

Investigación

PORPHYROMONAS GINGIVALIS SU RELACION CON PERIODONTITIS PIDAMENTE PROGRESIVA

Dra. Virginia Papone Yorio*
Dra. Alicia Batlle**
Sra. Mirta Ruibal***

Palabras clave:
Periodontitis
Rápidamente Progresiva (PRP);
Porphyromonas gingivalis (Pg);
Actinobacillus
actinomycetemcomitans (Aa).

RESUMEN

Mediante este trabajo queremos dar a conocer las características más importantes de Porphyromonas gingivalis, y su relación con la Periodontitis Rápidamente Progresiva. Estudiamos cinco pacientes con PRP, a los cuales se les realizó el recuento de algunos microorganismos presentes en placa subgingival de bolsas periodontales profundas. Fueron realizadas tres tomas por paciente. Se pudo observar en diez tomas la presencia de Porphyromonas y en diez la presencia de Actinobacillus actinomycetemcomitans. Una vez tratados los pacientes estos microorganismos desaparecieron de las bolsas. Este estudio, aunque cuenta con pocos casos nos demuestra una vez más el potencial periodontopático de Porphyromonas gingivalis y Actinobacillus actinomycetemcomitans, apoyando el concepto de que estas bacterias son importantes agentes patógenos invasivos en la periodontitis. También mediante el mismo podemos evaluar los resultados obtenidos luego del tratamiento quirúrgico y antibacteriano de la Periodontitis Rápidamente Progresiva.

INTRODUCCION

La PRP se presenta frecuentemente en adultos jóvenes de 20 a 35 años de edad y se caracteriza por una progresión grave y rápidamente destructiva de los tejidos periodontales. Es una enfermedad cada vez más frecuente en nuestros días y su evolución es episódica y cíclica con exacerbaciones de inflamación aguda seguida de períodos de reposo, pudiendo llevar a la exfoliación dentaria espontánea (20).

Predominan los microorganismos Gram negativos sobre los Gram positivos al igual que se produce un aumento del porcentaje de espiroquetas. Dentro de las formas Gram negativas predominan Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia y Actinobacillus actinomycetemcomitans; que se encuentran juntos y correlacionados en la enfermedad periodontal activa y en su progresión (24). Aunque Aa está presente sólo en pocas proporciones, este microorganismo es de etiología significativa debido a su virulencia.

El proceso de destrucción periodontal es iniciado por la proliferación de Aa y Pg, esto posibilita a otros

* Profesora Adj. Cátedra de Microbiología

** Post-grado Periodoncia-Escuela de Graduados

*** Téc. preparadora Cátedra de Microbiología

miembros de la microflora subgingival a que colonicen esta área. Aa ha sido encontrado tanto en Periodontitis Juvenil Localizada (Fig.1) como en PRP; su presencia es seguida de una rápida respuesta del huésped mediante la síntesis de anticuerpos locales, la ingestión macrofágica o la actividad celular citotóxica contra células tisulares infectadas por estas bacterias.

La ausencia de Aa y Pg, o un número bajo de los mismos (103) puede ser un indicador de bajo riesgo de la progresión de la enfermedad, mientras que un alto número (105) nos indican riesgo periodontal, y en consecuencia pérdida significativa de hueso (9-31).

El tratamiento de elección es la cirugía periodontal conjuntamente con la antibioterapia, ésta última se encuentra indicada en pacientes con PRP como coadyuvante al tratamiento quirúrgico. El metronidazol es el antibiótico más efectivo conjuntamente con el raspado y alisado radicular (6-7-15-26). Cuando el metronidazol es administrado, el riesgo de caries de los pacientes tratados debe monitorearse, ya que los *Streptococcus mutans* aumenta luego de una terapia con metronidazol, sugiriéndose para éstos individuos una terapia de fluor suplementaria (16).

