



UADY
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

**PREVALENCIA DE *Porphyromonas gingivalis* EN
PACIENTES CON PERIODONTITIS**

**Tesis presentada por:
BERENICE ESPINOSA CÓRDOVA**

**En opción al Diploma de Especialización en:
PERIODONCIA**

**Directores:
M. EN O. EDUARDO ALMIGAR SAURI ESQUIVEL
DRA. SANDRA ELENA HERNANDEZ SOLÍS**

Mérida, Yucatán, Diciembre 2020



UADY
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA

**PREVALENCIA DE *Porphyromonas gingivalis* EN
PACIENTES CON PERIODONTITIS**

**Tesis presentada por:
BERENICE ESPINOSA CÓRDOVA**

**En opción al Diploma de Especialización en:
PERIODONCIA**

**Directores:
M. EN O. EDUARDO ALMIGAR SAURI ESQUIVEL
DRA. SANDRA ELENA HERNANDEZ SOLÍS**

Mérida, Yucatán, Diciembre 2020



UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
UNIDAD DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

Mérida, Yucatán, 11 de diciembre de 2020

C. BERENICE ESPINOSA CÓRDOVA

Con base en el dictamen emitido por sus Directores y revisores, le informo que la Tesis titulada "**Prevalencia de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes con periodontitis**", presentada como cumplimiento a uno de los requisitos establecidos para optar al Diploma de la Especialización en Periodoncia, ha sido aprobada en su contenido científico, por lo tanto, se le otorga la autorización para que una vez concluidos los trámites administrativos necesarios, se le asigne la fecha y hora en la que deberá realizar su presentación y defensa.

Dr. José Rubén Herrera Atoche
Jefe de la Unidad de Posgrado e Investigación



M. en O. Eduardo Almigar Sauri Esquivel
Director de Tesis

Dra. Sandra Elena Hernández Solís
Director de Tesis

Dr. Víctor Manuel Martínez Aguilar
Revisor

Dr. Florencio Puada Gordillo
Revisor

Artículo 78 del reglamento interno
de la Facultad de Odontología de la
Universidad Autónoma de Yucatán.

Aunque una tesis hubiera servido para el
examen profesional y hubiera sido
aprobada por el sínodo, solo su autor o
autores son responsables de las doctrinas
en ella emitidas.

Este trabajo se realizó en la Clínica del Posgrado de Periodoncia y el Departamento de Microbiología y Biología Molecular de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán, bajo la dirección del M. en O. Eduardo Sauri Esquivel y la Dra. Sandra Hernández Solís.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros, por la oportunidad que me otorgaron al aceptarme como alumna en la División de Posgrado y hacer este sueño realidad.

A mis directores y revisores, que se comprometieron en este proyecto junto conmigo.

A mis padres y mi hermano, por siempre confiar en cada meta nueva que me planteo.

A mis abuelitos, que siempre he permanecido en sus oraciones.

A mi familia, por sus ánimos a la distancia.

A Dios por darnos vida y salud.

DEDICATORIA

Esta tesis es resultado del reloj al levantarme a las 6:00 am, a la perseverancia, al tope tan alto que puse cuando decidí estudiar odontología, a dejar lejos a mi familia por un sueño que estuvo pausado varios años, al esfuerzo que hicieron ellos para seguirme preparando, a todos los que en el camino se quedaron y nunca supe cuándo fue el último abrazo, a la vida por permitirme la oportunidad de seguir con la curiosidad para aprender cosas nuevas.

ÍNDICE

CONTENIDO	
RESUMEN	1
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	2
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1. <i>P. gingivalis</i> Y ENFERMEDAD PERIODONTAL	3
2. PREVALENCIA DE <i>P. gingivalis</i>	6
3. PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA	7
4. <i>P. gingivalis</i> Y LA PLACA BACTERIANA	9
5. <i>P. gingivalis</i> Y SU COAGREGACIÓN BACTERIANA	11
6. ACTUALIZACIONES DE <i>P. gingivalis</i>	12
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS	17
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS ESPECIFICOS	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
POBLACIÓN DE ESTUDIO	20
TIPO DE MUESTREO	21
METODOLOGÍA	22
1. TOMA DE MUESTRA DE LA PLACA BACTERIANA	23
2. EXTRACCIÓN DEL ADN	23
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.	
CLASIFICACIÓN DE PERIODONTITIS POR ESTADIOS	5
TABLA 2.	
MEZCLA DE REACTIVOS PARA PCR	24
TABLA 3.	
DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES DE ACUERDO CON EL ESTADIO DE LA PERIODONTITIS	25
TABLA 4.	
DISTRIBUCIÓN DE <i>Porphyromonas gingivalis</i> EN PACIENTES CON PERIODONTITIS SEGÚN EL ESTADIO DE LA ENFERMEDAD	25

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.	
CUESTIONARIO CORRESPONDIENTE AL ESTUDIO	32
ANEXO 2.	
CONSENTIMIENTO INFORMADO Y VOLUNTARIO DEL PACIENTE	34
ANEXO 3.	
PERIODONTOGRAMA	35

RESUMEN

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) es una bacteria Gram-negativa anaerobia estricta que forma parte de la microbiota patógena en varias enfermedades periodontales caracterizadas por la pérdida de hueso alveolar.

Se realizó la identificación de *P. gingivalis* en pacientes adultos con distintos estadios de periodontitis basados en la clasificación de la AAP del 2017, las muestras fueron recolectadas de los servicios de la Clínica de Admisión y la Clínica de Especialización en Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán. Se analizaron 42 muestras de placa subgingival de pacientes con periodontitis, recolectándose con una cureta estéril tipo Gracey 7/8 (Hu- Friedy), raspando hacia arriba contra la superficie de los dientes posteriores (primeros molares permanentes de ambas arcadas o adyacente). Se determinó el estadio de la Enfermedad Periodontal (EP) según el estado inicial. La presencia e identificación de *P. gingivalis* se realizó a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La prevalencia observada de *P. gingivalis* en la población estudiada fue de 78.56% (33/42). Analizada dicha población es posible concluir que existe una alta prevalencia de *P. gingivalis* en la microbiota subgingival de los pacientes con periodontitis. Se observó un incremento de la frecuencia de *P. gingivalis* de acuerdo al estadio de la enfermedad, ya que fue más alta en el estadio 4 de la periodontitis.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica, de etiología bacteriana y de elevada morbilidad. Es extremadamente prevalente en todo el mundo y afectan aproximadamente a la mitad de la población adulta. Esta enfermedad resulta en la destrucción de los tejidos de soporte del diente con signos y síntomas que incluyen inflamación de las encías y profundización del surco gingival que conduce a la formación de bolsas periodontales, reduciendo la calidad de vida, pues disminuye la función masticatoria y perjudica la estética.

