UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESCUELA DE POSGRADO

"EVALUACIÓN EN DIENTES UNIRRADICULARES DEL EFECTO DE LA TERAPIA MECÁNICA PERIODONTAL SOBRE PARÁMETROS CLÍNICOS Y BACTERIOLÓGICOS MEDIANTE BIOLOGÍA MOLECULAR"

TESISTA:

OD. GEORGINA ELENA BAZZANO

CÓRDOBA, 2009

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional.

EVALUACIÓN EN DIENTES UNIRRADICULARES DEL EFECTO DE LA TERAPIA MECÁNICA PERIODONTAL SOBRE PARÁMETROS CLÍNICOS Y BACTERIOLÓGICOS MEDIANTE BIOLOGÍA MOLECULAR

Trabajo de Tesis para optar al título de “Doctor en Odontología”

Odontóloga:
Georgina Elena Bazzano

Año 2009

Director:

Prof. Dr. Ricardo J. Parodi

Asesor:

Prof. Dr. Osvaldo Costa

Comisión de tesis:

Prof. Dra. María Ester Esper

Prof. Dra. Diana Masih

Prof. Dra. Rita Noher de Halac

INDICE

INTRODUCCIÓN 5

Enfermedades Periodontales 6

- Criterios para definir los patógenos periodontales 7
- Bacteriología de las enfermedades periodontales 8
- Métodos de identificación de especies bacterianas 11

Tratamiento 12

- Terapia relacionada con la causa 12
- Efecto de la terapia básica en parámetros clínicos 12
- Efecto de la terapia básica en parámetros microbiológicos 13

OBJETIVOS 15

MATERIALES Y MÉTODOS 17

Población y Muestra 18

Criterios de inclusión 18

Criterios de exclusión 18

Diseño del estudio 18

Fase pre tratamiento 19

- Registros clínicos 19
- Estudios radiográficos 21
- Selección de sitios 21
- Estudios microbiológicos 21
  - Toma de muestras 21
  - Procesamiento de muestras 22

Fase de tratamiento 25

Fase post tratamiento 26

Análisis estadístico 27

RESULTADOS 28

Resultados clínicos 29

Resultados bacteriológicos 35

Análisis del resultado al tratamiento 41

DISCUSIÓN 44

CONCLUSIONES 50

RESUMEN 53
ABSTRACT 55
ANEXO 1 57
REFERENCIAS 61
CERTIFICACIONES 67
AGRADECIMIENTOS 69

INTRODUCCIÓN

Enfermedades Periodontales

Las periodontitis son infecciones bacterianas mixtas que conducen a la destrucción de los tejidos de soporte de las piezas dentarias, incluyendo el ligamento periodontal y el hueso alveolar. Las bacterias periodontopáticas son el factor etiológico primario de las periodontitis, la destrucción de los tejidos resulta esencialmente de la respuesta inmune del hospedero al desafío bacteriano. (*Holt 2005*)

La forma más frecuente de Periodontitis es la Periodontitis crónica, que se manifiesta con inflamación de los tejidos de soporte del diente y pérdida progresiva del ligamento periodontal y hueso alveolar. Se caracteriza por la formación de bolsas con pérdida de inserción que pueden o no acompañarse con recesión gingival. Puede iniciarse a cualquier edad, pero se la encuentra más frecuentemente en adultos. Su prevalencia y severidad aumentan con la edad. (*Annals of Periodontology 1999*, *Mendoza 2006*)

Como en la mayoría de las enfermedades periodontales, el factor iniciador de la Periodontitis Crónica son las bacterias del biofilm dental, su manifestación y progreso está influenciado por factores que incluyen características propias del sujeto, factores sociales y de comportamiento, sistémicos, genéticos, dentarios y la composición microbiana del biofilm. (*Nunn 2003)*

La etiología bacteriana de las enfermedades periodontales se ha puesto en evidencia a través de numerosos estudios que incluyen: a) estudios que correlacionan las principales formas de gingivitis y periodontitis con la presencia de placa bacteriana. b) Estudios que correlacionan mejoría clínica con la eliminación de microorganismos y c) estudios in vivo e in vitro que demuestran la relativa virulencia de diferentes bacterias de la placa dental. (revisión en *Zambon 1995, Zambon 1996, Socransky 2000,*)

El interés por la etiología bacteriana de la enfermedad periodontal lleva más de 100 años de controversias, entre 1890 y 1920 se dio la llamada “Edad de Oro de la Microbiología” en que se estableció la relación entre bacterias específicas y distintas enfermedades humanas. Robert Koch desarrolló los medios de cultivo y estableció los postulados para los agentes infecciosos. Algunas bacterias (fusiformes, streptococos, espiroquetas) se asociaron a la

enfermedad periodontal, pero sin medios de diagnóstico y de cultivo adecuados, los tratamientos no resultaron eficaces y declinó el interés por los microorganismos como agentes etiológicos de enfermedades periodontales. Entre 1920 y 1960, los investigadores no se involucraron con microorganismos y en los trabajos publicados se atribuyó la enfermedad periodontal a otras causas (defectos constitucionales del huésped, trauma por oclusión, atrofia), considerando a las bacterias como invasores secundarios. Se aplicaron alternativas terapéuticas que no resultaron eficaces en el control de las enfermedades periodontales. (*Socransky 1994*, *Feres 2004*)

En la década de 1960 Löe publica los resultados de su "Gingivitis experimental" (Löe 1965), Keyes y Jordan (Keyes 1964) hallaron transmisión de enfermedad periodontal en animales, Listgarten (Listgarten 1965) demostró la presencia de espiroquetas en la Gingivitis Úlcero Necrotizante a través de microscopía electrónica. Entre 1960 y 1970, los clínicos reconocieron que el control de la placa era esencial en el tratamiento efectivo de los pacientes periodontales. Una vez más las bacterias representaban un rol en la etiología de las periodontitis, pero como agentes causales no específicos y los tratamientos se basaban en un estricto control de la higiene bucal. (*Socransky 1994*)

Estudios epidemiológicos sembraron dudas sobre la teoría de la placa no específica y desde entonces se trata de identificar las bacterias con métodos más efectivos que en la primera época. Así, Newman (1976 1977) y Slots (1977) lograron establecer diferencias en la composición microbiológica entre sitios activos de pacientes con Periodontitis Juvenil Localizada y sitios sanos, Tanner en 1979 y Slots en 1977 diferencian la microbiota de sitios sanos y periodontitis del adulto. De esta manera se retoma el concepto de placa específica hasta llegar a nuestros días en que se han logrado establecer diferentes complejos microbianos presentes en las diferentes manifestaciones de las enfermedades periodontales (*Socransky 1998*).

Criterios para definir los patógenos periodontales

La identificación de los patógenos responsables de la etiología de las enfermedades periodontales se ve dificultada por las condiciones particulares

de las bolsas periodontales, su topografía hace difícil la obtención de muestras representativas y los sitios no están siempre activos, por lo que el momento de la toma es crucial para entender la patogenia de la enfermedad.

Son más de 400 las especies que pueden cultivarse de las bolsas periodontales de diferentes individuos y entre 30 y 100 especies pueden encontrarse en un solo sitio, muchas de ellas difíciles o imposibles de cultivar e identificar. *(Socransky 2000)*

Por otra parte, es difícil determinar si la presencia de una especie determinada es causa o efecto de la enfermedad, ya que algunas oportunistas crecen una vez que la misma se ha instalado.

Otro punto a considerar es la presencia de patógenos en bajo número en bocas libres de enfermedad y la existencia de diferentes cepas, más o menos virulentas de un mismo patógeno.

Los criterios para definir patógenos en enfermedades periodontales se basaron inicialmente en los postulados de Koch pero fueron corregidos y ampliados por Sigmund Socransky en 1994. Estos criterios incluyen asociación, eliminación, respuesta del huésped, factores de virulencia, estudios en animales y factores de riesgo. La discriminación entre patógenos y no patógenos no se basa en un único criterio sino en la evaluación del "peso de la evidencia". (*Haffajee 1994, Ezzo 2003*)

Bacteriología de las enfermedades periodontales

Se estima que aproximadamente 700 diferentes especies bacterianas pueden colonizar la cavidad bucal humana, sin embargo sólo unas pocas son consideradas importantes en la etiología de las periodontitis. Los estudios clínicos han identificado sólo 10 a 15 especies como potenciales patógenos periodontales. (*Ready 2008, van Winkelhoff 2002*, *Holt 2005*)

Se han reconocido claras diferencias entre las bacterias encontradas en surcos gingivales sanos vs. bolsas periodontales. Las bacterias asociadas a salud gingival son bajas en número (10^2 -10^3 organismos) y son principalmente streptococos y actinomyces gram positivos, con un 15% de bacilos gram negativos. La gingivitis se asocia a un mayor número de bacterias (10^4 –10^6) y una mayor proporción de gram negativos. En la periodontitis crónica, aumenta

el número de bacterias (10^5 –10^8) y hay una fuerte asociación con *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia (ex Bacteroides forsythus)*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ex *Actinobacillus actinomycetemcomitans*) y *Treponema denticola*. (*Williams 1998*) (Tabla 1)

A actinomycetemcomitans, *P gingivalis* y *T forsythia* fueron designados como patógenos periodontales en el *World Workshop in Periodontics* en 1996 (*Annals of Periodontology 1996)*, basándose en la evaluación del "peso de la evidencia" que examinó factores como la asociación de las especies con la enfermedad, el efecto de la eliminación/supresión de las especies en el progreso de la enfermedad, la producción de factores de virulencia que pudieran relacionarse a la patogénesis de la enfermedad, la producción de una respuesta de anticuerpos durante la infección periodontal, el efecto de las especies en modelos de experimentación animal y el riesgo de progreso de la enfermedad en individuos con sitios colonizados por niveles elevados de estas especies.

El *World Workshop* también formuló una lista con los patógenos putativos periodontales para los que el "peso de la evidencia" era menos concluyente, esta incluyó: *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Eubacterium ssp*, *Treponema denticola* y *Campilobacter rectus*, entre otros.

Tabla 1 **Bacterias específicas asociadas a Enfermedades Periodontales** (Annals of Periodontology 1:928, 1996)

Fuerte evidencia etiológica
Actinobacillus actinomycetemcomitans
Porphyromonas gingivalis
Bacteroides forsythus

Moderada evidencia etiológica
Campylobacter rectus
Eubacterium nodatum
Fusobacterium nucleatum
Prevotella intermedia
Peptostreptococcus micros
Streptococcus intermedius-complex
Treponema denticola

Desde que la microbiota subgingival fuera observada por Van Leeuwenhoek en 1683 se conoce que es compleja y formada por gran cantidad de especies bacterianas. Actualmente se sugiere que existe un orden en el que las bacterias colonizan y que algunas actúan juntas. Por ejemplo, *P gingivalis* está generalmente asociada a *T forsythia*, éste precedería la colonización de *P gingivalis*, ya que a *T forsythia* se lo suele encontrar solo. Basados en este tipo de observaciones, y aplicando la técnica de checkerboard DNA-DNA hybridization, Socransky y col. en 1998 publican los Complejos Microbianos, clasificación de las diferentes asociaciones bacterianas halladas en pacientes con y sin periodontitis. (*Socransky 1998*)

El complejo rojo, formado por *P gingivalis*, *T denticola* y *T forsythia*, demuestra la mayor asociación con los parámetros clínicos más significativos en el diagnóstico de las enfermedades periodontales, como la profundidad de las bolsas y el sangrado al sondaje. Son bacterias anaeróbicas Gram negativas capaces de expresar numerosos factores de virulencia que les permiten colonizar los sitios subgingivales, afectar el sistema inmune del hospedero, invadir y destruir los tejidos periodontales como así también promover la respuesta inmunodestructiva del hospedero.

T forsythia, fue descripto por Tanner et al como *Bacteroides forsythus* (*Tanner 1986*), fusiforme, anaeróbico, gran negativo, muchas veces aislado junto a *P gingivalis* y luego reclasificado por Sakamoto como *Tannerella forsythia*. (*Sakamoto 2002*).

El complejo naranja, integrado por *F nucleatum, P intermedia, P nigriscens*, *Peptostreptococcus micros, Campylobacter rectus, C showae, C gracilis, E nodatum y S constellatus*, se asocia también a bolsas profundas y otros parámetros clínicos aunque de manera menos llamativa. Es interesante destacar la relación entre complejos. Los datos sugieren que las bacterias del complejo naranja precederían a la colonización de las bacterias del complejo rojo. *B forsythus*, *P gingivalis* y *T forsythia* raramente son halladas en ausencia de bacterias del complejo naranja. (*Socransky 1998*)

A actynomicetemcomitans es una de las bacterias más relacionadas a patologías periodontales. Se han publicado trabajos que reconocen su asociación a lesiones de periodontitis agresivas y la posterior disminución de sus niveles en sujetos tratados exitosamente. También se han estudiado la

respuesta del huésped, el potencial patogénico de *A actinomycetemcomitans* a través de la inducción de enfermedades en animales y su amplio rango de factores de virulencia. Se lo ha vinculado con formas agresivas de periodontitis y también con formas crónicas, pero no agrupado con otras especies. (*Socransky 1998, Haffajee 2006, Fine 2006*)

Si bien se han identificado las especies bacterianas antes mencionadas que por el peso de la evidencia se relacionan con la patogénesis de las enfermedades periodontales, los perfiles microbianos pueden variar mucho entre individuos con similares características clínicas y demográficas. (*Umeda 1998, Haffajee 2004, Teles 2006, Herrera 2008)*

Métodos para la identificación de especies bacterianas

La composición de la microbiota subgingival de periodontitis crónica en adultos ha sido descripta por cultivo (*Moore 1994, Tanner 1998, van Winkelhoff 2002*), métodos inmunológicos (*Riviere 1996, Clerehugh 1997, Machtei 1999*) y técnicas moleculares (*Socransky 1998, Paster 2001, Kumar 2003, de Lillo 2004*).

Los análisis de cultivos de placa subgingival permitieron identificar *Tannerella forsythia, Campilobacter rectus* y *Selenomonas noxia* asociada a sitios progresivos de periodontitis temprana. Utilizando sondas de DNA, se halló *Porphyromonas gingivalis* en sitios con periodontitis progresiva. Estas especies también se asociaron a periodontitis moderadas y avanzadas.

