

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
COORDINACIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
DOCTOR EN CIRUGÍA DENTAL

“MICROORGANISMOS PATÓGENOS PREDOMINANTES EN EL SURCO
GINGIVAL DE PACIENTES DE 24-75 AÑOS DE EDAD, CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL CRÓNICA”

(Clínica de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de El Salvador)

AUTORES:

AGUIRRE GODOY, TULIO EDGARDO
MARTINEZ SERRANO, DANIEL JOSUÉ

DOCENTE DIRECTOR:

DR. OSCAR RUBEN COTO DIMAS

ASESORA METODOLÓGICA:

LICDA. HILDA ELIZABETH MIRANDA LUNA

CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE 2014

AUTORIDADES

RECTOR

Ing. Mario Roberto Nieto Lovo

VICE-RECTORA ACADÉMICA

Maestra Ana María Glower de Alvarado

VICE-RECTOR ADMINISTRATIVO

Maestro Oscar Noé Navarrete

DECANO

Dr. Manuel de Jesús Joya Abrego

VICE-DECANO

Dr. Guillermo Alfonso Aguirre Escobar

SECRETARIO

Dr. José Benjamín López Guillén

DIRECTORA DE EDUCACIÓN ODONTOLÓGICA

Dra. Aída Leonor Marinero de Turcios

COORDINADORA DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

Dra. Ruth Bernardina Fernández de Quezada

JURADO EVALUADOR

Dra. Claudia Lorena Ramírez Escobar

Dra. Mayra Brenda Arévalo Alfaro

Dr. Oscar Rubén Coto Dimas

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso por ser nuestra guía y fortaleza,
A nuestros familiares por brindarnos su amor y apoyo durante toda nuestra vida,
A nuestros amigos por animarnos en todo momento.
Al Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) por permitirnos desarrollar la investigación en sus instalaciones, especialmente a nuestra asesora en Microbiología Msc. Amy Elieth Morán.
A nuestros maestros por guiarnos a lo largo de nuestra carrera,
A nuestros asesores por sus consejos, paciencia y ayuda para la elaboración del presente documento,
A la Comisión General de Procesos de Graduación, por su colaboración.

A MIS AMADOS PADRES

Profa. Rosa Amelia Godoy de Aguirre

***Prof. Marco Tulio Aguirre Moreno
(1927-2014)***

ÍNDICE GENERAL

1.	RESUMEN.....	7
2.	ABSTRACT.....	8
3.	INTRODUCCIÓN.....	9
4.	OBJETIVOS	
	4.1 Objetivo general.....	10
	4.2 Objetivos específicos.....	10
5.	MARCO TEÓRICO.....	11
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
	6.1 Tipo de investigación.....	16
	6.2 Tiempo y lugar.....	16
	6.3 Variables e indicadores.....	16
	6.4 Población y muestra.....	17
	6.5 Recolección y análisis de datos.....	19
	6.6 Recursos humanos y materiales.....	20
7.	RESULTADOS.....	22
8.	DISCUSIÓN.....	33
9.	CONCLUSIONES.....	34
10.	RECOMENDACIONES.....	35
11.	BIBLIOGRAFÍA.....	36
12.	ANEXOS.....	39

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo identificar los microorganismos patógenos predominantes en el surco gingival de pacientes entre los 24 y 75 años de edad con enfermedad periodontal crónica en la Clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

Se realizó en el año 2014 en los meses de Julio y Agosto, la población se obtuvo de los pacientes que acudieron a la consulta odontológica a partir de la cual se obtuvo una muestra de 20 pacientes a los que se les realizó una evaluación periodontal para diagnosticar la presencia o ausencia de periodontitis crónica.

El estudio fue de tipo descriptivo, se planteó una breve reseña sobre estudios similares aplicados en otros países, para comprender mejor la importancia del mismo y de la necesidad del establecimiento de un propio perfil microbiológico, debido a que los microorganismos involucrados en la periodontitis varían en cada región dependiendo de diferentes factores. Se utilizaron estadísticas que muestran la población total así como los principales microorganismos y frecuencia con la que estos se presentan en dicha población.

Para la recolección de datos se utilizó la guía de observación y una vez establecido el diagnóstico periodontal se tomaron muestras de la biopelícula subgingival para su posterior siembra, cultivo y análisis. Los resultados muestran que todos los microorganismos sujetos a investigación se encuentran presentes, mas no en todos los casos con diagnóstico de periodontitis crónica, siendo la Prevotella el patógeno más comúnmente encontrado en la población en estudio.

ABSTRACT

The present investigation was aimed to identify the prevalent pathogenic microorganisms in the gingival sulcus of patients among 24 and 75 years old diagnosed with chronic periodontitis at the clinical department of Periodontology at the Faculty of Dentistry of the National University of El Salvador.

It was performed in July and August of 2014. A 20 subjects sample was selected from patients seeking for dental treatment and a periodontal diagnosis was made to confirm the presence or absence of the disease.

This was a descriptive study and similar worldwide studies were taken in consideration to better understand its importance and the need to establish an own microbiological profile since microorganisms involved can vary depending on several factors. Statistics were used in order to show results concerning the total of the population, prevalent microorganisms and frequency of detection.

An observation guide was used to recollect data so once the periodontal diagnosis was already established samples were collected from the periodontal pockets to be examined by culture. The results showed that all prevalent microorganisms were detected however not in all cases with chronic periodontitis, being *Prevotella* significantly more frequent when comparing with other pathogens in study.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal, es un proceso infeccioso de la encía y del aparato de inserción y soporte adyacente al diente, el cual es producido por diferentes microorganismos que colonizan el área supra y sub gingival. Este estudio identificó cuatro de estos microorganismos colonizadores que según la literatura están especialmente implicados en dicho proceso, específicamente en la periodontitis crónica, ya que es la más común de todas las formas de periodontitis.

Aunque se conocen más de 500 especies microbiológicas involucradas en dicha enfermedad, no existen estudios referenciales de la población salvadoreña. Es así como se establecieron precedentes de identificación de microorganismos específicos, en la población que asistió a la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador (FOUES) durante los meses de julio y agosto del 2014; que podrían servir para profundizar en futuras investigaciones y poder brindar un tratamiento farmacológico específico y más eficiente, y que permita elaborar nuevos protocolos de tratamiento periodontal adecuados a la realidad, entre otras.

Para tal efecto, se utilizó el índice de enfermedad periodontal de Ramfjord, para clasificar la periodontitis de las unidades de análisis, de las cuales también se obtuvieron muestras microbiológicas provenientes del surco gingival, para su posterior siembra, cultivo y análisis. La identificación de los microorganismos se hizo a través de la observación clínica y microscópica además de las diferentes pruebas bioquímicas.

Los datos obtenidos se vaciaron en una tabla de frecuencias diseñada en Excel 2007 para su posterior análisis, determinación de prevalencia y elaboración de gráficos estadísticos.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Identificar los microorganismos patógenos predominantes del surco gingival de pacientes de 24 a 75 años de edad con periodontitis crónica, que asisten a la clínica de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, durante los meses de julio y agosto del 2014.

4.2. Objetivos específicos

- a) Identificar las características propias de cada uno de los microorganismos patógenos predominantes, asociados a periodontitis crónica.
- b) Diferenciar por género y especie los microorganismos patógenos predominantes encontrados.
- c) Determinar cuál de los microorganismos patógenos predominantes asociados a periodontitis crónica se presenta con mayor frecuencia.

5. MARCO TEÓRICO

Dentro de la realidad estomatológica de la población salvadoreña, se encuentra una diversidad de alteraciones en tejidos duros y blandos de la cavidad bucal, condicionado por factores económicos, políticos, sociales y culturales propios. En este sentido Mayorga y otros ⁽¹⁾ citan a Ali RW y Sanz M quienes expresan: “La distribución de los microorganismos en la placa dental subgingival varía de un país a otro dependiendo del área geográfica, raza, dieta, nivel de desarrollo y condiciones de vida entre otros, por lo que se recomienda que cada país debe establecer su propio perfil microbiológico en los pacientes con periodontitis”. En el campo de estudio referente a las bacterias presentes en la enfermedad periodontal, existen diversas observaciones que comprenden la interacción entre los microorganismos y el hospedero.

La encía, ligamento periodontal, cemento dental y hueso alveolar, conforman una unidad denominada tejido periodontal ⁽²⁾. El surco gingival sin alteración presenta características peculiares que permiten el desarrollo y la convivencia de diversos microorganismos. Ureña, en su libro Microbiología Oral, expresa: “El líquido gingival o crevicular contiene abundantes elementos nutritivos que, junto con compuestos enzimáticos, inmunoglobulinas y células, actúan significativamente como determinantes ecológicos” ⁽³⁾.

En muchos casos de enfermedad periodontal la infección se limita a la encía. Esta inflamación, llamada gingivitis, se caracteriza por el agrandamiento del margen gingival, cambio de color, sangrado y aumento del exudado gingival ⁽⁴⁾.

La gingivitis puede progresar a una afección crónica llamada periodontitis, esta es una enfermedad infecciosa que puede producir además, pérdida de nivel de inserción, retracción del margen gingival, pérdida de hueso alveolar, exposición de furcación radicular, aumento de movilidad dentaria, migración o exfoliación de los dientes ⁽⁵⁾.

De los tipos de periodontitis, la periodontitis crónica es la más frecuente, la cual se inicia en el adulto joven y progresa durante toda la vida del individuo, siendo clínicamente significativa a partir de los 35 años de edad ^{(6) (7)}.

Por otra parte, valorando dos de los parámetros más importantes, profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica, para clasificar la periodontitis crónica, se demuestra que: En el año 2000 se publican unos parámetros a partir de la clasificación del World Workshop de 1999, en el que otorgan a la periodontitis crónica de leve a moderada, las siguientes características:

- Una pérdida de inserción que no supera un tercio de la longitud radicular.

- Si el diente presentara lesión furcal, ésta no superaría la clase I. ⁽⁸⁾

Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida estructural del aparato de inserción, producida por determinadas bacterias, éstas son también necesarias pero no suficientes para que se produzca la enfermedad, siendo necesaria la presencia de un hospedero susceptible.

La búsqueda de los agentes etiológicos de las enfermedades periodontales ha progresado durante más de un siglo. Comenzó en la “era de oro de la microbiología” (hacia 1880-1920), cuando se determinaron agentes etiológicos de muchas infecciones médicas importantes. No sorprende que las investigaciones paralelas sobre la etiología de las enfermedades periodontales se iniciaran en esta era. Durante este período, los investigadores sugirieron cuatro grupos distintos de microorganismos y de posibles agentes etiológicos: amebas, espiroquetas, fusiformes y estreptococos. La base de esta determinación fue al principio la aparente asociación de estos microorganismos con las lesiones periodontales. La identificación del patógeno sospechado estaba muy influenciada por la naturaleza de las técnicas disponibles. En ese tiempo las más importantes eran el montaje húmedo o la microscopía con frotis bacteriano por tinción y técnicas de cultivo limitadas, las cuales sugirieron diferentes agentes etiológicos. En la actualidad se dispone de una gran variedad de técnicas mejoradas, las cuales pueden destacar más fácil y rápidamente la importancia de los diversos microorganismos ⁽⁹⁾.

Actualmente, se ha encontrado una convivencia de alrededor de 500 géneros y especies de microorganismos que en general no son patógenos ⁽¹⁰⁾, entre ellos los patógenos asociados a la periodontitis crónica, sujetos a estudio por esta investigación; los cuales responden de distintas maneras a diferentes tipos de terapias antibióticas ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾, por lo que se vuelve necesario el uso de medicamentos de acción específica más que el uso de medicamentos de amplio espectro; referente a lo anterior, Jaffin expresa: “La naturaleza polimicrobiana y la respuesta del huésped al biofilm polimicrobiano provocan una respuesta diferente a la terapia en cada individuo” ⁽¹³⁾. Siguiendo los criterios comprendidos en los postulados de Socransky, que determinan las características que debe reunir un microorganismo para ser considerado un patógeno potencial asociado con las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal, se obtiene que: *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens* ⁽¹⁴⁾, representan los géneros y especies que mayor daño causan a los tejidos periodontales, por lo que estas especies serán sujeto de evaluación en la presente investigación.

Algunos estudios como el desarrollado por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Marcos y el de la

Sociedad de Periodoncia de Chile, consideran a *Porphyromona gingivalis* como el mayor agente causal en la iniciación y progresión de la periodontitis crónica (15)(16).

