las bacterias (UFC / muestra) de la flora aeróbicas y anaeróbicas. En conclusión la concentración de las bacterias aerobias y anaerobias había aumentado durante los primeros 3 meses de tratamiento ortodóncico. Los estreptococos orales y el porcentaje de bacterias anaeróbicas aumentaron después del comienzo del tratamiento.¹⁴

Kim Sang-Ho y col. (2011) evaluaron los cambios en la microbiota subgingival antes y durante el tratamiento ortodóncico. Se evaluó a 30 pacientes de edades entre 10 y 23 años. Las muestras subgingivales microbianas se tomaron del surco gingival de los cuatro cuadrantes, en cuatro momentos diferentes: al inicio, antes de la colocación de aparatos de ortodoncia (T1), 1 semana (T2), 3 meses (T3), y 6 meses después de la colocación de aparatos de ortodoncia (T4). Se extrajo el ADN de las muestras con el método basado en la detección por PCR se utilizó para determinar la prevalencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, y *Treponema denticola*, que son considerados como periodontopatógenos putativos. En conclusión la microbiota subgingival incluso durante el período inicial del tratamiento de ortodoncia aumentó la prevalencia de periodontopatógenos, especialmente en la región molar.¹⁵

Nelson Filho (2011) analizó los periodontopatógenos gram negativos y la endotoxina bacteriana en brackets metálicos con y sin un agente antimicrobiano. Se estudió la presencia de 16 microorganismos gram negativos del complejo naranja y rojo, la cantidad de endotoxina bacteriana y la eficacia

de la clorhexidina al 0.12% en 33 pacientes (11 a 33 años de edad) bajo tratamiento ortodóncico que tiene 3 brackets metálicos en 3 diferentes premolares. 16 pacientes usaron clorhexidina al 0.12% en enjuagatorio y 17 pacientes usaron un enjuagatorio placebo 2 veces por semana. Luego de 30 días se removieron esos 3 brackets y se analizan. Se encontró un incremento de la endotoxina bacteriana en pacientes que usaron clorhexidina al 0.12%. También se obtuvo que el grupo que uso clorhexidina acumuló niveles de microorganismos significativamente menores que el grupo control tales como *P. intermedia*, *C. gracilis*, *C. rectus*, *T. forsythia* y *P. gingivalis*.¹⁶

Cardoso-Silva C. y col. (2011) Tuvieron como objetivo encontrar la relación entre la inflamación gingival y los cambios bacterianos del surco gingival en niños con tratamiento ortodóncico. Se dividió en dos grupos la muestra de 30 niños de ambos géneros con brackets y sin brackets. En el examen clínico se le realizó índice gingival y el índice de placa. En el examen microbiológico se les tomó muestras del surco gingival de 4 piezas dentales. Se concluyó que en los niños con brackets mostraron mayor índice de placa e inflamación gingival que los niños sin brackets. La bacteria *Fusobacterium nucleatum* fue la más predominante seguida por *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens* y *Porphyromonas gingivalis* pero no hubo diferencia significativa entre ambos grupos. No fue encontrada una relación directa entre el incremento de índice de placa e inflamación gingival y el conteo bacteriano.¹⁷

Liu (2011) evaluó los cambios periodontales y la cantidad relativa de *Porphyromonas gingivalis* en el espacio subgingival durante el tratamiento ortodóncico. Para los cuales se tuvo dos grupos, el grupo A de 28 pacientes al inicio del tratamiento y el grupo B de 20 pacientes al final del tratamiento. Se les realizó índice de placa, índice gingival y profundidad del sondaje. Se realizó el examen microbiológico tomando muestra subgingival mediante una cureta y llevado a un medio de transporte estéril, luego se realizó su identificación y conteo usando PCR. Se obtuvo como resultado que el índice de placa e índice gingival se incrementó significativamente luego de los primeros meses de la colocación de los aparatos ortodóncicos la cual disminuyó luego de 6

meses de la remoción de los mismos. La cantidad de *Porphyromonas gingivalis* en el espacio subgingival fue mayor al final del tratamiento ortodóncico y decreció significativamente luego de la remoción de la aparatología. Sin embargo la cantidad de *P. gingivalis* luego de 6 meses de la remoción de los aparatos ortodóncicos fue mayor que antes de la colocación de estos, lo cual podría ser un riesgo en la salud periodontal para algunos pacientes.¹⁸

Komori (2012) tuvo como objetivo evaluar la microflora y encontrar el potencial acidogénico en la placa supragingival de primeras molares con bandas ortodóncicas o brackets o sin aparatología. Se tomó muestra de la superficie de primeras molares superiores e inferiores de 6 pacientes (edades de 11 a 30 años) las cuales fueron sembradas en un medio anaerobio de agar sangre y luego se identificó mediante PCR. El potencial acidogénico fue examinado en un medio de agar de bromocresol. Se obtuvo como resultado un crecimiento bacteriano (log UFC/mg) fue 6.6 ± 6.5 , 6.9 ± 7.1 y 7.4 ± 7.6 en molares con bandas, brackets y sin aparatología respectivamente. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Streptococcus* fueron las especies predominantes presentes en molares con brackets y sin aparatología, se encontró solamente en las molares con brackets *Eubacterium* y *Porphyromonas*. En las molares con bandas se encontró mayor proporción de *Streptococcus* (44.4%) en comparación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (17.6%). En cuanto al potencial acidogénico no hubo diferencias significativas entre los 3 tipos.¹⁹

Pejda (2013) estudió el efecto de los diferentes tipos de diseños de brackets (convencional y autoligantes) en los parámetros clínicos y microbiológicos. El grupo de estudio estuvo conformado por 38 pacientes, los parámetros clínicos fueron tomados antes de la colocación de aparatos (T0), luego de 6 semanas (T1), 12 semanas (T2) y 18 semanas (T3) con la aparatología ortodóncica completa. El examen microbiológico fue tomado en T3 usando PCR analizando a *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*. Se encontró una mayor prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* en pacientes con brackets convencionales en comparación a pacientes con brackets

autoligantes pero no hubo diferencia significativa con los otros periodontopatógenos. Se concluyó que el diseño de los brackets parece no ser una fuerte influencia en los parámetros clínicos y microbiológicos.²⁰

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 Biofilm Dental

El concepto de biofilm es definido como una comunidad microbiana asociada a la superficie dentaria o a cualquier otro material duro no descamable. El biofilm se caracteriza por la rápida formación de capas de microorganismos debido al amplio desarrollo bacteriano, acompañado por la producción de grandes cantidades de polímeros extracelulares tipo polisacáridos. Esto protege a los microorganismos de los antimicrobianos. El biofilm dental se compone de bacterias incluidas en una matriz compuesta, principalmente, por polímeros extracelulares, productos salivales y exudados gingivales.

2.2.1.1 Definición

Es la estructura firmemente adherida a una superficie dental constituida de una gran cantidad de microorganismos estrechamente agrupados que están rodeados y entremezclados con material abiótico de un triple origen: microbiano, salival y dieta. También podemos observar que están constituidos de los mismos elementos de la saliva pero en mayor cantidad como son células epiteliales descamadas de la capa córnea de la mucosa, corpúsculos salivales, restos de alimentos, sedimentos cálcicos, pequeños cuerpos extraños y flora bacteriana.²¹

2.2.1.2 Composición

El biofilm dental se compone de: película adquirida, matriz y bacterias.²²

2.2.1.2.1 Película adquirida

Revestimiento insoluble que se forma de manera natural y espontánea en la superficie dentaria. Es una película orgánica de origen salival libre de elementos celulares que se forma por

depósito selectivo de glicoproteínas salivales en la superficie de la hidroxiapatita.

Tiene dos funciones principales:

Protectora: se opone a la descalcificación dentaria.

Destructiva: permite la colonización bacteriana.

2.2.1.2.2 Matriz

Entramado orgánico de origen bacteriano, formado por restos de la destrucción de bacterias y polisacáridos de cadena larga sintetizados por las propias bacterias a partir de los azúcares de la dieta. Tiene tres funciones: sujeción, sostén y protección de las bacterias de la placa.²²

2.2.1.2.3 Bacterias cariogénicas

Streptococcus: mutans, sobrinus, sanguis, salivarius. Son los que originan e inician la caries.

Lactobacillus: casei. Es acidófilo, continúa la caries ya formada.

Actinomyces: viscosus, naeslundii. Tienen acción acidúrica y proteolítica.²¹

2.2.1.3 Etapa de formación del biofilm dental

La placa supragingival es un ejemplo típico autogénico en el que se van produciendo cambios en su composición. Etapas de formación.²³

2.2.1.3.1 Formación de la película adquirida:

Es una capa amorfa acelular que se adhiere a la superficie de los dientes al poco tiempo de realizado el cepillado, esta se forma por adsorción selectiva de proteínas, glucoproteínas salivales y en menor grado, de productos secretados por los microorganismos a la hidroxiapatita mediante relaciones intermoleculares.

Diversos estudios señalan que entre los aminoácidos que configuran la película adquirida destacan la prolina, glicina,

tirosina, treonina, serina, etc. Las proteínas son muy variables como amilasa, lisozima, inmunoglobulinas A y G, mucina, histatinas, estaterinas, cistatinas, glucosiltransferasas y sobretodo la glucoproteína de 62 kDa rica en prolina. También se han encontrado restos glucídicos, bien porque formen parte de las glucoproteínas o bien porque sean productos extracelulares bacterianos. El gran contenido de proteínas con grupos aniónicos libres proporciona a la película adquirida un carácter electronegativo.

En bacterias Gram negativas el principal autoinductor es acilhomoserinalactona, mientras que en bacterias Gram positivas el autoinductor son péptidos. Cuando en el medio extracelular se acumula una suficiente cantidad del autoinductor, éste activa un receptor específico que altera la expresión de genes afectando a distintos fenotipos.²¹

2.2.1.3.2 Colonización primaria: Adherencia de la película adquirida

Se da por asociación de las bacterias, la mayor parte de estas derivan de la microbiota salival; *Streptococcus sanguis* (mediante uniones tipo lectina – carboxidasa), *Actinomyces viscosus* (a través de uniones proteína - proteína), a las glucoproteínas de la película adquirida iniciándose fenómenos de agregación y congregación bacteriana. En las uniones proteína - proteína como lectina – carboxidasa interviene enlaces iónicos, covalentes y fuerzas electrostáticas ligadas a cationes divalentes como el calcio.

En esta etapa la placa es muy fina por lo que se hallaran bacterias aerobias preferentemente y anaerobias facultativas. A excepción de la *Veillonella spp.* que posee sistemas espaciales de resistencia la oxígeno, como la superóxido dismutasa. Las fuentes nutricionales de los microorganismos en esta etapa son

fundamentalmente glucoproteínas salivales y en menor proporción, la dieta.²¹

2.2.1.3.3 Colonización secundaria: Agregación interbacteriana y multiplicación bacteriana.

Se inicia hacia el tercer al quinto día de formación de la película adquirida. La placa aumenta de grosor, las zonas más profundas se van haciendo más anaerobias por lo que muchas bacterias, preferentemente aerobias, casi desaparecen y se añaden otras que requieren un potencial de óxido reducción más bajo. Se van produciendo cambios cualitativos microbianos inducidos por factores antagónicos: consumo de oxígeno por bacterias aerobias, competencia por nutrientes y producción de peróxido de hidrógeno, de ácidos, de bacteriocinas y microcinas, de metabolitos tóxicos. Se siguen produciendo fenómenos adhesivos a la placa adquirida debido a la invasión de nuevas bacterias que sustituyen a otras que terminan por desaparecer. Así, *F. nucleatum*, *Porphyromas spp.*, *Prevotella loescheii* y *Prevotella melaninogeniaca*, mediante uniones proteína-proteína, lo hacen a prolina y además el *F. nucleatum spp.* a estaterinas.

Lo más característico de esta etapa, aparte de la multiplicación de algunas bacterias preexistentes y de las que se incorporan de nuevo, son los fenómenos de agregación y especialmente de coagregación. Estos últimos suponen uniones heterotípicas entre especies pertenecientes a géneros diferentes entre las que destacan las de tipo lectina-carbohidrato. La estructura de placa cambia sensiblemente: hay un incremento de formas bacilares y aparecen las típicas imágenes de mazorcas de maíz (coagregación de cocos sobre bacilos), pilosas (coagregación de bacilos sobre bacilos) y mixtas.²¹

Existe una correlación positiva entre la cantidad de biofilm dental y el grado de gingivitis y la cantidad de pérdida ósea. En estudios

longitudinales demostraron que el procedimiento intensivo de control de biofilm dental es esencial para la eliminación de gingivitis clínica.²¹

2.2.1.3.4 Placa madura

Tomo un periodo de tiempo variable de las 2 a 3 semanas. Se constituye una placa relativamente estable y, aunque el equilibrio puede verse alterado por algunas variaciones o fluctuaciones internas (ligadas a fenómenos antagónicos selectivos), la composición microbiana suele cambiar poco. El hecho más significativo es la detección de algunos treponemas en las zonas más profundas donde el potencial de óxido reducción es muy bajo. Al envejecer la placa, las capas más internas, además de verse privadas de oxígeno, también lo estarán de nutrientes. Los productos de desecho se acumulan y hay una reducción gradual de microorganismos vivos; por ello, los estudios microscópicos revelan la existencia de espacios vacíos por autólisis de algunas bacterias.