Recientemente se ha reportado que la periodontitis está relacionada con trastornos como la obesidad, síndrome metabólico, diabetes y enfermedades cardiovasculares, se estima que, en Estados Unidos, los datos epidemiológicos recientes sugieren, además, que la Enfermedad Periodontal (EP) afecta a la mitad de su población mayor de 30 años y es la principal causa de pérdida de dientes entre los adultos, por lo que su prevención y tratamiento se consideran de gran importancia.

El desarrollo de la placa dentobacteriana ha sido ampliamente estudiado para determinar la identidad de las especies bacterianas responsables de la iniciación y progreso de la EP, así como los mecanismos bacterianos y del paciente que intervienen en los procesos de destrucción de los tejidos de soporte dental.

Los productos bacterianos de los periodontopatógenos son mediadores inmunes e inflamatorios que pueden alcanzar el torrente sanguíneo atravesando el epitelio alterado del surco/saco periodontal, contribuyendo a la carga inflamatoria global, influyendo sobre patologías en diferentes órganos y sistemas.

De todos los microorganismos aislados de esta lesión, el mas predominante es la *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), que habita el surco gingival y aprovecha las condiciones que da el huésped para generar mayor daño. Esta bacteria produce varios factores de virulencia, así como su capacidad de invadir células periodontales. A lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál será la prevalencia de *P. gingivalis* en la placa bacteriana de pacientes con periodontitis?

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) es un cocobacilo Gram negativo, anaerobia que habita el área subgingival y tiene un papel importante en la etiología y patología de la EP. Mide 0.5 – 0.8 μm , posee abundantes fimbrias, no es esporulado y no tiene flagelos. Su nutrición depende de pequeños péptidos y aminoácidos. Las fimbrias y la cápsula juegan un papel importante como estructuras facultativas implicadas en la virulencia, y las proteasas como productos de secreción en los procesos patogénicos. (1)

1. *P. gingivalis* Y ENFERMEDAD PERIODONTAL

Los tejidos periodontales están constituidos por cuatro tipos de estructuras, las cuales juntas conforman el soporte de los dientes: la encía, el cemento, el hueso alveolar y el ligamento periodontal (2). Las enfermedades de estos tejidos, también llamadas enfermedades periodontales son extremadamente prevalentes en todo el mundo, afectando aproximadamente a la mitad de la población adulta.

La forma más leve de la EP es la gingivitis. Ésta es una afección inflamatoria rápidamente inducible y reversible de la encía, causada principalmente por la acumulación de la biopelícula bacteriana. La combinación de los factores de infección bacteriana, respuesta inflamatoria persistente y susceptibilidad del huésped puede eventualmente inducir la destrucción progresiva de los tejidos periodontales más profundos, lo que se clasifica como una enfermedad distinta llamada periodontitis. Factores de riesgo adicionales incluyen tabaquismo, consumo de alcohol y afecciones sistémicas como la diabetes, osteoporosis, desnutrición y estrés (3,).

Según Chapple, Mealey, Van Dyke y cols. en 2018, la clasificación de la salud gingival y alteraciones gingivales inducidas por placa quedó de la siguiente manera (3):

1. Salud periodontal.
2. Gingivitis inducida por placa bacteriana

- 2.1. Asociada exclusivamente a biofilm
- 2.2. Mediada por factores de riesgo sistémicos o locales
- 2.3. Hipertrofias gingivales inducidas por fármacos

La reciente clasificación de las EP se subdivide en grupos de trabajo y consenso en donde una serie de colaboradores aportaron al tema según su afinidad. El primer grupo de trabajo consensuó que, con fines epidemiológicos, la gingivitis con un periodonto intacto y periodonto reducido en un paciente sin antecedentes de periodontitis se definen como > 10% de localizaciones sangrantes, con profundidad de sondaje de < 3mm. (4,5)

El segundo grupo de trabajo, debatieron la clasificación y definiciones de periodontitis, trastornos periodontales agudos (enfermedades periodontales necrosantes, abscesos periodontales) y lesiones endodóntico-periodontales. La definición de la periodontitis, como característica principal, se considera la pérdida de soporte de los tejidos periodontales debido a la inflamación: habitualmente se utiliza como parámetro la pérdida de inserción clínica (PIC) interproximal de > 2mm o > 3mm en dos o más dientes no adyacentes o bien, pérdida de inserción clínica vestibular > 3mm con bolsas > 3mm en dos o más dientes. Teniendo en cuenta que hay factores que excluyen inmediatamente estos parámetros, tales como: recesiones gingivales por razones traumáticas, caries en la región cervical, pérdida de inserción clínica en la cara distal de un segundo molar (que pudiera estar asociada a una malposición o extracción del tercer molar), lesión endodóntica o fractura radicular vertical. (3,7,5)

La periodontitis, debe ser caracterizada adicionalmente aplicando un abordaje de clasificación mediante estadios y grados. El estadio describe la gravedad de la enfermedad en su presentación inicial y la complejidad prevista del manejo de la enfermedad; adicionalmente, también se registran la extensión y distribución de la enfermedad en la boca. El grado describe la velocidad y el riesgo de progresión, las probabilidades de obtener un mal resultado tras el tratamiento y su impacto sobre la salud general. (6)

Tabla 1. Clasificación de periodontitis por estadios, según la gravedad del diagnóstico inicial (Tonetti y cols. 2018). (6)

Gravedad	Estadio I	Estadio II	Estadio III	Estadio IV
PIC interdental en zona con la mayor pérdida	1-2 mm	3-4 mm	≥ 5 mm	≥ 8 mm
Pérdida ósea radiográfica	Tercio coronal (<15%)	Tercio coronal (15-33%)	Extensión a tercio medio	Extensión a tercio apical
Pérdidas dentarias	Sin pérdidas dentarias por razones periodontales	dentarias por razones periodontales	≤ 4 pérdidas dentarias por razones periodontales	≥ 5 pérdidas dentarias por razones periodontales
Profundidad de sondaje	≥ 4 mm	≥ 5 mm	6-7 mm	≥ 8 mm