En lo que respecta al diagnóstico de patógenos periodontales contamos con los cultivos, contraste de fases, microscopio de campo oscuro, ensayos enzimáticos, estudios basados en los ácidos nucleicos, y test inmunoenzimáticos del fluido del crevice gingival. (12-34). Para el diagnóstico microbiológico de PRP en nuestro país contamos con los cultivos bacterianos y como ayuda complementaria para el diagnóstico, se recomienda el estudio de quimiotaxis de polimorfonucleares del paciente.

Describiremos algunas características fundamentales de uno de los agentes etiológicos más importantes de la PRP.

Porphyromonas gingivalis: El género *Porphyromonas* fue creado en 1988 por Shah y Collins (Int. J. Syst. Bacteriol. 38:128-131). Incluye tres especies: *P. asaccharolytica*, *P. gingivalis* y *P. endodontalis* (10) (Cuadro 1). Pg son bacilos cortos Gram negativos anaerobios estrictos que necesitan de vitamina K y hemina para su desarrollo. Crecen bien en agar sangre lacada de conejo; sus colonias presentan un pigmento negro (protoporfirina o protohemina) (Fig.2).



Fig. 1. Microfotografía de colonias de *A. actinomycetemcomitans*

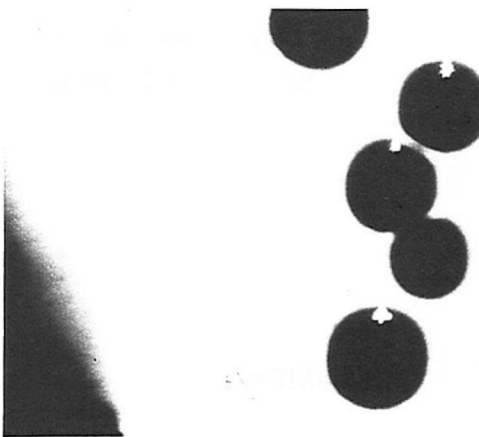


Fig. 2. Microfotografía de colonias de *Porphyromonas* aisladas de los pacientes en estudio

Empleando rayos ultravioletas de longitud de onda larga (366 nm) para identificar las colonias, podemos apreciar que las de Pg no dan fluorescencia y aparecen de un color negro o negro verdoso (23-25). Forman cápsula in vivo que las protege de la fagocitosis y muerte intracelular por polimorfonucleares dando infecciones tisulares transmisibles a pesar de la migración masiva de leucocitos polimorfonucleares en el sitio de la infección (30). Pg inhibe la quimiotaxis y el 66% de los pacientes con PRP muestran anomalías en los polimorfonucleares y monocitos (1-27).

Los anticuerpos para Pg son más altos en pacientes con PRP, y el fluido del crevice gingival tiene más inmunoglobulina G específica para Pg en estos pacientes que en individuos sanos (5). Se habla también de la transmisión de Pg entre pacientes con PRP, se aislaron de placa subgingival, de membranas mucosas y de saliva entre esposos (29).

El propósito de este estudio consistió en la búsqueda de Pg y Aa en pacientes con PRP antes y después del tratamiento.

Cuadro 1

Características diferenciales del género Porphyromonas
Berguey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. 1993.

	P. asaccharolytica	P. endodontalis	P. gingivalis
a fucosidasa	+	-	-
Aglutinación de células rojas	-	-	+
Enzimas:tripsina	-	-	+
Producción de ácido fenilacético	-	-	+
Prueba de indol	-	-	+
Principal fuente	Heces humanas	Infección de conductos radiculares surco gingival	Enfermedades periodontales

Tabla 1. Primer control antes del tratamiento (UFC/ml de dilución de la muestra)

MATERIAL Y METODOS

Sujetos: Para este estudio se tomaron cinco pacientes de sexo femenino de 28 a 35 años de edad, sanos del punto de vista general y que no recibieron antibióticos en los últimos seis meses.

Se registraron los siguientes parámetros clínicos: higiene, índice oral de placa de O'Leary; inflamación gingival, índice de Loe y Sinless; profundidad de bolsa medida en mm con sonda, Hufredy PCP12 en cuatro caras dentarias (mesial, vestibular, distal y lingual); movilidad dentaria, escala de Miller.