A lo largo de cualquiera de las etapas precedentes se produce fenómenos de “despegamiento” de las bacterias tanto de la película adquirida como de los agregados y coagregados. Se deben a la acción de algunas proteasas que hidrolizan adhesinas que están en las superficies parietales o en las fimbrias. Los microorganismos desplazados de la placa pasan a la saliva, desde donde están dispuestos para iniciar nuevas colonizaciones salvo que sean arrastrados hacia el aparato digestivo, no estén viables o hayan perdido todas sus adhesinas.²¹

2.2.1.3.5 Fase de mineralización

Transcurrido cierto tiempo, la placa madura puede mineralizarse originándose el cálculo, tártaro o sarro. El periodo requerido es muy variable, desde días a varias semanas. El tártaro dental se define como depósitos calcificados o calcificantes en los dientes

que se traducen en agregados amarillentos o blanquecinos, habitualmente localizados en las uniones dentogingivales. Estos cálculos suelen adherirse tenazmente a los dientes, son un obstáculo para la eficacia de la higiene bucal al ser zonas de retención de microorganismos. Además se convierten en un reservorio bacteriano y punto de salida de productos tóxicos irritantes para los tejidos blandos.²¹

2.2.1.4 Microbiología

Encontramos diferentes composiciones de bacterias según el lugar encontrado y según el estadio de formación que tiene:

2.2.1.4.1 Placa supragingival

Dentro de la colonización primaria observamos como primer colonizador al *Streptococcus sanguis*, luego se encontrará el *Actinomyces viscosus*, luego se incorporarán el *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii* y el *Streptococcus crista* entre otros. Dentro de la colonización secundaria tenemos un aumento de las formas bacilares, especialmente del *Actinomyces spp.* Dentro de una placa madura tenemos cocos gram positivos como el *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus crista* y *Streptococcus oralis*, entre los cocos gram negativos tenemos a *Veillonella* y *Neisseria*, los bacilos grampositivos son representados por especies del *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* y *Actinomyces odontolyticus*. El *Haemophilus spp.* es predominante dentro de los bacilos gramnegativos, encontrándose también algunas clases de espiroquetas. En la fase madura tenemos una acumulación de sales de calcio formándose tártaro o sarro.²¹

2.2.1.4.2 Placa subgingival

La placa subgingival está íntimamente relacionada con la localización supragingival de superficies lisas, especialmente con la que se acumula en el margen gingival. Son los microorganismos supragingivales los que, por continuidad, colonizan el surco gingival. Encontraremos una acumulación de especies encontradas dentro de la placa supragingival y además especies de tipo *Eikenella corrodens* o *Haemophilus spp.*, también encontraremos *Eubacterium spp.* *Bifidobacterium spp.* Y *Veillonella spp.* como especies anaeróbicas estrictas dentro de las especies que no se encuentran adheridas al diente tenemos al *Capnocytophaga spp.*, *E. corrodens*, *Campylobacter spp.*, *Porphyromas spp.* entre otros.²¹

2.2.1.5 Patogenia

Puede ser causa de caries y su rápido desarrollo y acción depende de su composición y predisposición del material dentario, si las partículas de alimentos presentan hidratos de carbono se producirá ácido láctico que comenzará a desarrollar una descalcificación de la superficie dentaria. Si comienza la descomposición del acumulado que estuvo mucho tiempo se produce una irritación y síntomas de inflamación, si a esto se da una afluencia de sales de calcio producirá tártaro o sarro.²⁴

2.2.2 Enfermedad Periodontal

Se refiere a un conjunto de enfermedades inflamatorias que afectan los tejidos de soporte del diente (encía, cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar). Se considera el resultado del desequilibrio entre interacción inmunológica del huésped y flora de la placa dental que coloniza surco gingival.²⁵

Etiología

El biofilm (placa microbiana) es la causa principal de los diferentes tipos de enfermedad periodontal; sin embargo enfermedad periodontal no tiene una única causa sino que es multifactorial y que las múltiples variables pueden interaccionar entre sí. La mayor parte de los investigadores, han llegado a la conclusión de que la causa principal de enfermedad periodontal, es la acumulación y maduración de placa bacteriana.

Normalmente existe un equilibrio entre la patogenicidad de placa bacteriana en pequeñas cantidades y la resistencia del paciente; cuando se produce un desequilibrio entre el efecto patológico de los microorganismos y la capacidad de defensa local, sistémica e inmune del huésped, se desarrolla enfermedad periodontal. Este desequilibrio, se debe a un cambio en el tipo de microorganismos y la disminución de los mecanismos de defensa del huésped.

Al aumentar la carga bacteriana, aumenta la irritación de los tejidos del huésped por esas sustancias. Las sustancias microbianas estimulan a las células epiteliales para que produzcan citoquinas pro - inflamatorias y otros mediadores químicos de la inflamación. En este momento intervienen una serie de elementos que afectan a que el proceso inflamatorio avance, originando destrucción de los tejidos de soporte del diente, esto como consecuencia de las acciones fallidas e ineficaces de los sistemas de defensa del huésped, en respuesta a la acumulación de placa, hasta llegar el punto de la exfoliación dental. Este proceso patogénico difiere en extensión y gravedad de un individuo a otro y en el mismo individuo. Las razones son multifactoriales.²⁵

Clasificación

A lo largo del tiempo se ha añadido una extensa y necesaria clasificación de las enfermedades gingivales. La clasificación de la 1989 de la Academia Americana de Periodontología (AAP) tenía serias limitaciones que incluyen: falta de una categoría para enfermedades estrictamente gingival; la dificultad de circunscribir a ciertos pacientes en cualquiera de las categorías existentes; el énfasis en la edad de inicio de la enfermedad como los pacientes que debía variar cuando el paciente envejecía y entraba en una nueva categoría de clasificación.

Posteriormente, en 1993, durante el primer taller Europeo de Periodontología se sugiere una clasificación de la enfermedad periodontal simple, basándose en parte en la edad del paciente.

Sin embargo, en esta nueva clasificación de 1999 se agrupa en gran parte entidades que en décadas pasadas se utilizaron, podemos hacer un resumen de las innovaciones que incluyen esta nueva clasificación.

De acuerdo al Workshop del 1999 de la Academia Americana de Periodontología (AAP).²⁶

- I. Enfermedades Gingivales
 - A. Enfermedades Gingivales inducidas por placa
 - B. Enfermedades Gingivales no Inducidas por placa
- II. Periodontitis Crónica
(leve NAC 1-2 mm) moderado NAC 3-4 mm) severa > 5mm)
 - A. Localizada
 - B. Generalizada (>30% están comprometidos)
- III. Periodontitis Agresiva
(leve NAC 1-2 mm) moderado NAC 3-4 mm) severa > 5mm)
 - A. Localizada
 - B. Generalizada (>30% están comprometidos)
- IV. Periodontitis como manifestación de una enfermedad sistémica
 - A. Asociada con Enfermedades hematológicas
 - B. Asociada con desórdenes genéticas
 - C. Otros no especificados
- V. Enfermedades periodontales necrotizantes
 - A. Gingivitis ulceroso necrotizante
 - B. Periodontitis ulceroso necrotizante
- VI. Abscesos del periodonto
 - A. Absceso gingival
 - B. Absceso periodontal
 - C. Absceso pericoronal
- VII. Periodontitis asociada con lesiones endodónticas
- VIII. Condiciones y deformidades adquiridas o del Desarrollo
 - A. Factores relacionados al diente que modifican o que Predisponen a gingivitis por placa o periodontitis
 - B. Deformidades y Condiciones Mucogingivales alrededor Del diente
 - C. Deformidades y Condiciones Mucogingivales en rebordes alveolares
 - D. Trauma oclusal

FIGURA 1. Versión abreviada de la clasificación de la enfermedad periodontal del año 1999 AAP

2.2.2.1 Gingivitis

Es la enfermedad bacteriana que provoca inflamación y sangrado de las encías, causada por los restos alimenticios que quedan atrapados entre los dientes y por una nula o deficiente higiene bucal. Esta enfermedad se puede desarrollar después de tres días de no realizar la higiene oral (cepillado de dientes y lengua). Cuando esta enfermedad evoluciona a un estado crónico, provoca bolsas periodontales, movilidad dentaria, sangrado excesivo y espontáneo, y pérdida del hueso alveolar que sostiene a los dientes.²⁷

La gingivitis se debe a los efectos a largo plazo de los depósitos de placa, un material adherente compuesto de bacterias, moco y residuos de alimentos que se desarrolla en las áreas expuestas del diente. La placa, si no se remueve, se convierte en un depósito duro denominado sarro que queda atrapado en la base del diente. La placa y el sarro irritan e inflaman las encías. Las bacterias y las toxinas que éstas producen hacen que las encías se infecten, se inflamen y se tornen sensibles.

Una lesión a las encías por cualquier causa, incluyendo el cepillado y el uso de seda dental demasiado fuerte, puede causar gingivitis.

Los siguientes factores aumentan el riesgo de desarrollar gingivitis:

La enfermedad general, la mala higiene dental, el embarazo (los cambios hormonales aumentan la sensibilidad de las encías) y la diabetes no controlada son factores que aumentan el riesgo de desarrollar gingivitis.

Es importante establecer en las pacientes diabéticas gestantes un buen control metabólico, así como mantener una higiene oral adecuada, debido a que la enfermedad periodontal se presenta con una prevalencia mayor en las diabéticas tipo II.²⁸

Los dientes apiñados, los bordes ásperos de las obturaciones y la aparatología oral mal colocada o contaminada (como brackets dentales, prótesis, puentes y coronas) pueden irritar las encías e incrementar los

riesgos de gingivitis. Los medicamentos como la fenitoína, las pastillas anticonceptivas y la ingestión de metales pesados, como el plomo y el bismuto, también están asociados con el desarrollo de la gingivitis. Muchas personas experimentan la gingivitis en grados variables. Ésta se desarrolla generalmente durante la pubertad o durante las primeras etapas de la edad adulta, debido a los cambios hormonales, y puede persistir o reaparecer con frecuencia, dependiendo de la salud de los dientes y las encías de la persona.²⁹

Gingivitis Leve

En aproximadamente en 7 días, continúa el acúmulo de Biofilm, la flora comienza a cambiar, se hace más patógena y todos los procesos anteriores se magnifican. El epitelio sigue aumentando su grosor (acantosis) y esto complica la difusión de nutrientes desde el conectivo, el epitelio se pliega para tratar de aumentar su superficie de nutrición (papilomatosis), además aumenta su velocidad de descamación y la liberación de intermediarios químicos, aparece, en poca cantidad, una sustancia pro-inflamatoria: Prostaglandina E2. Ante estos estímulos las células estables del tejido conectivo también aumentan la liberación de interleuquinas. El fin es estimular a las células endoteliales para lograr más vasodilatación, más vasculitis, más vasoconstricción, mayor permeabilidad vascular, por lo tanto van a extravasarse más PMN y también linfocitos. La respuesta se hace más compleja, más específica. El infiltrado inflamatorio ocupa alrededor del 15% del tejido conectivo gingival; las células del infiltrado ocupa el espacio creado por la destrucción del colágeno. La lectura clínica de esta etapa puede variar, puede seguir siendo una imagen compatible con salud, o comenzar a notarse cambios: edema, eritema, cambios en el contorno de la encía. Sería una gingivitis incipiente.

Gingivitis Crónica

Después del séptimo día: el biofilm madura, cambian ciertas condiciones, aparecen gram-negativas anaerobios, es decir los

microorganismos presentes tienen mayor patogenicidad. El epitelio aumenta la velocidad de descamación y la papilomatosis, se adelgaza y se ulcera (sangrado al sondaje, al cepillado) se incrementa la liberación de intermediarios químicos y aumenta la prostaglandina E2 (PGE2), el estímulo llega al conectivo, actúa sobre mastocitos, macrófagos, PMN, linfocitos, fibroblastos, aumentando la liberación, fundamentalmente, de interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral. La consecuencia es el incremento de los procesos vasculares: más vasculitis, más vasodilatación, mayor permeabilidad vascular, mayor salida de células y de líquido; el edema puede ocupar alrededor del 70% de la encía marginal. Clínicamente se puede observar cambio de coloración, consistencia edematosa, pérdida del festoneado, terminación redondeada, hemorragia positiva al sondaje y aumento de la profundidad al sondaje. Hay aumento del volumen de la encía hacia coronario, que genera una bolsa gingival, a veces llamada bolsa falsa, pero “no hay pérdida de inserción”. Este cuadro podría denominarse gingivitis establecida. Los microorganismos periodontopatógenos pueden tener la capacidad de evadir la función de los PMN. Para que la gingivitis establecida progrese a periodontitis se requiere de dos cosas: Que, las bacterias periodontopatógenas más virulentas, especialmente las que evaden la respuesta de los PMN, se encuentren en altas cantidades lo cual desencadena una repuesta inmune destructiva. Que, el huésped presente una alteración en la respuesta de los PMN.^{23, 25}

2.2.2.2 Periodontitis

La periodontitis crónica es una enfermedad infecciosa que produce inflamación en los tejidos de soporte de los dientes, pérdida de inserción progresiva y reabsorción ósea del hueso alveolar de los maxilares, la formación de bolsas periodontales o la recesión gingival suele ser una secuela del proceso de la afección. Esta enfermedad se puede presentar a cualquier edad.

La inflamación se caracteriza básicamente por cinco atributos que constituyen también sus síntomas fundamentales: los cuatro primeros son: rubor (enrojecimiento), tumor (hinchazón), dolor y alteración funcional. Además, aparece siempre una exudación (efusión de fluidos tisulares) o sangrado en la zona oral.³⁰

Las características principales son: formación de bolsa periodontal por migración apical del epitelio de unión, hemorragia al sondaje por ulceración del epitelio, pérdida de colágeno de inserción (fibras gingivales y del ligamento periodontal), reabsorción del hueso alveolar, supuración, movilidad dentaria, migración patológica de las piezas dentarias, hasta la eventual pérdida de la pieza dentaria.

Cuando se rompe el equilibrio entre flora benéfica y flora patogénica, hay gran aumento de gram-negativas anaerobios, un gran aumento de la cantidad de espiroquetas; ya no es suficiente con el primer eje defensivo constituido por PMN, anticuerpos y complemento. El huésped tiene que desarrollar una respuesta inmunoinflamatoria de mayor magnitud, aparece el segundo eje defensivo constituido por linfocitos y monocitos. Los microorganismos provocan destrucción tisular por medio de sus enzimas, endotoxinas, exotoxinas, productos metabólicos y por invasión directa de los tejidos. El huésped provoca destrucción tisular por aumento de la respuesta defensiva y aumento de cantidad de células que son atraídas al área y de liberación de intermediarios químicos, principalmente IL-1, PGE2 y FNT. Pasa a ser una respuesta destructiva.^{23, 25}

Diagnóstico

Se debe de diferenciar entre el diagnóstico clínico visual, el radiológico y el microbiano.

Diagnóstico clínico visual: Se basa en el índice de sangrado al sondaje, la profundidad de sondaje y, en cierta medida, en el sondaje exploratorio de la superficie dentaria (palpación de los depósitos duros). Además,

como es natural, también se puede detectar visualmente los signos inflamatorios citados. El grado de movilidad dentaria también es un indicador fiable.

Diagnóstico radiológico: Radiográficamente se aprecia una pérdida de hueso alveolar. Esta pérdida se distingue en general por un nivel horizontal óseo más bajo, aunque también puede producirse un defecto vertical en dientes unitarios (inducido por ejemplo por un margen coronario sobresaliente).

Diagnóstico microbiano: El análisis microbiológico del fluido crevicular puede aportar información sobre la composición bacteriana de la flora. En el mismo se analizan determinadas bacterias marcadoras, no solo en relación con su detección (cualitativamente), sino también en relación con la magnitud de su ocurrencia (cuantitativamente). De nuevo, de la combinación y cantidad de gérmenes del espectro bacteriano pueden extraerse conclusiones sobre su etiología, pero sobre todo puede establecerse el método de tratamiento. Por ejemplo, el llamado antibiograma que realizan los microbiólogos para apuntar la conveniencia de un tratamiento farmacológico de apoyo con determinados antibióticos.

Además, el cambio en la composición de la flora puede determinar el tratamiento de segunda instancia.³⁰

La inducción y el progreso de la destrucción del tejido periodontal es un proceso complejo que envuelve la acumulación de placa, la liberación de sustancias bacterianas y la respuesta inflamatoria del huésped. Aunque las bacterias raramente invadan los tejidos, ellas tienen la capacidad de liberar sustancias que penetran en la gingiva pudiendo ocasionar destrucción del tejido por la acción de enzimas y endotoxinas.