P. gingivalis, puede dañar la barrera del tejido epitelial y favorecer la difusión de productos bacterianos tóxicos o puede invadir la membrana basal subepitelial y ganar acceso al tejido conectivo. La actividad queratinolítica producida por proteasas produce cambios en la barrera epitelial, daña células y produce pérdida de estructura del tejido epitelial.(6)

La habilidad que posee para adherirse e invadir las células epiteliales es un mecanismo que permite inducir la respuesta inflamatoria del hospedero. La colagenasa, las toxinas macromoleculares, los lipopolisacáridos, las vesículas de membrana externa y las proteasas asociadas pueden penetrar en tejidos gingivales y provocar una respuesta del hospedero que ocasiona destrucción directa del tejido (1).

Su colonización se ve influenciada por la saliva, que actúa como vector para la transmisión y para la colonización inicial al medio bucal. En el proceso de infección *P. gingivalis* cambia la composición y la cantidad de la microbiota comensal, fenómeno principal que induce la pérdida de hueso alveolar (7).

La propuesta de este estudio consiste en unificar los resultados en base a la más reciente clasificación de las enfermedades periodontales, puesto que el término de “periodontitis crónica” que es ampliamente mencionado en todos los estudios citados

anteriormente, se considera un término que carece de impacto clínico en la actualidad y que se requiere ser actualizado para mantener un diagnóstico certero.

2. PREVALENCIA DE *P. gingivalis*

Los estudios más predominantes acerca de su prevalencia están establecidos por Chile y Colombia, en varias de sus ciudades, y reportan lo siguiente; Goodson y cols., (1991) analizaron 113 adultos con periodontitis encontrándose un 70% de sitios infectados con *P. gingivalis* (8).

Dahlén y cols., (1996) analizaron 20 adultos de una zona rural de Kenya obteniendo un 70% de *P. gingivalis* en comparación con otras bacterias del complejo rojo (9).

Rams y cols., (1997) examinaron 1800 muestras subgingivales de pacientes con periodontitis, la proporción media fue del 23% en comparación con otras bacterias periodontales (10).

Takeuchi y cols., (2003) analizaron 35 pacientes con periodontitis crónica en Japón, detectando que *P. gingivalis*, fue detectada más frecuentemente en sitios con mayor pérdida en los niveles de inserción clínica (NIC) (11).

Lopez y cols., (2004) en un estudio de 26 pacientes con periodontitis en la ciudad de Santiago, determinaron que, entre las 40 especies bacterianas analizadas, todas colonizaron más del 75% de los sitios (excepto *Prevotella intermedia*) y 25 especies colonizaron más del 90% de los sitios, entre los que se encuentran bacterias del complejo rojo (*T. forsythia* y *T. dentícola*), y *P. gingivalis* como la más prevalente (12).

Gajardo y cols., (2005) estudiaron 17 pacientes con periodontitis crónica en la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile en Santiago, obteniendo un 76.47% de *P. gingivalis*, en cultivo microbiológico de muestras de placa subgingival (13).

Mayorga y cols., (2007) analizaron 183 pacientes; 84 con periodontitis crónica, 59 con periodontitis agresiva y 40 individuos sanos, los que se obtuvieron muestras de 6 sitios con mayor profundidad de bolsa y se procesaron mediante cultivo e

identificación de bacterias. Encontraron en los pacientes que padecieron periodontitis crónica y agresiva, alta y similar frecuencia *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*/*P. nigrescens*, *C. rectus*, *Fusobacterium spp* y *E. corrodens*. (14)

Herrera y cols., (2008) estudiaron 37 pacientes con periodontitis crónica, obtuvieron un 83.8% de prevalencia en la detección de *P. gingivalis*, con un 34.01% de UFC por paciente. Compararon sus resultados con los obtenidos en Colombia y España donde se obtuvo 65.9% y 77.8%, respectivamente con una proporción de 5.49% y 22.1% de UFC por paciente (18).

Al relacionar el hábito de fumar, con la presencia de *P. gingivalis*, se obtuvo que un 93.8% presentan la bacteria, en comparación con un 71.4% de los pacientes no fumadores. De acuerdo con el estudio de Ardila Medina *et al.*, (2010) 64.4% de 76 pacientes fumadores con periodontitis presentaban *P. gingivalis* (16).

Los estudios más recientes han sido los siguientes, uno de ellos realizado por Papone y cols., en el que tuvieron el objetivo de determinar cuál especie bacteriana periodontopatógena está presente en las bolsas periodontales de 51 pacientes uruguayos con periodontitis crónica, de los resultados de la PCR multiplex, se demostró que las especies de mayor prevalencia fueron: *F. nucleatum* (100%), *T. forsythia* (92%) y *P. gingivalis* (88%). La gran importancia de la elevada presencia de los últimos dos radica en que son patógenos endógenos, capaces de realizar invasión del tejido epitelial y permitir la entrada de otros microorganismos oportunistas como *Herpes virus*, *Candidas spp.*, entre otros (17).

Otro estudio presentado por Arce *et al.*, (2017) detectó la presencia de *P. gingivalis* por medio de técnicas de microbiología convencional y mediante PCR y se obtuvo una prevalencia del 75.7% en los cultivos microbiológicos, encontrando en promedio 24.1% de UFC por paciente (6). Estos estudios coinciden con los de Takeuchi *et al.*, (2003) donde *P. gingivalis*, fue encontrada en pacientes con un promedio de pérdida de NIC de 5.6 mm (9).