Otros estudios como el de Guilarte C., citando a Loesche, describen como factor clave para distinguir las especies patógenas gram negativas de otras no patógenas, la capacidad de invasión de éstas bacterias al interior del tejido conectivo del hospedero (17)

Para la identificación bacteriana, lo más importante es determinar si se trata de un microorganismo aerobio o anaerobio para elegir el recipiente adecuado para su transporte. En este apartado, todos los microorganismos en estudio son considerados anaerobios, que por definición simple, son aquellos gérmenes que solo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno (O₂) y bajo condiciones de potenciales REDOX (Eh) muy reducidos (18). Según algunos estudios, entre los medios de transporte ideales para el manejo de anaerobios se encuentran: Port-A-Cul vial (medio de Cary Blair), Port-A-Cul tubo (medio de Cary Blair), Medio de caldo Tioglicolato, Medio de transporte VMGA III (Viability Medium Göteborg Anaerobically), BHI (Brain Heart Infusion) entre otros, lo importante, es procurar un ambiente en el que no haya nutrientes para las bacterias, vitalidad pero no viabilidad. También se ha demostrado que para su mantenimiento entre el período, toma de muestra-cultivo en el laboratorio, transportarlas a temperatura ambiente es lo más indicado. Artículos sobre microbiología indican una gran variedad de medios de cultivo disponibles, en general vitamina K1 y hemina son los componentes principales de agar sangre, uno de los medios más utilizados, entre los que se puede mencionar Agar Brucella o Agar Schaedler, que ofrecen una gran viabilidad de crecimiento a las bacterias, o caldo de tioglicolato sin indicador, funcional en casos en que las bacterias se encuentran en cantidades muy pequeñas o en caso de que falle la anaerobiosis en la incubación de los cultivos primarios. Sin embargo, a estos se suman otros elementos capaces de inhibir diferentes tipos de bacterias, para los casos de identificación y aislamiento de anaerobios específicos (19).

El proceso diagnóstico posterior al transporte y cultivo de un microorganismo involucra la determinación de las características individuales de cada uno de los agentes, tales como la morfología de las especies, lo que puede obtenerse a través de la Tinción de Gram y pruebas bioquímicas (anexo 1), además de la observación microscópica.

Para el caso de los microorganismos en estudio, el cuadro 1 (anexo2), describe las características propias de cada uno de ellos (19).

Por otra parte, existen estudios en los que se encuentra la relación entre edades, las prevalencias de enfermedades periodontales, y los tipos de

microorganismos más frecuentemente encontrados, por ejemplo en un estudio previo realizado en la Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, se encontró que la distribución de los pacientes con respecto a la edad fue la siguiente: 1 (3,33%) ubicado en el grupo etario entre 20 y 29 años; 6 (20,00%) al grupo ubicado entre 30 y 39 años; 13 (43,33%) ubicados entre 40 y 49 años; 7 (23, 33%) entre 50 y 59 años; y los otros 3 (10, 00%) entre 60 y 69 años de edad. (Gráfico 1, anexo 3)

Referente a la relación entre las especies de bacilos anaerobios gram negativos detectados en los pacientes con periodontitis y la edad, hay que destacar que las especies de *Prevotella* estuvieron presentes en todos los grupos etarios, siendo *P. intermedia* la especie más frecuentemente encontrada en todas las edades, ya que se detectó en 11 (36,66%) de los 30 pacientes, *P. loescheii* se detectó en 5 (16,66%) en edades comprendidas entre 30 y 49 años, y *P. melaninogénica* solo en 2 (6,66%) pacientes con edades entre 30 y 39 años. En cuanto a *P. gingivalis*, esta especie se evidenció en 9 (30,00%) pacientes mayores de 30 años, principalmente en el grupo de pacientes entre 40 y 59 años de edad, en tanto que *Bacteroides* y *F. nucleatum* fueron encontrados en una baja proporción en los pacientes mayores de 50 años (Gráfico 1). Se observó, que el mayor porcentaje de pacientes con periodontitis estuvo representado por adultos mayores de 30 años de edad, principalmente entre 40 - 49 años y por el sexo femenino, así como también, que las especies de *Prevotella* son las más frecuentes en todas las edades y las especies de *Porphyromonas*, *Bacteroides* y *Fusobacterium* se hallaron con mayor frecuencia en pacientes mayores de 40 años ⁽²⁰⁾.

En el mismo estudio realizado en la Universidad Central de Venezuela, se encontró que en relación a la detección de especies de bacilos anaerobios gram negativos en los pacientes con periodontitis crónica y el sexo de los mismos, es importante destacar que *Prevotella intermedia* fue la especie que se halló con mayor frecuencia, ya que se pudo encontrar en 8 (26,66%) de los 22 pacientes del sexo femenino y 3 (10,00%) de los 8 pacientes del sexo masculino, seguido de *P. gingivalis*, especie que se detectó en 7 (23,33%) del sexo femenino y en 2 (6,66%) pacientes del sexo masculino. Las otras especies identificadas, se encontraron en una proporción más baja, *P. loescheii* se encontró en 5 (16,66%) pacientes y *P. melaninogénica* en 2 (6,66%) pacientes del sexo femenino, mientras que *F. nucleatum* (3,33%) y *Bacteroides* sp. (3,33%) fueron detectados en 1 paciente masculino respectivamente (Gráfico2). Así mismo, se observó que la mayor frecuencia de bacilos anaerobios gram negativos pigmentados fueron detectados en el sexo femenino con 17 casos (56,67%) y 5 (16,67%) casos fueron observados en el sexo masculino (Gráfico2, anexo 4) ⁽²⁰⁾.

También existen investigaciones, en las que se determinó que en relación con el sexo, no se aprecian diferencias importantes, como se puede observar en un

estudio realizado en la Facultad de Estomatología “Raúl González Sánchez” Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana.

En la tabla 1 se muestra la distribución porcentual del estado periodontal de los pacientes según edad, sexo e higiene bucal. El 84 % de los pacientes fueron adultos mayores, el 83,3 % de los jóvenes presentó gingivitis, y el 16,6 % periodontitis. El 69 % fueron mujeres, y la gingivitis y periodontitis estuvieron representadas por el 46,9 % y 44,1 %, respectivamente. El 49,5 % presentó mala higiene bucal, y solo el 8 % presentó buena higiene bucal ⁽²¹⁾. (Anexo 5)

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta es una investigación descriptiva, dado que se determinó la prevalencia de microorganismos en la periodontitis crónica de la población en estudio, su morfología y la frecuencia con la que estos se presentan en dicha población.

6.2 TIEMPO Y LUGAR

Esta investigación se llevó a cabo en el año 2014, el paso de instrumentos se realizó durante los meses de julio y agosto en la clínica de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

6.3 VARIABLES E INDICADORES

VARIABLES	INDICADORES
a) CARACTERÍSTICAS PROPIAS DE LOS MICROORGANISMOS ASOCIADOS A PERIODONTITIS CRÓNICA	a.1) Cocobacilos de forma circular y de bordes irregulares. a.2) Cocobacilos pleomórficos, Capsulados y Fimbriados. a.3) Cocobacilos capsulados, Convexos, redondos, brillantes, fimbriados e Inmóviles. a.4) Cocobacilos corto de extremos redondeados.
b) MICROORGANISMOS POR GÉNERO Y ESPECIE ENCONTRADOS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL	a.1) Actinobacillus actinomycetemcomitans a.2) Prevotella intermedia a.3) Prevotella nigrescens

CRÓNICA	a.4) Porphyromona gingivalis
c) MICROORGANISMOS PATÓGENOS QUE SE PRESENTAN CON MAYOR FRECUENCIA	c.1) Número de veces que se presenta cada microorganismo.

6.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población en estudio consta de un total de 20 pacientes de primera consulta en el área de periodoncia, cuyas edades están comprendidas entre los 24 y 75 años y quienes fueron diagnosticados con enfermedad periodontal crónica.

Criterios de inclusión:

- Haber asistido por primera vez a la consulta general de la FOUES.
- Tener entre 24 y 75 años de edad.
- Diagnóstico de enfermedad periodontal crónica.

Criterios de exclusión:

- El paciente no puede ser evaluado si no firma el consentimiento informado
- Pacientes embarazadas.
- Pacientes que no presentan ninguno de los “dientes de Ramfjord”.

La selección de los sujetos de estudio inició con una preselección del total de pacientes que asistieron por primera vez a la clínica de la Facultad de Odontología en el área de diagnóstico; luego de corroborar la edad se seleccionó aquellos que tenían entre 24 y 75 años de edad, se les explicó brevemente lo que se pretendía, lo cual es detallado a continuación, además se les informó sobre la investigación y se les proporcionó un documento escrito de consentimiento informado mediante la cual se obtuvo la autorización del sujeto de estudio para que éste fuera incluido en la investigación (ver anexo 6). Una vez firmado el documento, el sujeto de estudio fue trasladado al espacio de trabajo clínico previamente solicitado a la Dirección de Clínicas de la FOUES (ver anexo 7).

La investigación se realizó con una muestra total de 20 pacientes. En el proceso de selección de los sujetos de estudio el sexo femenino es el que menos presentó cuadro de periodontitis crónica, por lo que solo 2 de las 10 evaluadas clínicamente fueron consideradas para el estudio, por el contrario de 23 sujetos del sexo masculino 18 fueron incluidos ya que la patología era más común entre estos.

Para establecer el diagnóstico de periodontitis crónica se siguieron los siguientes pasos:

Luego de identificar las características clínicas y radiográficas (ver anexo 8) de la enfermedad periodontal, refiriéndose al cuadrante o sextante más comprometido se aplicó el *Índice de enfermedad periodontal* (IEP) elaborado por Ramfjord, en el que se midió la pérdida de inserción periodontal, introduciendo una sonda periodontal en los sectores mesial, distal, vestibular y lingual de los dientes preseleccionados (*Dientes de Ramfjord*).

Posteriormente los datos recolectados fueron trasladados al cuadro de medición, en el apartado pérdida de nivel de inserción (PNI), ubicado en la ficha periodontal, junto con la profundidad del surco (PS) y la recesión gingival (RG) (ver anexo 8), los cuales fueron corroborados por el docente director de la investigación; al tener el diagnóstico establecido, se seleccionaron los primeros 20 pacientes que presentaron periodontitis crónica.

Procedimiento para la obtención de la muestra microbiológica en los sujetos de estudio:

Para obtener la información requerida, una vez fue seleccionado el número determinado de pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal crónica, se tomaron muestras de la placa subgingival.

Se aisló el sector con rodetes de algodón estéril, se eliminó la biopelícula supragingival con curetas, se frotó la superficie dentaria con gasa estéril, y se tomó muestra de la biopelícula subgingival con 2 ó 3 puntas de papel estériles # 30 – 35 insertándolas y permaneciendo así durante 15 a 30 segundos en la bolsa periodontal (ver anexo 9) para luego depositarlas en un medio de transporte con caldo de tioglicolato (ver anexo 10), dicha muestra se llevó a temperatura ambiente y en condiciones de anaerobiosis (ver anexo 11) al laboratorio clínico, en un lapso de dos horas máximo para su respectiva siembra en agar sangre y agar TSBV previamente preparados por los investigadores para su posterior incubación por un período de 5 a 10 días; una vez desarrollado el microorganismo (ver anexo 12) se realizó la observación clínica además de un estudio y análisis a través de la observación microscópica por medio de la tinción de Gram y diez diferentes pruebas bioquímicas que se incubaron por 72 horas adicionales, para realizar el reconocimiento de las

características propias de cada uno de los microorganismos patógenos para su identificación de género y especie, y de lo que se obtuvo como resultado, una valoración de la presencia o ausencia de las bacterias patógenas encontradas en la enfermedad periodontal (ver anexo 13).

El manejo y análisis de las muestras obtenidas se hizo en un laboratorio clínico que facilitó la Dirección de CENSALUD (ver anexo 14).

6.5 RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para recolectar los datos fue necesario utilizar técnicas de observación e instrumentos que permitieron indagar la presencia o ausencia de las variables e indicadores en los sujetos en estudio.

Se utilizaron tres instrumentos para la recolección de los datos:

- 1) Ficha periodontal (correspondiente al diagnóstico de enfermedad periodontal)
- 2) Guía de observación de las características morfológicas de los microorganismos presentes en la enfermedad periodontal crónica.
- 3) Guía de observación para confirmar la presencia de los microorganismos en cada sujeto de estudio a través de las pruebas bioquímicas.

Ficha periodontal. Este instrumento estaba orientado a recolectar información sobre las condiciones periodontales de la población en estudio. Esta consta de un apartado con información general del sujeto de estudio, hallazgos clínicos incluyendo medidas de la profundidad del surco, recesión gingival y pérdida del nivel de inserción, además del examen radiográfico (ver anexo 8).

Guía de observación de las características morfológicas. Este instrumento muestra las características propias clínicas y microscópicas que diferencian un microorganismo de otro (ver anexo 15).

Guía de observación para confirmar la presencia de los microorganismos. Este instrumento tenía por objeto confirmar la presencia de los microorganismos a través de las diferentes pruebas bioquímicas, de lo cual se obtuvo como resultado la frecuencia con que un mismo microorganismo se encontraba presente en la población total en estudio (ver anexo 16).

Una vez realizada la recolección de los datos se procedió al vaciado de la información obtenida, trasladando los hallazgos encontrados a hojas tabulares, con el fin de vaciar en ellas todos los datos que se obtuvieron al aplicar los instrumentos, los datos de esta hoja se utilizaron para elaborar tablas de frecuencia y gráficos.

El análisis de los datos se hizo de manera cuantitativa utilizando porcentajes, basándose en la descripción de los datos obtenidos; y de manera cualitativa comparando lo que la teoría científica sostiene con la realidad encontrada en el estudio.