De todas la especies que han sido encontradas en sujetos con enfermedad periodontal crónica del adulto, los microorganismos

encontrados con mayor frecuencia en un mayor número son los bacilos gramnegativos anaerobios son *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *Bacteroides forsythus*, *A. actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, y *Treponema denticola*.³¹ Las características fisicoquímicas de estas bacterias las han convertido en los miembros más importantes de la microbiota periodontopatógena. Sin embargo no todos los pacientes que padecen enfermedad periodontal albergan todas estas especies periodontopatógenas.³² Las especies *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* se han encontrado en pacientes prepuberales con periodontitis.³³ Además, se han encontrado especies asociadas con esta enfermedad en pacientes aparentemente sanos. Es normal encontrar varias interacciones entre especies en un proceso patológico. Diversos autores creen también que la destrucción irreversible de los tejidos periodontales del huésped sólo se da cuando las bacterias alcanzan un umbral crítico.^{33, 34}

La *Porphyromonas gingivalis* es considerada una de las especies más fuertemente asociadas a periodontitis crónica y agresiva, y usualmente se encuentra entre los colonizadores tardíos de la cavidad oral, puesto que requiere de las condiciones medioambientales creadas por sus antecesores. Para su adherencia, sustratos para su crecimiento y niveles bajos de oxígeno para el crecimiento de esta especie.³⁵

2.2.3. *Porphyromonas gingivalis*

2.2.3.1 Morfología

P. gingivalis es un bacilo corto o cocobacilo, que mide de 0.5 - 0.8 μm x 1 - 3.5 μm anaerobio estricto, gram negativo, asacarolítico siendo considerado un comensal en la cavidad oral. Su pared celular presenta a nivel de la membrana externa las endotoxinas, son capsulados, no esporulados, sin flagelos y abundantes fimbrias de diferentes tipos. A nivel superficial presenta vesículas que contienen una variedad de

enzimas que juegan un rol importante en su virulencia. Así también produce múltiples enzimas con capacidad de degradar compuestos proteicos.^{36, 37}

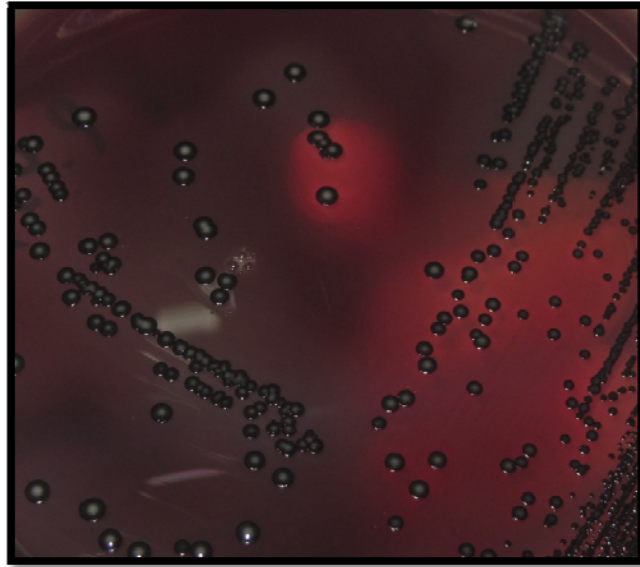


Figura 2. Colonias negras pigmentadas de *Porphyromonas gingivalis*

2.2.3.2 Taxonomía

Reino: Bacteria

Phylum: Bacteroidetes

Clase: Bacteroidetes

Orden: Bacteroidales

Familia: Porphyromonadaceae

Género: Porphyromonas

Especie: *P. gingivalis*

Nombre binomial: *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)

El género *Porphyromonas*, específicamente la especie *Porphyromonas gingivalis*, fue definido a partir del grupo *Bacteroides melaninogenicus* dada la heterogenicidad genética de este grupo, demostrada por Shah y

Hardie³⁷. Los microorganismos de este grupo forman colonias negro–amarronado en placas de agar sangre.³⁸ (Figura 2)

Por medio de la técnica como el ADN–ADN hibridación, y estudio de sus características bioquímicas, se pudo identificar un grupo homogéneo de especies a partir de los bacteroides, llamados ahora *Porphyromonas*, que en sus inicios estuvo formando por 3 especies, *P. gingivalis*, *P. asaccharolyticus* y *P. endodontales*.^{39, 40}

Luego, por la secuencia de rRNA de 16S, *Porphyromonas* se alejó genealógicamente de Bacteroides, conociéndose en la actualidad alrededor de 12 especies, habiendo una, *P. Catoniae*, que es sacarolítica. Especies del género *Porphyromonas* se han encontrado asociadas con hospederos humanos y/o animales.^{35, 40}

2.2.3.3 Nutrición

Porphyromonas gingivalis es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay sustratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medioambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial rédox es bajo (y más bajo aún en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos.

P. gingivalis tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quelan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangramiento, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que este puede ser un factor que predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio.⁴²

2.2.3.4 Factores de virulencia

Cápsula: constituido por polisacáridos, siendo en gen codificante de epimerasa *epsC* esencial para su síntesis, existiendo 6 serotipos capsulares de K1 – K6. Esta juega un rol importante en la evasión del sistema inmunológico, eludiendo la fagocitosis, opsonización y accionar del complemento.

Endotoxina (LPS): presenta en la membrana externa de la bacteria, compuesta en parte por el lípido A, que estaría participando en la interrupción de la homeostasis inmunológica del huésped a través de la producción de citoquinas, esto ocasiona inflamación gingival, asociada con la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar por activación de osteoclastos y causar la liberación de prostaglandinas E2, así como un incremento de IL1 α y IL1 β .

Vesículas de membrana externa: son sacos cerrados que se encuentran a un nivel más externo de la bacteria, presenta en su interior numerosas enzimas como; fosfolípasa C, proteasas, fosfatasa alcalina, hemolisinas, lipopolisacáridos. Estas son liberadas, produciendo daño a las células periodontales y neutrófilos.

Hemagglutininas: Son proteínas codificadas por el gen *hag* y estas pueden ser 5 de A-E, promueven la colonización por mediación de la unión bacteriana a receptores oligosacáridos en células humanas.

Fimbrias: Presentes en forma períttrica de 0.3 a 3.0 μ m de largo y 5 nm de ancho, compuestos por monómeros de fimbrilina, codificados por el gen *fimA* y otra subunidad llamada *Mfa*, codificada por *mfa1*.⁴² Sobre la base del gen *fimA*, en *P. gingivalis* se han descrito en 6 variantes, del tipo I al V y el Ib. Estas presentan capacidad de unirse a diferentes sustratos, moléculas, y células, como epitelial, fibrinógeno, fibronectina, lactoferrina. A su vez presenta propiedades quimiotácticas y de inducción de citoquinas. Se ha podido detectar a las *P. gingivales* con

fimbrias fimA tipo II y IV en la progresión de la periodontitis y a las de tipo I, V en adultos sanos.

Proteínasas cisteinproteasas: son compuestos bacterianos que proporcionan nutrientes para el crecimiento bacteriano, produciendo un daño colateral al huésped, degradando colágeno de diferentes tipos. Estas proteínas son llamadas gingipaínas, produciendo el 85% de la actividad proteolítica generada por *P. gingivalis* y el 100% de la actividad tipo tripsina. Las gingipaínas son productos de 3 genes *rgpA*, *rgpB*, *Kgp*.

Las gingipaínas *RgpA* y *RgpB* son codificadas por los genes *rgpA* y *rgpB*, respectivamente, y son específicas para péptidos ricos en arginina (Arg-Xaa). Por otro lado, la gingipaína *Kgp* está codificada por el gen *kgp* y es específica para péptidos ricos en lisina (Lys-Xaa).⁴³ Se ha podido determinar que entre las acciones que producen están; la degradación de fibronectina, fibrinógeno y de las uniones de las células epiteliales, activación del sistema de coagulación y sistema calicreína – quinina. Interrumpe en la defensa del huésped al degradar IL8, un importante quimiotáctico y C3 cuya activación produce C3a y C3b, este último un potente opsonizante.

Proteínasas no cisteinproteasas: Estas son la colagenasa, proteasa, hemaglutinina, una enzima tipo conversora de endotelina, una dipeptidilpeptidasa y la periodontina, esta última, degrada las proteínas desnaturalizadas y los polipéptidos.

Inductor de metaloproteinasas de la matriz: No es un producto generado por *P. gingivalis*, pero si lo induce, para que sea producida por fibroblastos, leucocitos y macrófagos. Estas metaloproteinasas degradan la mayoría de moléculas de la matriz extracelular, como el colágeno, fibronectina y la laminina. *P. gingivalis* inactiva los inhibidores tisulares de metaloproteinasas, específicamente el tipo 1, que tiene mucha relación con la destrucción del colágeno tipo I y fibronectina.^{36, 42}

Se demostró que *P. gingivalis* es capaz de invadir las células epiteliales humanas in vitro³⁷ y las células del epitelio bucal in vivo⁴¹ se halló en número elevado en las células epiteliales, o dentro de ellas, recuperadas de la bolsa periodontal, comparada con la placa asociada. La inserción a las células epiteliales o su invasión parece estar mediada por las fimbrias de *P. gingivalis*. Por último, los estudios con monos y ratas gnotobióticas indicaron que la inmunización con microorganismos enteros o con antígenos específicos afectaba el progreso de las lesiones periodontales. En la mayoría de los casos, disminuyó la destrucción periodontal⁴⁵. Sin embargo, en un estudio aumentó la gravedad de la enfermedad después de la inmunización⁴⁶. Las diferencias en los resultados pueden deberse a las distintas especies animales, al protocolo empleado para la inducción de la enfermedad periodontal, a la preparación del antígeno o al método de inmunización.

Desde el punto de vista de esta sección, los estudios demostraron que si se alteraba el equilibrio huésped - *P. gingivalis* mediante la elevación de los niveles de anticuerpos específicos, se afectaba notoriamente el resultado de la enfermedad. Esta información refuerza la importancia de esta especie bacteriana en la enfermedad periodontal, por lo menos en los sistemas de modelos desarrollados en animales.³⁷

2.2.3.5 Aislamiento bacteriano

P. gingivalis es un microorganismo anaeróbico estricto, que esta predominantemente en las bolsas periodontales, específicamente en el biofilm subgingival y es por eso que la muestra para su aislamiento es a partir del biofilm subgingival, que se toma con diferentes instrumentos como curetas, cintas, conos de papel.^{47, 48, 49} Siendo el más utilizado los conos de papel numero 30 o 40, que se colocan dentro del surco o bolsa periodontal, por un periodo de 20 a 60 segundos., para luego ser llevado a un medio de transporte como VMGA-III, BHI, Tioglicolato, y luego ser sembrado en medios enriquecidos como Agar sangre suplementado o el medio selectivo Agar Columbia e incubar a 37°C por 7 a 14 días, en

condiciones de anaerobiosis, que puede ser por Jarra, cámara o sobres de anaerobiosis.⁵⁰ Pasado el tiempo, la lectura de las colonias debe reconocer características como; tamaño de 1-2 mm., forma redonda, convexa y ser pigmentados de un color marrón a negro. La coloración gram debe evidenciar una morfología cocobacilar de 0.5x1-2 μm y ser negativa. Para la identificación final se puede utilizar, un kit de pruebas bioquímicas.^{36, 51}

2.2.4 Microorganismos asociados a la enfermedad periodontal

2.2.4.1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A. actinomycetemcomitans es una de las bacterias de mayor importancia en la cavidad oral. Se trata de un bacilo o cocobacilo inmóvil que se desarrolla bien en atmósfera aerobia con 5-10% de CO₂. Crece en medios con sangre o suero aunque no necesita para hacerlo de los factores X y V; dicho crecimiento se estimula con bicarbonato sódico al 1% y con hormonas esteroideas (estrógeno, progesterona y testosterona). En el primer aislamiento las colonias son traslúcidas, brillantes con forma estrellada en la superficie, desprendiéndose con dificultad el agar por su capacidad adherente y si el medio ambiente contiene sangre no son hemolíticas; en caldo el crecimiento es granular y adherido a las paredes de los tubos; estas propiedades suelen perderse en los subcultivos.⁵²

Produce una catalasa y una oxidasa tan débiles que algunas veces es difícil detectarlas; por ello puede haber problemas diferenciales con *H. aphrophilus* y *H. paraphrophilus*; el carácter adherente de las colonias y la ausencia de fermentación de la lactosa por parte de *A. actinomycetemcomitans* pueden contribuir al diagnóstico. Otros procedimientos de identificación incluyen el uso de anticuerpos fluorescentes y técnicas de biología molecular. Su capacidad fermentativa variable de galactosa, manitol y xilosa permite la obtención de 8 biotipos y por la actividad sobre dextrina, maltosa, manitol y xilosa,

10 biotipos. En función de la composición del polisacárido de la membrana externa se describen tres serotipos: a, b y c; de ellos, el a y b son los más frecuentes en la cavidad oral, el c en procesos extraorales y el b el que con mayor frecuencia produce leucotoxina.²¹

Su hábitat primario es desconocido y, como ocurre con *P.gingivalis*, su presencia en la cavidad oral, especialmente en el surco gingival, se asocia a enfermedad periodontal se le considera un patógeno exógeno de procedencia desconocida y cuya transmisión probablemente sea de forma directa.⁵²

El poder patógeno principal de *A. actinomycetemcomitans* es su estrecha relación con ciertos tipos de periodontitis, pero también se considera que este microorganismo es uno de los agentes implicados en la actinomicosis; igualmente se le ha relacionado con diversos procesos fuera del ámbito odontológico: endocarditis, endoftalmitis, linfadenitis cervicales, abscesos hepáticos, infecciones de piel y tejidos blandos, osteomielitis, etc.

Es uno de los patógenos más relacionado con la periodontitis agresiva localizada.

Este patógeno también se encuentra implicado en la enfermedad periodontal destructivas de algunos individuos adultos.²¹

2.2.4.2. *Fusobacterium nucleatum*

Son bacterias pleomorfas que aparecen con formas muy variables: en huso, globulosas, redondeadas, finas, etc. Son moderadamente sacarolíticas, aunque sintetizan material de reserva intracelular a expensas de polímeros de glucosa. Sus fuentes nutricionales y energéticas más importantes provienen del catabolismo de péptidos y aminoácidos, elaborando como producto metabólico final especialmente ácido butírico. A diferencia de otros bacilos Gram negativos anaerobios estrictos son resistentes al verde brillante. Puede aislarse como hábitat

primario en la cavidad oral y además aislarse del intestino, vías respiratorias aunque se encuentra por lo general en el surco gingival.²¹

Aun así, in vivo, los factores de virulencia de *F. nucleatum* no están claramente definidos, su poder patógeno se relaciona con la endotoxina, leucotoxina, compuestos solubles que inhiben la quimiotaxis de los neutrófilos, fosfatasas, etc. Si parece importante su capacidad de coagregarse con otras bacterias favoreciendo los procesos de colonización y formación de placas. También se sabe que los ácidos grasos de cadena corta (especialmente el ácido butírico) y el amoniaco obtenido a partir de aminoácidos (p. ej. cisteína o metionina) pueden comportarse como tóxicos tisulares, igualmente, producen dos compuestos malolientes que están implicados en la halitosis (SH, metilmercaptano).

Se han descrito algunos medios selectivos para *F. nucleatum*: CVE, (con cristal violeta y eritromicina) y FEA (con vancomicina, josamicina y neomicina).²¹

2.2.4.3. *Prevotella spp.*

Comprende bacterias moderadamente sacarolíticas por la vía Embdem Meyerhof Parnas pero no metabolizan los glúcidos por la vía de las pentosas fosfato ya que carecen de las enzimas glucosa-6 –fosfato deshidrogenasa y gluconato-6 –fosfato- deshidrogenasa. No se desarrolla en presencia de bilis al 20%. Son resistentes a la vancomicina.