Las técnicas moleculares de clonación y secuencia por PCR han permitido identificar especies que eran raramente o no detectables por métodos de cultivo. (*Tanner 2006*)

PCR es una técnica rápida, precisa y sensible para la detección de secuencias de DNA bacteriano. La sensibilidad de PCR en la detección de patógenos periodontales es mayor que la de los métodos de cultivo, inmunofluorescencia, tests enzimáticos y sondas de DNA. (*Darby 2005*)

Tratamiento de las enfermedades periodontales

La terapia relacionada con la causa

Llamada también Terapia Básica, Inicial, Causal o Mecánica no quirúrgica, es el tratamiento de la inflamación gingival y periodontal a través de la remoción mecánica de irritantes de las superficies dentarias y radiculares hasta que los tejidos blandos adyacentes mantengan o recuperen un estado saludable sin inflamación. (*Suvan 2005*)

Las medidas utilizadas en la fase causal para tratar la enfermedad periodontal están dirigidas a la eliminación y a la prevención de la recurrencia de los depósitos bacterianos supra y subgingivales de las superficies dentarias. Esto se logra mediante la motivación e instrucción al paciente sobre la naturaleza de la enfermedad, su evolución, pronóstico y tratamiento, la enseñanza de técnicas de higiene bucal adecuadas, el raspaje y alisado radicular y la eliminación de los factores de retención adicionales para la placa, como márgenes de restauraciones o coronas desbordantes. (*Rylader 2000*)

El raspaje y alisado radicular es uno de los procedimientos terapéuticos más utilizados para el tratamiento de las enfermedades periodontales y ha sido usado como el “gold standard” al momento de evaluar otras terapéuticas. (*Cugini 2000*)

Efecto de la terapia básica periodontal en los parámetros clínicos

Se han publicado numerosos trabajos de revisión acerca de la terapia mecánica no quirúrgica para el tratamiento de las enfermedades periodontales. (*Williams 1998, Drisko 2001, Suvan 2005*) La mayoría coincide en que el tratamiento mecánico tiene un efecto positivo o es eficaz en el tratamiento de las enfermedades periodontales, con la excepción de las bolsas de Profundidad al Sondaje ≤3 mm en las que puede ocurrir pérdida de inserción. (*Faveri 2006*)

Luego de la terapia mecánica, generalmente se reduce la profundidad de las bolsas periodontales como resultado de contracción de la encía y ganancia de inserción clínica. La magnitud de la reducción de la profundidad al sondaje

está relacionada a la profundidad inicial. Para bolsas de 1-3 mm se puede esperar una reducción de entre 0.03 a 0.23 mm, aunque muchos trabajos han encontrado aumento de la profundidad de sondaje luego del raspaje y alisado radicular (*Faveri 2006, Haffajee 2006*) En profundidades de 4-6 mm, el raspaje y alisado radicular resulta en una reducción de 0.71 a 1.26 mm. Asimismo en las bolsas de más de 6 mm de profundidad, la magnitud de la reducción puede ser de 1.21 a 2.92 mm. (*Lowenguth 1995, Drisko 2001*) Similares observaciones se han realizado en lo que respecta a la magnitud de la recesión posterior al raspaje y alisado, encontrándose que se relaciona con la inflamación inicial.

Muchos de los beneficios del raspaje y alisado ocurrirían durante los 3 primeros meses, luego, los niveles de Profundidad al Sondaje y Nivel de Inserción Clínica alcanzados se mantendrían en el tiempo, es decir que habría dos momentos en el proceso en el que la mayoría de los beneficios clínicos y, probablemente los microbiológicos, ocurrirían en un período breve de tiempo seguido por un período de estabilidad mejorada por terapia de mantenimiento y cuidados en el hogar. (*Cugini 2000*)

Efecto de la terapia básica periodontal en los parámetros microbiológicos

La instrumentación mecánica subgingival induce profundos cambios en la composición de la microflora subgingival. Disminuye los organismos Gram– negativos y aumenta los cocos y bacilos Gram-positivos, un perfil bacteriológico más compatible con salud periodontal. espiroquetas, formas móviles y Bacteroides reducen su presencia pero no son erradicados totalmente, según algunos autores. (*Lowenguth 1995*)

Uno de los principales objetivos del tratamiento de la periodontitis es cambiar la microflora subgingival de “patogénica” a “no patogénica” y prevenir la repoblación de la placa subgingival por bacterias patógenas. En la mayoría de los pacientes, esto puede lograrse a través de un tratamiento que incluye: remoción de depósitos duros y blandos de las superficies radiculares, modificación de los hábitos de higiene oral, y mantenimiento periódico.

El raspaje y alisado radicular profesional disminuye espiroquetas y bacilos móviles y patógenos periodontales como *A actinomycetemcomitans*, *P*

gingivalis y *P intermedia*, con el consecuente aumento de células cocoides. Estos cambios en la microflora se acompañan de una mejora en los parámetros clínicos como hemorragia, profundidad al sondaje y nivel de inserción clínica. Los beneficios clínicos del raspaje y alisado radicular se deben a la desorganización del biofilm que resulta en la ya mencionada disminución de bacterias patógenas y restablecimiento de flora compatible con salud. Sin embargo estos cambios en el contenido bacteriano parecen ser transitorios, para sostenerlos es necesario repetir las maniobras de raspaje y alisado periódicamente durante la fase de mantenimiento. Desafortunadamente, el intervalo óptimo de tiempo para realizar raspaje y alisado a fin de mantener la microflora subgingival saludable se decide empíricamente y requiere más investigación. Una manera de resolver este problema sería estudiando la cinética de la repoblación de las bolsas por bacterias patógenas luego del tratamiento. (*Shiloa 1996*)

Por otra parte, un apropiado y completo debridamiento de sitios con bolsas profundas es difícil de lograr. (*Colombo 2005, Caffesse 1986, Chan 2000)*

Además, algunos autores destacan que el raspaje y alisado sólo tiene un efecto limitado sobre ciertas especies patógenas y que su completa eliminación no es posible. (*Cugini 2000, Haffajee 1997*) Más aún, sitios tratados exitosamente desde el punto de vista clínico podrían reinfectarse (*Cobb 2008*).

Estas controversias y las características propias de la microflora subgingival de la población en estudio, motivaron la presente investigación; en la convicción de que un mayor conocimiento del efecto del tratamiento periodontal sobre el biofilm de bolsas profundas constituiría un aporte para mejorar la eficacia de la terapéutica.

Asimismo, la identificación de asociaciones bacterianas que implicaran mayor o menor riesgo para alcanzar la estabilidad periodontal podría servir como factor predictivo de la evolución post tratamiento.

Por último, la evaluación del efecto del tratamiento a un plazo mayor al que hasta ahora se conoce en nuestro medio, nos permitiría profundizar en el conocimiento de los probables patrones de repoblación y, por lo tanto, ajustar los intervalos de las citas de mantenimiento.

OBJETIVOS

Objetivo general

Valorar la eficacia del tratamiento mecánico periodontal en la eliminación de bacterias periodontales identificadas por biología molecular y en los parámetros clínicos de bolsas periodontales profundas.

Objetivos específicos

1. Identificar las especies bacterianas *P gingivalis, T forsythia, T denticola, A actinomycetemcomitans y P intermedia* presentes en las bolsas periodontales de pacientes con diagnóstico clínico y radiográfico de periodontitis crónica.
2. Evaluar la eficacia inmediata de la terapia mecánica en la eliminación de las bacterias encontradas al momento del diagnóstico.
3. Evaluar el resultado de la terapéutica implementada en la erradicación de las bacterias periodontopáticas a largo plazo.
4. Evaluar los resultados clínicos a largo plazo.
5. Conocer si existe un patrón de repoblación bacteriana a los 12 meses de seguimiento post tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población y muestra

Pacientes que concurrieron a la Cátedra de Periodoncia “A” de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Córdoba entre los años 2003-2004 y a la Cátedra de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires (2005-2008), a quienes se les diagnosticó clínica y radiográficamente Periodontitis Crónica y, reuniendo los requisitos planteados para ser incluidos en el proyecto, consintieron expresamente en participar del mismo.

En cada paciente se seleccionaron 4 sitios, de caras proximales de piezas unirradiculares, 1 por cuadrante, para ser sometidos al estudio. Resultando así un total de 44 sitios.

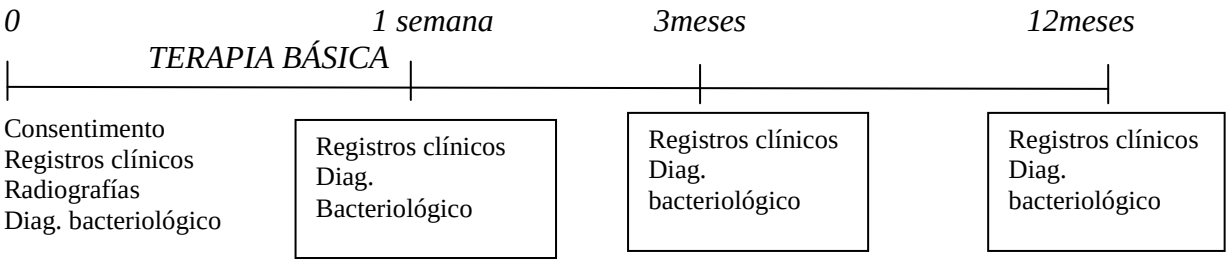
Criterios de Inclusión

- Pacientes de ambos sexos, adultos.
- Sistémicamente sanos.
- Diagnóstico clínico radiográfico de Periodontitis Crónica.
- Con al menos 1 sitio en cada cuadrante, de pieza dentaria unirradicular con Profundidad de Sondaje ≥5mm.

Criterios de Exclusión

- Pacientes fumadores.
- Pacientes que hubieran recibido tratamiento periodontal en los últimos 2 años.
- Pacientes que hubieran recibido medicación antibiótica en los últimos 3 meses.
- Pacientes embarazadas.

Diseño del estudio



Fase Pre Tratamiento

Registros Clínicos

Se realizó Historia Clínica y Ficha Periodontal de todos los pacientes (anexo 1). En la ficha periodontal se consignaron los siguientes registros:

- Registro de Placa Bacteriana (PB): se observó en forma directa la presencia o ausencia de placa bacteriana supragingival utilizando una sonda periodontal. (Hu-Friedy) que se deslizó por la superficie dentaria. (figura 1) *(Carranza 2004)*

Figura 1: Detección de placa bacteriana en la superficie dentaria.

- Registro de Hemorragia (H): Se comprobó la presencia o ausencia de hemorragia espontánea o provocada al sondaje. Se introdujo una sonda periodontal (Hu-Friedy) en el sitio y una vez retirada se esperaron 30 segundos a fin de registrar la presencia de hemorragia si la hubiere. (figura 2)

Figura 2: presencia de hemorragia luego del sondeo.

- Registro de Supuración (S): Presencia o ausencia de exudado purulento utilizando un instrumento romo que se desliza en sentido apico coronario por la superficie externa de la encía, ejerciendo una presión suave. (figura 3)

Figura 3: Detección de supuración.

- Profundidad de Sondaje (PS): es la distancia, expresada en milímetros desde el margen gingival hasta donde penetra la sonda. (*Armitage 1996*) Para su medición se utilizó una sonda periodontal University of North Carolina (UNC), graduada cada 1 mm (Hu-Friedy). (figura 4)

Figura 4: medición de la profundidad al sondaje y de nivel de inserción clínica.

- Nivel de Inserción Clínica (NIC): es la distancia, expresada en milímetros, desde el límite amelocementario hasta donde hace tope la sonda. Se utilizó para su evaluación una sonda periodontal UNC (Hu-Friedy).

Estudio radiográfico

Se tomaron radiografías periapicales seriadas con técnica de cono largo a fin de evaluar la altura y el perfil de las crestas óseas alveolares.

Selección de los sitios

Se eligieron los sitios para ser incluidos en el estudio, los mismos correspondieron a cualquier cara proximal de una pieza unirradicular, con bolsa periodontal ≥5mm, una por cuadrante en cada paciente.

Estudio microbiológico

Toma de las muestras

En cada uno de los sitios seleccionados para el estudio, se tomaron muestras de placa bacteriana subgingival según la técnica propuesta por Slots (*Slots 1995*) y modificada por nosotros.

En primer término se eliminó la placa supragingival con gasa estéril y luego se introdujeron 5 conos de papel estériles en forma consecutiva, realizando movimientos de cateterismo y permaneciendo por 60 segundos cada uno en la profundidad de la bolsa periodontal. Los conos se colocaron en tubos Eppendorf y llevados inmediatamente a frio para su conservación hasta el procesamiento de las muestras.

Figura 5: Toma de la muestra de placa subgingival con conos de papel estéril.

Procesamiento de las muestras

Se realizó en la Cátedra de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba.

1-Extracción del DNA: Se agregó 200µl de agua estéril a los tubos Eppendorf, que contenían los conos impregnados con material de la bolsa periodontal. Se incubó a 37º C durante 10 minutos y se centrifugó a 14.000 g durante 5 minutos. En el sobrenadante obtenido se verificó la presencia de DNA, en gel de agarosa al 0,8% teñido con bromuro de etidio, visualizado con luz ultravioleta.

2-Amplificación: Una vez confirmada la presencia de DNA en las muestras clínicas, en primer lugar se amplificó una secuencia específica y altamente conservada del gen 16S rRNA de 960 pb para identificar bacterias Gram negativas. El gen de 16S rRNA está presente en todas las bacterias y es altamente conservado en las especies. La detección de esta secuencia por PCR es un método particularmente valioso para detectar microorganismos que no pueden ser cultivados o no son fácilmente distinguibles en cultivo.

Se realizó PCR utilizando oligonucleótidos específicos para amplificar cada especie de periodontopatógenos de nuestro interés. En la tabla 2 se muestran las secuencias específicas de cada par de oligonucleótidos para cada especie y se indica el tamaño del fragmento producido por PCR.