3. PATOGENICIDAD Y VIRULENCIA

Los factores de virulencia de *P. gingivalis* son los lipopolisacáridos (LPS) que permiten la invasión celular epitelial oral por medio de la producción de biopelículas

y desregulan el ciclo celular y las vías de señalización, la cisteína proteasa (gingipaínas R y K), las fimbrias FimA (fimbrias largas), están compuestas principalmente de polímeros de la proteína FimA codificada por el gen *fimA*, mientras que las fimbrias Mfa1 (fimbrias cortas) están compuestas principalmente por la proteína Mfa1, de las cuales algunos subtipos son asociados con mayor frecuencia con la EP debido a sus capacidades adhesivas e invasivas significativamente mayores (FimA II y FimA IV). Las fimbrias largas y cortas inducen diversas expresiones de citoquinas, como IL-1, IL-6 Y TNF- α , que dan como resultado la resorción y pérdida ósea alveolar. De esta manera, *P. gingivalis* engaña y evade el sistema inmunitario, creando un estímulo inflamatorio crónico que promueve la multiplicación celular y la invasión bacteriana (18).

Uno de los procesos de agregación que favorecen a su patogenicidad son los intercambios de genes *fimA*, puesto que genera cambios fenotípicos que incluyen aumento en la cantidad de fimbrias sintetizadas (19).

P. gingivalis, suprime los eventos endocíticos necesarios para la activación del inflammasoma NLRP3 inducida por *F. nucleatum* en los macrófagos. Este mecanismo puede promover el aumento de la comunidad microbiana, ya que la activación del inflammasoma induce prioptosis (un modo pro-inflamatorio de muerte de células líticas) que protege al huésped contra las bacterias patógenas. *P. gingivalis*, también puede manipular adicionalmente respuestas inmunes adaptativas promoviendo selectivamente la diferenciación y el reclutamiento de células CD4+ T-cooperadores 17, que son un subconjunto de células T con un papel potencialmente homeostático pero fuertemente implicado en la destrucción del tejido periodontal. Su efecto subversivo en el complemento no solo protege a la comunidad microbiana, sino que también genera un ambiente inflamatorio nutricionalmente favorable. Así que, teniendo la presencia de un agente patógeno clave junto con otros factores de riesgo, como el genotipo del huésped, estrés, dieta o el hábito de fumar, pueden iniciar y/o exacerbar la periodontitis (7,20).

Otra estructura importante es el polisacárido capsular (PSC), que regula la adherencia entre especies, involucrado en la evasión del sistema inmune del hospedero reduciendo la respuesta proinflamatoria. Existen cepas que pueden ser capsuladas y no capsuladas, las primeras son más resistentes a la fagocitosis, degradación y generan

más baja inducción de la vía alterna del complemento, por otro lado, las cepas no capsuladas causan abscesos localizados no invasivos, mientras que las cepas capsuladas se consideran invasivas. (1)

La capacidad de virulencia que tienen las proteasas de *P. gingivalis* para degradar proteínas del hospedero forma parte de un requisito crítico para su patogenicidad, las cuales actúan sobre diferentes sustratos de la matriz extracelular como; colágeno, elastina, fibrinógeno, ácido hialurónico. (1,21)

Dentro de las funciones más importantes que cumplen las proteasas de *P. gingivalis* son: hidrolizar proteínas para proporcionar aminoácidos a la bacteria, neutralizar el sistema inmune del hospedero, degradar el tejido de soporte periodontal, activar pro-colagenasas del hospedero, regular la adhesión a eritrocitos y otras células, favorecer la adherencia, modificar receptores para las bacterias en superficies orales y modular la fijación de otras bacterias para asegurar su colonización en sitios subgingivales (1,9).

4. *P. gingivalis* Y LA PLACA BACTERIANA

La placa bacteriana es una estructura no calcificada constituida por componentes salivares y numerosos géneros bacterianos en crecimiento continuo. Se forma en la superficie de los dientes y protege contra la colonización de patógenos exógenos (22).

Si bien la biopelícula se compone principalmente de estreptococos y *Actinomyces* spp., muchas otras especies pueden estar presentes y, bajo ciertas condiciones, estas pueden proliferar dando como resultado una biopelícula que no es compatible con la salud. Estas biopelículas pueden inducir enfermedades como caries, gingivitis y periodontitis, que se encuentran entre las infecciones más comunes del hombre (23).

El término “biopelícula” se usa para denotar una comunidad de bacterias envueltas en una masa extracelular polimérica que se acumula en una superficie. Las diferentes especies acumuladas en dicha estructura pueden proteger contra la colonización por patógenos exógenos o constituir el inicio, progresión y destrucción de las estructuras periodontales (21,22).

Las características principales de la biopelícula son las siguientes:

- a. Estructura tridimensional que contiene una o más especies bacterianas.
- b. Se forma en las interfaces: sólido / líquido, líquido / aire, sólido / aire.
- c. Exhibe heterogeneidad espacial debido a gradientes fisicoquímicos y químicos que se desarrollan dentro de él.
- d. Está permeado por canales de agua (debe recordarse que la matriz está altamente hidratada y puede contener hasta un 97% de agua).
- e. Los organismos dentro de él exhiben una marcada disminución en la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y los sistemas de defensa del huésped en comparación con sus contrapartes planctónicas.

Las biopelículas, por lo tanto, son comunidades celulares con una estructura ordenada y un sistema circulatorio, muestran diferentes fisiologías dentro de diferentes regiones, tienen una forma de comunicación intercelular y pueden resistir productos químicos nocivos y otras amenazas de su entorno (23).

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 presencia de altas concentraciones de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* se asocian con la progresión de las lesiones periodontales en pacientes tratados y no tratados (18).

Diversos datos epidemiológicos indican que la periodontitis se presenta con alta prevalencia en la población mundial. En Colombia la EP evaluada mediante la pérdida de inserción clínica afecta al 50% de la población. En su forma generalizada, el 12% de los individuos menores de 35 años muestra pérdida de inserción, la que aumenta después de los 60 años. En la forma avanzada, el 10% de la población presenta pérdida de inserción avanzada (14,22).

P. gingivalis es considerada miembro fundamental de la microbiota patógena en las enfermedades periodontales, principalmente en las que están caracterizadas por la pérdida de hueso alveolar (24).

En uno de los estudios pioneros a cerca del diagnóstico y manejo de la EP en niños y adolescentes por Clerehugh y cols., (2001) se reportaron los factores claves que pueden afectar a los adolescentes, en los cuales se encontró que la microflora oral en la periodontitis, es parecida a los adultos y coincide con los tipos de periodontitis de inicio temprano, incluye espiroquetas, *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *A. actinomycetemcomitans* (25).