Se tomaron radiografías periapicales de toda la boca evaluando presencia de lámina dura, alteración del ligamento periodontal, grado y tipo de pérdida ósea y tres tomas microbiológicas de la flora subgingival en cada paciente en las zonas más afectadas y de mayor profundidad de bolsa, antes y después del tratamiento.

El tratamiento consistió en: terapia básica de información y motivación, enseñanza de higiene y control de placa, eliminación de sarro supragingival y yatrógenos, raspado y alisado de todas las superficies radiculares bajo antibioterapia (Metronidazol y Espiramicina, 3 comprimidos diarios durante diez días).

Después de una reevaluación clínica a los 30 días en bolsas mayores o iguales a 6 mm se realizó cirugía periodontal cuya técnica utilizada fue el colgajo de Widman (13) modificada con el uso de antibioterapia.

Colección de la muestra. Se tomaron muestras microbiológicas antes del tratamiento (1er. control) y después del tratamiento quirúrgico y antibacteriano

(2º control). Las tomas consistieron en material obtenido con curetas de placa subgingival de bolsas interproximales profundas de tres dientes por cada paciente. Las muestras fueron diluidas en tubos conteniendo distintas soluciones: RDS1 (Ringer Dispersion Solution con solución Ringer básica con metafosfato y cisteína) RDS2 (Ringer Dispersion solution con solución Ringer básica solamente) (23) y en medio de Schaedler. Cada tubo con la muestra diluida se sometió al vortex durante 10 segundos y se procedió inmediatamente a su siembra.

Medios de cultivo: Se sembraron en distintos medios selectivos en paralelo. En medio de Gold (8 para recuperación de Streptococcus mutans; en medio de Schaedler con agar, vitamina K, hemina y sangre lacada para la recuperación de Porphyromonas (33); triptosa soya agar con suero de caballo, verde de malaquita y bacitracina para la recuperación de Actinobacillus actinomycetemcomitans (17). Las placas fueron incubadas a 37° C en atmósfera de CO₂ durante 48 horas y anaerobiosis estricta durante 7 a 10 días.

Aislamiento e identificación de microorganismos: Todas las colonias fueron estudiadas en base a su morfología microscópica y macroscópica, realizándose en algunos casos reaislamientos con sus bioquímicas correspondientes (fermentación de carbohidratos, prueba de indol).

RESULTADOS

En la tabla 1 observamos los resultados obtenidos antes del tratamiento y en la tabla 2 los resultados luego del

tratamiento quirúrgico y antibacteriano.

En las tablas se describen las unidades formadoras de colonias (UFC) de Streptococcus mutans, Porphyromonas y Actinobacillus actinomycetemcomitans por ml. de dilución de la muestra de placa subgingival de los pacientes. Como vemos en el primer control todos los pacientes presentaban Porphyromonas y Aa. De todas las tomas obtenidas el 64,2% de la mismas presentaban Porphyromonas y el 71,4% Aa. En el segundo control realizado luego del tratamiento quirúrgico y antibacteriano no fueron halladas ni Porphyromonas ni Aa en las muestras.

CONCLUSIONES

Aunque estos cinco casos no pueden considerarse representativos de una investigación, sí podemos decir que con ellos quedó demostrado una vez más la presencia de Porphyromonas y Actinobacillus actinomycetemcomitans, agentes patógenos invasivos en Periodontitis Rápidamente Progresiva y la ausencia de los mismos luego de un correcto tratamiento quirúrgico y antibacteriano.

Con los cultivos bacterianos y ayudándonos con un estudio de quimiotaxis de polimorfonucleares del paciente, podemos hacer entonces un diagnóstico más certero, y basándonos en lo descrito anteriormente podremos lograr el éxito en nuestro tratamiento eliminando la patología periodontal.

SUMMARY

With this work, we want to make known the most important characteristics of Porphyromonas gingivalis and their relation with Rapidly Progressive Periodontitis. We studied five patients with RPP, to whom we made the recounts of some microorganisms found in the subgingival plaque of deep periodontal pockets. We made three samples for each patient.