PATOGENO BACTERIANO	**SECUENCIA ESPECIFICA DE PRIMERS PARA PCR (5'---3')**	**TAMAÑO DEL PRODUCTO AMPLIFICADO en pb**
Fragmento Universal	GATTAGCGAATGTGCTCATTTACAT CCCGGGAACGTATTCACCG	960 pb
A. actinomycetemcomitans	AAACCCATCTCTGAGTTCTTCTTC ATGCCAACTTGACGTTAAAT	557 pb
T. forsythia	GCGTATGTAACCTGCCCGCA TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT	641 pb
P. gingivalis	AGGCAGCTTGCCATACTGCG ACTGTTAGCAACTACCGATGT	404 pb
P. intermedia	TTTGTTGGGGAGTAAAGCGGG TCAACATCTCTGTATCCTGCGT	575 pb
T. denticola	TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA	316 pb

Tabla 2: Tamaños de los productos amplificados en pares de bases (pb) para cada especie bacteriana

La reacción de amplificación se obtuvo con 10μl de DNA en 40μl de mezcla de reacción que contenía 5μl de buffer de PCR 10x, 25 mM (milimolar) de MgCl2 (Promega), 1,25 U de Taq polimerasa (Promega), 0,2 mM de cada dNTPs (Pharmacia). La reacción de amplificación se realizó en un termociclador Perkin Elmers Cetus.

El perfil térmico de amplificación para *T. forsythia**,** P.gingivalis y T.denticola* incluyó una desnaturalización inicial de 95 ºC durante 2 min, seguidos por 36 ciclos de desnaturalización a 95 ºC por 30 s, etapa de complementaridad de primers a 60ºC por 1 min y una extensión a 72 ºC por 1 min con una extensión final de 72 ºC por 2 min. El programa de temperaturas para *A. actinomycetemcomitans*, y *P. intermedia* incluyó una etapa inicial a 95 ºC por 2 min, seguido de 36 ciclos de 94 ºC por 30s, 55 ºC de 1 min y 72 ºC por 2 min y una etapa final de 72 ºC por 10 min.

Cada muestra se realizó por duplicado y en cada reacción se agregó un tubo sin DNA como control negativo de la reacción y un tubo conteniendo DNA de organismos aislados de cultivo donados por el laboratorio de bacteriología del Hospital Reina Fabiola (Universidad Católica de Córdoba).

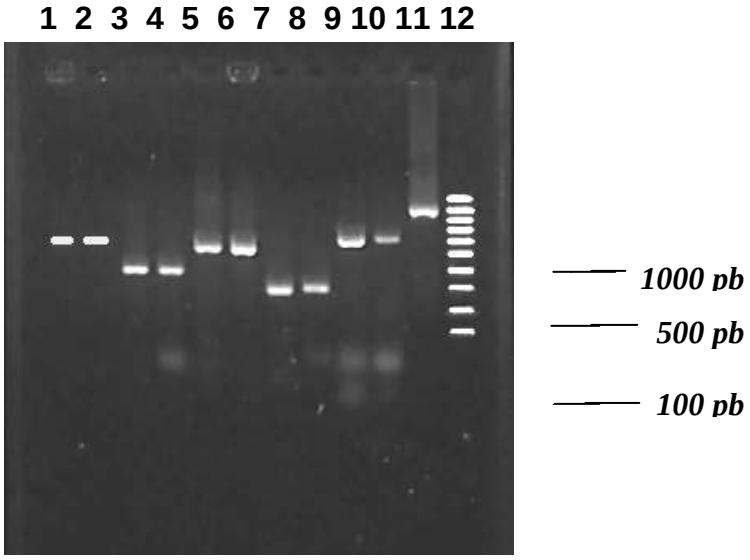


Figura 6: Gel de agarosa al 1,6% teñido con bromuro de etidio donde se observa los productos de amplificación obtenidos por PCR especificas de P. intermedia (Pi), A. actinomycetemcomitans (Aa), T. denticola (Td), P. gingivalis (Pg) y T. forsythensis (Tf), en la línea 12 se ubica el marcador de peso molecular 100bp (PROMEGA).Línea 1 y 2 Pi; 3 y 4 Pg; 5 y 6 Aa; 7 y 8 Td; 9 y 10 Tf; línea 11: testigo positivo de bacterias Gram (-) (Shigella flexneri).

3-Visualización: Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 1,6 %. Se tiñeron con bromuro de etidio y se fotografiaron bajo luz ultravioleta. Un marcador de tamaño molecular indica el tamaño del producto de amplificación en el gel (Perkin Elmers 100bp).

Fase de tratamiento

Una vez firmados los consentimientos informados, realizados los registros clínicos y radiográficos, y tomadas las muestras para el análisis bacteriológico, se inició el tratamiento propuesto: terapia relacionada con la causa.

El mismo consistió en información al paciente sobre la naturaleza de la enfermedad, su pronóstico y plan de tratamiento, y la instrucción en técnicas de higiene oral. Se indicaron los elementos que se consideraron más adecuados para cada caso en particular tanto para la higiene de caras libres como proximales. El objetivo principal de esta fase del tratamiento fue lograr el compromiso del paciente con el mismo y la adquisición de destreza para el control personal del biofilm supragingival.

Seguidamente se procedió a las maniobras de raspaje y alisado radicular. Bajo anestesia local, se utilizaron curetas Gracey nº 7/8 (Hu-Friedy) y cavitador sónico neumático (KMD). La evaluación inmediata de la eficacia del raspaje y alisado radicular se realizó por medios visuales y táctiles utilizando sonda periodontal tipo Marquis (Hu-Friedy).

Fase post tratamiento

Después de 1 semana de realizado el tratamiento, se registraron nuevamente los indicadores clínicos: Placa Bacteriana, Hemorragia, Supuración, Profundidad al Sondaje y Nivel de Inserción Clínica. Se tomaron nuevas muestras para análisis bacteriológico y se reforzó la motivación en el control de placa supragingival.

La toma de registros clínicos y bacteriológicos conjuntamente con el refuerzo de las técnicas de higiene oral se repitieron a los 3 y 12 meses de realizada la terapia causal.

Evaluación del resultado al tratamiento implementado

Según la American Academy of Periodontology (1993), los signos más aceptados como señal de salud periodontal incluyen la ausencia de signos inflamatorios como rubor, hinchazón, presencia de exudado y sangrado al mínimo sondaje y mantenimiento de una adherencia epitelial funcional por un período de tiempo.

Sin embargo, la evaluación de los resultados del tratamiento periodontal depende en gran medida del criterio de evaluación elegido.

Para este trabajo se utilizó una adaptación del sistema creado por Lundgren et al. (*Lundgren 2001*). El mismo comprende 3 diferentes niveles que describen un standard de salud deseable para un periodonto remanente tratado por periodontitis crónica. Los criterios aplicados, descriptos en la tabla 3, representan los criterios clínicos tradicionales para el mantenimiento de "perfectas" condiciones clínicas del periodonto remanente luego del tratamiento de periodontitis.

Tabla 3: Criterios de inclusión para los distintos niveles de "éxito"

Nivel 1

a. Profundidad de sondaje ≤ 4 mm
b. Ausencia de sangrado al sondaje
c. Sin aumento en la pérdida de inserción clínica

Nivel 2

b. Ausencia de sangrado al sondaje
c. Sin aumento en la pérdida de inserción clínica

Nivel 3

c. Sin aumento en la pérdida de inserción clínica

Análisis estadístico

Se trabajó con un nivel de significación de α=0,05.

A fin de validar los cambios en los parámetros clínicos PS y NIC se utilizó la prueba ANOVA para medidas repetidas.

El test de Friedman se utilizó para evaluar los cambios en PB, H y S como respuesta al tratamiento. El mismo se aplicó también para establecer la significación en los cambios en la composición bacteriana de los sitios estudiados.

Para los datos numéricos se utilizó el test t de Student para datos apareados. Para evaluar la significación de los cambios en los distintos momentos del estudio (diseño antes y después) se utilizaron las pruebas Mc Nemar y Q de Cochran.

El software utilizado fue el SPSS Statistics versión 17.

RESULTADOS

Inicialmente formaron parte del estudio 20 pacientes, de ellos, 11 lo concluyeron, 6 mujeres y 5 hombres. Su edad promedio fue 48,81 ±5,75 años. (38-55 años).

Se analizaron 44 sitios y a lo largo del estudio se perdió una pieza dentaria por razones protéticas.

RESULTADOS CLÍNICOS

Placa Bacteriana

Los registros clínicos iniciales demostraron la presencia de Placa Bacteriana (PB) en el 100% de los sitios estudiados.

Luego de realizado el tratamiento periodontal propuesto, se repitió la medición de este registro hallándose, en la 1ª semana post terapia, que los sitios con placa supragingival positiva habían descendido significativamente al 34,09% (p<0,0001), éste fue el registro más bajo encontrado para este parámetro clínico, ya que en el control a los 3 meses los sitios positivos aumentaron a 52,27% y a los 12 meses a 67,4%. A pesar de este aumento, la diferencia con el registro inicial es estadísticamente significativa. (p<0,0001) (Gráfico 1)

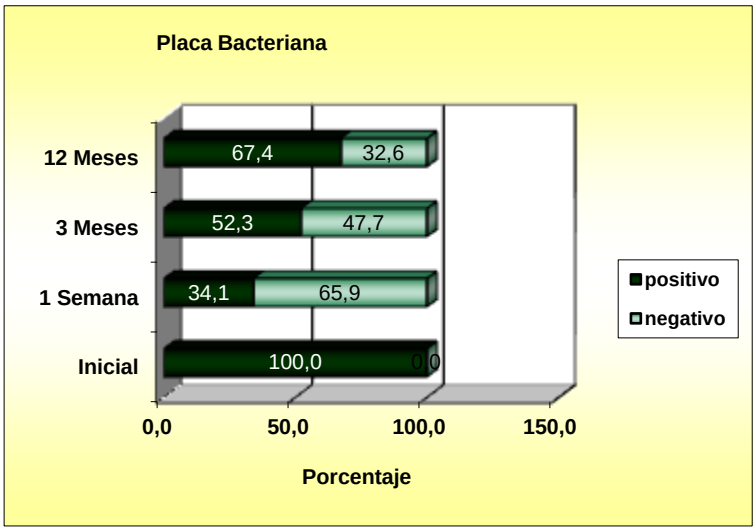


Gráfico 1: Frecuencia de Placa Bacteriana sobre 44 sitios antes y después del tratamiento.

Hemorragia al sondaje

Al inicio del estudio, la totalidad de los sitios analizados presentaban hemorragia al sondaje (H) positiva. En el control a una semana de realizado el tratamiento, el número de sitios positivos se había reducido a 47,7% ($p<0,0001$).

A los tres meses, los sitios que sangraban representaban el 43,2% y a los 12 meses el 37,2%. Las diferencias entre los controles post tratamiento y el inicio del estudio fueron estadísticamente significativas ($p<0,0001$) y se observan en el gráfico 2.

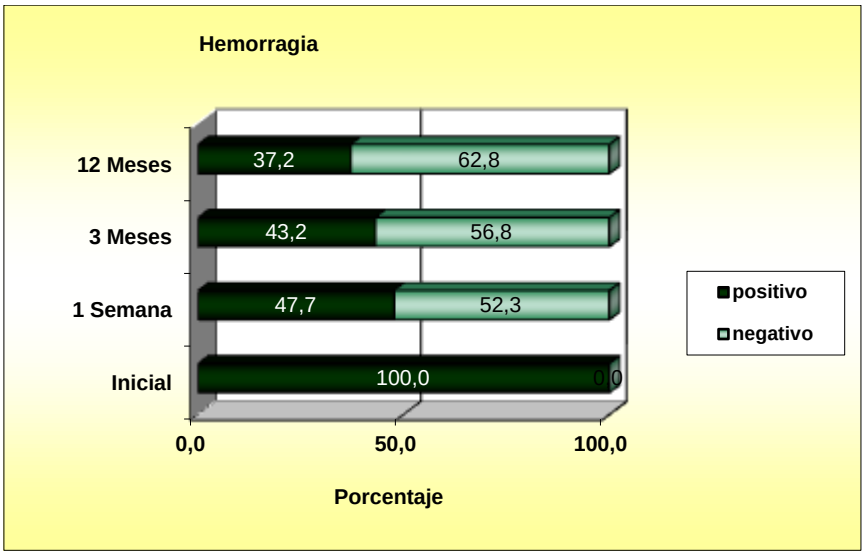


Gráfico 2: Frecuencia de Hemorragia detectada en los sitios analizados a lo largo del estudio.

Supuración

Los sitios con Supuración (S) positiva en el análisis inicial representaban el 11,36% del total. Luego del tratamiento, sólo un sitio se mantuvo con supuración, a la semana y a los 3 meses. ($p=0,018$)

En el control final, 7% de los sitios presentaron supuración positiva.

Cabe destacar que en todas las evaluaciones realizadas, los sitios que manifestaron supuración, eran positivos para el registro de placa bacteriana y de hemorragia.

Los registros de supuración en los distintos momentos del estudio se representan en el gráfico 3.

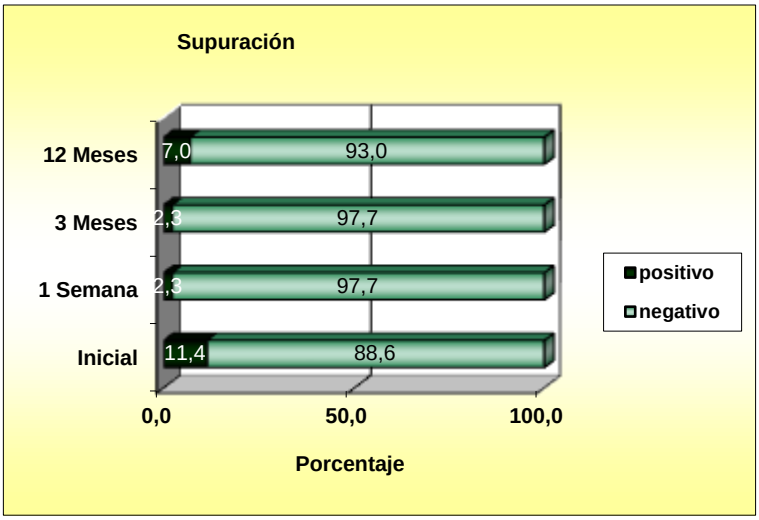


Gráfico 3: Porcentaje de sitos con supuración a lo largo del estudio.

Profundidad al Sondaje

Los registros iniciales evidenciaron una Profundidad al Sondaje entre 5 y 9 mm, con una media de 5,91 ±1,16mm.

A una semana de implementado el tratamiento, la PS se redujo en el 93% de los sitios entre 1 y 3 mm, siendo 4,39 ± 1,26 mm la media encontrada. (p<0,0001)

A los 3 meses, la media de PS fue de 3,68 ± 1,16 mm hallándose en este momento los menores registros para este indicador clínico, con 79,54% de los sitios con PS≤4mm. (p<0,0001)

Luego de 12 meses, el registro medio de PS se elevó levemente con respecto al registro anterior (3,91±1,49mm), pero se mantuvo significativamente menor que antes de implementar el tratamiento. (p<0,0001)

Entre el registro inicial y la 1ª semana, se halló la mayor reducción de la PS que correspondió a un 25%. Entre 1S y 3 meses la reducción fue de 16%, mientras que entre los 3 meses y el año postoperatorio, hubo un aumento en la PS media de 6,25%.