Especies pigmentadas:

P. melaninogenica, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. corporis*, *P. loescheii*, *P. pallens*, *P. denticola* (algunas de cuyas cepas no son pigmentadas). Se les relaciona con mayor o menor grado con multitud de procesos, como infecciones pulpares, absceso periapical, alveolitis, etc. En la mayoría de los casos su patogenicidad no es muy bien conocida, de forma que participarían en estos procesos unidas a otras

bacterias de carácter sinérgico. Con respecto a las enfermedades periodontales la más implicada son *P. intermedia* y *P. nigrescens* cuyas colonias al contrario de *Porphyromonas gingivalis*, emiten fluorescencia; la primera especie está presente en el surco gingival en una de cada dos personas con buena salud periodontal y su prevalencia pasa a tres de cada cuatro sujetos con problemas de gingivitis o periodontitis; por ello resulta difícil atribuirle un papel claro como periodontopatógena; con respecto a *P. nigrescens* se aísla aun con mayor frecuencia en individuos sanos. *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *P. loescheii* se han descrito fimbrias como adhesinas y residuos proteicos y glucoproteicos superficiales, pueden actuar como receptores de otras adhesinas. También se ha comprobado la capacidad para degradar inmunoglobulinas, su acción tóxica sobre los fibroblastos y su actividad fibronolítica. La boca es un reservorio habitual para estas bacterias.

Especies no pigmentadas:

Son *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. oris*, *P. oulorum*, *P. veroralis* y *P. zoogloiformis*, *P. tanerae* y *P. enoeca*. La mayoría de ellas tienen como hábitat primario el surco gingival, algunas especies son más abundantes en las enfermedades periodontales aunque su grado patógeno real se desconoce.²¹

2.2.5. Biofilm dental asociado a aparatología ortodóncica

Es importante para el ortodoncista como para el paciente que va iniciar el tratamiento tener en cuenta las nuevas condiciones intraorales generadas a partir de la utilización de la aparatología fija ortodóncica, la cual favorecerá la acumulación de biofilm dental y los riesgos implícitos en cuanto a la preservación de los tejidos de soporte produciendo entre otros: caries, gingivitis y aparición o exacerbación de enfermedades periodontales preexistentes.

A partir de los primeros instantes posteriores a la cementación de los dispositivos por parte del ortodoncista, las áreas para la retención de alimentos y la acumulación de biofilm dental se incrementan, que de no ser removidos

adecuadamente se convertirán en un sustrato que generará cambios cuantitativos en la flora microbiana.

El biofilm dental concentra las bacterias y sus productos en el área gingival en donde cambia el equilibrio simbiótico a favor de los microorganismos y da como primer resultado una inflamación gingival.⁵²

El incremento de la acumulación de biopelículas indica alto riesgo de efectos adversos en el periodonto. Muchos investigadores han descrito que el factor etiológico más importante en la enfermedad periodontal es la presencia de biopelículas en el margen gingival. La combinación de tratamiento ortodóncico y mala higiene oral pueden dañar seriamente el periodonto. Los componentes de la aparatología fija de ortodoncia crean nuevas áreas de retención favorecen a que el número de microorganismos aumente. Varios estudios que lo demuestran usan parámetros clínicos –índice de placa, índice gingival, profundidad de sondaje, y pérdida ósea y de tejidos periodontales. Sin embargo, hay poca comparación clínica y microbiológica.³¹

Además las reacciones inflamatorias e inmunitarias que se extienden profundamente en el tejido conectivo más allá del fondo de la bolsa pueden afectar al hueso alveolar durante este proceso destructivo. Así, un proceso defensivo puede pasar a ser responsable de la lesión tisular observada en la gingivitis y la periodontitis.

La acumulación de placa bacteriana en la superficie dental adyacente a los tejidos gingivales, coloca a las células epiteliales surculares bucales y de inserción, en contacto con los productos de desecho, enzimas y componentes superficiales de las bacterias colonizantes. Al aumentar la carga bacteriana, igualmente, se aumenta la irritación de los tejidos del huésped y las sustancias microbianas estimulan a las células epiteliales para que estas produzcan citoquinas proinflamatorias y otros mediadores químicos de la inflamación, por lo cual se produce una tumefacción de los tejidos al acumularse líquido y se genera una gingivitis clínica. En las primeras etapas los neutrófilos predominan debido a la movilidad y flexibilidad de estas células y a los efectos de las

moléculas de adhesión sobre los vasos sanguíneos a los que preferentemente se unen los polimorfonucleares en las etapas iniciales de la inflamación.⁵³

Los sitios que favorecen esta cascada de eventos son:

1. Alrededor de los márgenes cervicales de los dientes donde se encuentra adherida la aparatología.
2. Debajo de las bandas de los molares en donde se ha eliminado el medio de cementación.
3. En las superficies de resina adyacentes a las uniones con accesorios.
4. En la unión de la resina y la superficie.⁵³

2.2.6. Control mecánico de la placa bacteriana durante el tratamiento ortodóncico

La colocación de aparatos de ortodoncia conduce a cambios cualitativos y cuantitativos en el equilibrio de la microflora oral. La colonización bacteriana de las superficies aumenta durante el tratamiento con aparatos fijos, lo que indica que los pacientes deben ser asesorados cuidadosamente en relación con la higiene oral y debe ser vigilado de cerca durante el período de tratamiento.

La eliminación o interrupción eficaz del biofilm dental por medios mecánicos, químicos o una combinación de ambos han demostrado que reduce perceptiblemente la ocurrencia y la severidad de los procesos patológicos. Existen además intentos de agregar flúor a los materiales ortodóncicos como las ligaduras elásticas, que aún no han demostrado resultado de gran relevancia.⁵³

La presencia de áreas de desmineralización en el esmalte clínicamente perceptibles, conducen a menudo a la descalcificación, esto se ha aceptado como uno de los peligros de tratamiento ortodóncico. La desmineralización de la superficie del esmalte (lesión en mancha blanca) se considera el precursor o lesión temprana, de la caries del esmalte y es debida sobre todo a la acción de los ácidos utilizados con los diferentes tipos de cementación de brackets o bandas. Esto sigue siendo un problema clínico significativo, especialmente en

los pacientes que mantienen pobre higiene oral y puede ser combatido durante el tratamiento con medidas específicas y procedimientos como un adecuado control y remoción mecánica de la placa y empleo de agentes químicos, tales como clorhexidina en forma de enjuagues bucales o aplicación de flúor, los cuales han sido ampliamente estudiados en la actualidad.

El cepillado de dientes bajo la supervisión debe ser destacado y motivado para ser eficaz en el control de biofilm. La influencia del método de la higiene oral adecuada para los pacientes con aparatos ortodóncicos fijos se estudió y se concluyó que: 1) bajo la supervisión cuando se cepilla y motivado es más eficaz en el control de la placa dental, 2) con aparatos ortodóncicos fijos proporcionan el aumento de la acumulación de biopelícula, que puede ser eliminado por uso adecuado de los pinceles, 3) el uso de cepillo específico, se usa regularmente, demostró ser eficaz en la eliminación de biofilm.

El uso del hilo dental se considera eficaz en el control de la placa y la gingivitis interproximal. Se realizó un estudio comparando el uso de hilo dental con el enjuague.

Se concluyó que el enjuague bucal dos veces al día con un enjuague bucal que contiene aceites esenciales, junto con el cepillado y la profilaxis profesional por 6 meses, era tan bueno como el hilo dental en la reducción de la placa y la gingivitis interproximal.⁵³

2.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe la presencia de colonias de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm dental de los pacientes de la Clínica de Posgrado de Ortodoncia de la Facultad de Odontología - UNMSM antes de iniciar el tratamiento ortodóncico fijo y con un mes de tratamiento ortodóncico fijo?

2.4. JUSTIFICACIÓN

Los pacientes con tratamiento ortodóncico tienen el factor de riesgo de presentar enfermedad periodontal como la gingivitis a pesar de ir a citas frecuentes con su ortodoncista, por la presencia de los brackets como factor irritante local y factor predisponente de acumulación de placa bacteriana. Es necesario hacer un tratamiento integral en estos pacientes. Así como también se necesita evaluar el nivel de placa bacteriana y un examen microbiológico para determinar que agentes patógenos predominan. Existen pocos estudios realizados en nuestro país que abarquen este tema.

2.5. OBJETIVOS

2.5.1 Objetivo general

- Determinar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm dental de pacientes antes del tratamiento ortodóncico fijo y con un mes de tratamiento ortodóncico fijo.

2.5.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm de pacientes antes del inicio del tratamiento ortodóncico.
- Determinar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm de pacientes con tratamiento ortodóncico después de un mes de tratamiento.
- Comparar en la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm de pacientes antes del tratamiento ortodóncico fijo y con un mes de tratamiento de ortodoncia fija.

2.6 HIPÓTESIS

“Existe diferencia en la presencia de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm dental antes de iniciar tratamiento ortodóncico fijo y después de un mes en pacientes de tratamiento ortodóncico fijo.”

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Tipo de investigación

El presente estudio corresponde a una investigación tipo descriptivo, prospectivo y longitudinal.

DESCRIPTIVO porque describe la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm de pacientes antes de iniciar y después de un mes de tratamiento ortodóncico fijo.

PROSPECTIVO porque registra los datos ocurridos luego de realizar el diseño de este estudio.

LONGITUDINAL porque la recolección de datos se realizó en un dos tiempos de acuerdo a los objetivos de la investigación.

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

El universo fueron los pacientes que acudieron a la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM y que iban a entrar en tratamiento ortodóncico fijo durante el periodo de octubre a febrero.

3.2.2 Muestra

La selección de la muestra fue no probabilística.

La muestra estuvo constituida por 20 pacientes los cuales fueron observados en dos tiempos, antes del inicio del tratamiento de ortodoncia fija y después de un mes de tratamiento de ortodoncia fija de la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM durante el periodo de octubre hasta febrero del 2013 que cumplieron con los criterios de inclusión.

3.2.3 Criterios de inclusión y exclusión de la muestra

Presentaron los siguientes criterios de inclusión:

- ✓ Estar en proceso de instalación de aparato ortodóncico fijo.
- ✓ Pacientes con tratamiento de ortodoncia fija en la sección de ortodoncia de la clínica de postgrado de la UNMSM

Presentaron los siguientes criterios de exclusión:

- ✓ Aparato ortodóncico removible
- ✓ Pacientes con prótesis fija o removible
- ✓ Pacientes con enfermedad sistémica
- ✓ Pacientes que hayan recibido antibióticos en los seis últimos meses
- ✓ Pacientes en estado de gestación o lactancia
- ✓ Periodontitis crónica moderada o severa
- ✓ Pacientes fumadores crónicos

3.2.4 Unidad de muestreo

La unidad de muestreo estuvo conformada por los pacientes.

3.2.5 Unidad de análisis

La unidad de análisis fue el biofilm dental de los pacientes que forman parte de la muestra.

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Escala	Categoría
Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el biofilm	Es la existencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> en el biofilm de los pacientes sembradas en agar sangre.	Pre-Tratamiento	Presencia del número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC)	Nominal	0=Ausencia 1=Presencia
		Tratamiento a un mes	Presencia del número de Unidades Formadoras de Colonia (UFC)	Nominal	0=Ausencia 1=Presencia

3.4. Recursos y materiales

3.4.1. Recursos Ambientales

- Clínica de postgrado de la UNMSM

- Laboratorio de Microbiología de la facultad de odontología de la UNMSM

3.4.2. Materiales

- Mascarilla
- Guantes
- Gorros
- Uniforme
- Espejos
- Exploradores
- Pinzas de algodón
- Puntas de papel
- Placas Petri
- Kit de siembra(mechero, asas, pipeta y puntas)

Reactivos

- Suero fisiológico
- Medios de transporte(BHI)
- Agar Tripticasa Soya
- Suplementos: sangre de cordero, hemina-menadiona y kanamicina
- Kit de coloración Gram
- Pruebas bioquímicas (API 20 A)

3.4.3. Equipos

- Microscopio óptico 100X y estereoscópico
- Esterilizador
- Incubadora

- Jarra generadora de anaerobiosis
- Bolsa de anaerobiosis

3.4.4. Otros

- Fichas de recolección de datos
- Lapiceros
- Cámara fotográfica Canon digital.
- Computadora Pentium IV
- Programa estadístico SPSS 19
- Anillados y empastados

3.5. Procedimientos y técnicas

3.5.1. Obtención de la muestra

Selección de pacientes

Se realizó la recolección de datos a los pacientes seleccionados en la muestra de la sección de ortodoncia de la clínica de postgrado de la UNMSM mediante una ficha.

A los cuales previamente se envió un consentimiento informado sobre la investigación a cada uno de los pacientes

Toma de muestra del biofilm subgingival

La toma de muestras se realizó según protocolo descrito por Slots⁴⁸.

Brevemente se realizó un examen clínico y se seleccionó dos dientes para tomar la muestra, se aisló con una torunda de algodón y se eliminó cuidadosamente la placa supragingival de la zona. Luego se procedió a tomar la muestra con conos de papel de endodoncia número 30, colocándolos cuidadosamente dentro del espacio subgingival, durante 30 a 40 segundos. Al retirar los conos se colocaron rápidamente en tubos que contenían 1ml de medio de transporte estéril Caldo Cerebro-

Corazón (BHI) a una temperatura de 20°C. Éstas fueron al laboratorio de microbiología para ser procesadas.

3.5.2. Siembra y cultivo de las muestras

a. Medio de cultivo

El agar sangre se preparó según las indicaciones del fabricante. El medio se colocó en baño de agua a una temperatura de 45-50°C durante 30 minutos, y se esterilizó en autoclave dejándose enfriar. Luego se incorporó 3ml de hemina-menadiona y 4 ug/ml de kanamicina al medio estéril, para obtener una cantidad de 1 L del medio total; luego se dispensó aproximadamente 20 ml de medio por placa.

b. Dilución y siembra de las muestras

a) Se prepararon diluciones seriadas de la muestra en criotubos, en suspensiones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} de BHI.

b) Para sembrar las muestras, se tomaron 100µl de las diluciones -1, -2 y -3, y se depositó la última dilución en una placa de agar sangre (suplementado con hemina-menadiona y kanamicina). La muestra se esparció en la superficie del agar uniformemente con un asa de Drygalsky en la superficie del agar.

c) Cultivo

Las placas sembradas se incubaron en una jarra hermética conteniendo un generador de anaerobiosis, (Anaerocult, Merck), por 7 días a 37°C.

d) Resiembra

Del cultivo obtenido se seleccionó una colonia que presentó las características requeridas para realizar la resiembra, esta colonia sirve de inóculo, la cual es sembrada con un asa en la superficie

del agar sangre. La placa sembrada se incubó por 7 días a 37°C en anaerobiosis y se procedió a hacer la lectura correspondiente.

Identificación y Aislamiento de colonias de *P. gingivalis*

La identificación de colonias de *P. gingivalis* se realizó mediante análisis de la morfología colonial (macroscópico) y de la morfología celular (microscópico).