6.6 RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Dentro de los recursos humanos que participaron en la investigación se encuentran: 2 investigadores, 20 pacientes, 1 odontólogo como docente director, 1 docente asesora metodológica, 1 licenciada en laboratorio clínico de CENSALUD y la comisión evaluadora del proyecto de tesis.

Los materiales utilizados fueron:

INSUMOS	CANTIDAD
Equipo de bioseguridad	1
Set básico	20
Sonda periodontal	20
Cureta	20
Unidad dental	1
Rodete de algodón	120
Gasa estéril	60
Punta de papel estéril	60
Medio de transporte	20
Placa Petri	80
Tubos de ensayo	520

Computadora	1
Impresora de datos	1
Cartucho de tinta para impresión	1
Resma de páginas de papel bond	1
Discos compactos	2
Microscopio electrónico	1
Tioglicolato	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras
Agar sangre	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras
Agar TSBV	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras
Reactivos para pruebas bioquímicas	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras

c.s.p.: cantidad suficiente para.

RESULTADOS

Hoja tabular sobre características morfológicas de los microorganismos presentes en la enfermedad periodontal crónica

MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICAS	1F	2F	1M	2M	3M	4M	5M	6M	7M	8M	Total de pacientes
Agregatibacter actynomicetemcomitans	cocobacilo redondeado	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	8
	Colonias de 0,5 - 1,0 mm de diámetro	✓	✓				✓	✓		✓		
	Pueden estar de forma aislada, pares o racimos	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Forma circular	✓	✓	✓			✓	✓		✓	✓	
	Translúcidas	✓	✓	✓			✓	✓		✓	✓	
	Bordes irregulares	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	
	Formación estrellada en el centro de la colonia por incubaciones prolongadas	✓	✓	✓						✓	✓	
Porphyromona gingivalis	Cocobacilos capsulados	✓	✓	✓	✓	✓	✓					6
	Productores de un pigmento marrón, negro brillante con zonas de hemólisis	✓	✓		✓		✓					
	No fluorescen bajo luz UV	✓	✓	✓	✓	✓	✓					
Prevotella	Cocobacilos pleomorficos capsulados	✓	✓		✓	✓	✓			✓	✓	7
	pueden producir un pigmento negro en agar sangre	✓	✓		✓	✓	✓			✓	✓	
	Color rojizo a la luz UV	✓	✓		✓	✓	✓			✓	✓	
Total de microorganismos		3	3	2	3	2	3	1		2	2	





























MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICAS	9M	10M	11M	12M	13M	14M	15M	16M	17M	18M	Total de pacientes
Agregatibacter actynomycetemcomitans	cocobacilo redondeado	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	9
	Colonias de 0,5 - 1,0 mm de diámetro	✓	✓	✓	✓	✓		✓		✓	✓	
	Pueden estar de forma aislada, pares o racimos	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
	Forma circular	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
	Translúcidas	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
	Bordes irregulares	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
	Formación estrellada en el centro de la colonia por incubaciones prolongadas	✓	✓	✓	✓	✓		✓		✓	✓	
Porphyromona gingivalis	Cocobacilos capsulados				✓		✓	✓	✓	✓	✓	6
	Productores de un pigmento marrón, negro brillante con zonas de hemólisis				✓		✓	✓	✓	✓	✓	
	No fluorescen bajo luz UV				✓		✓	✓	✓	✓	✓	
Prevotella	Cocobacilos pleomorficos capsulados			✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	7
	pueden producir un pigmento negro en agar sangre			✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
	Color rojizo a la luz UV			✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	
Total de microorganismos		1	1	2	3	1	2	3	3	3	3	

Hoja tabular sobre la confirmación de la presencia o ausencia de cada microorganismo, identificado por género y especie a través de las diferentes pruebas bioquímicas

M.O.	PRUEBA	REQUERIMIENTO DE OXIGENO													PRESENCIA
		TSI		SIM		LIA			AGAR Mc CONKEY			AGAR SANGRE	AGAR TSBV		
		FERMENTA AZÚCAR	GAS	MOVILIDAD	H ₂ S	FERMENTA GLUCOSA	H ₂ S	RM	INDOL	UREASA	CATALASA				
1M	<i>Prevotella</i>	NF	-	-	-	-	-	+	-		-		-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-		-		-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-		-	-
2M	<i>Prevotella</i>	NF	-	+	-	-	-	+	+		+		+		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	F3	+	+	-	-	-	+	-		+		+		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
3M	<i>Prevotella</i>	NF	-	+	+	-	+	+	-		+		+		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	+	-	-	+	-	-		-		-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>														
4M	<i>Prevotella</i>	F3	-	-	+	+	-	+	+		-		-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	+	-	-	-		-		-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-		-	-

5M	<i>Prevotella</i>														
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-		-	-
6M	<i>Prevotella</i>														
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>														
7M	<i>Prevotella</i>	F3	-	-	+	+	-	+	+		+		-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
8M	<i>Prevotella</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-		-		-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
9M	<i>Prevotella</i>														
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-
10M	<i>Prevotella</i>														
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	+	-	-	+	-	+		-		-	-

11M	<i>Prevotella</i>	F3	+	-	-	+	-	+	-				-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
12M	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-		-	+
	<i>Prevotella</i>	F3	-	-	-	+	-	+	+				-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	+	-	+	+				-		+
13M	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-		-	+
	<i>Prevotella</i>														
	<i>Porphyromona gingivalis</i>														
14M	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>														
	<i>Prevotella</i>	F3	+	-	-	+	-	+	-				-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	+	-	-	-				-		-
15M	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>														
	<i>Prevotella</i>	NF	-	-	-	-	-	+	-				-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-				-		-
16M	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-		-	+
	<i>Prevotella</i>	NF	-	+	+	-	-	+	-	+			-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	+	+	-	-	-	-				-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-		-	-

17M	<i>Prevotella</i>	F3	-	+	-	-	-	+	-		-		-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	F3	-	-	-	-	-	+	-		+		-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-		-	-
18M	<i>Prevotella</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-		+		-		-
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-		-		-		-
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-
1F	<i>Prevotella</i>	F3	-	-	-	+	-	+	+		-		-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	F3	-	-	-	+	-	+	+		-		-		+
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-		-	+
2F	<i>Prevotella</i>	F3	-	-	-	+	-	+	+		-		-		+
	<i>Porphyromona gingivalis</i>	F3	-	-	-	+	-	+	+		-		-		+
	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	NF	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-		-	+

INDICADOR: M.O.= MICROORGANISMO; TSI= TRIPLE SUGAR IRON; SIM= SULFIDE INDOL MOTILITY; LIA= LYSINE IRON AGAR; H₂S= ÁCIDO SULFÚDRICO; RM= ROJO METILO; NF= NO FERMENTA; F3= FERMENTA GLUCOSA, LACTOSA Y SACAROSA; (-) NEGATIVO; (+) POSITIVO; AZUL= NO PROCEDE; GRIS= AUSENTE

Frecuencia de microorganismos identificados a través de sus características morfológicas, según sexo del paciente				
	Agregatibacter actynomicetemcomitans	Porphyromona gingivalis	Prevotella	No hubo crecimiento
Mujer	2	2	2	0
Hombre	15	10	12	1
Total	17	12	14	1

Tabla resumen de la hoja tabular de página 25. Total de población 20 distribuidos en 18 hombres y 2 mujeres.

Tabla de frecuencia de microorganismos identificados a través de sus características morfológicas

Las dos mujeres con periodontitis crónica presentaron crecimiento bacteriano de los tres microorganismos identificados morfológicamente y confirmados con las pruebas bioquímicas.

De los 18 hombres con periodontitis crónica, en 17 casos se encontró al menos 1 microorganismo, 4 presentaron 1 microorganismo (Agregatibacter actynomicetemcomitans) y 1 hombre no presentó crecimiento en ningún cultivo. De los 17 solamente en 7 pacientes se confirmó la presencia de los microorganismos por pruebas bioquímicas.

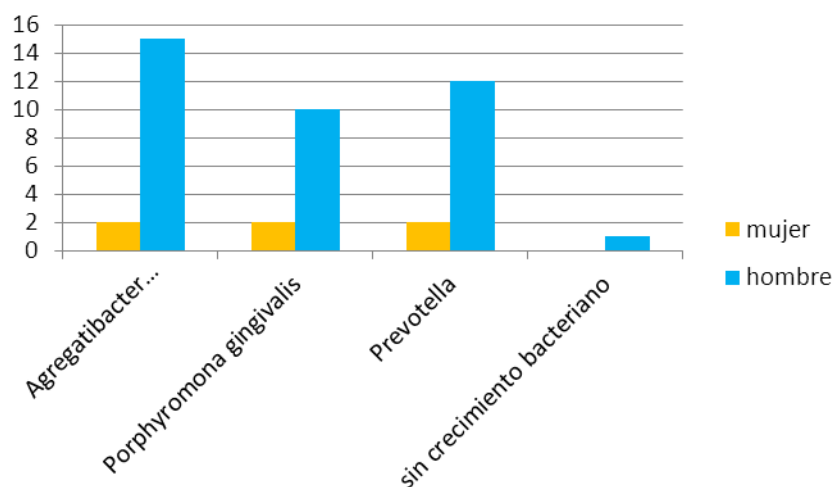


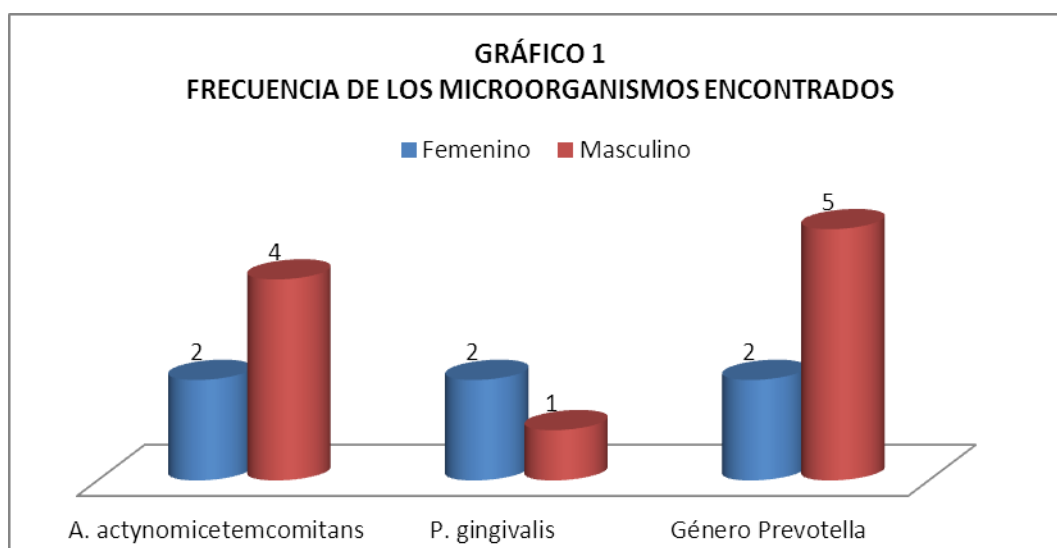
Tabla de frecuencia confirmativa de la presencia de los microorganismos, identificados por género y especie a través de las diferentes pruebas bioquímicas.

	<i>A. actynomicetemcomitans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>Prevotella</i>	Totales
1M	-	-	-	
2M	-	-	-	
3M	-	-	-	
4M	-	-	+	1
5M	-	-	-	
6M	-	-	-	
7M	-	-	+	1
8M	-	-	-	
9M	-	-	-	
10M	-	-	-	
11M	+	-	+	2
12M	+	+	+	3
13M	+	-	-	1
14M	-	-	+	1
15M	+	-	-	1
16M	-	-	-	
17M	-	-	-	
18M	-	-	-	
1F	+	+	+	3
2F	+	+	+	3
Total es	6	3	7	16

La tabla de frecuencia muestra un total de 16 microorganismos, de los cuales se confirma su presencia identificándolos por género y especie a través de las diferentes pruebas bioquímicas. También muestra el total de los diferentes microorganismos patógenos predominantes encontrados por cada sujeto de estudio.

TABLA No. 1
FRECUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS ENCONTRADOS
Confirmados a través de las diferentes pruebas bioquímicas.