En el gráfico 4 se muestran los cambios producidos en el registro de Profundidad al Sondaje a lo largo del estudio. Se observa que al inicio del mismo, hasta el 50% de la población tiene 5 mm de PS, mientras que hasta un 75% tienen bolsas de 7 mm. En el registro a 1 semana, la mediana se redujo a 4 mm, en tanto que el 75% de los sitios miden hasta 5 mm de PS.

A los 3 meses, los sitios de hasta 4 mm corresponden al 75% del total y encontramos un 25% con PS=3. A los 12 meses se mantiene igual distribución, sin embargo, mayor número de sitios escapan a los valores promedio con PS entre 6 y 8 mm.

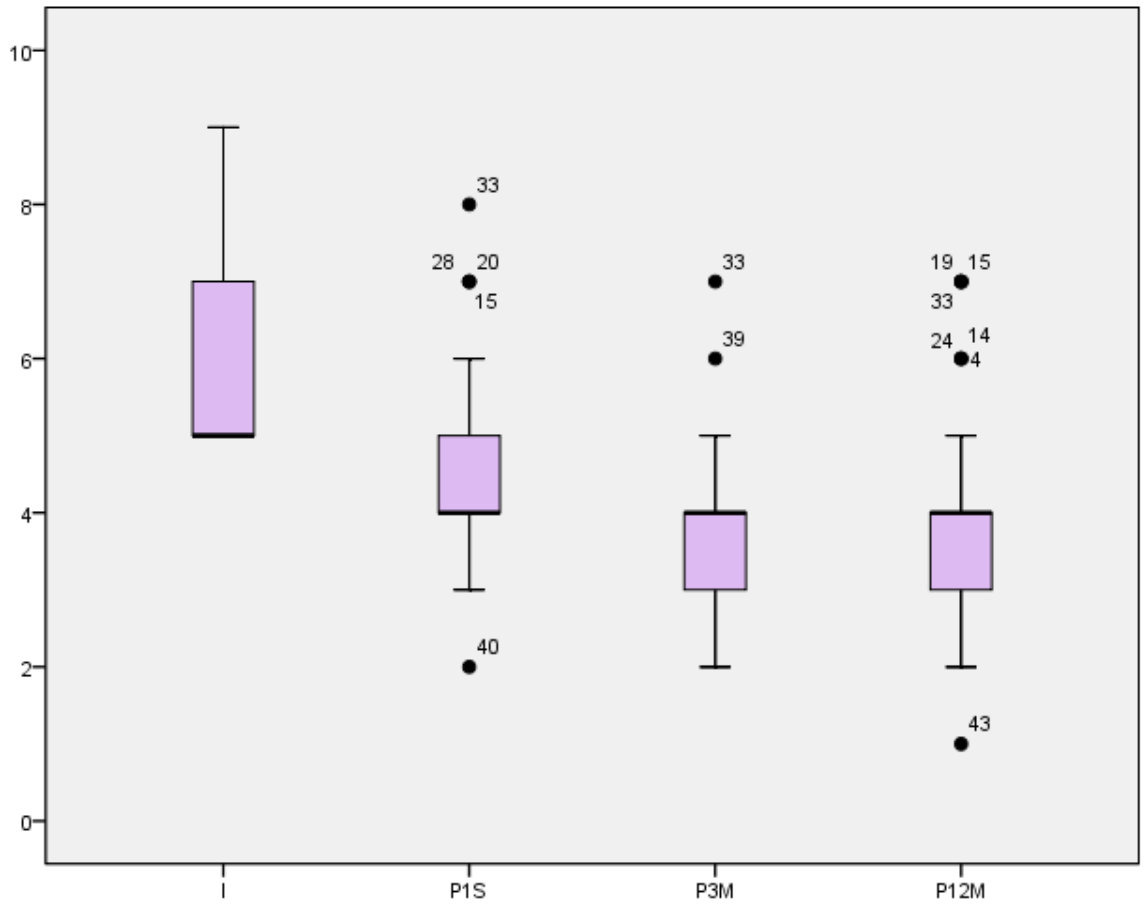


Gráfico 4: PS según mediana y cuartiles (Q) 1 y 3 en los 4 momentos del estudio. I: inicial, P1S: postoperatorio1 semana, P3M: postoperatorio 3 meses, P12M: postoperatorio12 meses.

Nivel de Inserción Clínica

Al inicio del estudio, el nivel de inserción registrado fue de 3 a 11 mm con una media de 6,64 ± 2,02mm.

Luego del tratamiento, el NIC mejoró en 48% de los sitios, hallándose una media de 5,89±1,65 mm, un 11% menor al inicio. (registro a 1 semana postratamiento). (p<0,0001)

A los 3 meses, la reducción de la media de NIC fue de 8,48% con respecto al control anterior (5,39±2,05mm) (p<0,0001), tendencia que se

mantuvo a los 12 meses con una disminución del 4,26% (NIC medio 5,16±2,32mm) (p<0,0001)

A los 3 meses postratamiento, 31 sitios mejoraron su NIC entre 1 y 4 mm, 7 sitios mantuvieron los mismos valores y sólo 6 perdieron inserción al comparar con el momento inicial.

A los 12 meses los sitios que habían mejorado o mantenido su NIC con respecto al inicio representan el 70% y 19% respectivamente, mientras que sólo 5 sitios perdieron inserción.

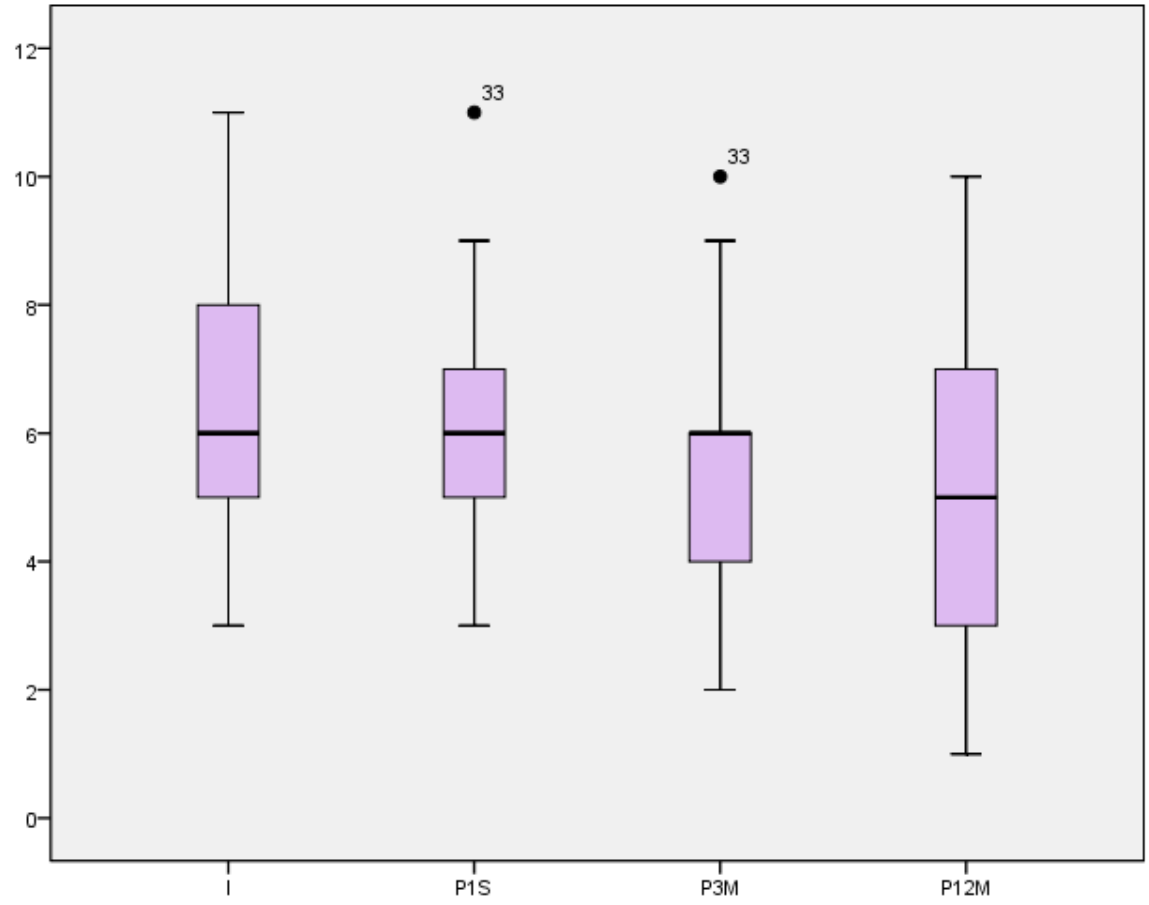


Gráfico 5: NIC según mediana y cuartiles a lo largo del estudio. I: inicial, P1S: postoperatorio1 semana, P3M: postoperatorio 3 meses, P12M: postoperatorio12 meses.

En el gráfico 5, se observan los cambios producidos en el Nivel de Inserción Clínica. Si bien la mediana, que comprende hasta el 50% de los sitios, se mantiene en 6 mm hasta los 3 meses postoperatorios, la distribución de los valores en los cuartiles varía significativamente. A los 3 meses de realizado el tratamiento, hasta el 75% de los sitios tienen su NIC en 6 mm,

mientras que un 25% tiene hasta 4 mm. A los 12 meses post tratamiento, registran hasta 7 mm el 75% de los sitios, con un 25% de registros de 3 mm.

Las diferencias encontradas para los parámetros PS y NIC entre el inicio y 1 semana post tratamiento son estadísticamente significativas, como así también las diferencias con los resultados a 3 meses. Los valores hallados a los 12 meses son estadísticamente significativos con respecto al inicio, no así en relación al control anterior.

RESULTADOS BACTERIOLÓGICOS

Al inicio del estudio, el 86,4% de los sitos se encontraron infectados con una o más de las especies bacterianas identificadas por PCR, mientras que el 5% de los sitios estudiados contenía otras especies Gram (-).

P gingivalis es la especie prevalente, presente en el 66% de los sitios, seguida por *T forsythia* con un 54,54% y *T denticola* con 40,9%.

En este momento del estudio, las especies menos frecuentes, *A actynomicetemcomitans* y *P intermedia* fueron encontradas en 9 y 6,8% de los sitios, respectivamente y sólo asociadas a alguna/s de las otras especies. (Tabla 4)

Se analizaron las asociaciones entre diferentes especies y se observó que en el 41% de los sitios se identificaron 2 especies bacterianas, siendo la asociación *P gingivalis – T forsythia* la más frecuente. Se encontraron combinaciones de hasta 4 de las especies estudiadas. (Gráfico 9)

Las mayores profundidades de sondaje medias se hallaron vinculadas a la presencia de T *forsythia-T denticola* y *T forsythia-T denticola-P intermedia*. (tabla 9)

Control inmediato (1 semana postratamiento)

Luego del tratamiento, el número de sitios positivos para las bacterias analizadas disminuyó, como así también, la cantidad de especies encontradas en cada sitio. *P gingivalis* continuó siendo la especie más prevalente (45,5%), si bien fue eliminada en 12 de los 29 sitios en los que se hallaba al momento de iniciar el estudio. (p=0,002)

Las especies que disminuyeron su prevalencia en mayor magnitud fueron *T denticola* (de 41 a 11%) (p=0,002) y *A actynomicetemcomitans* (de 9 a 2%). Éste último, fue eliminado de todos los sitios en los que se hallaba presente al inicio, el único registro positivo a 1 semana fue para un sitio en el que no se hallaba anteriormente. Similar es el comportamiento de *P intermedia*, que fue eliminado de los sitios en los que se encontraba pero apareció en otros dos sitios, de pacientes diferentes.

La disminución de sitios positivos fue estadísticamente significativa para *P gingivalis* (p=0,002), *T forsythia* (p=0,022) y *T denticola* (p=0,002)

Los sitios libres de las bacterias estudiadas aumentaron del 14 % al 41% (p=0,008).

El número de sitios con grupos de especies se redujo, aumentando aquellos en los que se hallaron especies individuales. Dentro de las asociaciones, *P gingivalis*+*T forsythia* siguió siendo la más prevalente.

La profundidad de sondaje media disminuyó de 5,91 mm a 4,39 mm, encontrándose los mayores registros en los sitios positivos para las asociaciones: *P gingivalis*+*T forsythia*+*T denticola* (5mm), *P gingivalis*+*T forsythia* (4,8mm) y *P gingivalis* (4,7mm).

Control a 3 meses

El análisis del contenido bacteriano de los sitios estudiados luego de tres meses de aplicada la terapia periodontal, mostró una disminución estadísticamente significativa en la prevalencia de *P gingivalis* que reveló un 34% de sitios positivos en este control (p=0,006), *T forsythia*, que se encontró en un 13,7% (p<0,001) y *T denticola* con 9% (p=0,006). Asimismo, disminuyó el número de sitios en los que estas especies se encontraban asociadas, predominando aquellos en que se hallaban individualmente.

El número de sitios infectados por la asociación *P gingivalis* + *T forsythia* disminuyó significativamente (p=0.039).

Se observó en este control, un aumento de la prevalencia de *A actynomicetemcomitans*, solo y asociado a *P gingivalis*. Todos los sitios positivos para *A actynomicetemcomitans* en este control correspondieron a 2 pacientes.

En cuanto a la presencia de *P intermedia*, se la encontró en 2 sitios de un mismo paciente, asociado a *P gingivalis*.

Los sitios libres de las bacterias estudiadas representaron el 47,7% del total. (p<0,0001)

Se registró una disminución significativa de 3,68 mm en la profundidad al sondaje media comparada con los controles anteriores. Los sitios más

profundos hallados se encontraron asociados a la presencia de *T denticola* y *T denticola+P gingivalis*.

Control a 12 meses

Pasados 12 meses de realizado el tratamiento, el número de sitios libre de los 5 patógenos estudiados permaneció estable respecto al control de los 3 meses (22 sitios= 51,16%). En 15 de estos sitios, ya se hallaban ausentes *P gingivalis, T forsythia, T denticola, A actynomicetemcomitans* y *P intermedia* en el control anterior.