In ten samples we could find Porphyromonas and in ten samples we found Actinobacillus actinomycetemcomitans. Once the patients were treated these microorganisms

Paciente	St.mutans	Porphyromonas	A.actinomycetemcomitans
1	10 ⁵	2 x 10 ³	10 ³
	10 ³	10 ³	10 ³
	2 x 10 ³	0	0
2	0	0	0
	0	4 x 10 ³	10 ³
	39 x 10 ³	10 ³	5 x 10 ³
3	0	0	0
	22 x 10 ³	4 x 10 ³	5 x 10 ³
	0	0	2 x 10 ³
4	0	2 x 10 ⁴	5 x 10 ³
	0	2 x 10 ³	0
	0	3 x 10 ⁴	11 x 10 ³
5	0	0	10 ³
	0	10 ³	4 x 10 ³
	0	2 x 10 ³	0

Tabla 1. Primer control antes del tratamiento (UFC/ml de dilución de la muestra)

Paciente	St.mutans	Porphyromonas	A.actinomycetemcomitans
1	10 ⁵	0	10 ³
	0	0	10 ³
	10 ³	0	0
2	5 x 10 ³	0	0
	3 x 10 ³	0	0
	0	0	0
3	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
4	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
5	0	0	0
	0	0	0
	2 x 10 ³	0	0

Tabla 2. Segundo control después del tratamiento. (UCF/ml de dilución de la muestra)

disappeared of the pockets. Although this study has got few patients, it shows us again the periodontopathic potential of Pg and Aa, confirming the concept that these microorganisms are important

invasive pathogenic agents in periodontitis. With this work we can also evaluate the results obtained after surgical and antibiotic treatment of RPP.

BIBLIOGRAFIA

- Altman, R.; Page, R.; Vandesteen, L. et al. Abnormalities of in patients with various forms of periodontitis. *J. of Periodontol Res.* 1985, 20:553-563.
- Baker, P. Bacterial sampling by absorbent paper point. An in vitro study. *J. Periodontol.* 1991, 62(2):142-146.
- Boyd, J.; Bride, Mc. Fractionation of hemagglutination and bacterial binding adhesions of *B. gingivalis*. *Infect. Immun.* 1984, 48:1000-1004.
- Celenicil, H.; Kansu, J.; Eratalay, K. Juvenile and rapidly progressive periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 1990, 17:207-210.
- Frandsen, E.; Theilade, E. Proportions and identity of IgA degrading bacterial in periodontal pocket from patients with juvenile and rapidly progressive periodontitis. *J. of Periodontol Res.* 1986, 21:613-623.
- Genco, R. Antibiotics in the treatment of human periodontal diseases. *J. Periodontol.* 1981, 52:545-558.
- Greenstein, L. The role of Metronidazole in the treatment of periodontal diseases. *J. Periodontol.* 1993, 64:1-15.
- Gold, O.; Jordan, H.; Van Houte, J. A selective medium for *Streptococcus mutans*. *Arch. Oral Biol.* 1973; 18:1357-1364.
- Haffajee, A.; Socransky, S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology* 2000, 1994; 5:78-111.
- Holt, G.; Krieg, N.; Sneath, P. et al. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th ed. Ed-Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1993.
- Johnson, S.; Pareau, M. Antibodies to *Porphyromonas gingivalis*. *J. Periodontol.* 1999; 62(12):781-786.
- Lamster, I.; Grbe, T. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. *Periodontology* 2000, 1995; 1:83-13. Lindhe, J. *Parodontología Clínica*. Ed. Panamericana, B.A. 1991:350-353.
- Loe, H. The gingival index, the plaque index and the retention index. *J. Dent. Res.*, 1980; 59: 253-258.
- Loesche, W.; Schmidt, E.; Smith, B. et al. Metronidazole therapy for periodontitis. *J. of Periodontal Res.* 1987, 22:224-226.
- Loesche, W.; Schmidt, E.; Smith, A. et al. Effects of metronidazole on periodontal treatment needs. *J. Periodontol.* 1991, 62: 247-257.
- Mandell, R.; Socransky, S. A selective medium for *A. actinomycetemcomitans* and the incidence of the organism in juvenile periodontitis. *J. Periodontol.* 1981; 52 (10):