5. *P. gingivalis* Y SU COAGREGACIÓN BACTERIANA

La membrana externa bacteriana presenta vesículas con un diámetro que varía entre 30 y 10nm, los cuales sirven como puente de coagregación y son un importante factor en la colonización de la cavidad oral (1).

La coagregación resulta de la interacción específica de proteínas o glucoproteínas de las vesículas y un componente no proteico sobre las otras bacterias, estas vesículas contienen una variedad de enzimas que juegan un rol importante en su virulencia (1).

En la periodontitis, se han encontrado cepas de *P. gingivalis* y *F.nucleatum* fuertemente coagregadas con *H. pylori* (24 - 26).

Zhekai Hu y cols., encontraron que las frecuencias de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nuclearum* y *T. denticola* fueron más altas en las muestras con infección por *H. pylori* que en las que no la tenían, con la excepción de *A. actinomycetemcomitans* (26,27).

Anand y cols., y How y cols., informaron que la salud periodontal suele ser deficiente en adultos, está mayormente caracterizada por bolsas periodontales profundas (mayor o igual a 5 mm) asociada a la infección por *H. pylori* y *P. gingivalis* y que alrededor del 40 – 100 % de los pacientes adultos han sido colonizados por estas bacterias oportunistas (21,26)

Gebara E. y cols., demostraron la capacidad de *H. pylori*, para coagregarse a *F. nucleaum* y *F. periodonticum*, que se consideran colonizadores tempranos y tardíos de la boca (28).

Al ser un anaerobio obligado, *P. gingivalis*, participa como colonizador secundario de la placa dental, adhiriéndose a colonizadores primarios como *Streptococcus gordonii* y *P. intermedia*. El estudio de Bodet y cols., en 2006, demostró que esta bacteria asacarolítica está asociada con *T. dentícola* y *T. forsythia* para formar el complejo bacteriano rojo que es altamente reconocido en las lesiones periodontales avanzadas (29).

6. ACTUALIZACIONES DE *P. gingivalis* Y SU IMPACTO CRECIENTE EN LA SALUD SISTÉMICA

P. gingivalis se considera la principal bacteria periodontopatogena, cuenta con una serie de factores de virulencia incluyendo lipopolisacáridos, hemaglutinina, hemolisina, proteinasas extracelulares y fimbrias, estas últimas principalmente son cilios implicados en la adherencia, invasión y actividad proinflamatoria (1).

Además de ser un factor predominante en la EP, *P. gingivalis* está implicada en condiciones sistémicas, las que se desglosan a continuación.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune e inflamatoria crónica de las articulaciones sinoviales con una prevalencia de 0.5 a 1 % en todo el mundo (19,30). La fisiopatología es bien reconocida, pero su etiología aún se desconoce y se han atribuido a algunas causas las infecciones virales y bacterianas involucradas como posibles factores desencadenantes, especialmente bacterias periodontales como *P. gingivalis*. Este último es el único patógeno conocido que expresa la peptidilarginina deiminasa (PPAD), una enzima responsable del proceso de citrulinación, que produce antígenos que generan respuestas inmunes adaptativas que son casi exclusivas de la AR (19).

Los resultados obtenidos en literatura más reciente han demostrado que los PPAD (peptidilarginina deiminasa) producida por *P. gingivalis*, tienen una influencia significativa en la patogénesis de la artritis reumatoide. Del mismo modo, la

investigación ha demostrado que los pacientes con AR mejoraron o se curaron por completo cuando se retiraron los focos infecciosos periodontales (30).

El efecto de la enzima PPAD producida por la *P. gingivalis* perturba el equilibrio de aminoácidos, el sistema inmunológico y el cuerpo produce anticuerpos contra la citrulinación por autoantígenos. Los resultados mostraron que el ADN de *P. gingivalis* se encuentra no solo en la cavidad oral, sino que también en el líquido sinovial y el plasma. El tratamiento de la EP no solo ayudará a mantener una cavidad oral saludable, sino que también evitará la propagación de bacterias a los tejidos circundantes (30).

En un estudio reportado por Blasco y cols. en 2016 se identificó por medio de un experimento en ratones hembra con periodontopatógenos vivos (*P. gingivalis*, *F. nucleatum* y *P. intermedia*), que existe un fenómeno de resistencia a la insulina en ratas alimentadas con alto contenido de grasa, esto es causado por una respuesta inmune adaptativa específicamente dirigida contra patógenos y asociada a una disbiosis periodontal. En este estudio transversal se mostró que una dieta diabetogénica enriquecida con grasa induce periodontitis a través de un aumento de los patógenos periodontales y la activación de señalización de lipopolisacáridos, también se concluyó que una disbiosis intestinal induce a una enfermedad metabólica, por lo que se establece una correlación positiva entre periodontitis y diabetes tipo 2 (31).

La evidencia epidemiológica sugiere una posible asociación entre la EP y las enfermedades cardiovasculares, que es responsable del 30% de todas las muertes en el mundo. Un estudio realizado por Shiheido y cols., (2016) se observó un aumento significativo en la mortalidad, debido a la ruptura cardíaca, en ratones inoculados con *P. gingivalis*. Los exámenes ultraestructurales revelaron que *P. gingivalis* invadió el miocardio isquémico de los ratones, promoviendo la apoptosis y el aumento de la actividad de MMP-9 en la miocardiopatía posterior al infarto al miocardio, mejorando el estrés oxidativo. Por otro lado, el tratamiento con inmunoglobulina Y, contra la gingipaína disminuyó significativamente la mortalidad de los ratones inoculados. *P. gingivalis*, a diferencia de otras bacterias anaerobias gramnegativas que causan periodontitis, secreta de manera única la cisteína proteinasa gingipaína, que causa la destrucción devastadora de los tejidos (32).