De las bacterias presentes, *P gingivalis* siguió siendo la más prevalente (30,23%), pero con menor número de sitios positivos que en los controles anteriores, diferencia estadísticamente significativa ($p<0.0001$).

También *P intermedia* se observó en menor número de sitios, sólo 1, perteneciente a un paciente que no había evidenciado con anterioridad la presencia de este germen.

A actynomicetemcomitans desapareció de los 5 sitios en que se hallaba en el control anterior, y se hizo presente en otros 4, pertenecientes a 2 pacientes que no la tenían con anterioridad.

Por otra parte, *T denticola* y *T forsythia* aumentaron su prevalencia con respecto al control anterior (a 23,25% y 21% respectivamente).

En este control, las especies nuevamente aparecieron con frecuencia asociadas en grupos de 2, 3 e incluso 4. La mayor PS media encontrada se registró en los sitios que tienen *P gingivalis* + *T forsythia* y *T forsythia* + *T denticola*. La prevalencia de la asociación *P gingivalis*+*T forsythia* fue significativamente menor que al inicio ($p<0,005$)

La prevalencia de *P gingivalis, T denticola, T forsythia, P intermedia* y *A actynomicetemcomitans*, como así también de los sitios libres de estas especies, al inicio, 1 semana, 3 y 12 meses post terapia periodontal, se resumen en la tabla 4.

	I (n=44)	**P1S (n=44)**	**P3M (n=44)**	**P12M (n=43)**
Pg	65,9% (29)	45,45% (20)*	34,09% (15)†	30,23% (13)**
Tf	54,54% (24)	25% (11)††	13,63% (6)**	20,93% (9)ξ
Td	40,90% (18)	11,36% (5)*	9,09% (4)†	23,25% (10)
Aa	9,09% (4)	2,27% (1)	11,36% (5)	9,3% (4)
Pi	6,81% (3)	4,54% (2)	4,54% (2)	2,27% (1)
Otras G(-)	5% (2)	25% (11)	32% (14)	35% (15)
No G (-)	9% (4)	16% (7)	21% (9)	16% (7)

*Tabla 4: porcentaje de sitios positivos para cada una de las especies bacterianas estudiadas en cada uno de los momentos del estudio. *p=0,002 †p=0,006 **p<0,001 †† p=0,022 ξ p=0,001*

La prevalencia según número de especies por sitio se observa en el gráfico 6.

La relación entre las asociaciones bacterianas encontradas y la PS media en cada uno de los controles se presenta en la tabla 5 y en los gráficos 6 a 9.

	I		1S		3M		12M	
	Sitios positivos	PS media	Sitios positivos	PS media	Sitios positivos	PS media	Sitios positivos	PS media
Pg Tf	9	6,6	5	4,8	2†	4	2††	7
Tf Td	4	6,8					1	7
PgTd	4	6,5	1	3	1	6	2	2
PgTfTd	3	5	3	5	2	3	3	5
PgTdAa	1	6					1	3
PgTdTfAa	2	6						
PgTdTfPi	2	5					1	4
TfTdPi	1	7						
PgAa	1	5			2	3,5		
PgPi			1	4	2	2		
Pg	7	5,42	10	4,7	6	3,5	4	4
Tf	3	5,33	3	4	2	4	2	4
Td	1	5	1	4	1	7	2	4
Aa			1	4	3	4,66	3	3
Pi			1	4				
ninguna	6	5,83	18**	4,27	23*	3,52	22*	3,68

*Tabla 5: número de sitios positivos para cada una de las asociaciones bacterianas encontradas en cada momento del estudio y PS media en mm de los mismos sitios. Ninguna= registro negativo para Aa, Pg, Pi, Td y Tf. † p=0,039 ††p=0,016 *p<0,0001 **p<0,008*

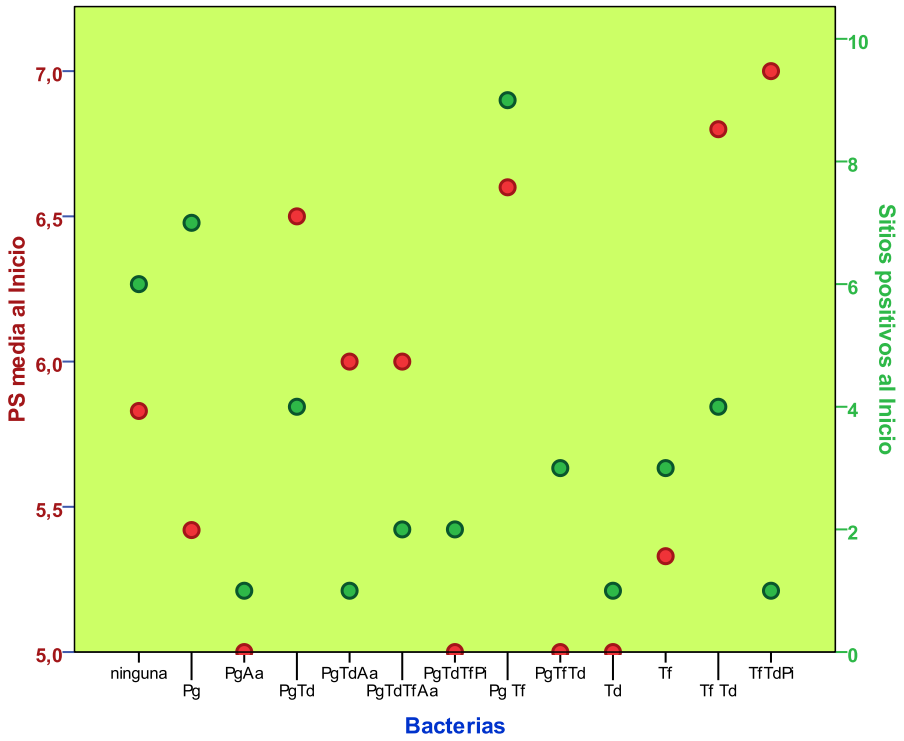


Gráfico 6: Número de sitios positivos (en color verde) y PS media (color rojo) para cada una de las asociaciones bacterianas encontradas en el inicio del estudio.

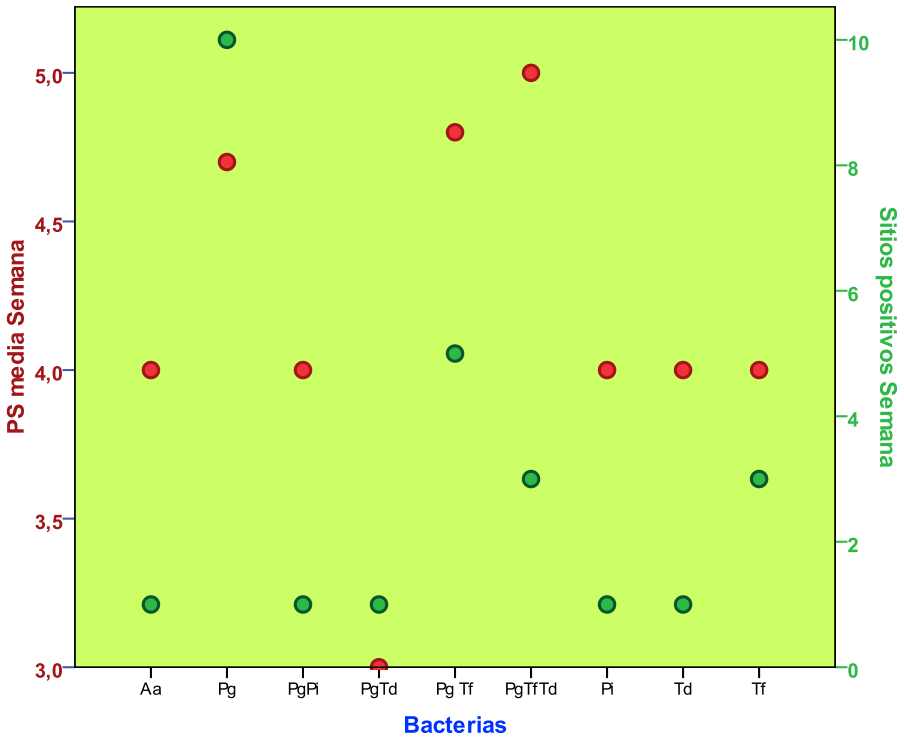


Gráfico 7: Número de sitios positivos (en color verde) y PS media (en color rojo) para cada una de las asociaciones bacterianas encontradas en el control postoperatorio inmediato (1 semana)

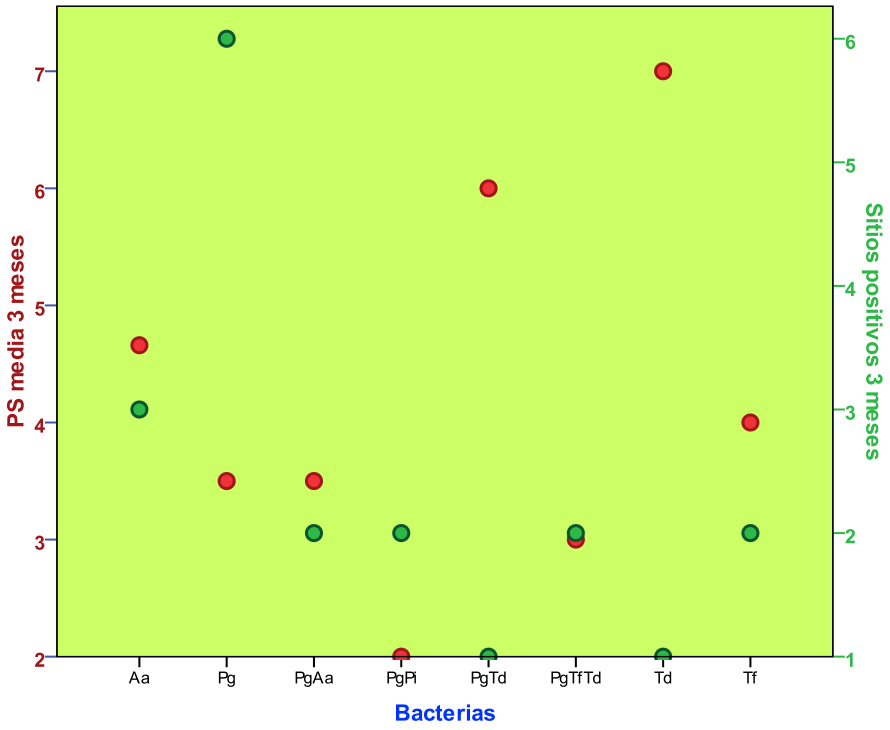


Gráfico 8: Número de sitios positivos (en color verde) y PS media (en color rojo) para cada una de las asociaciones bacterianas encontradas en el control postoperatorio a los 3 meses.

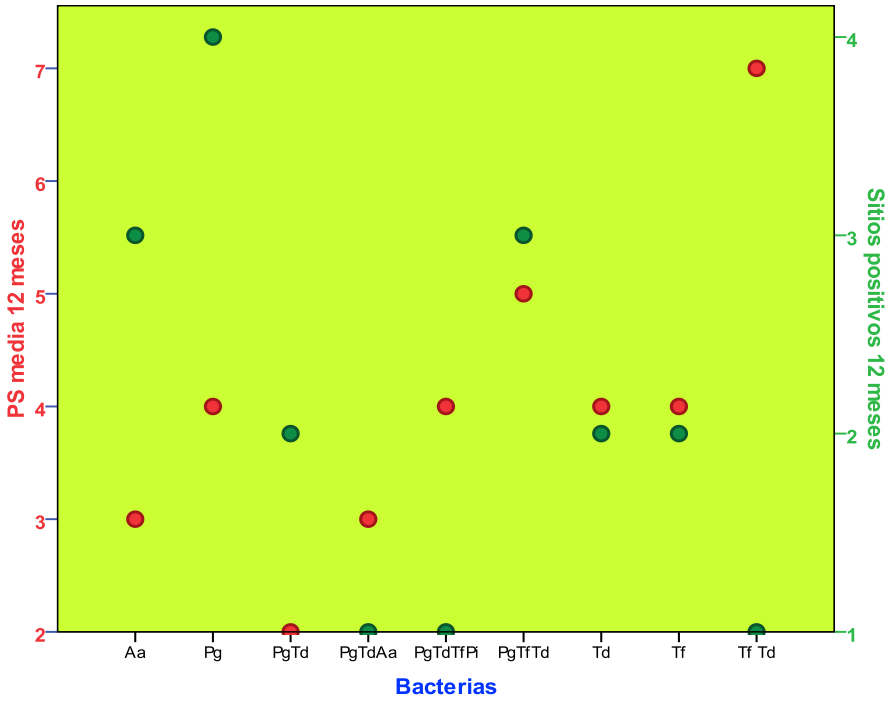


Gráfico 9: Número de sitios positivos (en color verde) y PS media (en color rojo) para cada una de las asociaciones bacterianas encontradas a los 12 meses de realizado el tratamiento.

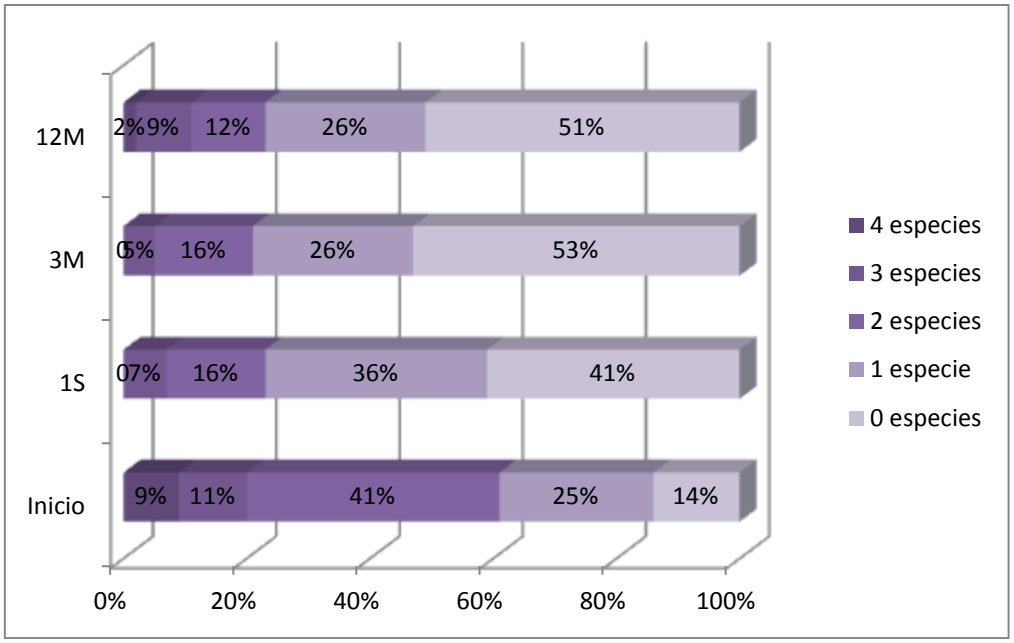


Gráfico 10: Porcentaje de sitios con 1, 2, 3, 4 y ninguna de las especies estudiadas en cada momento del análisis.