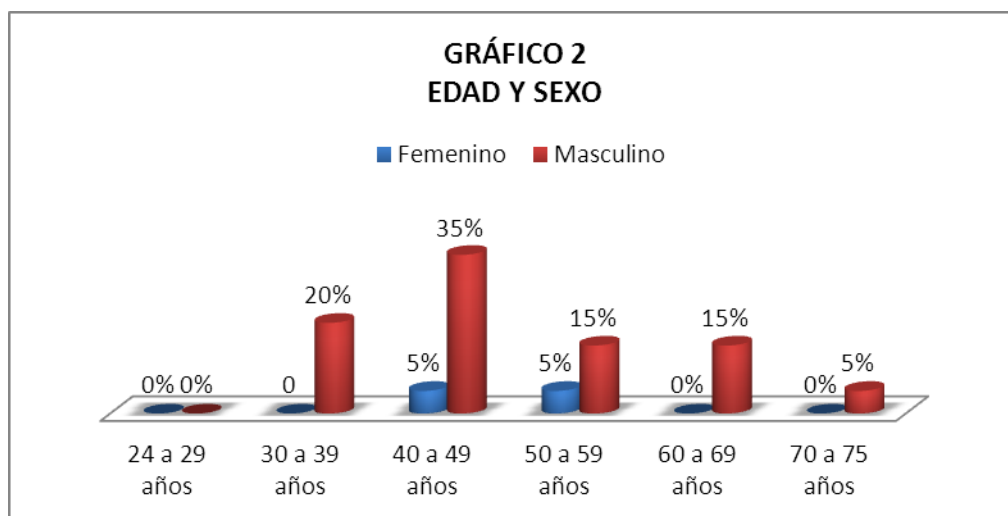
Microorganismo	Sexo		
	Femenino	Masculino	Total
A. actynomicetemcomitans	2	4	6
P. gingivalis	2	1	3
Género Prevotella	2	5	7
Total	6	10	16



La Tabla y Gráfico No. 1 muestran que de 16 microorganismos asociados a periodontitis crónica, encontrados en el surco gingival de los 20 pacientes, 3 corresponden a *P. gingivalis*, 2 en el sexo femenino y 1 en el sexo masculino; 6 corresponden a *A. actynomicetemcomitans*, 2 en el sexo femenino y 4 en el sexo masculino y 7 corresponden al género *Prevotella*, 2 en el sexo femenino y 5 en el sexo masculino; siendo esta última bacteria la más frecuente.

TABLA No. 2
RANGO DE EDAD Y SEXO

Rango de edad	Sexo					
	Femenino		Masculino		Total	
24-29 años	0	0%	0	0%	0	0%
30-39 años	0	0%	4	20%	4	20%
40-49 años	1	5%	7	35%	8	40%
50-59 años	1	5%	3	15%	4	20%
60-69 años	0	0%	3	15%	3	15%
70-75 años	0	0%	1	5%	1	5%
Total general	2	10%	18	90%	20	100%



La Tabla y Gráfico No. 2 muestran que de 20 pacientes que asistieron a la consulta odontológica, 2 pacientes, que corresponden al 10%, son del sexo femenino; y 18 pacientes, que corresponde al 90%, son del sexo masculino, encontrándose en estos el mayor valor en el rango de edad de 40-49 años.

8. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos, los microorganismos patógenos comúnmente encontrados en la enfermedad periodontal crónica varían con respecto a los hallazgos proporcionados por estudios en otras regiones, pues sólo 9 de un total de 20 pacientes presentó al menos uno de los microorganismos en estudio confirmados a través de las pruebas bioquímicas; ya que solo un paciente no presentó crecimiento bacteriano. Las dos mujeres con periodontitis crónica presentaron crecimiento bacteriano de los tres microorganismos identificados morfológicamente y confirmados con las pruebas bioquímicas. De los 18 hombres con periodontitis crónica, en 17 casos se encontró al menos 1 microorganismo, 4 presentaron solamente 1 microorganismo siendo este *Agregatibacter actinomycetemcomitans* y 1 hombre no presentó crecimiento en ningún cultivo. De los 17 pacientes hombres solamente en 7 se confirmó la presencia de los microorganismos por pruebas bioquímicas

Porphyromona gingivalis fue el microorganismo periodonto patógeno que menos presencia tuvo, con respecto a lo establecido en estudios como el desarrollado por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Mayor de San Marcos y el de la Sociedad de Periodoncia de Chile que consideran a *porphyromona gingivalis* como predominante en la periodontitis crónica ⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾.

Respecto a la edad de los sujetos de estudio, el grupo etario de 40-49 años coincide como el grupo en el que con mayor frecuencia se presenta la enfermedad periodontal como lo describe un estudio realizado por la Facultad de Odontología de la Universidad de Venezuela. Por otro lado, la periodontitis crónica se presentó como el tipo de enfermedad periodontal más frecuente en consideración con lo establecido en un estudio sobre la prevalencia, severidad y extensión de periodontitis ⁽⁶⁾.

9. CONCLUSIONES

1. Los microorganismos patógenos Identificados en el surco gingival de pacientes de 24 a 75 años de edad con periodontitis crónica, fueron: Agregatibacter actynomicetemcomitans, porphyromona gingivalis y Prevotella.
2. Se encontró crecimiento bacteriano de Agregatibacter actynomicetemcomitans en 17 casos, Porphyromona gingivalis en 12 y Prevotella en 14 casos.
3. El total de pacientes del sexo femenino presentó los 3 microorganismos predominantes en la periodontitis crónica.
4. Las pruebas bioquímicas realizadas, solamente se confirmaron en 9 pacientes para ratificar el género y especie de los 3 microorganismos cultivados.
5. La diferenciación del microorganismo patógeno Prevotella en sus especies intermedia y nigrescens, requiere de otras técnicas de identificación no disponibles en los laboratorios de CENSALUD, por lo que no fue posible realizarla
6. El género Prevotella se presentó como el más común en el surco gingival de pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal crónica entre los microorganismos patógenos predominantes en estudio.
7. Porphyromona gingivalis se presentó como el microorganismo de menor frecuencia entre la población en estudio.
8. El mayor porcentaje de la población en estudio, con diagnóstico de enfermedad periodontal crónica se encontró en el rango de edades de 40 a 49 años, mientras que los pacientes en el rango de 24 a 29 años, representaron el menor porcentaje

10. RECOMENDACIONES

1. Realizar más investigaciones de la enfermedad periodontal en la población salvadoreña identificando plenamente los microorganismos patógenos que más comúnmente se encuentran en el surco gingival de pacientes con patología periodontal crónica en la población salvadoreña.
2. Potenciar el área de microbiología de la Facultad y capacitar a mas personal en lo que respecta al manejo de muestras microbiológicas. Dotando de más materiales, reactivos y equipo especializado para la identificación de bacterias periodonto patógenas.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Mayorga-Fayad, Lafaurie, Contreras, Castillo, Barón, Aya. Microflora subgingival en periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico [sede web]. Bogotá: SciELO; 2007 [actualizada en 2013; acceso el 3 de enero de 2013] Disponible en: http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?pid=S0120-41572007000100003&script=sci_arttext&tlng=en
2. Newman, Takei, Klokkevold, Carranza. Carranza's Clinical Periodontology 11ª edición [sede web]. Missouri: Elsevier; 2012. [acceso 9 de enero 2013]. Disponible en : http://books.google.com/sv/books?id=BspTzxVK6-kC&pg=PT208&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false
3. Liébana Ureña J. Microbiología Oral. 2ª edición; 2002. Cap. 53, p.549.
4. Lindhe, Lang, Karring. Periodontología clínica e implantología odontológica. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. p. 406.
5. Lindhe J., Lang N., Karring T. Periodontología clínica e implantología odontológica. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009. p. 420.
6. Rojo Botello Norma R, Flores Espinosa Arturo, Arcos Castro Mónica. Prevalencia, severidad y extensión de periodontitis crónica [sede web]. México: Medigraphic.com; 2011 [acceso 4 de enero 2013]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2011/uo1111f.pdf>
7. Lindhe J., Lang N., Karring T. Periodontología clínica e implantología odontológica. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
8. Escudero-Castaño N., Perea-García M.A., Bascones-Martínez A. Avances en periodoncia e implantologia oral [sede web].Madrid: SciELO; 2008 [actualizado en 2013; acceso 4 de enero 2013]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1699-65852008000100003&script=sci_arttext
9. Jan lindhe, Niklaus Lang, Thorkild Karring. Periodontología clínica e implantología odontológica. 5ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.

10. Kinder Haake S., Newman M., Nisengard R., Sanz M. Microbiología periodontal. En: Carranza. Periodontología Clínica. 9ª edición. Buenos Aires: McGraw-Hill; 2002. p.100-117.
11. Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce RM. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in a Colombian population. [sede web]. Colombia: PubMed.gov; 2007 [acceso febrero 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17397318>
12. Liñare J, Martín-Herrero JE. Bases farmacomicrobiológicas del tratamiento antibiótico de las enfermedades periodontales y periimplantarias [sede web]. Madrid: SciELO; 2003 [actualizada en 2013; acceso 4 de enero 2013]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852003000300004
13. Jaffin Michael. Systemic antibiotics in the treatment of periodontal disease [sede web]. Oklahoma: Dentistry IQ; 2013 [acceso 3 de enero de 2013]. Disponible en: <http://www.surgicalrestorative.com/articles/2011/11/systemic-antibiotics-in-the-treatment-of-periodontal-disease.html>
14. Liébana Ureña J. Microbiología Oral. 2ª edición; 2002. Cap. 55, p. 574.
15. Donald Ramos Perfecto, Hilda Moromi Nakata, Elba Martínez Cadillo. Porphyromonas gingivalis: patógeno predominante en la periodontitis crónica [sede web]. Perú: Odontología Sanmarquina; 2011 [acceso 10 de enero 2013]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2011_n1/pdf/a11.pdf
16. L. Abusleme, P. Pozo, N. Silva. Genotipificación de porphyromonas gingivalis en pacientes con periodontitis [sede web]. Chile: Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral; 2009 [acceso 10 de enero 2013]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331028153005>
17. Guilarte C., Perrone M. Bacterias Periodontopatógenas: Bacilos anaerobios gran negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal [sede web]. Caracas: SciELO; Mayo 2005. [actualizado en 2013; acceso 9 de enero 2013]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0001-63652005000200017&script=sci_arttext

18. Alcalá L., Betriu C., García J., Reig M. Bacterias anaerobias [sede web]. España: seimc.org; 2004. [acceso 9 de enero 2013]. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap16.htm>
19. Negroni, Marta. Microbiología estomatológica. 2ª edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009.
20. Guilarte C., Perrone M. Detección de especies de bacilos anaerobios gram negativos en pacientes con periodontitis crónica [sede web]. Caracas: SciELO; 2007. [actualizada en 2013; acceso 9 de enero 2013]. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=s0001-63652007000100002&script=sci_arttext
21. Dra. Pueo Lazo, María Elena. Dra. Acosta Navarro, María y Dra. Osorio Núñez, Maritza. El estado periodontal y la higiene bucal en los pacientes cardiopatas del Policlínico Plaza de la Revolución [sede web]. Ciudad de la Habana: SciELO; 2006. [actualizada en 2013; acceso 9 de enero 2013]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000300006

ANEXOS

Anexo 1

PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS
ANAEROBIAS GRAM (-)

BACTERIA PRUEBA	Porphyromona Gingivalis	Prevotella	Aggregatibacter actinomycetemcomitans
REQUERIMIENTO DE OXÍGENO	NEGATIVO (siembra en agar sangre en aerobiosis e incubado a 37° C)	NEGATIVO (siembra en agar sangre en aerobiosis e incubado a 37° C)	PUEDE SER POSITIVO (agar TSBV en condiciones aeróbicas)
CATALASA (Peróxido de hidrógeno)	NEGATIVO	VARIABLE⁻	VARIABLE⁺
AGAR McCONKEY	NO PROCEDE	NO PROCEDE	VARIABLE⁺
SIM (movilidad)	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
FERMENTACIÓN DE GLUCOSA (Rojo-Metilo)	POSITIVO (cambia a color rojo)	POSITIVO (cambia a color rojo)	POSITIVO (cambia a color rojo)

INDOL (Reactivo de Kovac)	POSITIVO (Crearé anillo rojo en la superficie)	POSITIVO (Crearé anillo rojo en la superficie)	NEGATIVO (Crearé anillo amarillo en la superficie)
UREASA	NO PROCEDE	NO PROCEDE	NEGATIVO (el medio de cultivo cambiará a color amarillo)
PRODUCCIÓN DE H₂S (ácido sulfhídrico) EN MEDIOS DE CULTIVO LIA Y SIM	VARIABLE (Habrá precipitado color negro)	NEGATIVO (ennegrecimiento del límite y profundidad)	NO PROCEDE
PRODUCCIÓN DE GAS (En medio de cultivo TSI)	NO PROCEDE	NO PROCEDE	VARIABLE
FERMENTACIÓN DE AZÚCARES. TSI (lactosa, sacarosa y glucosa)	- A LACTOSA - A SACAROSA + A GLUCOSA (medio de cultivo cambiará en el fondo a color amarillo)	- A LACTOSA + A GLUCOSA + A SACAROSA (medio de cultivo cambiará totalmente a color amarillo)	- A LACTOSA - A SACAROSA + A GLUCOSA (medio de cultivo cambiará en el fondo a color amarillo)
LIA (Glucosa)	POSITIVO (medio de cultivo cambiará a color amarillo)	POSITIVO (medio de cultivo cambiará a color amarillo)	POSITIVO (medio de cultivo cambiará a color amarillo)

Anexo 2

MICROORGANISMO	CARACTERÍSTICAS
Agregatibacter actinomycetemcomitans	Es un bacilo corto (cocobacilo) redondeado, Gramnegativo, Anaerobio facultativo, Inmóvil (carece de flagelos), Sacarolítico (fermenta carbohidratos), Capnófilo (requiere CO ₂ para su desarrollo en un porcentaje del 5-10%), No produce esporas, No es hemolítico, Forma colonias de aproximadamente 0,5-1,0mm de diámetro, Tiene forma circular, transparente, de bordes irregulares, Crece muy bien en medios que contengan sangre o suero, (agar TSBV), Medio Selectivo: agar BHIA.
Porphyromonas gingivales	Estos son cocobacilos capsulados, Gramnegativos, Anaeróbicos estrictos, Convexas, redondas, brillantes, típicas de esta especie bacteriana, Inmóviles, Fimbriados, Asacarolíticos (no fermentan carbohidratos), Son sensibles a las sales biliares al 20%, Productores de un pigmento negro con zonas de hemólisis en medios de cultivo que contengan sangre lisada, hemina y vitamina K.
Prevotella intermedia	Son cocobacilos pleomórficos, Gramnegativos, Anaeróbicos estrictos, Capsulados, Fimbriados, Sensibles a las sales biliares, Moderadamente fermentativos, Pueden producir un pigmento negro en agar sangre, Factores de Virulencia, Poseen endotoxinas, producen adhesinas, complementasas, IgGasa, IgAasa, e IgMasa, que son inmunoglobulinasas, es decir, proteasas.
Prevotella nigrescens	Fenotípicamente idéntica a P. intermedia.