En 2011, Katz y cols., informaron la mayor presencia de *P. gingivalis* en células malignas orales en comparación con células sanas de la encía (33). El carcinoma oral de células escamosas (COCE) es la 6ta neoplasia maligna más frecuente de la cavidad oral y en el mundo, con un pronóstico y tasa de supervivencia pobre, su etiología es multifactorial, pero el consumo de tabaco y alcohol es el factor de riesgo más importante. Aunque la asociación entre bacterias y cáncer no es común, se han descrito varias asociaciones que incluyen vínculos entre *H. pylori* y cáncer de estómago, *S. anginosus* y cáncer oral y esofágico, *S. gallolyticus* y cáncer colorrectal ó *Bacteroides fragilis* y *E. coli* y cáncer de colon. *P. gingivalis* es una bacteria que actualmente está altamente relacionada con la EP y recientemente con el COCE, desempeñando un papel importante en su desarrollo. Sus factores de virulencia inducen diversas expresiones de citoquinas, como IL-1, IL-6 Y TNF- α , creando un estímulo inflamatorio crónico que promueve la multiplicación celular y la invasión bacteriana. Además de la inflamación crónica, la EP podría estar relacionada con COCE, así como otras neoplasias malignas y podría estar involucrado en las etapas de transición epitelial-mesenquimatosa de células malignas, la proliferación neoplásica y la invasión tumoral. Los hallazgos actuales enfatizan la conveniencia de los enfoques de tratamiento y control de la EP como parte de la prevención primaria del COCE. (18)

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN PERIODONTOPATOGENOS

Entre las técnicas moleculares, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la mejor elección capaz de identificar incluso una copia del ADN objetivo a partir de muestras clínicas. (34)

Esta técnica es ampliamente utilizada para diagnosticar varias enfermedades, microorganismos, clonar y secuenciar genes, y realizar investigaciones cuantitativas y genómicas de una manera rápida y altamente sensible.

Los estudios basados en la PCR para la evaluación del nivel de expresión del ARNm de varios marcadores inmunes son útiles para comprender la patogenia de la periodontitis. Clínicamente cobra interés al facilitar la identificación de individuos susceptibles a la periodontitis para determinación de su tipo y frecuencia del tratamiento. (35, 36)

Se han utilizado múltiples métodos experimentales para detectar patógenos periodontales. Sin embargo, más del 50% de las bacterias no pueden ser cultivadas. En los últimos años, se han utilizado técnicas como la PCR, la secuenciación y la hibridación de ADN para identificar especies bacterianas en muestras como la placa y el suelo, y se han encontrado alrededor de 1.000 especies bacterianas en la cavidad oral humana, lo que llevó a un desarrollo en el área de la periodontitis también. Estudios previos encontraron que las enfermedades periodontales ocurrieron debido al cambio de especies bacterianas relacionadas con periodontitis en la placa subgingival (37).

JUSTIFICACIÓN

La cavidad oral se considera como reservorio principal de *P. gingivalis*, interactuando con el biofilm bacteriano el cual incluso se presume le provee de protección local contra la acción de los antimicrobianos.

Con todo este seguimiento, se busca observar su prevalencia por su alta patogenicidad y capacidad infectiva. Las discrepancias encontradas en los estudios de prevalencia de distintas localidades geográficas se han explicado por diferencias étnicas y de hábitos o costumbres.

Aunque la presencia de esta bacteria en algún momento se consideró exclusivamente del medio oral, se puede asegurar su actual impacto en la susceptibilidad del paciente y su capacidad de modificar la salud del huésped relacionándolo con otras patologías de índole sistémico que ponen en deterioro su calidad de vida, a lo que se considera un campo de estudio amplio y sus conclusiones vendrán a mejorar por completo la calidad de vida del individuo que la padece.

Es bien sabido que la presencia de *P. gingivalis* se ha visto altamente influenciada por el grado de periodontitis, higiene oral y estado sistémico del paciente, es por ello por lo que tener certeza de la presencia de esta bacteria, más que su hallazgo, será un indicador de susceptibilidad endémica en nuestra población.

Por lo anterior, se considera de importancia detectar la presencia de *P. gingivalis* en las bolsas periodontales de pacientes que acuden a la Clínica de Posgrado de Periodoncia y que cursan con EP en cualquiera de sus clasificaciones, lo cual orientará a la terapia clínica, así mismo identificar su presencia según la nueva distribución de enfermedades periodontales propuesta en 2017.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de *P. gingivalis* en pacientes con periodontitis que acuden a la clínica de especialización en periodoncia en el periodo agosto 2019 – diciembre 2019.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar *P. gingivalis* en muestras de placa dentobacteriana mediante la prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
2. Establecer la distribución de *P. gingivalis* por estadio de la periodontitis.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO: Estudio descriptivo, transversal, prospectivo.

VARIABLES Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Nombre de la variable	Tipo de variable	Indicador	Escala de medición	Objetivo a cumplir	Análisis estadístico
Periodontitis Estadio I	Variable independiente	Profundidad de sondeo Pérdida radiográfica de hueso Pérdida de inserción clínica Sangrado al sondeo	Bolsas periodontales \geq 4 mm. < 15% tercio coronal de superficie radicular. Distancia entre UCE y fondo del surco de 1 -2 mm. 6 sitios por diente	1	Estadística descriptiva

Periodontitis Estadio II	Variable independiente	Profundidad de sondeo Pérdida radiográfica de hueso Pérdida de inserción clínica	Bolsas periodontales \geq a 5 mm. < 15 - 33% tercio coronal. Distancia entre UCE y fondo del surco, de 3 a 4 mm.	1	Estadística descriptiva
Periodontitis Estadio III	Variable independiente	Profundidad de sondeo Pérdida radiográfica de hueso Pérdida de inserción clínica	Bolsas periodontales \geq a 6 mm. Extensión al tercio medio radicular o más. Distancia entre UCE y fondo del surco, \geq 5 mm.	1	Estadística descriptiva
		Sangrado al sondeo	6 sitios por diente		
		Sangrado al sondeo	6 sitios por diente		

Periodontitis Estadio IV	Variable independiente	Profundidad de sondeo Pérdida radiográfica de hueso Nivel de inserción clínica	Bolsas periodontales \geq a 5 mm. Tercio medio radicular o más. Distancia entre UCE y fondo del surco, \geq a 5 mm. 6 sitios de sangrado por diente	1	Estadística descriptiva
<i>P. gingivalis</i>	Variable dependiente	PCR	Control positivo	1	Estadística descriptiva

POBLACIÓN DE ESTUDIO

1. Universo: Pacientes mayores de edad que acudan a los servicios de la clínica de admisión y la clínica de especialización en periodoncia de la Facultad de Odontología de la UADY.