ANÁLISIS DEL RESULTADO AL TRATAMIENTO IMPLEMENTADO

Los resultados encontrados permiten inferir que el tratamiento mecánico resulta efectivo en la mejora de signos clínicos, a saber:

Luego del tratamiento, se redujo significativamente la presencia de placa bacteriana supragingival y de hemorragia al sondaje, resultados que se mantuvieron luego de 12 meses.

También se logró reducir significativamente la profundidad al sondaje y la pérdida de inserción.

Además, el tratamiento evidenció ser eficaz en la eliminación de patógenos putativos periodontales *P gingivalis*, *T denticola* y *T forsythia*, cuya prevalencia disminuyó significativamente, al menos hasta los 12 meses, aun sin mantenimiento periodontal.

Cabe analizar si estos valores alcanzados, se corresponden con los parámetros de éxito terapéutico propuestos.

Se analizaron los resultados a 3 y 12 meses según 3 niveles de aspectos clínicos esperables en un periodonto tratado según la escala propuesta por Lundgren (*Lundgren 2001*) y descripta en Materiales y Métodos.

Los criterios clínicos utilizados son: a) PS≤4mm, b) ausencia de hemorragia y c) sin aumento de pérdida de inserción clínica.

El nivel 1 implica que se cumplan los tres criterios antes mencionados. A los tres meses de realizado el tratamiento, un 43% de los sitios se encontraron en este nivel.

Si se considera exitoso un sitio sin hemorragia y sin mayor pérdida de inserción (nivel 2), el porcentaje de sitios aumenta a 50%, y si se considera sólo la conservación del nivel de inserción clínica (nivel 3) el éxito corresponde a 86% de los sitios evaluados en este momento.

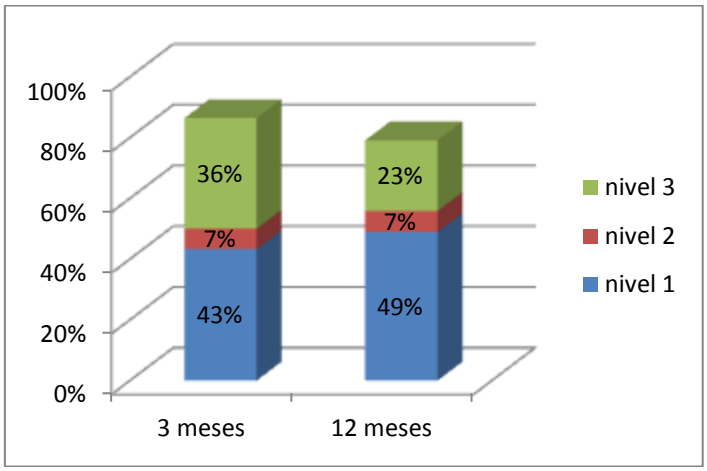


Gráfico 11: Frecuencia acumulada de sitios clínicamente "sanos" en los 3 y 12 meses post tratamiento, de acuerdo a los niveles 1 a 3.

Cuando se correlacionan los hallazgos clínicos con el análisis bacteriológico, se observa que el porcentaje de sitios con presencia de alguno/s de los patógenos periodontales analizados, es menor en los sitios que alcanzan el nivel 1 de "éxito" terapéutico.

En el control a 3 meses, 12 sitios (63%) no evidenciaban la presencia de ninguna de las 5 especies estudiadas, mientras que a los 12 meses, respondieron a esta característica 14 sitios (67%). La descripción de las características bacteriológicas de los sitios se presenta en los gráficos siguientes, donde se pueden observar las asociaciones presentes en cada uno de los niveles de éxito a 3 y 12 meses de implementado el tratamiento.

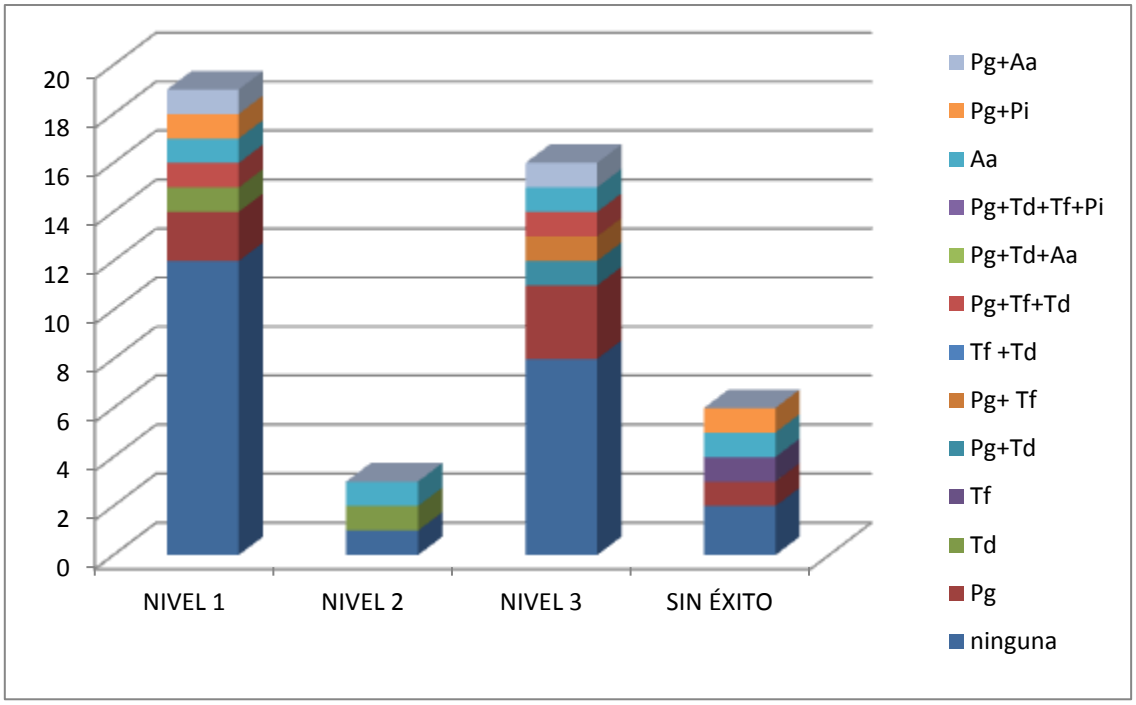


Gráfico 12: composición bacteriana de los sitios según el nivel de éxito terapéutico alcanzado a los 3 meses de realizado el tratamiento.

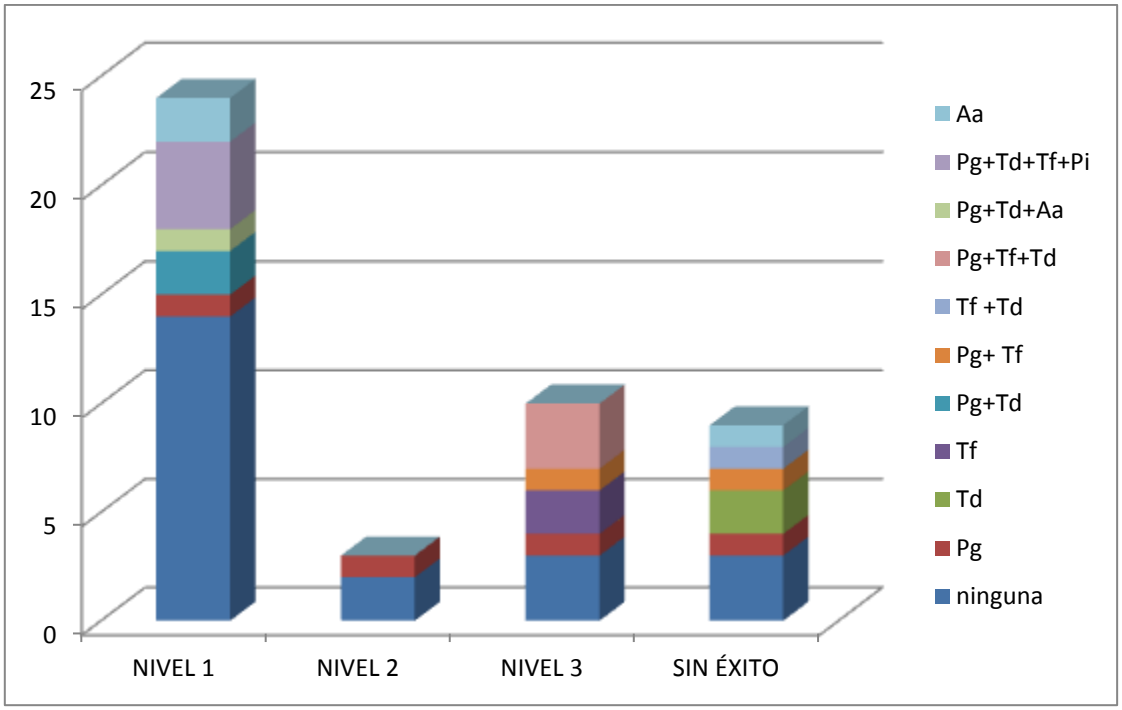


Gráfico 13: composición bacteriana de los sitios según el nivel de éxito terapéutico alcanzado a los 12 meses de realizado el tratamiento.

DISCUSIÓN

Con anterioridad, presentamos los resultados de un estudio transversal en el que identificamos la presencia de periodontopatógenos en bolsas de diferente profundidad en individuos con periodontitis crónica. Según nuestras observaciones, las especies bacterianas prevalentes fueron *P gingivalis* y *T denticola.* El mayor número de sitios positivos para estas especies se encontró en bolsas medianas (PS= 4 a 6 mm) y profundas (PS≥7mm). En cuanto a las otras especies bacterianas estudiadas, *A actinomycetemcomitans* y *P intermedia*, no fueron halladas en ninguno de los sitios playos incluidos en el análisis (bolsas 2 a 4 mm) y se encontraron en los sitios más profundos en menor porcentaje que las otras especies estudiadas. (*Parodi, 2001*)

El presente estudio se propuso, a la vez de ampliar el conocimiento acerca de las características microbiológicas de la población estudiada, evaluar el efecto de la terapia mecánica periodontal no quirúrgica sobre la composición microbiana y los parámetros clínicos de sitios con bolsas ≥5mm de profundidad.

Según nuestras observaciones, la prevalencia de especies bacterianas del complejo rojo encontrada antes del tratamiento es para *P gingivalis* del 66%, *T forsythia* del 55% y para *T denticola* 41%, mientras que *A actinomycetemcomitans y P intermedia* están presentes en menos del 10% de los sitios. (9% y 7% respectivamente). Estudios previos (*Shiloah 1996, Darby 2005, Derdilopoulou 2007, Ready 2008*) demostraron que *T forsythia* puede ser detectada entre 61 y 81%, *P gingivalis* entre 41 y 80% y *T denticola* entre 35 y 72% de los sitios con periodontitis crónica. La presencia de *A actinomycetemcomitans*, presenta una variación entre 2,5 y 47% (*Shiloah 1996, Darby 2005, Derdilopoulou 2007, Zhou 2007, Ready 2008*) y se le atribuye un importante rol en la destrucción de los tejidos periodontales, especialmente si está asociada a otras especies (*Chen 2005*), sin embargo, en los pacientes reclutados en este estudio, la presencia de *A actinomycetemcomitans* no se relaciona con sitios progresivos luego del tratamiento. Una posible explicación estaría dada por las observaciones del grupo sueco de Johansson y cols. (*Johansson 2000*), quienes demostraron que

algunas bacterias periodontales tienen la capacidad de inhibir la actividad de las leucotoxinas de *A actinomycetemcomitans*. Una de las especies que exhibe una fuerte inhibición de la leucotoxicidad de *A actinomycetemcomitans* es *P gingivalis*, la más frecuentemente encontrada en las muestras del presente estudio.

La especie bacteriana que mayor diferencia presenta con los resultados de otros estudios es *P intermedia* que fue hallada en el 7% de los sitios por nosotros mientras que en los estudios antes mencionados se la encuentra entre 43 y 90%. Los estudios de complejos microbianos (*Socransky 1998*) sugieren además que *P intermedia*, como otras bacterias del complejo naranja, precederían a las del complejo rojo. Sería necesario profundizar el análisis incluyendo la búsqueda de otras especies no contempladas en el presente trabajo.

En cuanto a las asociaciones bacterianas, hallamos, antes del tratamiento, que el mayor porcentaje de sitios se encontraba poblado por grupos de 2 especies y que estos sitios mostraban las mayores profundidades de sondaje. En este momento del estudio también se encontraron grupos de tres y cuatro especies bacterianas. Ready y cols. (*Ready 2008*), describieron mayor severidad en lesiones pobladas por sólo una especie (*P gingivalis, T forsythia* o *A actinomycetemcomitans*) si se comparaba con las que contenían asociaciones de dos o tres de ellas, a diferencia de las conclusiones de Chen (*Chen 2005*) que encuentra mayor gravedad en las lesiones habitadas por las tres especies involucradas en su estudio (*P gingivalis, A actinomycetemcomitans* y *T denticola*) que en las que se hallaban una o dos de ellas.

Los datos clínicos relevados indicarían que la terapia básica periodontal resulta efectiva en términos de reducción de la profundidad de sondaje, mantenimiento y/o ganancia en el nivel de inserción clínica, como así también disminución del porcentaje de sitios con placa y hemorragia al sondaje a 3 meses de realizado. Estos resultados concuerdan con otros estudios que describen los efectos clínicos del raspaje y alisado radicular en similar período

de tiempo. (*Haffajee 1997, Darby 2005, Suvan 2005, Colombo 2005, Haffajee 2007, Yang 2008*).