Cuadro 1. Características de los microorganismos patógenos asociados a la enfermedad periodontal crónica.

Anexo 3

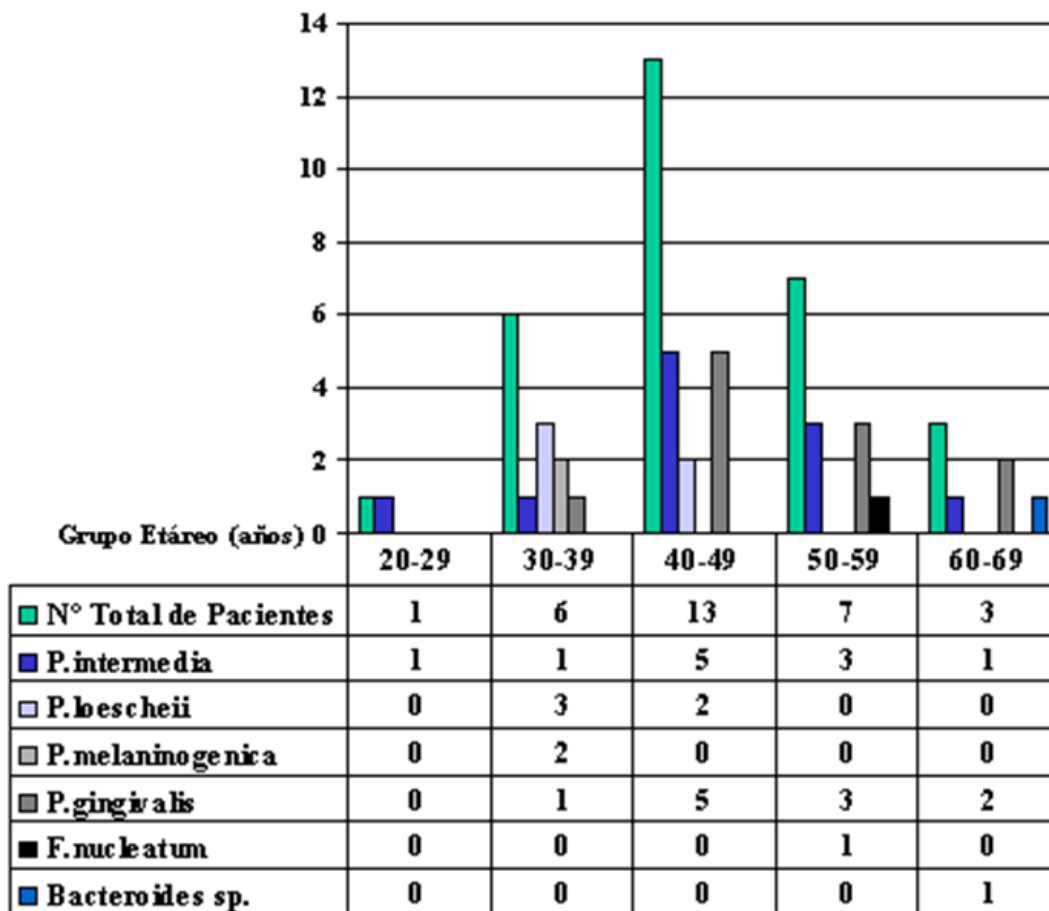


Gráfico 1. Relación entre las especies de Bacilos Anaerobios Gram Negativos detectados en pacientes con periodontitis y edad.

Anexo 4

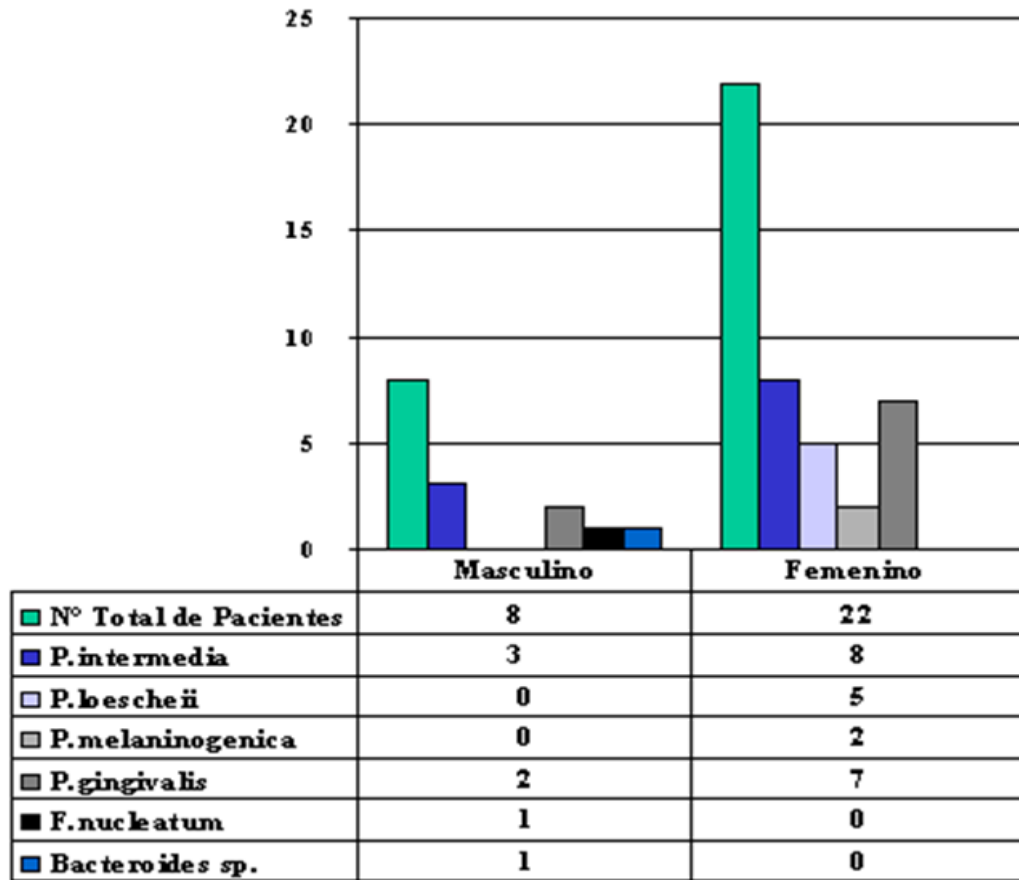


Gráfico 2. Relación entre las especies de Bacilos Anaerobios Gram Negativos detectados en pacientes con periodontitis y sexo.

Anexo 5

Edad	Sano		Gingivitis		Periodontitis		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
20-35	0	0,0	5	83,3	1	16,6	6	2,9
36-59	2	7,4	15	55,6	10	37,0	27	12,9
60 y más	17	9,6	81	45,8	79	44,6	177	84,3
Total	19	9,0	101	48,1	90	42,8	210	100,0
Sexo								
Masculino	6	9,2	33	50,7	26	40,0	65	30,9
Femenino	13	9,0	68	46,9	64	44,1	145	69,0
Total	19	9,0	101	48,1	90	42,8	210	100,0
Higiene bucal								
Buena	14	82,3	3	17,6	0	0	17	8,0
Regular	3	3,3	80	89,8	6	6,7	89	42,3
Mala	2	1,9	18	17,3	84	80,7	104	49,5
Total	19	9,0	101	48,1	90	42,8	210	100,0

Tab.1. Distribución del estado periodontal en cardiópatas según edad, sexo e higiene bucal

Anexo 6

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

“MICROORGANISMOS PATÓGENOS PREDOMINANTES EN EL SURCO
GINGIVAL DE PACIENTES DE 24-75 AÑOS DE EDAD, CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL CRÓNICA”

(Clínica de Periodoncia Facultad de Odontología Universidad de El Salvador)

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Su participación en este estudio es completamente confidencial y voluntaria, sin consecuencia desfavorable en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar, usted será parte de una investigación que tiene como objetivo saber que bacterias provocan daño en la enfermedad conocida como periodontitis crónica, lo que le permitirá conocer mejor el estado de salud de sus encías y determinará cuales de estas son las que más se presentan en la población participante, por lo que en un futuro otros pacientes podrán beneficiarse del conocimiento obtenido. Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar el Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo.....

Con documento de Identidad Número:

Confirmando mi participación y firmo el presente documento, después de haberlo comprendido, teniendo la oportunidad de preguntar y entender el procedimiento que se realizará, los resultados que se pretenden, los beneficios y los riesgos que puedan derivarse.

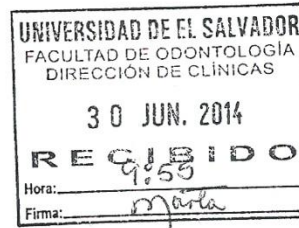
Lugar y fecha:

Firma: _____

Anexo 7

Ciudad Universitaria, 30 de junio de 2014.

Dr. José Osmin Rivera Ventura.
Dirección de Clínicas.
Facultad de Odontología.
Universidad de El Salvador.



Estimado Dr. Osmin Rivera:

Por este medio, atentamente solicitamos a usted nos permita utilizar 2 módulos dentales y el aparato de toma radiográfica en el área de periodoncia, que necesitamos para poder terminar nuestro trabajo final de investigación para la obtención de grado. Estos módulos serán utilizados por un período de tres semanas entre el 6 y el 25 de julio 2014 y en horario de 8:00am a 10:00am, y servirán para realizar diagnósticos periodontales y tomar muestras microbiológicas en pacientes seleccionados que luego serán procesadas en Censalud. No omitimos manifestarle que nos hacemos enteramente responsables del cuidado y buen uso del equipo, comprometiéndonos a devolverlos en la misma condición que se nos entreguen.

Con el deseo de bienestar y éxito personal y laboral y en espera de una pronta y favorable respuesta, nos suscribimos.

Atentamente,

Daniel Josué Martínez Serrano
Carné MS-02005

Tulio Edgardo Aguirre Godoy
Carné AG-02004

en jueves. 8 - 10am
7 Julio - 18 Julio
RIVERA 2/35, 2/36

V. B.
30-6-14 9:25 a.m.

V. B.
30 - 6 - 2014 9:35 a.m.

Anexo 8

No. EXPEDIENTE: 2F

FICHA DEL AREA DE PERIODONCIA

EVALUACION Y PLAN DE TRATAMIENTO PERIODONTAL

Nombre del Paciente: Marta Eugenia Beltran Romero Edad: 49 a

Género: F Estado Civil: Soltera Ocupación: Comerciante

Domicilio: Ciudad Delgado, Col. San Pedro, Final calle America

Teléfonos de Contacto: _____

Atendido por: Daniel Martinez Ciclo: _____

Motivo de consulta: "Limpieta"

Historia Médica Anterior: No presenta

Historia Odontológica Anterior: limpieta, obturaciones, exodencias

Hábitos Orales: _____

NOMBRE BACHILLER	INICIO	FECHA	TRATAMIENTO O PASO CLINICO	FINALIZACION.