Además, para la identificación se utilizó un Kit rápido de identificación bioquímica (Api 20 A) que constaba de 20 pruebas bioquímicas. Se colocó varias colonias de la muestra en un medio de transporte brindado en el kit hasta alcanzar la turbidez de la suspensión de 3 en la escala de McFarland. La muestra fue colocada en cada uno de los 20 pocillos de acuerdo a las indicaciones. Luego el kit se colocó en una bolsa hermética con un generador de anaerobiosis por 2 días a 37°C y finalmente se procedió a hacer la lectura para identificar especies anaerobias estrictas, el cual permitió confirmar la identidad bacteriana.

El análisis morfológico de las células que formaban la colonia se realizó mediante frotis y tinción de Gram. Observadas al microscopio, con lente de 100X de inmersión, las células de *Porphyromonas gingivalis* aparecen como bacilos cortos Gram negativo.

Luego se realizó una segunda evaluación microbiológica de cada paciente de la muestra con un mes de tratamiento.

Se evaluaron las modificaciones entre la primera y segunda evaluación del grupo control y grupo de estudio para su posterior análisis.

3.6. Recolección de Datos

Los datos fueron recopilados mediante una ficha de recolección (Anexo N°1) a los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Esta ficha contiene datos que son relevantes para el investigador, la cual presentó dos partes:

Datos de filiación: Nombre, edad, género, distrito de procedencia.

Examen microbiológico: Datos obtenidos luego análisis microbiológico de las tomas de muestras en dos tiempos de los pacientes. (Ver en anexo)

3.7. Procesamiento de datos

La información de las fichas de recolección fue colocada en una base de datos Excel para luego ser procesados en un computador mediante un programa estadístico SPSS 19 para obtener las tablas, gráficos y cuadros de las correspondientes variables para su análisis.

3.8. Análisis de resultados

Para interpretar los datos obtenidos de acuerdo a los objetivos se halló la presencia de *P.gingivalis* medidos en UFC (Unidades formadoras de colonias) en dos tiempos. Se usó la prueba de Shapiro- Wilk para verificar la normalidad de la distribución datos. Para determinar la diferencia de la presencia de *P.gingivalis* entre los dos tiempos en que se realizó el trabajo, se utilizó la como la prueba Chi cuadrado de McNemar, la cual indica las diferencias significativas (P= 5%) existentes.

IV RESULTADOS

Tabla 1: Datos generales de los pacientes

Muestra	Sexo	Edad
M1	M	24
M2	M	26
M3	M	14
M4	M	15
M5	M	19
M6	F	29
M7	M	14
M8	F	25
M9	M	27
M10	F	15
M11	M	20
M12	F	30
M13	M	28
M14	F	27
M15	F	26
M16	F	30
M17	F	24
M18	M	29
M19	F	20
M20	F	24

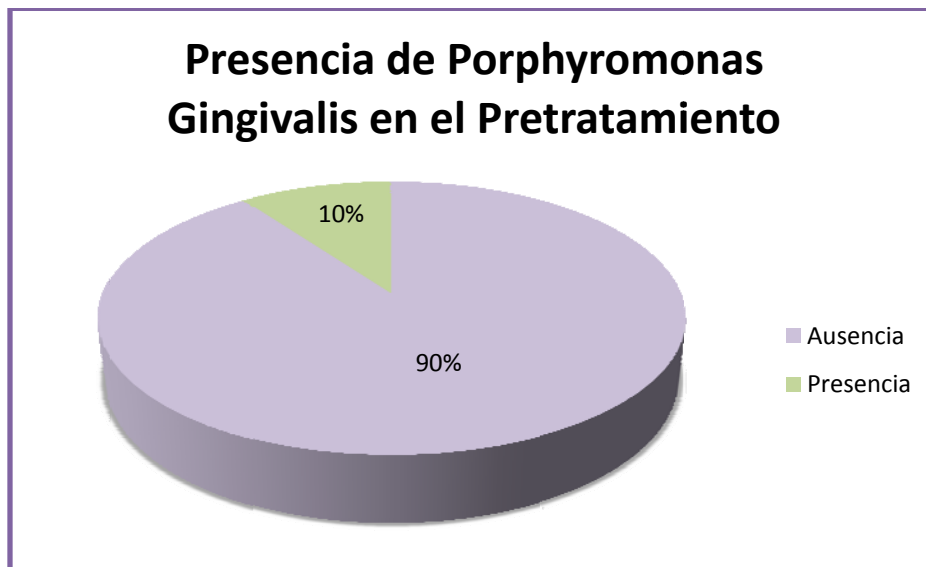
Tabla 2: Presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el Pretratamiento y Tratamiento

Muestra	PRESENCIA	
	Pretratamiento	Tratamiento
M1	SI	NO
M2	NO	NO
M3	NO	NO
M4	NO	NO
M5	NO	NO
M6	NO	NO
M7	NO	NO
M8	NO	NO
M9	SI	SI
M10	NO	NO
M11	NO	NO
M12	NO	SI
M13	NO	NO
M14	NO	NO
M15	NO	NO
M16	NO	NO
M17	NO	SI
M18	NO	NO
M19	NO	NO
M20	NO	SI

Tabla 3: Presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el Pretratamiento

<i>Porphyromonas gingivalis</i> Pretratamiento	Frecuencia	Porcentaje
Ausencia	18	90,0
Presencia	2	10,0
Total	20	100,0

GRAFICO 1. Presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el Pretratamiento

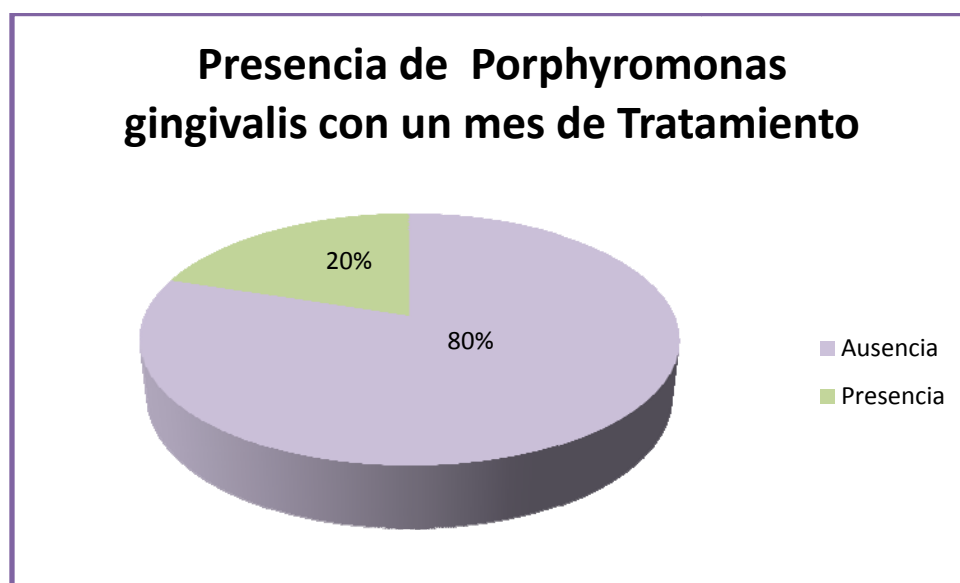


Se encontró que la presencia de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el Pretratamiento fue de 10% del total de pacientes.

Tabla 4: Presencia de *Porphyromonas gingivalis* con un mes de Tratamiento

<i>Porphyromonas gingivalis</i> Tratamiento de 1 mes	Frecuencia	Porcentaje
Ausencia	16	80,0
Presencia	4	20,0
Total	20	100,0

GRAFICO 2. Presencia de *Porphyromonas gingivalis* en con un mes de Tratamiento



Se encontró que la presencia de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* con un mes de tratamiento fue de 20% del total de pacientes.

Tabla 5: Tabla de contingencia de la presencia de *Porphyromonas gingivalis* Tratamiento * Presencia de *Porphyromonas gingivalis* Pretratamiento

Tabla de contingencia Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Tratamiento * Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Pretratamiento					
			Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Pretratamiento		TOTAL
			Ausencia	Presencia	
Presencia de <i>Porphyromonas gingivalis</i> Tratamiento	Ausencia	Recuento	15	1	16
		%	75%	5%	80%
	Presencia	Recuento	3	1	4
		%	15%	5%	20%
Total		Recuento	18	2	20
		%	90%	10%	100,0%

En esta tabla se muestra la relación entre la presencia de la bacteria *P. gingivalis* y los dos tiempos (antes y un mes después del tratamiento ortodóncico), se observa que un paciente (5%) presentó la bacteria en ambas tomas. Tres (15%) de los pacientes que antes no presentaban esta bacteria, la adquieren después de un mes de tratamiento.

GRAFICO 3. UFC Pretratamiento y UFC Tratamiento

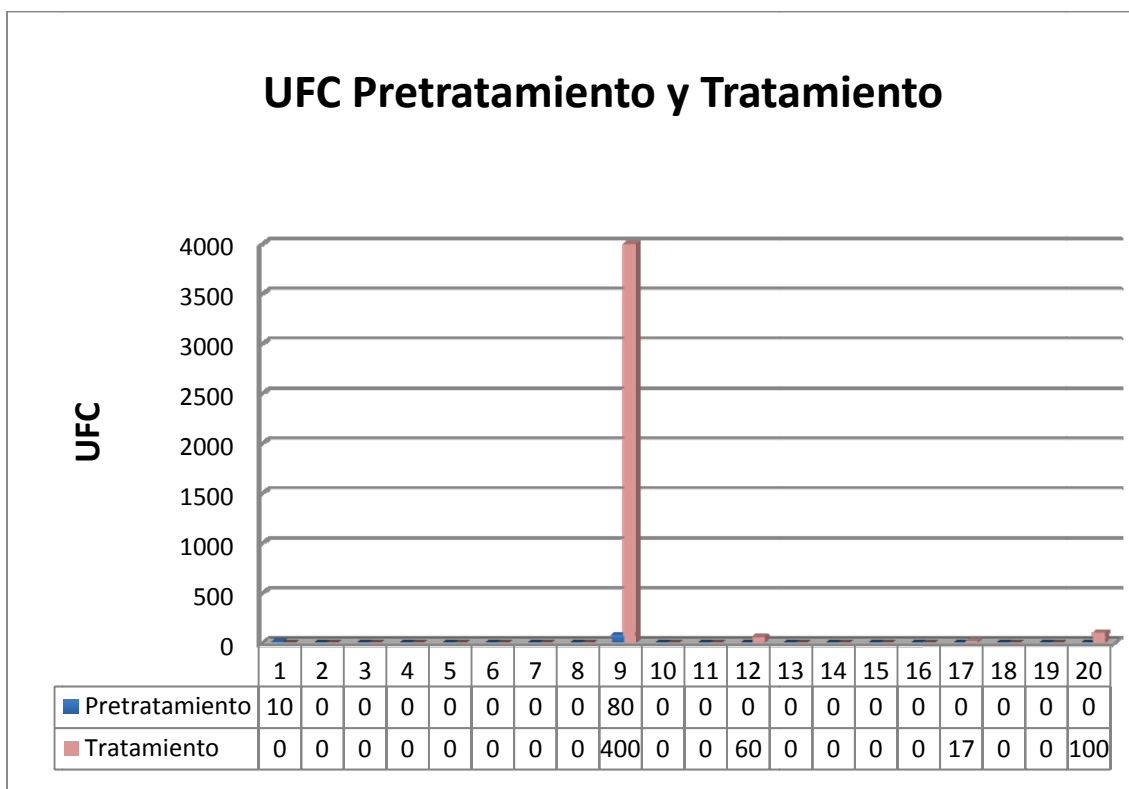


Tabla 6: Prueba Chi cuadrado de McNemar

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Sig. exacta (bilateral)
Prueba de McNemar		,625 ^a
N de casos válidos	20	

a. Utilizada la distribución binomial

Se utilizó la prueba de Chi cuadrado de muestras relacionadas entre la presencia del pretratamiento y el tratamiento de un mes encontrándose un aumento de la presencia del UFC tratamiento de un mes en comparación del UFC pretratamiento. Sin embargo no hay diferencia significativa entre ambos valores de UFC. ($p > 0.05$)

Tabla 7: Frecuencia de periodontopatógenos en pacientes

Bacteria	Pretratamiento		Tratamiento (1 mes)	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2	10%	4	20%
<i>Actinomyces naeslundii</i>	1	5%	-	-
<i>Prevotella Intermedia</i>	1	5%	1	5%

Se encontró a otras bacterias aparte de la *Porphyromonas gingivalis* tales como *Actinomyces naeslundii* y *Prevotella Intermedia*, ambas se encontraron en un porcentaje del 5% en el Pretratamiento. Mientras que el tratamiento solo se encontró la *Prevotella Intermedia* con un porcentaje del 5%.

V DISCUSIÓN

En relación al aislamiento del *Porphyromonas gingivalis* en nuestro estudio conociendo las características exigentes de la bacteria, hemos utilizado un medio enriquecido como el agar sangre suplementado con hemina y vitamina K, a esto se le agregó 4µg/ml de kanamicina el cual le da selectividad para este microorganismo. Vizitiu¹⁴ utiliza para la recuperación de este microorganismo un medio selectivo a base de Agar Columbia con 5% de sangre de carnero y Agar Schaedler complementándolo con vitamina K, con la cual mejora la recuperación de esta bacteria. Para la recuperación de esta bacteria se toman muestras de biofilm subgingival, que son recogidas con conos de papel para luego, ser llevados a un medio de transporte BHI, luego realizar diluciones en este medio, de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , siendo sembrada la última dilución. Este procedimiento es una variación a los que otros autores como Vizitiu¹⁴, que realizo mayor número de diluciones.

En cuanto a la identificación de la *Porphyromonas gingivalis*, las bacterias aisladas de las muestras fueron identificadas basadas en las características morfológicas, siendo un cocobacilo gram negativo, y pruebas bioquímicas como el Api 20A que es un kit de identificación para bacterias anaerobias. Vizitiu¹⁴ también uso este medio de identificación bacteriana para encontrar *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* y *Eikenella corrodens*. Otros autores como Thornberg¹⁰, Kim¹⁵, Sallum⁴, Choi¹¹, Liu¹⁸ y Cardoso-Silva¹⁷ han determinado su presencia utilizando la prueba de PCR (Reacción en cadena de Polimerasa).

En cuanto al incremento de bacterias periodontopatógenas en el biofilm subgingival en pacientes con tratamiento ortodóncico fijo varios autores como Demling¹², Nelson-Filho¹⁶, Kim¹⁵, Komori¹⁹ y Pejda²⁰ demuestran el aumento de bacterias periodontopatógenas incluida la *Porphyromonas gingivalis*. En este estudio también se encontró un incremento de esta bacteria en pacientes con un mes de tratamiento ortodóncico fijo en comparación a pacientes antes de iniciar el tratamiento. Sin embargo a pesar de este aumento bacteriano no se

encontró diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Chi cuadrado en ambos grupos siendo similar a estos autores.

En relación a la frecuencia de pacientes con *Porphyromonas gingivalis* en nuestro estudio encontramos que el porcentaje de pacientes con tratamiento ortodóncico de un 1 mes es 20% en comparación al 10% de los pacientes antes del tratamiento. Vizitiu¹⁴ también encontró un incremento en la frecuencia de pacientes de 6.7% y 4.2% respectivamente para pacientes en tratamiento ortodóncico de 3 meses y antes del tratamiento ortodóncico respectivamente. Al contrario de otros autores como Choi¹¹, Lee⁵ y Kim¹⁵ que encuentran una disminución en la frecuencia de pacientes que se encuentran tratamiento ortodóncico.