Muestra: Pacientes adultos que acudan a los servicios de la clínica de admisión y la clínica de especialización en periodoncia de la Facultad de Odontología de la UADY, que se diagnostiquen con periodontitis en el periodo agosto 2019 – diciembre 2019.

3. Criterios de inclusión

- 3.1. Sujetos con diagnóstico de periodontitis

- 3.2. Sujetos que no se encuentren bajo tratamiento antibiótico.

3. Criterios de exclusión

- 3.1. Sujetos fumadores (>10 cigarrillos por día) o alcohólicos.
- 3.2. Mujeres embarazadas y en lactancia.
- 3.3. Sujetos con resistencia o alergia a macrólidos.
- 3.4. Sujetos que hayan recibido tratamiento periodontal seis meses previos a la aplicación de este estudio.
- 3.5. Sujetos con terapia antibiótica actual o durante el último mes.
- 3.6. Sujetos con agrandamiento gingival (bolsas falsas).
- 3.7. Sujetos con enfermedades sistémicas debilitantes.
- 3.8. Sujetos VIH positivos.
- 3.9. Sujetos trasplantados que tomen inmunodepresores.
- 3.10. Embarazadas o población que se encuentre en etapa de lactancia materna.

4. Criterios de eliminación

- 4.1. Sujetos que se nieguen a colaborar con el estudio.
- 4.2. Sujetos que padezcan cualquier variante de la EP (gingivitis o periodontitis necrotizantes).
- 4.3. Sujetos que presenten agudizaciones de las patologías periodontales que impliquen absceso periodontal en cualquiera de sus tipos.

TIPO DE MUESTREO

Se realizó un muestreo no probabilístico a conveniencia.

METODOLOGÍA

La muestra fue recolectada de los servicios de la clínica de Admisión y la clínica de especialización en Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán. A cada participante se les explicó detalladamente su participación en el estudio y se les solicitó la aceptación de este mediante la firma del consentimiento informado.

Se procedió entonces a la obtención de datos pertenecientes a la historia y parámetros clínicos, los cuales fueron recopilados por el mismo investigador.

Se realizó el llenado del formato de Historia clínica, correspondiente a la Unidad de Posgrado e Investigación, para conocer el estado sistémico, además se realizó un cuestionario de condiciones de salud general del paciente (Anexo1) y el consentimiento informado y voluntario del paciente (Anexo 2). Posteriormente se procedió a realizar el examen periodontal, utilizando las barreras básicas de protección, así como instrumentos estériles según marca la NOM-013 para el control y prevención de las enfermedades bucales. Inicialmente se realizó sondeo periodontal utilizando una sonda periodontal UNC-15 (Hu Friedy) para determinar la profundidad el surco gingival/bolsa periodontal midiendo seis sitios por diente (mesio bucal, medio, disto bucal, mesio lingual, medio, disto lingual) en las cuatro hemiarquadas, (excluyendo los terceros molares), el sangrado al sondeo y el nivel de inserción clínica. Los datos obtenidos fueron plasmados en el periodontograma virtual de la Universidad de Oslo (Anexo3).

Para completar el diagnóstico periodontal se realizó examen radiográfico periapical, en donde se evaluó la pérdida ósea asociada al tercio radicular de cada pieza (Tabla 1) para realizar el diagnóstico periodontal. Los parámetros obtenidos se clasificaron de acuerdo a la normativa del Workshop de la Academia Americana de Periodoncia (AAP) y la Federación Europea de Periodoncia (EFP), que se han unido para desarrollar un nuevo sistema de clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales (Caton, Armitage, Berglundh y cols. 2018), con el objetivo de llegar a un consenso sobre una estructura para clasificar y definir la salud y las patologías gingivales, y las enfermedades y las condiciones periodontales. (6)

TOMA DE MUESTRA DE LA PLACA DENTOBACTERIANA

Una semana después de la determinación del estado periodontal, se realizó la toma de muestra de la placa bacteriana. A los sujetos no se les permitió limpiar sus dientes o comer una hora antes de tomar la muestra. La placa se recolectó mediante una cureta estéril tipo Gracey 7/8 (Hu- Friedy), raspando hacia arriba contra la superficie de los dientes posteriores (primeros molares permanentes de ambas arcadas o adyacente), según su presencia en la arcada dental. Las muestras se identificaron y se almacenaron en tubos de polipropileno que contenían 0.5 ml de tampón TE a -20° C para la extracción del ADN en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Yucatán.

EXTRACCIÓN DEL ADN

Las muestras se agitaron en vortex y se centrifugó durante 2 minutos a 10,000 g. Se desechó el sobrenadante y se añadió al sedimento 100 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS). La solución resultante se agitó en vórtex y se centrifugó durante 2 minutos a 5000 g. El sobrenadante se descartó y el sedimento se resuspendió en agua estéril. Los tubos se sumergieron en agua hirviendo durante 10 minutos para la lisis celular y se centrifugaron durante 10 segundos a 13 000 g a 4°C. El material sobrenadante que contenía el ADN se almacenó a - 80°C hasta su uso. (28, 38)

La presencia de *P. gingivalis* fue evaluada mediante PCR, el par de cebadores utilizado fueron homologo al (5' - AGG CAG CTT GCC ATA CTG CG - 3 / 5' - ACT GTT AGC AAC TAC CGA TGT - 3), los cuales amplifican un fragmento de 404 pb. En todas las reacciones se usó un control negativo, sin muestra de ADN y un control positivo, que consistió en el ADN de la cepa *P. gingivalis* ATCC 33277. (38)

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) PARA DETECCIÓN DE *P. gingivalis*.

Las muestras de ADN se mezclaron con los diversos componentes de la mezcla de reacción bajo el siguiente esquema:

Tabla 2: Mezcla de reactivos para PCR

Reactivos	Volumen inicial	Concentración final
Agua libre de nucleasas	17.375 μ l	-----
Solución amortiguadora PCR 10X	2.5 μ l	1X
Mezcla de dNTP 10 mM	0.5 μ l	0.2 mM
MgCl ₂ 50 mM	1 μ l	2 mM
Oligonucleótido sentido (POR1)	0.5 μ l	50 pmol
Oligonucleótido antisentido (POR2)	0.5 μ l	50 pmol
Taq polimerasa 5 U/ μ l	0.125 μ l	1.25 U/ μ l
DNA molde	2.5 μ l	-----
TOTAL	25 μ l	-----

La amplificación se realizó de acuerdo con el siguiente programa: 2 minutos a 95° C, 26 ciclos de: 30 segundos a 94°C, 1 minuto a 60°C, 2 minutos a 72°C y un ciclo final de extensión de 10 minutos a 72°C.