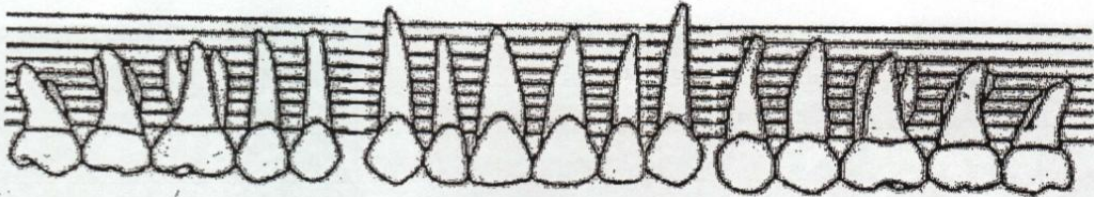
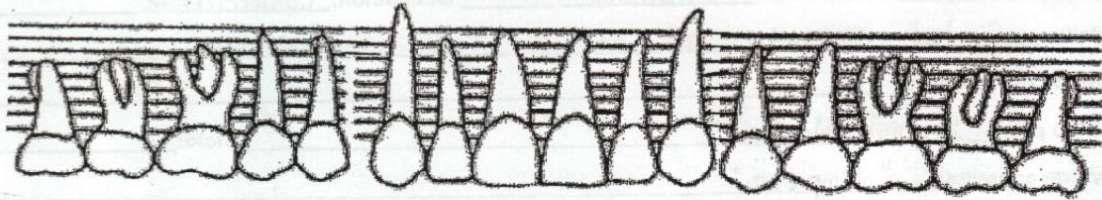
PERIODONTOGRAMA

8

No. EXPEDIENTE: 2F

VESTIBULAR

1-8	1-7	1-6	1-5	1-4	1-3	1-2	1-1	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7	2-8



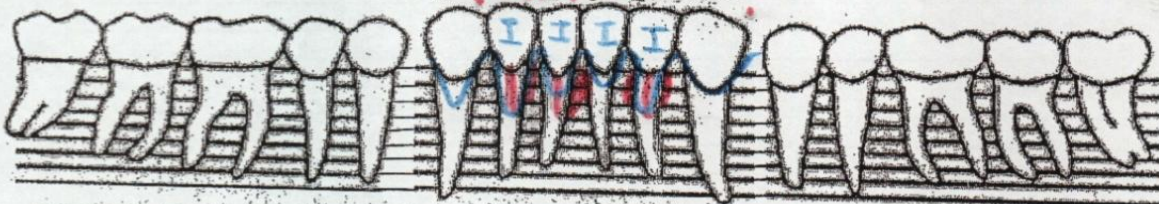
PALATINO

1-8	1-7	1-6	1-5	1-4	1-3	1-2	1-1	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7	2-8

LINGUAL

PNI
AG
PS

4-8	4-7	4-6	4-5	4-4	4-3	4-2	4-1	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8



VESTIBULAR

PS
AG
PNI

4-8	4-7	4-6	4-5	4-4	4-3	4-2	4-1	3-1	3-2	3-3	3-4	3-5	3-6	3-7	3-8

No. EXPEDIENTE: 2F

ENCIA

Color Eritema marginal papilar y adherido
 Consistencia Ederma generalizado
 Textura lisa
 Alteraciones de contorno No presenta

EXAMEN RADIOGRÁFICO

Ensanchamiento del Ligamento Periodontal

8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8

Ensanchamiento de la Lámina dura

8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8

Pérdida Ósea Horizontal

8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8

Pérdida Ósea Vertical

8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8
8	7	6	5	4	3	2	1
1	2	3	4	5	6	7	8

Forma e Integridad de la cresta: _____

Progresión de la pérdida ósea (Extensión): _____

Alteraciones del Trabeculado: _____

RAICES DENTALES

Espesor e Integridad del cemento dentario: _____

Longitud, Forma y Disposición de las raíces: _____

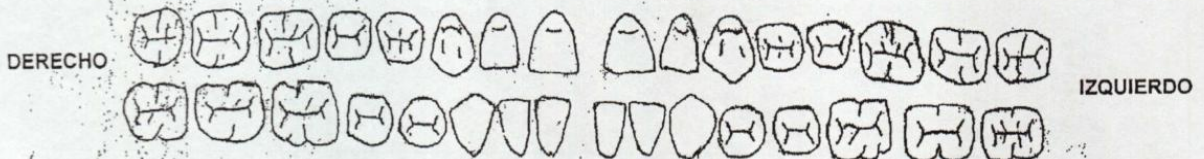
Proporción Corona - Raíz: _____

Otros: _____

CONTACTOS PREMATURES EN RELACION CENTRICA (AZUL)



INTERFERENCIA EN LADO DE TRABAJO (ROJO)



78

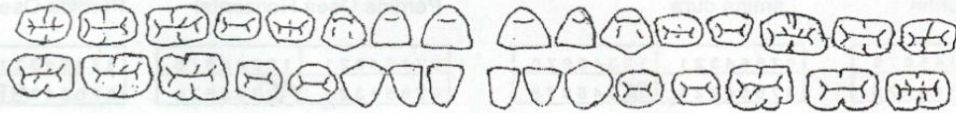
10

No. EXPEDIENTE: 2F

INTERFERENCIAS EN LADO DE BALANCE (VERDE)



INTERFERENCIAS EN PROTUSIVO (NEGRO)



DIAGNOSTICO PERIODONTAL

Periodontitis moderada en sector anterior inferior

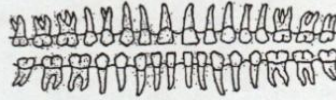
Pronóstico Periodontal (B=Bueno. R=Regular. P= Pobre. D= Dudoso. M= Malo o extracción)

Pronostico General :

Pronostico Individual:

Maxilar :

Mandibular :



PLAN DE TRATAMIENTO

Fase sistémica	Fase Preliminar	Fase higiénica
Fase quirúrgica - correctiva		Fase de mantenimiento

Recomendaciones de tratamiento multidisciplinario: _____

Fecha _____

Firma del Docente _____

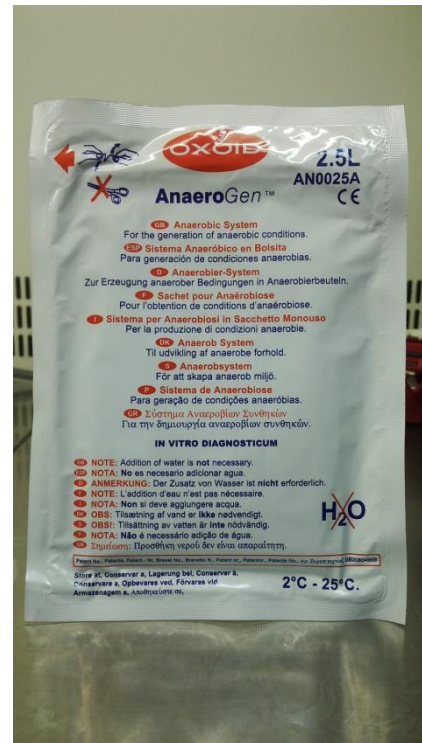
Anexo 9



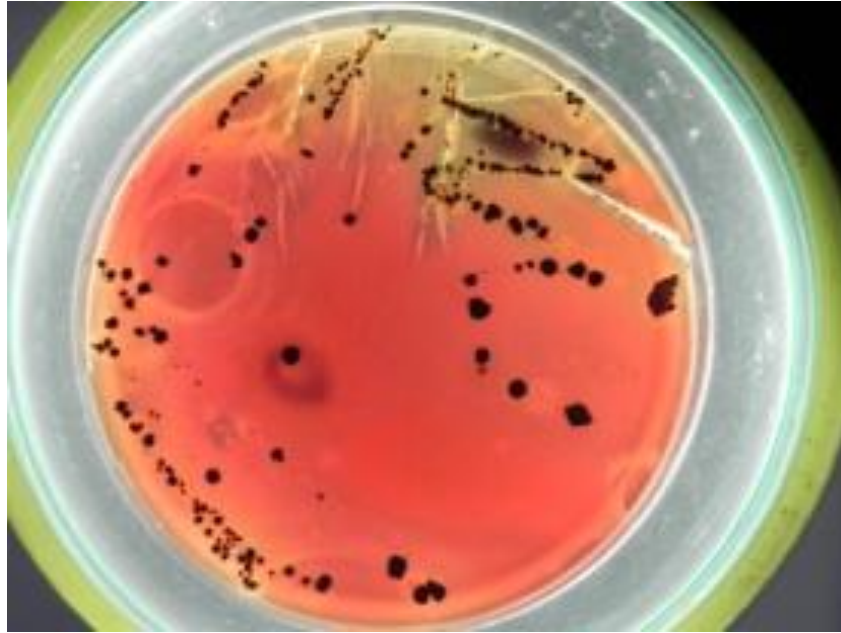
Anexo10



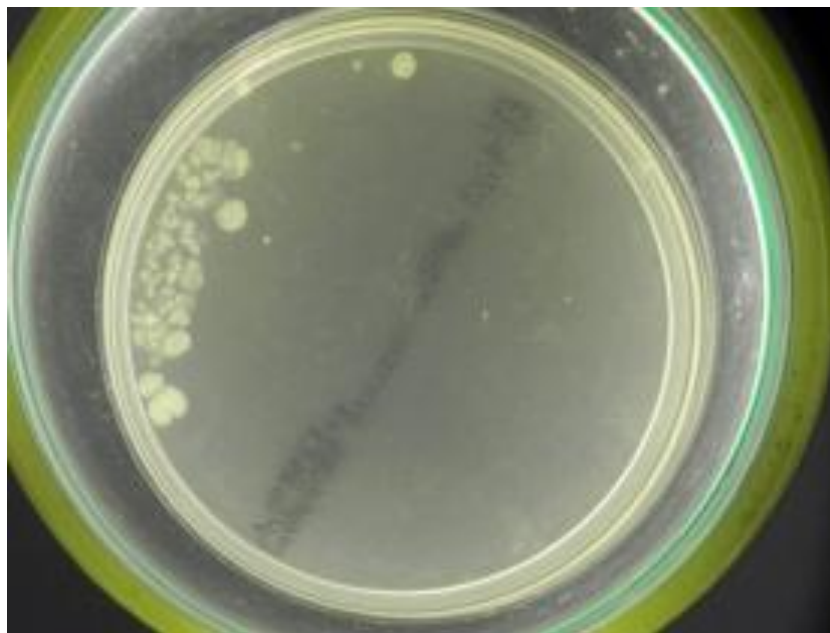
Anexo 11



Anexo 12



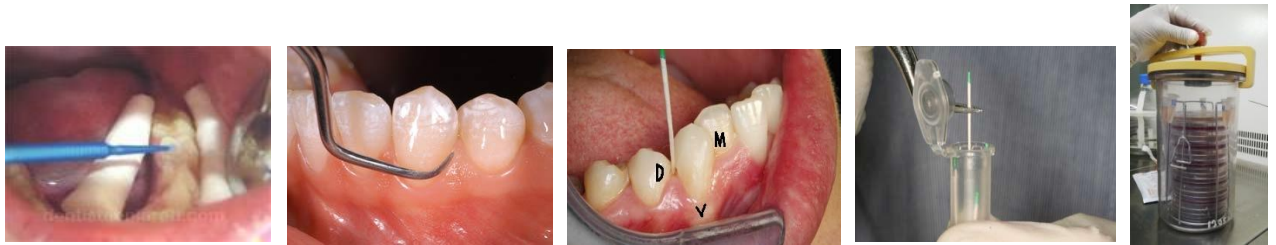
Colonias de *P. gingivalis* y *Prevotella* en agar sangre



Colonias de *A. actinomycetemcomitans* en agar TSBV

Anexo 13

TOMA DE MUESTRA DE PLACA SUBGINGIVAL, TRANSPORTE, SIEMBRA Y OBTENCIÓN DE RESULTADOS.



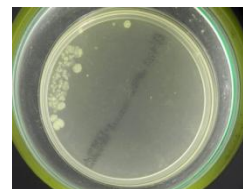
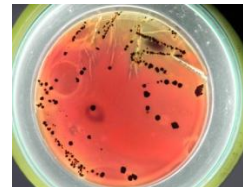
-----Toma de la muestra ----- Traslado en condiciones de anaerobiosis



Siembra de cada muestra en medios de cultivo agar sangre y agar TSBV



Incubación de Porphyromona y Prevotella por 3 – 5 días y Agregatibacter por 5 – 7 días



Identificación de características morfológicas



Tinción gram



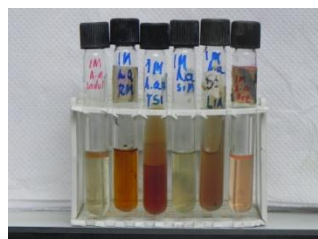
Identificación de características microscópicas



Pruebas bioquímicas (10 por cada bacteria identificada)




Incubación por 72 horas de las pruebas bioquímicas



Obtención de los resultados y traslado de los datos

Anexo 14



Universidad de El Salvador
Centro de Investigación y Desarrollo en Salud
CENSALUD

Ciudad Universitaria, San Salvador, 4 de julio de 2011

Docente
Dr. Oscar Rubén Coto Dimas
Facultad de Odontología
Universidad de El Salvador
Presente

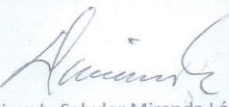

Estimado Dr. Coto Dimas:

Reciba un saludo cordial y deseándole éxito en el desempeño de sus actividades laborales, profesionales y personales.