De acuerdo al género de la muestra, la mayoría de autores tienen un grupo de estudio conformado en su mayoría por mujeres tales como Choi¹¹, Kim¹⁵, Demling¹², Pandis¹³. En nuestro trabajo el grupo de estudio fue 20 personas conformado de 10 hombres y 10 mujeres, los cuales fueron elegidos de acuerdo como llegaron a la clínica. El tamaño de la muestra fue dado por el difícil aislamiento de la bacteria hecho a base de cultivo tradicional, y también porque se tomó la muestra del biofilm subgingival a los pacientes en diferentes oportunidades y de acuerdo a su asistencia a la clínica. Algunos autores realizaron trabajos con grupos de estudio similares al nuestro como Muraira⁶ y Vizitiu¹⁴ respectivamente. En cuanto al género los hombres tuvieron mayor presencia de bacterias periodontopatógenas en comparación a las mujeres esto puede deberse, al estilo de vida particular del género masculino.

En este estudio se analizó las muestras subgingivales en 20 pacientes con tratamiento ortodóncico y se encontró una prevalencia de *P. gingivalis* (20 %) en pacientes con un mes de tratamiento ortodóncico, en otros estudios realizados en pacientes con periodontitis crónica, Ardila⁵⁴, Griffen³³, López⁵⁶ y Cortelli⁵⁵ muestran la presencia de este microorganismo en rangos de 13% a 80% lo que indicaría que la *P. gingivalis* como un periodontopatógeno de alta prevalencia en pacientes periodontales podría causar la predisposición a sufrir enfermedad periodontal en pacientes con tratamiento ortodóncico. Para un

mejor análisis se requieren futuros estudios con mayor cantidad de pacientes y una evaluación de los parámetros clínicos.

En cuanto a la prevalencia de *P. gingivalis* en pacientes sanos, autores como Cortelli⁵⁵ y Krishnan⁵⁷ encuentran que esta prevalencia está entre rangos de 11% y 25%, estos valores son mayores a los encontrados en este trabajo, de 10% en pacientes antes de iniciar el tratamiento ortodóncico por lo que se concluye que esta bacteria se encuentra en la flora bucal normal pero que el incremento de la *P. gingivalis* conjuntamente con un higiene inadecuada y otros factores predisponentes puede causar gingivitis y periodontitis si no hay un control periodontal adecuado en estos pacientes.

VI CONCLUSIÓN

- El estudio concluye que la presencia de tratamiento ortodóncico fijo durante un mes no influye en la aparición de la bacteria *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm dental.
- Se determinó la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes antes de iniciar el tratamiento ortodóncico fijo.
- Se determinó la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes con un mes de tratamiento ortodóncico fijo.

VII RECOMENDACIONES

- Realizar más trabajos de investigación acerca de bacterias periodontopatógenas y ortodoncia fija.
- Evaluar durante más tiempo la presencia de bacterias periodontopatógenas en los pacientes con ortodoncia fija.
- Realizar estudios sobre la terapia periodontal para determinar si esta disminuye la presencia de bacterias periodontopatógenas en los pacientes con ortodoncia fija.
- Realizar una evaluación periodontal a los pacientes antes de iniciar el tratamiento ortodóncico.
- Promover la adecuada higiene oral en los pacientes de ortodoncia.

RESUMEN

La presencia de aparatos de ortodoncia en la cavidad oral genera condiciones más favorables para el aumento del biofilm y por ende la aparición de diversos agentes periodontopatógenos entre ellos bacterias Gram negativas como la *Porphyromonas gingivalis*. Este estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de *Porphyromonas gingivalis* en el biofilm dental de pacientes antes y con un mes de tratamiento ortodóncico fijo. El grupo de estudio estará constituido por 20 pacientes los cuales fueron observados en dos tiempos, antes del inicio del tratamiento de ortodoncia fija y con un mes de tratamiento de ortodoncia fija en la sección de ortodoncia de la clínica de postgrado de la UNMSM.

La toma de muestra se realizó con conos de papel N° 30, que fueron colocados dentro del surco gingival, por un tiempo de 30 segundos, luego fueron llevados al medio BHI y sembrados en el medio Agar sangre suplementado, previa dilución, incubándose en condiciones de anaerobiosis a 37 °C por 7 días. Para la identificación previa se realizó coloración Gram y pruebas de catalasa, oxidasa y como identificación definitiva se utilizó la prueba automatizada Api 20 A. Los resultados fueron medidos en UFC (Unidades formadoras de colonias) obteniéndose que la presencia del Pretratamiento y Tratamiento fueron respectivamente 10% y 20%.

En el análisis de los resultados obtenidos de los UFC de *P. gingivalis* se utilizó la estadística no paramétrica, como la prueba de Chi cuadrado de McNemar (P= 5%). En conclusión hay un aumento en la presencia del Tratamiento en comparación del Pretratamiento sin embargo no hay diferencia estadística entre ambas.

Palabras Clave: *Porphyromonas gingivalis*, Biofilm, Ortodoncia.

SUMMARY

The presence of orthodontic appliances on the oral cavity creates more favorable conditions for increased biofilm and the emergence of various agents periodontopathogens as Gram-negative bacteria including *Porphyromonas gingivalis*. The aim of this study is to isolate the *Porphyromonas gingivalis* in patients with pre-and fixed orthodontic treatment. The study group will consist of 20 patients which were observed in two stages, before the fixed orthodontic treatment and one month of treatment with fixed orthodontic section of the clinic graduate of San Marcos. The sampling was done with paper cones No. 30, they were placed in the gingival sulcus for 30 seconds, then were taken to the BHI medium and grown in the medium supplemented blood agar, after dilution and incubated under anaerobic conditions at 37 ° C for 7 days. To the prior identification was performed Gram staining, catalase and oxidase tests, and definitive identification was used as automated testing Api 20 A. The results were measured in CFU (colony forming units) obtained that the presence of the pretreatment and treatment of a month were respectively 10% and 20%. In analyzing the results of the CFU of *P. gingivalis* was used nonparametric statistics, such as chi-square test of McNemar (P = 5%). In conclusion there is an increase in the presence of Pretreatment Treatment comparison however no statistical difference between the two.

Keywords: *Porphyromonas gingivalis*, Biofilm, Orthodontics

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Zachrisson S, Zachrisson B. Gingival condition associated with orthodontic treatment. *Angle Orthod* 1972; 42; 26-34.
2. Sinclair PM, Berry CW, Bennet CL, Israelson H. Changes in gingival and gingival flora with bonding and banding. *Angle Orthod* 1987; 57: 271-278
3. Forsberg C, Brattstrom V, Malmberg E, Nord C. Ligature wires and elastomeric rings two methods of ligation and their association with microbial colonization of *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. *European Journal of Orthodontic*, 1991; 5: 416-420.
4. Sallum E. Avaliação clínica e microbiológica das condições periodontais associadas ao uso de aparelhos ortodôncicos fixos- Piracicaba, SP. 2002
5. Lee SM, Yoo SY, Kim HS, Kim KW, Yoon YJ, Lim SH, Shin HY, Kook JK. Prevalence of Putative Periodontopathogens in Subgingival Dental Plaques from Gingivitis Lesions in Korean Orthodontic Patients. *The Journal of Microbiology*, June 2005, Vol. 43, No. 3, p.260-265.
6. Muraira M, Torre Martínez H, Defilló Ramírez MP, Rodríguez Pérez E, Mercado Hernández R. Evaluación de la flora bucal con ligaduras elásticas y metálicas en pacientes con ortodoncia. *Ciencia UANL*, 2007, Vol. X, No. 1, p. 19-24.
7. Magalhães K. Efetividade de procedimentos para o controle químico-mecânico de biofilme dentário em pacientes ortodôncicos. Belo horizonte, 2008.
8. VanGastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. *J Periodontol*. 2008; 79(11):2078-86.

9. Alves de Souza R, Borges de Araújo Magnani MB, Nouer DF, Oliveira da Silva C, Klein MI, Sallum EA, Gonçalves RB. Evaluación periodontal y microbiológica de 2 métodos para ligar los arcos: ligaduras metálicas y ligaduras elásticas. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2008; 134:506-12.
10. Thornberg MJ, Riolo CS, Bayirli B, Riolo ML, Van Tubergen EA, Kulbersh R. Periodontal pathogen levels in adolescents before, during, and after fixed orthodontic appliance therapy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2009; 135(1):95-8.
11. Choi DS, Chab BK, Jost-Brinkmann PG, Lee SY, Chang BS, Jang I, Song JS. Microbiologic changes in subgingival plaque after removal of fixed orthodontic appliances. *Angle Orthod.* 2009;79:1149–1155.
12. Demling A, Demling C, Schwestka-Polly R, Stiesch M, Heuer W. Influence of lingual orthodontic therapy on microbial parameters and periodontal status in adults. *European Journal of Orthodontics* 2009; 31: 638–642.
13. Pandis N. et al. Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients with conventional and self-ligating brackets. *European Journal of Orthodontics* 2010; 32:94–99.
14. Vizitiu TC, Ionescu E. Microbiological changes in orthodontically treated patients. *Therapeutics, Pharmacology and Clinical Toxicology.* 2010.; Vol XIV, Number 4, Pages 283-286, December
15. Kim SH, Choi DS, Jang I, Cha BK, Jost-Brinkmann PG, Song JS. Microbiologic changes in subgingival plaque before and during the early period of orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2011 Mar;82(2):254-60.
16. Nelson-Filho P, Argandoña RM, Andruccioli MC, Saraiva MC, Feres M, Sorgi CA, Faccioli LH. Gram-negative periodontal pathogens and bacterial

endotoxin in metallic orthodontic brackets with or without an antimicrobial agent: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011;140:281-e287.

17. Cardoso-Silva C., Barbería E., Ramos Atance JA, Marotou M., Hernández A., García-Godoy F. Microbiological analysis of gingivitis in pediatric patients under orthodontic treatment. *European Journal of Paediatric Dentistry*. Vol.12/4-2011.

18. Liu H et al. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromonas gingivalis* during orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2011;81:609–615.

19. Komori R, Sato T, Takano-Yamamoto T, Takahashi N. Microbial composition of dental plaque microflora on first molars with orthodontic bands and brackets, and the acidogenic potential of these bacteria. *Journal of Oral Biosciences* 54 (2012) 107–112.

20. Pejda S et al. Clinical and microbiological parameters in patients with self-ligating and conventional brackets during early phase of orthodontic treatment. *Angle Orthod.* 2013 Jan; 83(1):133-9.

21. Liébana Ureña J, *Microbiología Oral*. Madrid, España. Editorial Interamericana McGraw-Hill; 2002.

22. Negroni. *Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica*. (2004). Editorial Panamericana. Buenos Aires

23. Lindhe J, Karring T y Lang NP. 2001. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 3ª edición. Médica panamericana: pp. 19-278.

24. Medline Plus (base de datos en Internet) Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2008 (actualizado 28 de mayo del 2008, acceso 20 de noviembre del 2008). *Caries Dentales*. (aprox. 1 pantalla) Disponible en :

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001055.htm>

25. Carranza, F., Newman, J., Takey, H. Periodontología Clínica. Ed. Interamericana. México, 2004.

26. García S. Nueva Clasificación De La Enfermedad Periodontal Odontología Sanmarquina 2003; 6 (11): 48-50

27. American Academy of Periodontology. Parameter on plaque-induced gingivitis. *J Periodontol*. 2000; 71:851-852.

28. García S El periodonto y la mujer: una relación para toda la vida Odontología Sanmarquina 2002; 1 (10): 55-56

29. Raspall, G. (2006). Cirugía oral e implantología. Editorial Médica Panamericana. Madrid.

30. Czerny C. Periodontitis: una enfermedad extendida. Quintessence (ed. Esp.). 2007 XX (10). p 657 – 666

31. Morrow D, Wood D, Speechley M. Clinical effect of subgingival chlorhexidine irrigation on gingivitis in adolescent orthodontic patients. *Am j orthod dentofac orthop* 1992; 101:408- 13.

32. Donly I. Enamel remineralization at band margins. *Am j orthod dentofac orthop* 1995; 107:461-64.

33. Griffen AL, Becker MR, Lyons SR, Moeschberger ML, Leys EJ. Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *J Clin Microbiol* 1998; 36:3239-42.

34. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL Jr, et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J ClinPeriodontol* 1998; 25:346-53.

35. Zadeh HH, Nichols FC & Miyasaki KT. (1999). The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontol* 2000 20: 239-288
36. Ramos Perfecto D, Moromi Nakata H, Martínez Cadillo E. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. *Odontol. Sanmarquina* 2011; 14(1): 34-38
37. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the Gum line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998; 62(4): 1244-1263
38. Shah HN, Hardie JM (1979). Taxonomic studies on *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides oralis*, *Bacteroides ruminicola* and related organisms. *Res Clin Forums* 1: 51–53
39. Shah HN, Collins MD. Proposal to restrict the genus *bacteroides* to *Bacteroides fragilis* and closely related species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1989; 39(1):85-87.
40. Magee JT, Hindmarch JM, Duerden BI, Goodwin L. Classification of oral pigmented anaerobic bacilli by pyrolysis mass spectrometry and biochemical test. *J. Med. Microbiol.* 1992; 37:56-61.
41. Olsen I, Shah HN, Gharbia SE. Taxonomy and biochemical characteristics of *Actinobacillus actinomycescomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 1999; 20(1):14-52.
42. Holt S, Kesavalu L, Walker S., Genco C. (1999). Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol* 2000 20:168-238
43. Kuboniwa M, Inaba H, Amano A. Genotyping to distinguish microbial pathogenicity in periodontitis. *Periodontology* 2000, 2010; 54: 136-159.

43. Poltorak A, He X, Smirnova I et al. Defective LPS signaling in C3H/ HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in TLR4 gene. *Science*, 1998; 282: 2085-2088.
45. Persson Grey al. Immunization against *Porphyromonas gingivalis* inhibits progression of experimental periodontitis in nonhuman primates. *Infect. immunity* (1994) 62:1026-1031.
46. Ebersole JL, Brunsvold M, Steffensen B, Wood R, Holt SC. Effects of immunization with *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* on progression of ligature-induced periodontitis in the nonhuman primate *Macaca fascicularis*. *Infect Immun.* 1991 Oct;59(10):3351–3359.
47. Doan N, Contreras A, Flynn J, Morrison J, Slot J. Proficiencies of three anaerobic culture systems for recovering periodontal pathogenic bacteria. *J. clin. Microbiol.* 1997; 37(1): 171-174.
48. Tanner ACR, Goodson JM. Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol. Immunol.* 1986; 1: 15-20.
49. Kornman KS. Sampling of microorganisms associated with periodontal disease. *Oral Microbiol. Immunol.* 1986; 1: 21-22.
50. Dahlen G. Role of suspected periodontopathogens in microbiological monitoring of periodontitis. *Adv Dent Res.* 1993; 7(2): 163-174.
51. Slots J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microbiol. Immunol.* 1986; 1: 48-55.
52. Ramos Perfecto D., Moromi Nakata H., Martínez Cadillo E., Mendoza Rojas A. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: patógeno importante en la periodontitis. *Odontol. Sanmarquina* 2010; 13(2): 43-45.
53. Marín C. Importancia del control de placa bacteriana en el tratamiento ortodóncico. *Revista Estomatología* 2007; 15(1):24-28

54. Ardila Medina CM, Arbeláez Montoya MI, Guzmán Zuluaga IC. Perfil microbiológico subgingival de pacientes con periodontitis crónica en una población de Colombia. *Av PeriodonImplantol.* 2012; 24, 1: 47-53.

55. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32:860-6.

56. López NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD. Subgingival microbiota of Chilean patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75:717-25.

57. Krishnan Mahalakshmi et al., Prevalence of periodontopathic bacteria in the subgingival plaque of a south Indian population with periodontitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 2012 May (Suppl-2), Vol-6(4): 747-752

IX. ANEXOS

Anexo N°1:

N°.....

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

NOMBRE: _____

EDAD: _____

DIRECCION: _____

TELEFONO: _____

CORREO: _____

GENERO: **M ()** **F ()**

EXAMEN MICROBIOLÓGICO

FECHA DE TOMA DE MUESTRA INICIAL: _____

FECHA DE TOMA DE MUESTRA FINAL: _____

N° DE MUESTRA	CONTEO DE COLONIAS	
	PRETRATAMIENTO	TRATAMIENTO

Anexo N°2:

Universidad Mayor de san Marcos

Facultad de Odontología

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo,..... de años de edad, y con DNI N° , autorizo a la Tesista Vania Rodríguez Cruces, de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, a realizar en mi el procedimiento de toma de muestra de Biofilm dental con fines de estudio académico.

Paciente (Voluntario)

DNI:

Anexo N° 3: Comparación de número de colonias y UFC entre el Pretratamiento y Tratamiento

MUESTRA	PRETRATAMIENTO			TRATAMIENTO		
	Número Colonias pigmentadas	Dilución	UFC	Número Colonias pigmentadas	Dilución	UFC
1	10	10 ⁻²	10000 UFC/ml	0	10 ⁻²	0
2	0	10 ⁻²	0	190	10 ⁻²	190000 UFC/ml
3	0	10 ⁻²	0	10	10 ⁻²	10000 UFC/ml
4	0	10 ⁻²	0	0	10 ⁻²	0
5	25	10 ⁻²	25000 UFC/ml	200	10 ⁻²	200000 UFC/ml
6	0	10 ⁻³	0	0	10 ⁻²	0
7	0	10 ⁻³	0	0	10 ⁻²	0
8	0	10 ⁻²	0	0	10 ⁻²	0
9	80	10 ⁻²	80000 UFC/ml	400	10 ⁻³	4000000 UFC/ml
10	1	10 ⁻²	1000 UFC/ml	10	10 ⁻²	10000 UFC/ml
11	40	10 ⁻³	400000 UFC/ml	0	10 ⁻³	0
12	0	10 ⁻²	0	60	10 ⁻²	60000 UFC/ml
13	0	10 ⁻³	0	100	10 ⁻²	100000 UFC/ml
14	0	10 ⁻²	0	200	10 ⁻²	200000 UFC/ml
15	0	10 ⁻²	0	0	10 ⁻²	0
16	0	10 ⁻²	0	0	10 ⁻²	0
17	200	10 ⁻³	2000000 UFC/ml	17	10 ⁻²	17000 UFC/ml
18	0	10 ⁻³	0	10	10 ⁻²	10000 UFC/ml
19	0	10 ⁻²	0	200	10 ⁻²	200000 UFC/ml
20	0	10 ⁻²	0	100	10 ⁻²	100000 UFC/ml

Anexo N° 4: Número de colonias pigmentadas y no pigmentadas del Pretratamiento

Muestra	Pretratamiento		
	Colonias pigmentadas	Colonias no pigmentadas	TOTAL
M1	10	103	113
M2	0	280	280
M3	0	700	700
M4	0	1	1
M5	20	11	31
M6	0	incontables	incontables
M7	0	incontables	incontables
M8	0	0	0
M9	80	165	245
M10	1	106	107
M11	40	450	490
M12	0	480	480
M13	0	0	0
M14	0	350	350
M15	0	285	285
M16	0	400	400
M17	200	163	363
M18	0	300	300
M19	0	750	750
M20	0	600	600

Anexo N° 5: Número de colonias pigmentadas y no pigmentadas del Tratamiento de un mes

Muestra	Tratamiento		
	Colonias pigmentadas	Colonias no pigmentadas	TOTAL
M1	0	118	118
M2	190	110	300
M3	10	220	230
M4	0	170	170
M5	200	419	619
M6	0	770	770
M7	0	816	816
M8	0	370	370
M9	400	250	650
M10	10	612	622
M11	0	39	39
M12	60	66	126
M13	100	650	750
M14	200	380	580
M15	0	0	0
M16	0	0	0
M17	17	13	30
M18	10	310	320
M19	200	150	350
M20	100	220	320

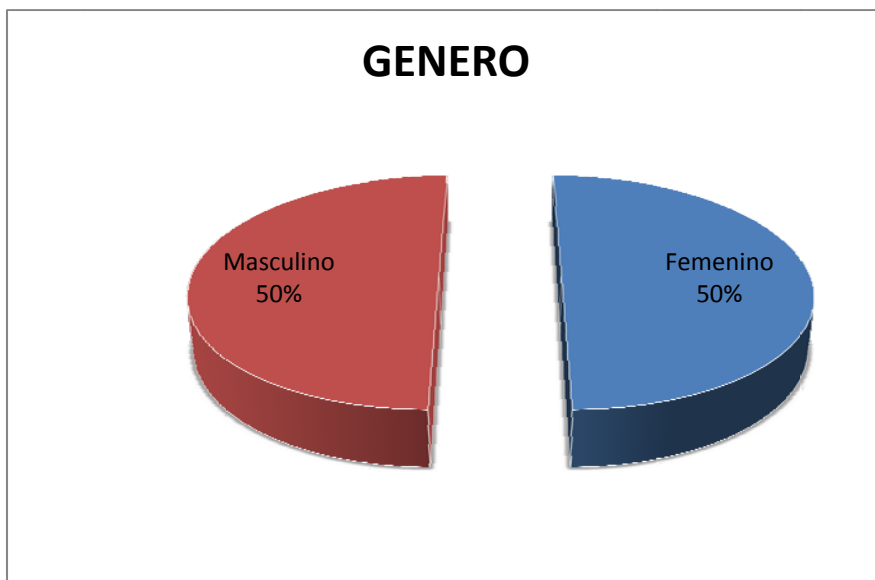
Anexo N° 6: Morfología, tipo de coloración y dilución en el Pretratamiento

Muestra	Pre Tratamiento		
	Forma	Coloración gram	Dilución
M1	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M2	Coco	Gram +	10^{-2}
M3	Coco	Gram +	10^{-2}
M4	Coco	Gram +	10^{-2}
M5	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M6	Cocobacilo	Gram -	10^{-3}
M7	Cocobacilo	Gram -	10^{-3}
M8	Coco	Gram +	10^{-2}
M9	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M10	Bacilo	Gram +	10^{-2}
M11	Diplococo	Gram -	10^{-3}
M12	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M13	Coco	Gram +	10^{-3}
M14	Bacilo	Gram -	10^{-2}
M15	Coco	Gram +	10^{-2}
M16	Coco	Gram +	10^{-2}
M17	Cocobacilo	Gram -	10^{-3}
M18	Coco	Gram +	10^{-3}
M19	Coco	Gram +	10^{-2}
M20	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}

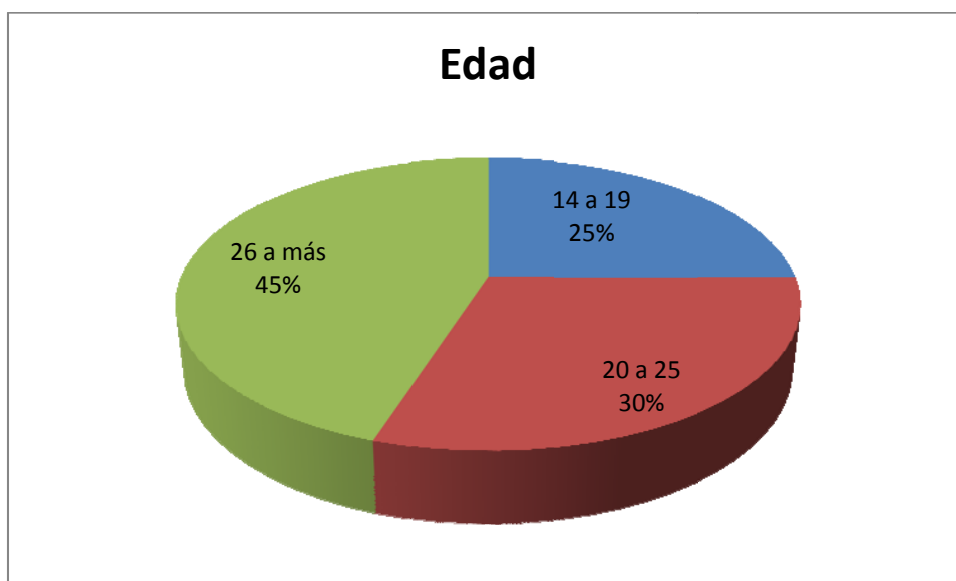
Anexo N° 7: Morfología, tipo de coloración y dilución en el Tratamiento de un mes.

Muestra	Tratamiento		
	Forma	Coloración Gram	Dilución
M1	Coco	Gram -	10^{-2}
M2	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M3	Bacilo	Gram -	10^{-2}
M4	Bacilo	Gram -	10^{-2}
M5	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M6	Coco	Gram +	10^{-2}
M7	Coco	Gram +	10^{-2}
M8	Coco	Gram +	10^{-2}
M9	Cocobacilo	Gram -	10^{-3}
M10	Bacilo	Gram -	10^{-2}
M11	Coco	Gram +	10^{-3}
M12	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M13	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M14	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M15	Coco	Gram +	10^{-2}
M16	Coco	Gram +	10^{-2}
M17	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M18	Bacilo	Gram +	10^{-2}
M19	Cocobacilo	Gram -	10^{-2}
M20	cocobacilo	Gram -	10^{-2}

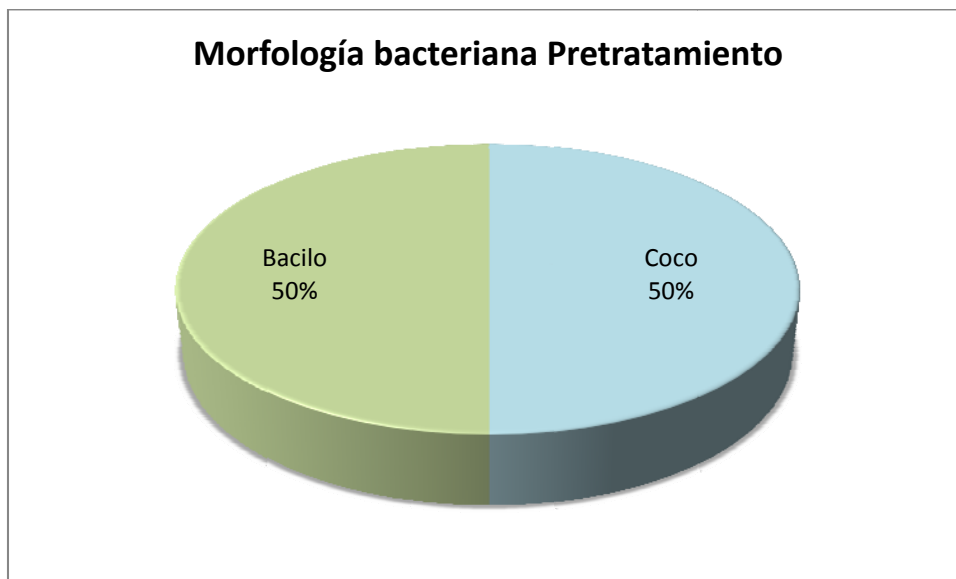
Anexo N° 8 GRAFICO 4: Género de los pacientes de la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM.



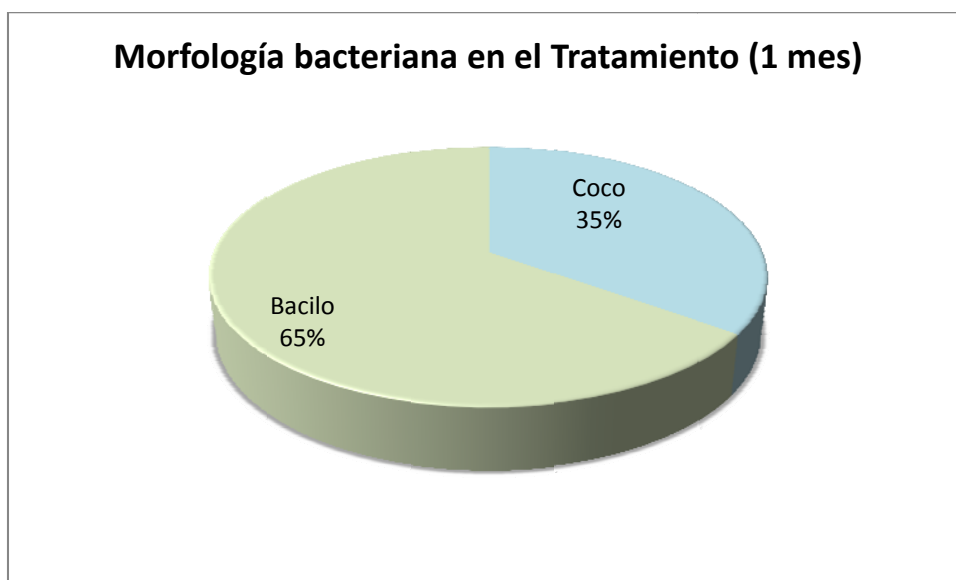
Anexo N° 9 GRAFICO 5: Edad de los pacientes de la Clínica de Ortodoncia de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNMSM.