Los registros medios de profundidad de sondaje y el número de sitios sin hemorragia alcanzados a los tres meses se mantuvieron hasta los 12 meses que duró el estudio, sin embargo, se observó un leve aumento (no significativo) en la presencia de placa supragingival que reflejaría una disminución en el compromiso de los pacientes, tal vez debido al tiempo transcurrido sin refuerzo en la motivación.

El control de las enfermedades periodontales se basa en el debridamiento subgingival y este estudio demostró que en bolsas profundas de dientes unirradiculares, la reducción en la presencia de bacterias patógenas periodontales *P gingivalis, T denticola* y *T forsythia* es posible aplicando terapia mecánica no quirúrgica.

La reducción en la prevalencia de las bacterias del complejo rojo se evidenció en el primer contol (a una semana) de implementado el tratamiento, si bien no en la magnitud que registran otros autores (*Segelnick 2006*) que observan la composición microbiana de sitios tratados 7 días después del raspaje y alisado radicular por técnicas de campo oscuro y cultivo similar a la de sitios periodontalmente sanos. Otros (*Rhemrev 2006*) reportaron reducción significativa de *P gingivalis, P intermedia, M micros* y *F nucleatum* a 2 semanas, mientras que *A actinomycetemcomitans* y *C rectus* se mantuvieron sin cambios y la reducción de *T forsythia* fue significativa sólo a una semana de implementada la terapia básica. *P gingivalis* y *T forsythia* fueron reducidas a 1 mes con raspaje y alisado pero no *A actinomycetemcomitans* (*Takamatsu 1999*) *Darby 2005* demostró disminución significativa de los porcentajes de sitios positivos para P *intermedia, T forsythia* y *T denticola* en 28 pacientes con periodontitis crónica, mientras que la prevalencia de *P gingivalis* y *A actinomycetemcomitans* fue solo afectada marginalmente. Utilizó PCR, 6 a 8 semanas post raspaje y alisado.

En el presente estudio, la disminución del número de sitios infectados fue más evidente a los 3 meses, coincidiendo con otras publicaciones (*Haffajee*

2006, Derdilopoulou 2007). Derdilopoulou et al. compararon el efecto de cuatro modalidades de raspaje y alisado sobre la microbiología de bolsas periodontales y hallaron que a 3 meses de aplicado el tratamiento, *T denticola, P gingivalis, P intermedia, T forsythia* y *A actinomycetemcomitans* disminuyeron su prevalencia significativamente, sin embargo, 6 meses después de finalizada la terapia activa, los porcentajes de sitios positivos para las 5 especies bacterianas aumentaron nuevamente alcanzando valores similares a los pretratamiento.

Haffajee et al. (*Haffajee 1997*) demostraron la disminución en la prevalencia y niveles de *T forsythia, P gingivalis y T denticola* a 3 y 6 meses post terapia en 57 pacientes con periodontitis crónica. Luego de 12 meses la mayoría de las mejorías clínicas y microbiológicas ocurridas en los 3 primeros meses se mantuvieron largo plazo. Esto se atribuye al raspaje de mantenimiento que se efectuó en cada cita de control. (*Cugini 2000*) Por su parte, *Shiloah 1996* estudió la repoblación bacteriana de bolsas periodontales en ausencia de terapia de soporte, monitorearon *A actinomycetemcomitans, P gingivalis y P intermedia* usando sondas de DNA en bolsas ≥5mm en 6 pacientes a 12 meses. Demostraron que el 50% o menos de los sitios originalmente infectados fueron recolonizados por niveles detectables de estas especies luego de 1 año sin mantenimiento. Sugieren que habría diferencias en el efecto del tratamiento en pacientes que lo han recibido con anterioridad y los que no, siendo mejor en estos últimos. Esta característica es común a nuestros pacientes en quienes se obtuvieron similares resultados.

Si bien el número de sitios libres de *P gingivalis* y *T forsythia* se mantuvo estable hasta los 12 meses. Resulta llamativa la repoblación de sitios por *T denticola*, especie que aumentó su prevalencia, aunque sin alcanzar los valores iniciales. La repoblación depende de la severidad de la lesión, la efectividad del debridamiento y principalmente de la presencia de reservorios para estos microorganismos en sitios inaccesibles para el raspaje y alisado como amígdalas, lengua y mucosas, además algunos microorganismos pueden invadir los tejidos blandos, las irregularidades de la superficie radicular y los túbulos dentinarios. (*Colombo 2005*) Particularmente *T denticola* ha

demostrado recurrencia significativa entre 3 y 6 meses luego del tratamiento aún cuando éste incluía, además del raspaje y alisado, antibióticos y buches con clorhexidina. Esta recurrencia se atribuye a su presencia en localizaciones extracreviculares (*Johnson 2008*).

Se han publicado numerosos trabajos que evalúan la efectividad de la terapia básica periodontal, se basan para ello en la variación de la media de los parámetros clínicos, resultando así tratamientos más o menos exitosos. Sin embargo, pocos o ninguno demuestran si esas variaciones representan parámetros de éxito clínico en cuanto a recuperación de un estado periodontal compatible con salud. La aplicación de los diferentes niveles de éxito terapéutico y la correlación con la composición bacteriana en cada uno de los niveles en el presente trabajo nos ofrece una idea más aproximada del efecto que la terapia mecánica no quirúrgica produciría en los sitios estudiados.

Los resultados de la presente investigación demostrarían que la terapia mecánica periodontal aplicada a bolsas profundas de dientes unirradiculares, es capaz de producir dos efectos: un cambio en la composición bacteriana de las bolsas y una modificación en el hábitat debida principalmente a la disminución de los signos inflamatorios. El hábitat, por su parte, condiciona la repoblación, si una especie depende de la presencia de bolsas profundas o productos resultantes de la inflamación, entonces esas especies existirán en reducido número o serán eliminadas de un sitio periodontalmente tratado exitosamente.

Un control clínico y microbiológico a los 3 meses de realizado el tratamiento periodontal sería de utilidad para el planeamiento de las acciones futuras.

A fin de mejorar los resultados y extenderlos a piezas multirradiculares, serán necesarias futuras investigaciones.

CONCLUSIONES

- Se detectaron, por PCR, 5 patógenos putativos periodontales: *Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Prevotella intermedia*, en 44 sitios de 11 pacientes con periodontitis crónica.
- La especie bacteriana prevalente fue *P gingivalis*, seguida de las otras pertenecientes al complejo rojo (*T forsythia y T denticola*), con menor número de sitios positivos para *P intermedia* y *A actinomycetemcomitans.*
- Las asociaciones bacterianas más frecuentemente encontradas fueron las combinaciones de dos especies del complejo rojo. (*P gingivalis* + *T forsythia, T forsythia* + *T denticola* y *P gingivalis* + *T denticola*)
- Se encontraron mayores PS medias asociadas a sitios con más de una especie bacteriana.
- La terapia relacionada con la causa que consistió en Instrucción en Técnicas de Higiene Oral, raspaje y alisado radicular y pulido, mejoró significativamente los parámetros clínicos: Placa bacteriana, Hemorragia, Supuración, Profundidad de sondaje y Nivel de Inserción Clínica.
- Los valores clínicos alcanzados a los tres meses con el tratamiento se mantuvieron a 12 meses de aplicado.
- La terapia relacionada con la causa resultó efectiva en la eliminación de las bacterias estudiadas. El porcentaje de sitios en los que no se hallaron *P gingivalis*, *T forsythia, T denticola, A actinomycetemcomitans* y *P intermedia* aumentó significativamente luego de implementado el tratamiento.
- La prevalencia de *P gingivalis*, *T forsythia* y *T denticola* disminuyó significativamente.
- La asociación bacteriana más frecuentemente encontrada, *P gingivalis +T forsythia,* disminuyó significativamente luego de tres meses de realizado el tratamiento.
- Las especies *A actinomycetemcomitans* y *P intermedia* fueron las menos prevalentes del estudio. Se hallaron antes del tratamiento siempre asociadas a otras especies (una o más pertenecientes al complejo rojo).

Luego del tratamiento aumentaron su prevalencia, solas o asociadas, aún en sitios y pacientes en los que no se habían detectado con anterioridad. Fueron halladas en sitios con baja PS media.

- Se observaron signos de éxito clínico (valores de PS ≤ 4mm y ausencia de hemorragia al sondaje) en el 50% de los sitios estudiados, mantenido a 12 meses sin intervención profesional. (La aplicación de medidas de soporte periodontal podría elevar ese porcentaje)
- No se observó nueva pérdida de inserción periodontal en 86% de los sitios analizados a los tres meses y en el 79% a los 12 meses.
- Los sitios en los que las bacterias no fueron eliminadas en el control inmediato, demostraron, a 12 meses, mayores valores de PS media y persistencia de periodontopatógenos.
- Diferentes profundidades de sondaje iniciales tomadas en este estudio, no parecerían indicar un riesgo en cuanto a prevalencia de patógenos periodontales.

RESUMEN

P gingivalis, B forsythus, T denticola, A actinomycetemcomitans y *P intermedia* han sido reconocidos como patógenos periodontales presentes en diferentes proporciones en sitios periodontalmente afectados. El objetivo principal de la terapia periodontal causal es cambiar la composición microbiana de las bolsas enfermas por una flora compatible con salud y mantenerla en el tiempo.

Once pacientes con diagnóstico clínico y radiográfico de periodontitis crónica recibieron terapia básica periodontal. Se tomaron muestras de placa subgingival de 44 sitios y se analizaron por PCR para la identificación de cinco patógenos putativos periodontales antes, a 1 semana, 3 meses y 12 meses de efectuado el tratamiento.

Al inicio, *P gingivalis* fue la especie bacteriana prevalente, seguida de *B forsythus* y *T denticola*. El raspaje y alisado radicular resultó en una significativa mejora de los parámetros clínicos como así también en la reducción de los sitios positivos para las bacterias del complejo rojo. Los resultados obtenidos se mantuvieron hasta los 12 meses que duró el estudio.

ABSTRACT

P gingivalis, B forsythus, T denticola, A actinomycetmecomitans and P intermedia have been recognized as periodontal pathogens present in different proportions in periodontal affected sites. Cause related periodontal therapy main objective is to shift the subgingival microbiota that cause and/or sustain periodontal diseases to one that is host-compatible.

Eleven untreated chronic periodontitis patients were recruited for the study. They received scaling and root planing and oral hygiene instructions. Forty-four subgingival plaque samples were analized by PCR to determine the presence of five periodontal pathogens at baseline, one week, 3 and 12 months after therapy.

Results revealed that P gingivalis was the prevalent specie at baseline, followed by B forsythus and T denticola. Nonsurgical periodontal theraphy resulted in a significant improvement of all clinical periodontal parameters as well as in the reduction of the prevalence of Red Complex species.

The results obtained were manteined up to 12 months.

ANEXO 1

HISTORIA CLÍNICA PERIODONTAL

Od. Georgina Bazzano

APELLIDO Y NOMBRE:
EDAD:
DOMICILIO:
TE:
e-MAIL:
REFERIDO POR:

MOTIVO DE LA CONSULTA:

ANTECEDENTES DE LA ENFERMEDAD ACTUAL:

TRATAMIENTO EFECTUADO:

¿RECIBIÓ TRATAMIENTO PERIODONTAL? SI-NO ¿CUÁNDO?
ESTADO ACTUAL:

ANTECEDENTES SISTÉMICOS:

ALERGIA: SI – NO ¿A QUÉ?

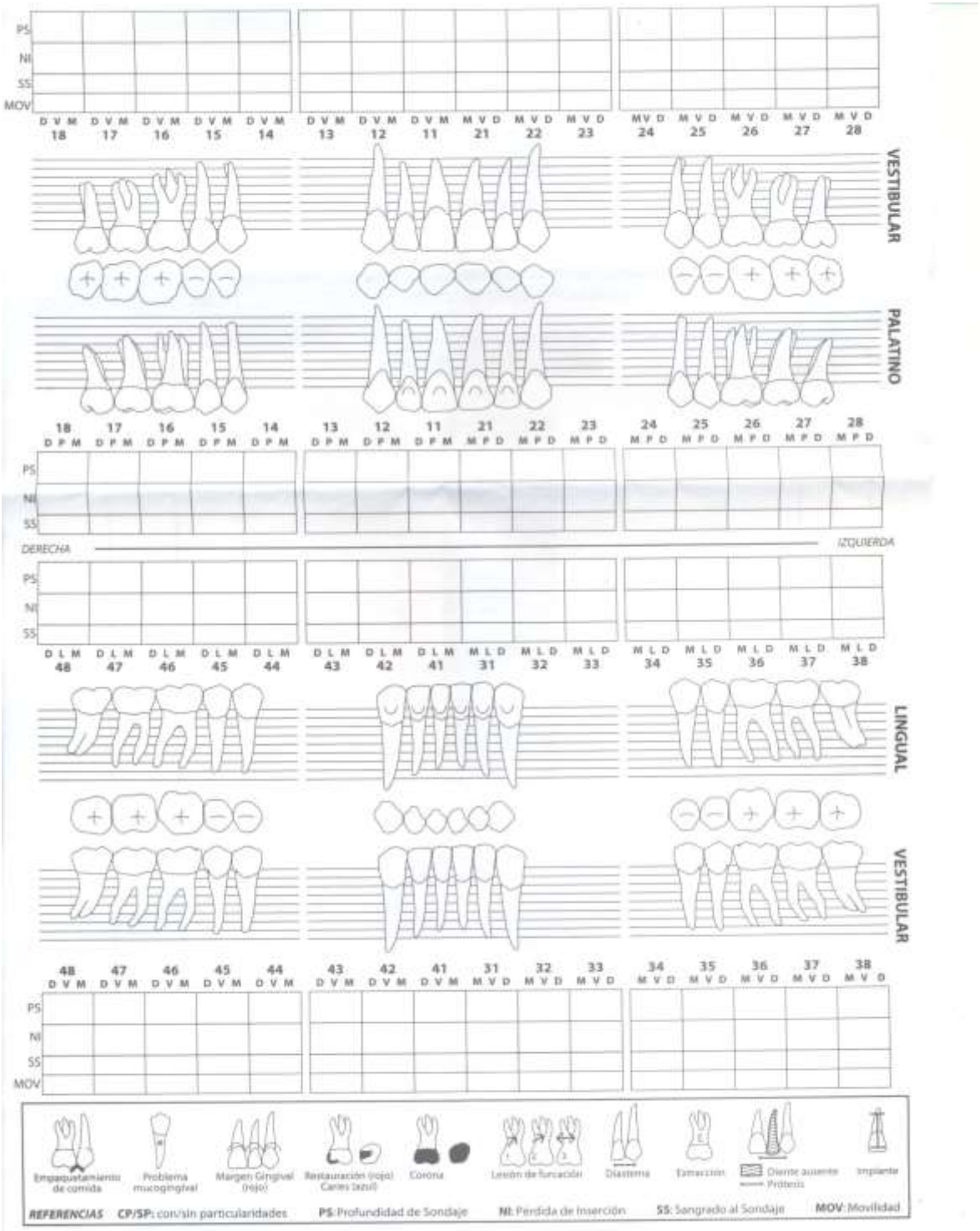
DIABETES: SI – NO
ARTRITIS: SI – NO
ENFERMEDAD RENAL: SI – NO
FUMA: SI – NO ¿CUÁNTO?
EMBARAZO: SI – NO
HIPERTENSIÓN: SI – NO
ANTICONCEPTIVOS: SI – NO

ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR: SI – NO
MEDICADO: SI-NO ¿CON QUÉ?