Adjunto remito a Usted las **Disposiciones Normativas para el Uso o Préstamo de locales y/o laboratorios de CENSALUD**, a la vez que le informo, que se ha autorizado su solicitud, para la utilización del Laboratorio de Microbiología, durante los meses comprendidos de julio a diciembre de 2011, para la realización de del trabajo de Investigación "Análisis e identificación microbiológica de los microorganismos presentes en el surco gingival de pacientes con patología periodontal", del cual Usted es Docente Director.

En cuanto a la colaboración de los responsables de los laboratorios requeridos, deberán ponerse de acuerdo con la Lic. Vianney Castañeda Monroy de Abrego, Jefe Ad interín del Laboratorio de Análisis Clínicos de CENSALUD, para coordinar el apoyo requerido.

Sin otro particular, me suscribo de Usted muy cordialmente.

Dr. Ricardo Salvador Miranda López
Director

HACIA LA LIBERTAD POR LA CULTURA

Final Avenidas Los Héroes y Mártires Caídos el 30 de julio de 1975 (Antes Final 25 Av. Nte. y Calle a San Antonio Abad),
Ciudad Universitaria, Edificio CENSALUD, San Salvador, El Salvador, C. A. - Apartado postal Nº 3110
www.ues.edu.sv/investigacion/cic-ues/censalud - Telefax: (503) 2511-2028

Anexo 17

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
COORDINACIÓN GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN



PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“MICROORGANISMOS PATÓGENOS PREDOMINANTES EN EL SURCO
GINGIVAL DE PACIENTES DE 24-75 AÑOS DE EDAD, CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL CRÓNICA”
(Clínica de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de El Salvador)

AUTORES:

AGUIRRE GODOY, TULIO EDGARDO
MARTINEZ SERRANO, DANIEL JOSUE

DOCENTE DIRECTOR:

DR. OSCAR RUBEN COTO DIMAS

ASESORA METODOLÓGICA:

LICDA. HILDA ELIZABETH MIRANDA LUNA

CIUDAD UNIVERSITARIA, OCTUBRE 2013

ÍNDICE

1.	Introducción.....	4
2.	Planteamiento del problema.....	5
3.	Justificación.....	7
4.	Objetivos.....	8
5.	Marco teórico.....	9
6.	Materiales y métodos.....	13
	6.1 Tipo de investigación.....	13
	6.2 Tiempo y lugar.....	13
	6.3 Variables e indicadores.....	13
	6.4 Población y muestra.....	14
	6.5 Recolección y análisis de datos.....	15
	6.6 Recursos humanos y materiales.....	15
7.	Limitaciones.....	17
8.	Consideraciones bioéticas.....	18
9.	Cronograma.....	19
10.	Bibliografía.....	20
11.	Anexos.....	24

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal, es un proceso infeccioso de la encía y del aparato de inserción y soporte adyacente al diente, el cual es producido por diferentes microorganismos que colonizan el área supra y sub gingival. Este estudio pretende identificar cuatro de estos microorganismos colonizadores que según la literatura están especialmente implicados en dicho proceso, específicamente en la periodontitis crónica, ya que es la más común de todas las formas de periodontitis. ⁽¹⁾⁽²⁾

Aunque se conocen más de 500 especies microbiológicas involucradas en dicha enfermedad, no existen estudios referenciales de la población salvadoreña. Es así como se podrán establecer precedentes, de identificación de microorganismos específicos en la población que asiste a la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador (FOUES) durante el período de octubre a noviembre del 2013; que podrían servir para ahondar en futuras investigaciones, para poder brindar un tratamiento farmacológico específico y más eficiente, y que permita elaborar nuevos protocolos de tratamiento periodontal adecuados a la realidad, entre otras.

Para tal efecto, se utilizará el índice de enfermedad periodontal de Ramfjord, para clasificar la periodontitis de las unidades de análisis, de las cuales también se obtendrán muestras microbiológicas provenientes del surco gingival, introduciendo una punta de papel y luego transportada en infusión cerebro-corazón, BHI, por sus siglas en inglés, para su posterior siembra en agar sangre. Además de tres guías de observación; en la primera se anotarán las características propias de las bacterias a identificar, la segunda guía comprende un cuadro de presencia o ausencia de dichas bacterias en cada una de las muestras obtenidas y la tercera guía es un cuadro general de presencia de las bacterias en estudio.

Los datos obtenidos se vaciarán en una tabla de frecuencias diseñada en Excel 2007 para su posterior análisis, determinación de prevalencia y elaboración de gráficos estadísticos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro de la realidad estomatológica de la población salvadoreña, se encuentra una diversidad de alteraciones en tejidos duros y blandos de la cavidad bucal, condicionado por factores económicos, políticos, sociales y culturales propios. En este sentido Mayorga y otros ⁽³⁾ citan a Ali RW y Sanz M quienes expresan: “La distribución de los microorganismos en la placa dental subgingival varía de un país a otro dependiendo del área geográfica, raza, dieta, nivel de desarrollo y condiciones de vida entre otros, por lo que se recomienda que cada país debe establecer su propio perfil microbiológico en los pacientes con periodontitis”.

La encía, ligamento periodontal, cemento dental y hueso alveolar, conforman una unidad denominada tejido periodontal ⁽⁴⁾, el cual es uno de los tejidos que con frecuencia presenta alteraciones como gingivitis y periodontitis, que son enfermedades causadas por el acúmulo de biofilm y cálculo dental, que a su vez conforman un reservorio ideal para microorganismos patógenos causantes del daño a estos tejidos. Entre éstos microorganismos patógenos se puede mencionar como agentes predominantes asociados a periodontitis crónica a: *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella nigrescens* y *Prevotella intermedia* ⁽⁵⁾, por lo que su identificación y reducción proporciona un equilibrio entre salud y enfermedad periodontal.

La enfermedad periodontal crónica es uno de los diagnósticos más frecuentes, en la población que recibe tratamiento en la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, 42 pacientes de un total de 300 que asistieron a la consulta en la clínica de periodoncia entre julio y diciembre del año 2011 presentaron dicha afección ⁽⁶⁾. La información disponible a través de la investigación en salud bucal por parte del Ministerio de Salud de El Salvador (MINSAL), con respecto a la enfermedad periodontal, es muy poca y no concluyente. Por otra parte en los archivos del Consejo Superior de Salud Pública y universidades del país, no hay estudios registrados sobre la interacción de los microorganismos patógenos más comunes y el daño que causan a los tejidos periodontales de la población salvadoreña.

En el caso de la comunidad bacteriana que habita en el entorno bucal, hay una extensa variedad de microorganismos presentes, más de 500 ⁽⁷⁾, entre ellos los patógenos asociados a la periodontitis crónica, sujetos a estudio por esta investigación; los cuales responden de distintas maneras a diferentes tipos de terapias antibióticas ⁽⁸⁾, por lo que se vuelve necesario el uso de medicamentos de acción específica más que el uso de medicamentos de amplio espectro; referente a lo anterior, Jaffin expresa: “La naturaleza polimicrobiana y la respuesta del huésped al biofilm polimicrobiano provocan una respuesta diferente, a la terapia en cada individuo” ⁽⁹⁾.

En el país, la sintomatología y signos de la enfermedad periodontal, muchas veces crónica y severa, es tratada sin terapias antibióticas que permitan un combate sistémico a los agentes que la provocan, como resultado de no tener una plena identificación de los microorganismos al no realizar cultivos, de ahí la necesidad de conocer:

¿Cuáles son los microorganismos predominantes en el surco gingival de pacientes de 24 a 75 años de edad, con enfermedad periodontal crónica atendidos en la Clínica de Periodoncia de la FOUES?

3. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación, se origina considerando que existe poca información a nivel local en lo que respecta a la patogenia de las enfermedades periodontales de la población salvadoreña; a pesar de que diferentes estudios⁽³⁾ ⁽¹⁰⁾ recomiendan a cada país establecer su propio perfil microbiológico, debido a que los microorganismos involucrados en la periodontitis varían en cada región dependiendo de diferentes factores, tales como el área geográfica, raza, dieta, nivel de desarrollo y condiciones de vida, entre otros.

Por otra parte, en la práctica clínica, muchas veces se observan circunstancias que provocan numerosos fracasos al momento de la medicación, y una de estas causas es la utilización de antibióticos ó medicamentos que no corresponden a la destrucción de microorganismos específicos ya que estos responden de distintas maneras a diferentes terapias antibióticas ⁽¹¹⁾, por lo que se ha considerado la necesidad e importancia de realizar un estudio que identifique los microorganismos patógenos asociados a periodontitis crónica que provocan daño a los tejidos periodontales, de manera que al diferenciarlos por género y especie se pueda determinar cuál o cuáles de ellos presentan una mayor prevalencia dentro de la población en observación, en especial aquellos que presentan enfermedad periodontal crónica entre los 24 y 75 años, edades en las que se establece como uno de los problemas de salud bucal más comunes.

Los resultados pueden servir como un referente, para realizar un abordaje más específico al problema de salud periodontal de la población en estudio.

Además de que instituciones interesadas en salud bucal, profesionales, autoridades, docentes y estudiantes de odontología de las diferentes universidades, pero más específicamente de la FOUES, se puedan interesar y profundizar en la investigación para proponer análisis más amplios sobre los tejidos periodontales como hospederos de vastas cantidades de microorganismos y de la misma manera formular esquemas adecuados de prevención y tratamiento.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar los microorganismos patógenos del surco gingival de pacientes de 24 a 75 años de edad con periodontitis crónica, que asisten a la clínica de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, durante el mes de octubre del 2013.

Objetivos específicos

- d) Diferenciar por género y especie los microorganismos patógenos predominantes encontrados.
- e) Identificar las características propias de cada uno de los microorganismos patógenos predominantes, asociados a periodontitis crónica.
- f) Determinar cuál de los microorganismos patógenos predominantes asociados a periodontitis crónica se presenta con mayor frecuencia.

5. MARCO TEÓRICO

En el campo de estudio, referente a las bacterias presentes en la enfermedad periodontal, existen diversas observaciones que comprenden la interacción entre los microorganismos y el hospedero.

El surco gingival sin alteración presenta características peculiares que permiten el desarrollo y la convivencia de diversos microorganismos. Ureña, en su libro Microbiología Oral, expresa: “El líquido gingival o crevicular contiene abundantes elementos nutritivos que, junto con compuestos enzimáticos, inmunoglobulinas y células, actúan significativamente como determinantes ecológicos”. (12)

En muchos casos de enfermedad periodontal la infección se limita a la encía. Esta inflamación, llamada gingivitis, se caracteriza por el agrandamiento del margen gingival, cambio de color, sangrado y aumento del exudado gingival (13).

La gingivitis puede progresar a una afección crónica llamada periodontitis, esta es una enfermedad infecciosa que puede producir además, pérdida de nivel de inserción, retracción del margen gingival, pérdida de hueso alveolar, exposición de furcación radicular, aumento de movilidad dentaria, migración o exfoliación de los dientes (14).

De los tipos de periodontitis, la periodontitis crónica es la más frecuente, la cual se inicia en el adulto joven y progresa durante toda la vida del individuo, siendo clínicamente significativa a partir de los 35 años de edad (1) (2).

Por otra parte, valorando dos de los parámetros más importantes, profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica, para clasificar la periodontitis crónica, se demuestra que: En el año 2000 se publican unos parámetros a partir de la clasificación del World Workshop de 1999, en el que otorgan a la periodontitis crónica de leve a moderada, las siguientes características:

- Una pérdida de inserción que no supera un tercio de la longitud radicular.
- Si el diente presentara lesión furcal, ésta no superaría la clase I. (15)

Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida estructural del aparato de inserción, producida por determinadas bacterias, éstas son también necesarias pero no suficientes para que se produzca la enfermedad, siendo necesaria la presencia de un hospedero susceptible.

La búsqueda de los agentes etiológicos de las enfermedades periodontales ha progresado durante más de un siglo. Comenzó en la “era de oro de la microbiología” (hacia 1880-1920), cuando se determinaron agentes etiológicos de muchas infecciones médicas importantes. No sorprende que las

investigaciones paralelas sobre la etiología de las enfermedades periodontales se iniciaran en esta era. Durante este período, los investigadores sugirieron cuatro grupos distintos de microorganismos y de posibles agentes etiológicos: amebas, espiroquetas, fusiformes y estreptococos. La base de esta determinación fue al principio la aparente asociación de estos microorganismos con las lesiones periodontales. La identificación del patógeno sospechado estaba muy influida por la naturaleza de las técnicas disponibles. En ese tiempo las más importantes eran el montaje húmedo o la microscopía con frotis bacteriano por tinción y técnicas de cultivo limitadas, las cuales sugirieron diferentes agentes etiológicos. Esta es una situación parecida a la actual. Mientras se dispone de gran variedad de técnicas mejoradas, diferentes técnicas pueden destacar la importancia de los diversos microorganismos ⁽¹⁶⁾.

Actualmente, se ha encontrado una convivencia de alrededor de 500 géneros y especies de microorganismos que en general no son patógenos. Siguiendo los criterios comprendidos en los postulados de Socransky, que determinan las características que debe reunir un microorganismo para ser considerado un patógeno potencial asociado con las diferentes formas clínicas de enfermedad periodontal, se obtiene que: *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens* ⁽⁵⁾, representan los géneros y especies que mayor daño causan a los tejidos periodontales, por lo que estas especies serán sujeto de evaluación en la presente investigación.