18. Nisengard, R. Development of a rapid latex agglutination test for periodontal pathogens. *J. Periodontol.* 1992;63:200-205.
19. Page, R.; Altman, L. Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. *J. Periodontol.* 1982; 54:197-209.
20. Peros, W.; Etherden, I.; Gibbons, R. Alteration of fimbriation and cell hydrophobicity by sublethal concentrations of tetracycline. *J. Periodontol. Res.* 1985; 20: 24-30.
21. Savitt, E.; Kent, R. Distribution of *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* by subject age. *J. Periodontol.* 1991; 62: 490-494
22. Schenkein, H.; Berry, C. Production of chemotactic factors for neutrophils following the interaction of *B. gingivalis* with purified C5. *J. Periodontol. Res.* 1988; 23: 308-312.
23. Slots, J. Rapid identification of important periodontal microorganisms by cultivation. *Oral Microb. Immunol.* 1986;1: 48-55.
24. Slots, J.; Brayd, L.; Wikstrom, M. et al. The occurrence of *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis* y *B. intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J. Clin. Periodontol.* 1986;13: 570-577.
25. Slots, J.; Reynolds, H. Long wave UV light fluorescence for identification of black pigmented *Bacteroides* spp. *J. Clin. Microbiol.* 1982;16:1148-1151.
26. Soeder, O.; Frithiof, L.; Wikner, S. et al. The effect of systemic metronidazole after non surgical treatment in moderate and advanced periodontitis in young adults. *J. Periodontol.* 1990;61(1):74-77.
27. Sundqvist, G.; Wilsson, F.; Carlsson, J. Inactivation of key factors of the plasma proteinase cascade system by *B. gingivalis*. *Infect. Immun.* 1985;50:467-471.
28. Van Dike, T.; Bartholomen, E.; Genco, R. et al. Inhibition of neutrophil chemotaxis by soluble bacterial products. *J. Periodontol.* 1992;53:502-508.
29. Van Steenberg, T.; Petit, M.; Scholte, L. et al. Transmission of *P. gingivalis* between spouses. *J. Clin. Periodontol.* 1993; 20: 340-345.
30. Van Winkelhoff, A.; Van Steenberg, T. The role of black pigmented *Bacteroides* in human oral infections. *J. Clin. Periodontol.* 1988;15:145-155.
31. Wennström, J.; Dahlen, G.; Swensson, J. et al. *A. actinomycetemcomitans*, *B. gingivalis* and *B. intermedius*: predictors of attachment loss? *Oral Microbiol. Immunol.* 1987; 2:158-163.
32. Wilton, J. IgG subclass antibodies to *P. gingivalis* in patients with destructive periodontal disease. A case control study. *J. Clin. Periodontol.* 1992; 19 (9): 646-651.
33. Zambon, J.; Homer, S.; Reynolds, H. et al. Black pigmented *Bacteroides* spp. in the human oral cavity. *Infect. Immun.* 1981; 198-203.
34. Zambon, J.; Haraszthy, V. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontology* 2000, 1995, 5: 69-82.



**Representante
Exclusivo
de**

MIRACLE MIX - Reconstr. de muñones
 FUJI BOND LC - Base y adhesivo p/composites
 LINING CEMENT LC - Base Fotoc.
 LINING CEMENT - Base
 FUJI II LC - Restauración Fotoc.
 FUJI II - Restauración
 FUJI I - Cementado



A la más completa línea de ionómeros sumamos:

FUJI PLUS
 Cemento Híbrido
 multipropósito de
 ionómero de vidrio
 reforzado con resina

FUJI IX
 Restauración; sellado de fisuras
 formulado especialmente para
 usar con la técnica A.R.T.
 (Tratamiento Restaurativo
 Atraumático)

FUJI ORTHO
 Ionómeros autocurables
 para cementado
 de brackets y bandas
 También en versión LC

LIDERES EN IONOMEROS DE VIDRIO