OBSERVACIONES:

FECHA:

INICIAL POST INMEDIATO 3 MESES 12 MESES



Plan de tratamiento

Elementos de higiene bucal indicados:

FECHA			TRATAMIENTO REALIZADO	DEBE	HABER	SALDO
DÍA	MES	AÑO				

REFERENCIAS

Annals of Periodontology (1996) Consensus report: section of epidemiology. Ann Periodontol 1: 216-218.

Annals of Periodontology (1999) International workshop for a classification of periodontal diseases and conditions. Vol 4 number 1 page 38 Consensus report: Chronic periodontitis. Jan Lindhe group leader.

Armitage G (1996) Manual Periodontal probing in supportive periodontal treatment Periodontology 2000; 12 :33-39.

Caffesse R, Sweeney PL, Smith BA. (1986) Scaling and root planning with and without periodontal flap surgery. J Clin Periodontol; 13:205-210.

Carranza F: Diagnóstico Clínico en Periodontología Clínica de Newman M, Takei H y Carranza F. Ed. Mc Graw Hill Panamericana. 9ª edición. México, 2004.

Chan YK, Needleman IG, Clifford LR (2000) Comparison of four methods of assessing root surface debridement. J Periodontol; 71:385-393.

Chen LL, Wu YM, Yan J, Sun WL, Sun YZ, Ojcius D (2005) Association between coinfection of Porphyromonas gingivalis, Actinobacillus actynomicetemcomitans and Treponema denticola and periodontal tissue destruction in chronic periodontitis. Chin Med J (Engl) 5; 118 (11):915-21.

Cobb CM (2008) Microbes, inflammation, scaling and root planing, and the periodontal condition. J Dent Hyg; 82 Suppl 3: 4-9.

Colombo A, Teles R, Torres M, Rosalém W, Mendes M, Souto R and Uzeda M (2005) Effects of Non Surgical Mechanical Theraphy on the Subgingival Microbiota of Brazilians With Untreated Chronic Periodontits: 9-Month Results. J Periodontol; 76:778-784.

Cugini M A, Haffajee AD, Smith C, Kent Jr RL, Sokransky SS (2000) The effect of scaling and root planing on the clinical and microbiological parameters in periodontal diseases: 12-month results. J Clin Periodontol; 27: 30-36.

Darby IB, Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. (2005) Clinical and microbiological effect of scaling and root planning in smoker and non-smoker chronic and aggressive periodontits patients. J Clin Periodontol; 32: 200-206.

Derdilopoulou FV, Nonhoff J, Neumann K, Kielbassa AM (2007) Microbiological findings after periodontal therapy using curettes, Er: YAG laser, sonic, and ultrasonic scalers. J Clin Periodontol; 34: 588-598.

Doungudomdacha S, Rawlinson A, Walsh TF, Douglas CWI (2001) Effect of non surgical periodontal treatment on clinical parameters and the number of

Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia and Actinobacillus actinomycetemcomitans at adult periodontal sites. J Clin Periodontol 28:437-45.

Drisko CH (2001) Non Surgical Periodontal Therapy. Periodontology 2000; 25: 77-88.

Ezzo P, Cutler C: (2003) Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. Periodontology 2000, Vol.32:24-35.

Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, de Figueiredo LC. (2006) Scaling and root planing and clorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. J Clin Periodontol; 33: 819-828.

Feres M, Cortelli S, Figueiredo L, Haffajee A, Socransky S (2004) Microbiological basis for periodontal therapy. J Appl Oral Sci; 12 (4): 256-266.

Fine D, Kaplan J, Kachlany S, Schreiner H (2006) How we got attached to Actinobacillus actinomycetemcomitans: a model for infectious diseases. Periodontology 2000, Vol 42: 114-57.

Haffajee A, Teles R, Socransky S. (2006) The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. Periodontology 2000, 42:219-48.

Haffajee A, Torresyap G, Socransky SS (2007) Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1 year results. J Clin Periodontol; 34:243-253.

Haffajee A, Cugini M, Dibart S, Smith C, Kent R Jr., Socransky S. (1997) The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. J Clin Periodontol; 24 (5):324-34.

Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS (2004) Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J Clin Periodontol; 31:996-1002.

Haffajee AD, Socransky SS (1994) Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontology 2000; 5: 78-111.

Haffajee AD, Socransky SS (2006) Introduction to microbial aspects of periodontal biofilm communities, development and treatment. Periodontology 2000, Vol 42:7-12.

Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, Sanz M, Botero JE, León R (2008) Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. J Clin Periodontol; 35(2):106-13.

Holt S, Ebersole J (2005) Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. Periodontology 2000, Vol. 38:72-122.

Johansson A, Hanstrom L, Kalfas S. (2000) Inhibition of Actinobacillus actinomycetemcomitans leukotoxicity by bacteria from subgingival flora. Oral Microbiol Inmunol. 15:218-25.

Johnson JD, Chen R, Lenton PA, Zhang G, Hinrichs JE, Rudney JD (2008) Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis. J Periodontol; 79 (12):2305-12.

Keyes PH, Jordan HV 1964 Periodontal esions in the Syriam hamster. III. Findings related to an infectious and transmissible component. Archives of Oral Biology 9: 377-400.

Listgarten MA 1965 Electron microscopic observations of the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. J Periodontol 36: 328-339.

Löe H, Theilade E, Jensen SB (1965) Experimental gingivitis in man. J Periodontol 36: 177-187.

Lowenguth Roxanne, Greenstein Gary (1995) Clinical and microbiological response to nonsurgical mechanical periodontal therapy. Periodontology 2000, Vol 9, 14-22.

Lundgren D, Asklöw B, Thorstensson H, Härefeldt AM (2001) Success rates in periodontal treatment as related to choice of evaluation criteria. Presentation of an evaluation criteria staircase for cost-benefit use. J Clin Periodontol; 28: 23-30.

Mendoza C, Arteaga O, Gamonal J (2006) Investigación epidemiológica en Enfermedad Periodontal en América Latina. Rev Chil Period Oseoint. Vol 3 (3):7-13.

Newman M, Socransky S (1977) Predominant cultivable microbiota in periodontosis. J Periodontal Res 12 (2): 120-8.

Newman M, Socransky S, Savitt E, Propas D, Crawford A (1976) Studies of the Microbilogy of Periodontosis J Periodontol Jul 47 (7):373-9.

Nunn M (2003) Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors. Periodontology 2000, Vol. 32: 11-23.

Parodi R, Moreno Barral J, Sembaj A, Bazzano G, Usin M, Tabares S (2001) PCR for the detection and tipification of periodontal pathogens. J Dent Res: 80 (4):960.

Ready D, D'Aiuto F, Spratt DA, Suvan MS, Tonetti MS, Wilson M (2008) Disease severity associated with presence in subgingival plaque of Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Tannerella forsythia, singly or in combination, as detected by nested multiplex PCR. J Clin Microbiol, Vol.46, nº 10: 3380-3383.

Rhemrev GE, Timmerman MF, Veldkamp I, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. 2006 Immediate effect of instrumentation on the subgingival microflora in deep inflamed pockets under strict plaque control. J Clin Periodontol; 33: 42–48.

Rylader H, Lindhe J: Terapia periodontal causal en Periodontología clínica e Implantología Odontológica. Ed Médica Panamericana. 3ª ed. Madrid, 2000.

Sakamoto M, Suzuki M, Umeda M, Ishikawa I and Benno Y (2002) Reclassification of Bacteroides forsythus (Tanner et al. 1986) as Tannerella forsythensis corrig., gen.nov., comb. nov. Int Syst Evol Microbiol; 52: 841-849.

Segelnick S, Weinberg M: Reevaluation of Initial Therapy (2006) When is the Appropriate Time? J Periodontol; 77:1598-1601.

Shiloah J, Patters M. (1996) Repopulation of Periodontal Pockets by Microbial pathogens in the Absence of Suppportive Therapy. J Periodontol; 67:130-9.

Slots J (1977a) Microflora in the healthy gingival sulcus in man. Scand J Dent Res 85 (2):114-21.

Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G and Chen C (1995): Detection of Putative Periodontal Pathogens in Subgingival Specimens by 16S Ribosomal DNA Amplification with the Polymerase Chain Reaction. Clinical Infectious Diseases : 20 (suppl 2):S304-7.

Socransky SS, Haffajee AD: (1994) Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000*, Vol.5:7-25.

Socransky SS, Haffajee AD, Cuggini MA, Smith C, Kent Jr. RL: (1998) Microbial Complexes in subgingival plaque*. J Clin Periodontol* 25: 134-144.

Socransky SS, Haffajee AD: Microbiología de la enfermedad periodontal en Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Ed Médica Panamericana. 3ª ed. Madrid, 2000.

Suvan Jean (2005) Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. Periodontology 2000, Vol 37, 48-71.

Takamatsu N, Yano K, He T, Umeda M, Ishikawa I. (1999) Effect of initial periodontal therapy on the frecuency of detecting Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis and Actinobacillus actinomycetemcomitans. J Periodontol; 70:574-80.

Tanner A, Listgarten MA, Ebersole, J and Strzempko, MN (1986) Bacteroides forsythus sp.nov., a slow growing, fusiform Bacteroides sp, from human oral cavity. Int Syst Bacteriol; 36:213-221.

Tanner A, Paster BJ, Lu SC, Kanasi E, Kent Jr. R, Van Dyke T, Sonis T. (2006) Subgingival and tongue microbiota during early periodontitis. J Dent Res; 85, 4, 318-323.

Teles R, Haffajee A, Socransky S (2006) Microbiological goals of periodontal theraphy. Periodontology 2000, vol42: 180-218.

Umeda M, Chen C, Bakker I, Contreras A, Morrison JL, Slots J (1998) Risk indicators for harboring periodontal pathogens. J Periodontol, 69(10):1111-8.

Van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U (2002) Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontla pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol; 29: 1023-1028.

Williams RC (1998) Periodontal Disease: The emergence of a new paradigm. Compendium of Continuing Education in Dentistry 19: 5-9.

Yang H, Xu Y, Zhoo L, Meng S, Wu YF (2008) Association between P gingivalis and scaling and root planning therapy. West China Journal of Stomatology. 26 (2):147-51.

Zambon J, Haraszthy V (1995) The laboratory diagnosis of periodontal infections. Periodontology 2000; 7:69-82.

Zambon J (1996) Periodontal Diseases: Microbial factors. Ann Periodontol 1: 879-925.

Zhou T, Xu Y, Ding Y, Zhoo H (2007) Distribution of five periodontal pathogens in subgingival plaque in chronic periodontitis. West China Journal of Stomatology. 25 (5): 470-3.

CERTIFICACIONES

Córdoba, 28 de Abril de 2003.

A la Comisión de Doctorado
Escuela de Graduados
Facultad de Odontología
Presente

De Mi Mayor Consideración:

A través de la presente expreso mi autorización para que la odontóloga GEORGINA BAZZANO, desarrolle en el ámbito de la Cátedra de Periodoncia "A" de esta Facultad, su trabajo de Tesis Doctoral: ***"Evaluación del Efecto de la Terapia Mecánica Periodontal sobre Parámetros Clínicos y Bacteriológicos mediante Biología Molecular".***

Sin otro particular, saludo a Uds. con atenta consideración.

Od. NELSON L. J. RUGANI
SECRETARIO ADMINISTRATIVO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Universidad de Buenos Aires

Facultad de Odontología
Hospital Odontológico Universitario

Buenos Aires, Abril de 2005.-

-----Por la presente autorizo a la Odontóloga Georgina BAZZANO, a realizar su trabajo de Tesis Doctoral sobre "Evaluación de la Terapia Mecánica Periodontal sobre Parámetros Clínicos y Bacteriológicos mediante Biología Molecular" en la Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología de la Universidad de Buenos Aires.----------

Dr. Osvaldo R. Costa
Prof. Titular Regular
Cátedra de Periodoncia

M.T. de Alvear 2142
C1122 AAH- Buenos Aires-Argentina

Tel. (5411) 4964-1200 / 1238 / 1239
Fax: (5411) 4508-3958 – E-mail:info@odon.uba.ar

AGRADECIMIENTOS

Muchas gracias a:

- *María Elena Bazzano*, mi madre, por transmitirme la pasión y la perseverancia.
- *Jorge Colla*, mi esposo, por comprender.
- *Dr. Ricardo Parodi*, por despertar mi interés por la investigación.
- *Dra. Adela Sembaj*, por enseñarme mucho más que bacteriología.
- *Dra. Inés Noher de Halac, Dra. Diana Masih* y *Dra. María Ester Esper*, por su dedicación y compromiso.
- *Sandra Tabares*, por su excelente trabajo en biología molecular.
- *Graciela Ballarino* y *Dr. Ricardo Macchi*, por el asesoramiento en bioestadística.
- Mis amigos y colegas de la cátedra de Periodoncia de la Universidad Nacional de Córdoba con quienes iniciamos el camino: *Bachi Usín* y *Mauricio Kremer*.
- Mis amigos y colegas de la cátedra de Periodoncia de la Universidad de Buenos Aires, especialmente al *Dr. Osvaldo Costa*, al *Dr. Nelson Carranza* y a la *Dra. Raquel Miodowky* que me abrieron las puertas.
- *Liliana Dajruch*, de la Escuela de Graduados, por su enorme ayuda.
- Mis pacientes, los que formaron parte de este trabajo de Tesis y los que todos los días despiertan nuevos desafíos.
- Mis amigas, que me inspiran.

De todos ellos es este trabajo.