Algunos estudios, como el de Guilarte C. citando a Loesche, describen como factor clave para distinguir las especies patógenas gram negativas de otras no patógenas, la capacidad de invasión de éstas bacterias, al interior del tejido conectivo del hospedero ⁽¹⁷⁾.

Para la identificación bacteriana, lo más importante es determinar si se trata de un microorganismo aerobio o anaerobio para elegir el recipiente adecuado para su transporte. En este apartado, todos los microorganismos en estudio son considerados anaerobios, que por definición simple, son aquellos gérmenes que solo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno (O₂) y bajo condiciones de potenciales REDOX (Eh) muy reducidos ⁽¹⁸⁾. Según algunos estudios, entre los medios de transporte ideales para el manejo de anaerobios se encuentran: Port-A-Cul vial (medio de Cary Blair), Port-A-Cul tubo (medio de Cary Blair), Medio de caldo Tioglicolato, Medio de transporte VMGA III (Viability Medium Göteborg Anaerobically), BHI (Brain Heart Infusion) entre otros, lo importante, es procurar un ambiente en el que no haya nutrientes para las bacterias, vitalidad pero no viabilidad. También se ha demostrado que para su mantenimiento entre el período, toma de muestra-cultivo en el laboratorio, transportarlas a temperatura ambiente es lo más indicado. Artículos

sobre microbiología indican una gran variedad de medios de cultivo disponibles, en general vitamina K1 y hemina son los componentes principales de agar sangre, uno de los medios más utilizados, entre los que se puede mencionar agar Brucella o agar Schaedler, que ofrecen una gran viabilidad de crecimiento a las bacterias, o caldo de tioglicolato sin indicador, funcional en casos en que las bacterias se encuentran en cantidades muy pequeñas o en caso de que falle la anaerobiosis en la incubación de los cultivos primarios. Sin embargo, a estos se suman otros elementos capaces de inhibir diferentes tipos de bacterias, para los casos de identificación y aislamiento de anaerobios específicos ⁽¹⁹⁾.

El proceso diagnóstico posterior al transporte y cultivo de un microorganismo involucra la determinación de las características individuales de cada uno de los agentes, tales como la morfología de las especies, lo que puede obtenerse a través de la tinción gram y pruebas bioquímicas (anexo 1), además de la observación microscópica.

Para el caso de los microorganismos en estudio, el cuadro 1 (anexo2), describe las características propias de cada uno de ellos ⁽¹⁹⁾.

Por otra parte, existen estudios en los que se encuentra la relación entre edades, las prevalencias de enfermedades periodontales, y los tipos de microorganismos más frecuentemente encontrados, por ejemplo en un estudio previo realizado en la Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela, en donde se encontró que la distribución de los pacientes con respecto a la edad fue la siguiente: 1 (3,33%) ubicado en el grupo etario entre 20 y 29 años; 6 (20,00%) al grupo ubicado entre 30 y 39 años; 13 (43,33%) ubicados entre 40 y 49 años; 7 (23, 33%) entre 50 y 59 años; y los otros 3 (10, 00%) entre 60 y 69 años de edad. (Gráfico 1, anexo 3)

Referente a la relación entre las especies de bacilos anaerobios gram negativos detectados en los pacientes con periodontitis y la edad, hay que destacar que las especies de *Prevotella* estuvieron presentes en todos los grupos etarios, siendo *P. intermedia* la especie más frecuentemente encontrada en todas las edades, ya que se detectó en 11 (36,66%) de los 30 pacientes, *P. loescheii* se detectó en 5 (16,66%) en edades comprendidas entre 30 y 49 años, y *P. melaninogénica* solo en 2 (6,66%) pacientes con edades entre 30 y 39 años. En cuanto a *P. gingivalis*, esta especie se evidenció en 9 (30,00%) pacientes mayores de 30 años, principalmente en el grupo de pacientes entre 40 y 59 años de edad, en tanto que *Bacteroides* y *F. nucleatum* fueron demostrados en una baja proporción de los pacientes mayores de 50 años (Gráfico 1). Se observó, que el mayor porcentaje de pacientes con periodontitis estuvo representado por adultos mayores de 30 años de edad, principalmente entre 40 - 49 años y por el sexo femenino, así como también, que las especies de *Prevotella* son las más frecuentes en todas las edades y las especies de

Porphyromonas, Bacteroides y Fusobacterium se hallaron con mayor frecuencia en pacientes mayores de 40 años ⁽²⁰⁾.

En el mismo estudio realizado en la Universidad Central de Venezuela, se encontró que en relación a la detección de especies de bacilos anaerobios gram negativos en los pacientes con periodontitis crónica y el sexo de los mismos, es importante destacar que Prevotella intermedia fue la especie que se halló con mayor frecuencia, ya que se pudo encontrar en 8 (26,66%) de los 22 pacientes del sexo femenino y 3 (10,00%) de los 8 pacientes del sexo masculino, seguido de P. gingivalis, especie que se detectó en 7 (23,33%) del sexo femenino y en 2 (6,66%) pacientes del sexo masculino. Las otras especies identificadas, se encontraron en una proporción más baja, P. loescheii se encontró en 5 (16,66%) pacientes y P. melaninogénica en 2 (6,66%) pacientes del sexo femenino, mientras que F. nucleatum (3,33%) y Bacteroides sp. (3,33%) fueron detectados en 1 paciente masculino respectivamente (Gráfico2). Así mismo, se observó que la mayor frecuencia de bacilos anaerobios gram negativos pigmentados fueron detectados en el sexo femenino con 17 casos (56,67%) y 5 (16,67%) casos fueron observados en el sexo masculino (Gráfico2, anexo 4) ⁽²⁰⁾.

También existen investigaciones, en las que se determinó que en relación con el sexo, no se aprecian diferencias importantes, como se puede observar en un estudio realizado en la Facultad de Estomatología “Raúl González Sánchez” Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana.

En la tabla 1 se muestra la distribución porcentual del estado periodontal de los pacientes según edad, sexo e higiene bucal. El 84 % de los pacientes fueron adultos mayores, el 83,3 % de los jóvenes presentó gingivitis, y el 16,6 % periodontitis. El 69 % fueron mujeres, y la gingivitis y periodontitis estuvieron representadas por el 46,9 % y 44,1 %, respectivamente. El 49,5 % presentó mala higiene bucal, y solo el 8 % presentó buena higiene bucal ⁽²¹⁾. (Anexo 5)

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Esta es una investigación descriptiva, dado que se determinará la prevalencia de microorganismos en la periodontitis crónica de la población en estudio, su morfología y la frecuencia con la que estos se presentan en dicha población.

6.2 TIEMPO Y LUGAR

Esta investigación se llevará a cabo en el año 2013, el paso de instrumentos será durante el mes de octubre en la clínica de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

6.3 VARIABLES E INDICADORES

VARIABLES	INDICADORES
d) MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL CRÓNICA	a.1) <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> a.2) <i>Prevotella intermedia</i> a.3) <i>Prevotella nigrescens</i> a.4) <i>Porphyromona gingivalis</i>
e) CARACTERÍSTICAS PROPIAS DE LOS MICROORGANISMOS ASOCIADOS A PERIODONTITIS CRÓNICA	a.1) Cocobacilos de forma circular y de bordes irregulares. a.2) Cocobacilos pleomórficos, Capsulados y Fimbriados. a.3) Cocobacilos capsulados, Convexos, redondos, brillantes, fimbriados e Inmóviles. a.4) Cocobacilos corto de extremos redondeados.
f) MICROORGANISMOS PATÓGENOS QUE SE PRESENTAN CON MAYOR FRECUENCIA	c.1) Número de veces que se presenta cada microorganismo.

6.4 POBLACIÓN

La población en estudio, constará de un total de 20 pacientes de primera consulta en el área de periodoncia, cuyas edades estén comprendidas entre los 24 y 75 años y quienes hayan sido diagnosticados con enfermedad periodontal crónica.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

- Haber asistido por primera vez a la consulta general de la FOUES.
- Tener entre 24 y 75 años de edad.
- Diagnóstico de enfermedad periodontal crónica.

Criterios de exclusión:

- El paciente no puede ser evaluado si no firma el consentimiento informado
- Pacientes embarazadas.
- Pacientes que no presenten ninguno de los “dientes de Ramfjord”.

Procedimiento para la selección de los sujetos de estudio:

Se hará una preselección del total de pacientes que asisten por primera vez, en la fecha determinada por la FOUES para la distribución de estos en el área de diagnóstico; luego de corroborar la edad se seleccionarán aquellos que tengan entre 24 y 75 años de edad, se les explicará brevemente lo que se pretende, lo cual es detallado a continuación, además se le proporcionará una hoja de consentimiento mediante la cual se obtendrá la autorización del sujeto de estudio para que éste sea incluido en la investigación. Una vez informado, el sujeto de estudio será trasladado al espacio de trabajo clínico previamente solicitado a la Dirección de Clínicas de la FOUES.

Procedimiento para establecer el diagnóstico de periodontitis crónica.

Luego de identificar las características clínicas de la enfermedad periodontal, se aplicará el *Índice de enfermedad periodontal* (IEP) elaborado por Ramfjord, en el que se medirá la pérdida de inserción periodontal, introduciendo una sonda periodontal en los sectores mesial, distal, vestibular y lingual de los 6 dientes

preseleccionados (*Dientes de Ramfjord*), tomando en cuenta que si alguno de estos falta no se sustituirá por otro diente presente.

Posteriormente los datos recolectados serán trasladados al cuadro de medición de pérdida de inserción (anexo 6), los cuales serán corroborados por el docente director de la investigación; al tener el diagnóstico establecido, se seleccionarán los primeros 20 pacientes que presenten periodontitis crónica.

6.5 RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para obtener la información requerida, una vez seleccionado el número determinado de pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal crónica, se tomarán muestras de la placa subgingival.

Se aislará el sector con rodetes de algodón estéril, se eliminará la biopelícula supragingival con curetas, se frotará la superficie dentaria con gasa estéril, y se tomará muestra de la biopelícula subgingival con 2 a 3 puntas de papel estériles # 30 – 35 insertándolas un tiempo de 15 a 30 segundos en la bolsa periodontal para luego depositarlas en un medio de transporte BHI, dicha muestra se llevará a temperatura ambiente al laboratorio clínico, en un lapso de dos horas máximo para la respectiva incubación y posterior cultivo en agar sangre por un período de 5 a 10 días; se hará un estudio y análisis a través de la tinción de Gram y pruebas bioquímicas (anexo 1), para realizar el reconocimiento de las características propias de cada uno de los microorganismos patógenos para su identificación de género y especie (anexo 7), y de lo que se obtendrá como resultado, una valoración de la presencia o ausencia de las bacterias patógenas encontradas en la enfermedad periodontal (anexo 8).

El manejo y análisis de las muestras obtenidas se hará en un laboratorio clínico que facilitará la Dirección de CENSALUD.

Una vez realizada la recolección de los datos, se procederá al vaciado de la información obtenida en una tabla de frecuencias, los datos en esta tabla se utilizarán para elaborar gráficos estadísticos que nos indiquen la predominancia de las bacterias en estudio.

6.6 RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

Dentro de los recursos humanos que participarán en la investigación se encuentran: 2 investigadores, 20 pacientes, 1 odontólogo como docente director, 1 docente asesora metodológica, 1 licenciada en laboratorio clínico de CENSALUD y la comisión evaluadora del proyecto de tesis.

Los materiales a utilizar son:

INSUMOS	CANTIDAD
Equipo de bioseguridad	1
Set básico	20
Sonda periodontal	20
Cureta	20
Unidad dental	1
Rodete de algodón	120
Gasa estéril	60
Punta de papel estéril	60
Medio de transporte	20
Placa Petri	20
Computadora	1
Impresora de datos	1
Cartucho de tinta para impresión	1
Resma de páginas de papel bond	1
Discos compactos	2
Microscopio electrónico	1
BHI	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras
Agar sangre	c.s.p. <u>±</u> 20 muestras

c.s.p.: cantidad suficiente para.

7. LIMITACIONES

Dentro de las limitaciones que pueden ser encontradas durante el proceso de investigación se pueden mencionar:

- a. Identificación limitada de cuatro microorganismos, reconocidos en la bibliografía especialmente en el proceso de la periodontitis crónica.
- b. En el país no existen estudios epidemiológicos acerca del tema.

8. CONSIDERACIONES BIOÉTICAS

Para la realización del paso de instrumento a cada paciente que sea parte de la muestra se le solicitará un consentimiento informado, el cual será leído y firmado por parte de este, con el fin de poder ofrecerle libertad individual de participar o no en la investigación. (anexo 10).

Además el paciente, después de concluir el paso del instrumento, puede tener mejor conocimiento de su estado de salud bucal y de las diferentes alternativas de tratamiento mecánico y sistémico a las que puede someterse, en la clínica de periodoncia de la FOUES u otra institución pública o privada.