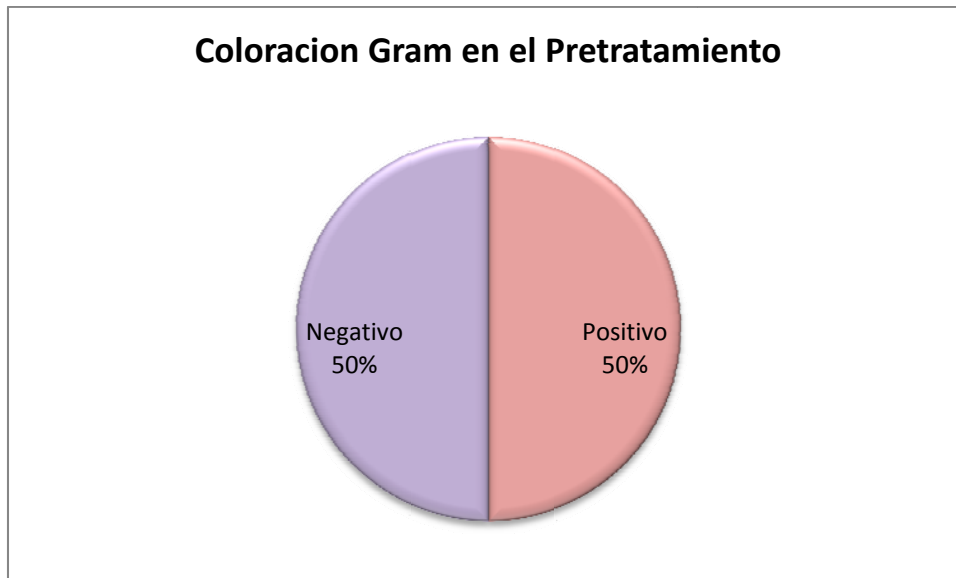
Anexo N° 10 GRAFICO 6: Frecuencia en la morfología del Pretratamiento



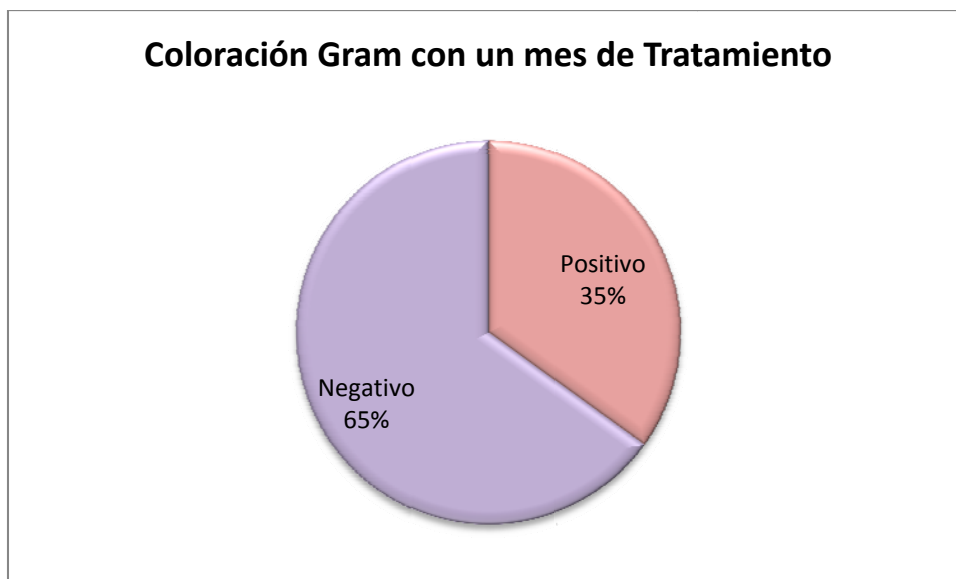
Anexo N° 11 GRAFICO 7: Frecuencia en la morfología del Tratamiento



Anexo N° 12 GRAFICO 8: Frecuencia en la coloración Gram del Pretratamiento



Anexo N° 13 GRAFICO 9: Frecuencia en la coloración Gram con un mes de Tratamiento



FOTOGRAFÍAS

Toma de muestra

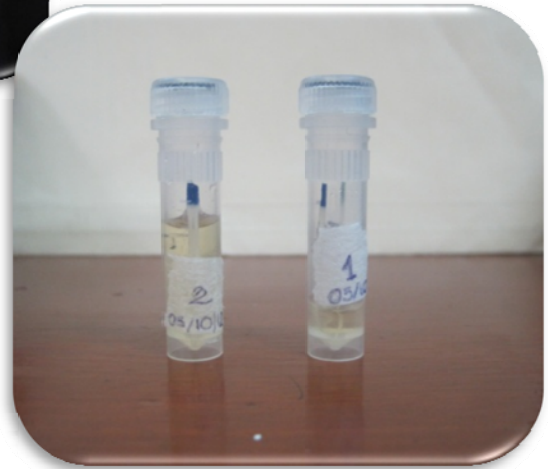
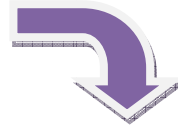
1. Colocación del algodón para el aislamiento



2. Colocación de los conos de papel en el surco gingival



3. Colocación en el medio de transporte BHI



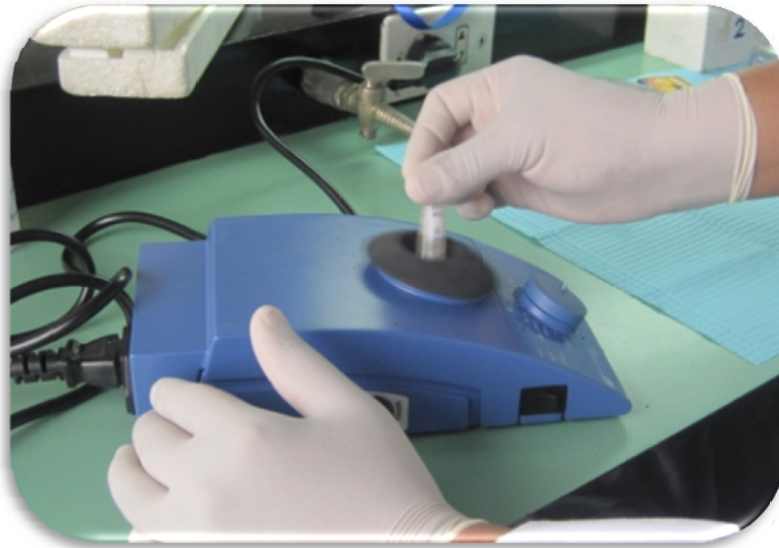
Siembra de muestras

1. Materiales



Mesa de trabajo

2. Diluciones en BHI



3. Siembra de muestras en Placas de Agar Sangre incubadas en jarra de anaerobiosis por 7 días a 37°C.

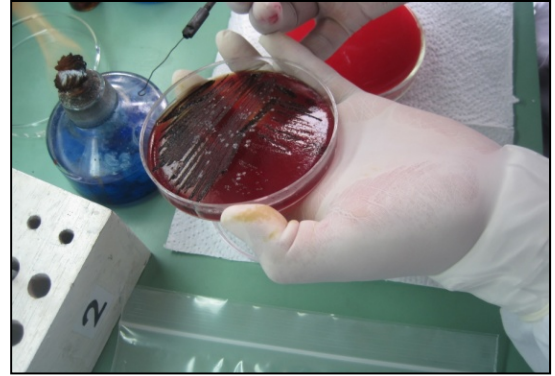
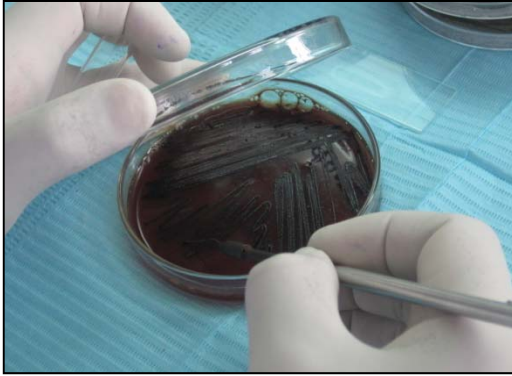


Siembra en el agar Sangre suplementado

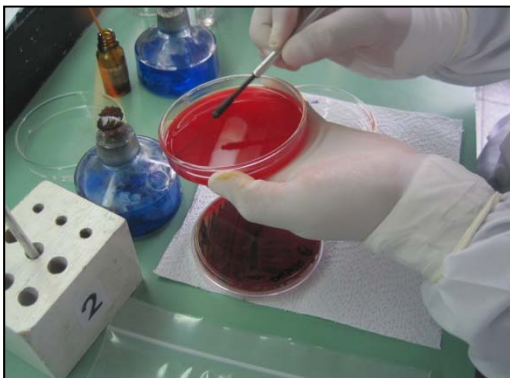


Jarra de anaerobiosis

4. Resiembra



Selección de una colonia

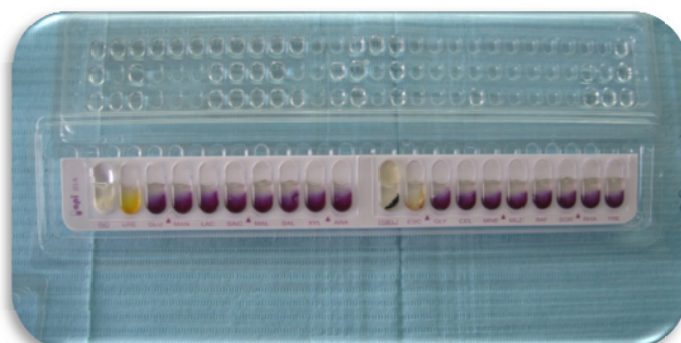
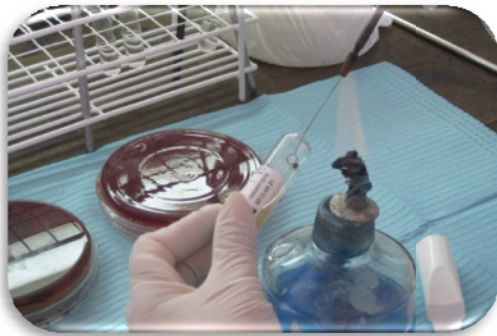
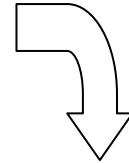
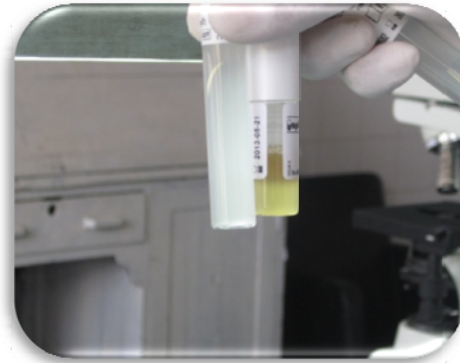
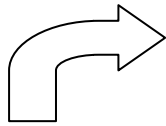


Siembra de la colonia en agar
sangre



Placa de agar sangre
sembrada

5. Preparación del kit de pruebas bioquímicas API20 A

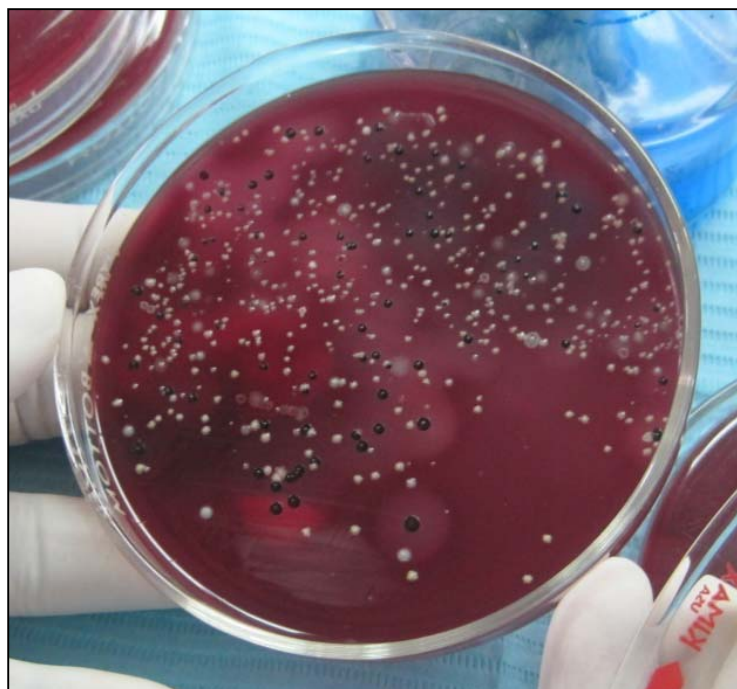


6. Cultivos con *Porphyromonas gingivalis*

Se aprecian las colonias negras pigmentadas

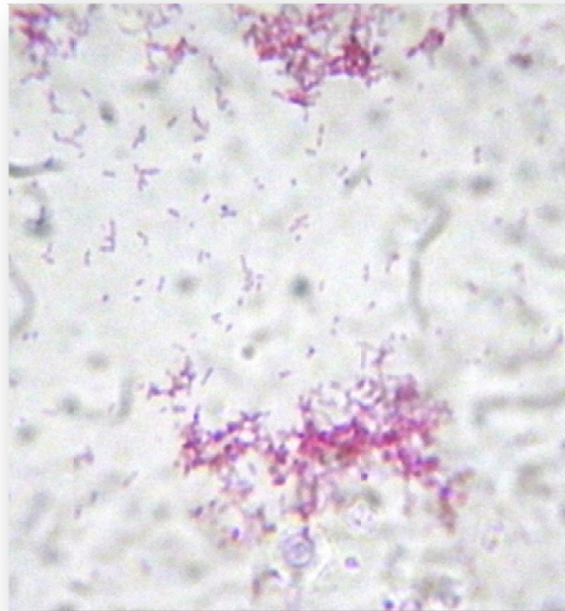


Muestra N°1

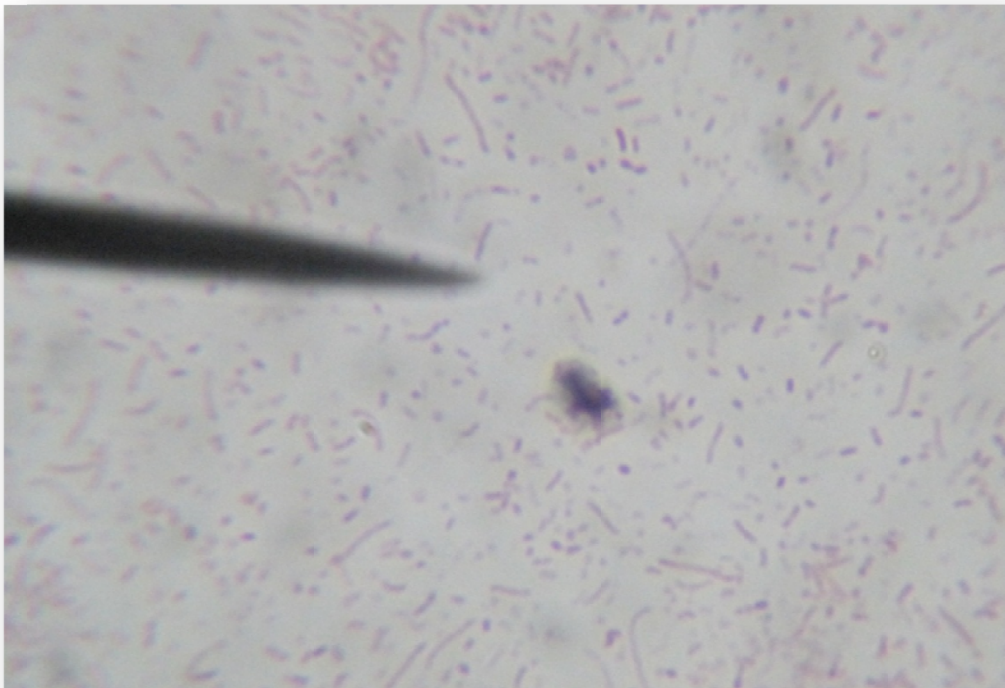


Muestra N°9

7. Coloración Gram de las colonias negras pigmentadas



Se observa la
forma bacilar ,la
coloración gram
negativa



8. Purificación de una colonia negro pigmentada