Los productos de la PCR se cargaron en geles horizontales de agarosa al 1.5% en buffer TAE (Tris ácido acético EDTA pH 8) con 1.5 μ l de bromuro de etidio. El tiempo de corrida fue de 30 minutos a 110 volts. Posterior al tiempo de corrida los geles se observaron en el equipo de Foto documentación en presencia de luz ultravioleta. (38)

RESULTADOS

Se analizaron muestras provenientes de 42 pacientes con periodontitis, de los cuales 30 (68.42%) pertenecieron al sexo femenino y 12 (31.58%) al sexo masculino. El promedio de edad fue de 46 años en las mujeres y de 47 años en los hombres.

De acuerdo a los parámetros establecidos por la clasificación de la clasificación de las enfermedades y condiciones periodontales que presentaron los pacientes, se determinaron los diagnósticos individuales, los cuales se reportan dependiendo al estadio (Tabla 3), entre los cuales se encontró una mayor prevalencia del estadio IV con un total de los 17 pacientes correspondientes al 40.47% de la muestra y por otra parte únicamente 5 pacientes presentaron estadio I, correspondiente al 11.9%.

Tabla 3. Distribución de los pacientes de acuerdo al estadio de la periodontitis.

Clasificación	Número	%
Estadio I	5	11.9
Estadio II	7	16.6
Estadio III	13	30.95
Estadio IV	17	40.47

Con respecto a la prevalencia de *P. gingivalis* se encontró que 33/42 (78.56%) de los pacientes resultó positivo a la prueba de la PCR, dando como resultado que los pacientes con estadio IV muestran un resultado positivo y mayormente asociado a la presencia de *P. gingivalis*, condición opuesta a los pacientes de estadio I (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de *P. gingivalis* en pacientes con periodontitis según el estadio de la enfermedad.

Clasificación	No.	(%)
---------------	-----	-----

Estadio I	1	2.38
Estadio II	5	11.90
Estadio III	10	23.81
Estadio IV	17	40.47
Total	33	78.56

Dos pacientes tenían el hábito de tabaquismo, uno clasificado con el estadio 3 y el otro con el estadio 4, ambos resultaron positivos a la presencia de *P. gingivalis*.

DISCUSIÓN

Debido a que *P. gingivalis* ha sido conocida como un agente etiológico y un factor de riesgo importante en la EP, el estudio de su prevalencia es importante para proporcionar datos para un mayor control de complicaciones en estos pacientes.

Los estudios enfocados a su prevalencia, forman parte a su vez la consideración del contenido de la microflora, asociada con la salud, la enfermedad y los distintos estadios, como actualmente se clasifica la periodontitis. Estos temas han tenido un creciente estudio alrededor del mundo, incluyendo nuestro país.

El único estudio realizado en México data de 2005, realizado por Almaguer y cols., en el cual describen la microbiota subgingival de 56 sujetos mexicanos (33 con periodontitis crónica y 23 periodontalmente sanos), a los cuales les fueron tomadas muestras de placa dentobacteriana subgingival evaluadas mediante la técnica “chekerboard” para hibridaciones de DNA-DNA. El análisis arrojó que *P. gingivalis* ($p < 0.001$), *T. forsythensis* ($p < 0.01$), *T. denticola* y *A. actinomycetemcomitans* ($p < 0.05$) presentaron cuentas promedio significativamente mayores en la población de sujetos con periodontitis crónica. Los pacientes con periodontitis, mostraron además proporciones más elevadas de especies del complejo “rojo” y menores proporciones de especies de *Actinomyces* y de especies del complejo “amarillo” cuando fueron comparados con pacientes periodontalmente sanos. A lo que concluyen que debido a la complejidad de la microbiota subgingival en sujetos mexicanos y las diferencias con reportes de otras poblaciones, se requiere profundizar el conocimiento y entendimiento del proceso y desarrollo de la EP en nuestra población. (38)

Un reciente meta-análisis publicado en 2018, realizado por Mohammad Rafiei y cols., reportaron sujetos con periodontitis en una edad promedio de 44.16 ± 8.35 años, en el cual obtuvieron una prevalencia de *P. gingivalis* del 78% y un 34% en individuos sanos, con un promedio de edad de 37.21 ± 7.45 años. (39)

La alta prevalencia de *P. gingivalis* encontrada es similar a la encontrada en otros estudios de sujetos examinados con EP, estos reportan un rango del 50.3% al 89.4% de los casos. (39)

Resultados similares fueron obtenidos por nuestro estudio, en el cual fue analizada la microbiota de 42 sujetos mexicanos diagnosticados con periodontitis distribuyéndose en un 68.42% y 31.58% del género femenino y masculino, respectivamente. En los cuales se obtuvo una prevalencia del 78.56%. Nuestros resultados en comparación a estos resultados nos indican la alta asociación de *P. gingivalis* en la periodontitis, y que esta bacteria incrementa la posibilidad de padecer la enfermedad y se considera como el factor de riesgo potencial principal.

Respecto a la distribución por estadios nuestro estudio es el primero en el país considerando la actualización de la clasificación de las enfermedades periodontales, en el cual se encontró que la periodontitis estadio IV se relaciona en un 40.47% con la presencia de *P. gingivalis* y disminuye paulatinamente en el diagnóstico de periodontitis estadio I reduciendo su presencia hasta en un 2.38%.

Respecto a la distribución bacteriana, los resultados se reportan realizados por Colombo y cols., con población brasileña quienes mediante la técnica de “checkerboard” analizaron un grupo de sujetos con periodontitis que nunca habían recibido tratamiento periodontal, sus resultados muestran una prevalencia para las especies *P. gingivalis* (58%), *P. intermedia* (55%), *F. nucleatum* (56%) y *A. actinomycetemcomitans* (41%). Esto podría interpretarse en el sentido que la población de México es mucho más semejante a la brasileña, empezado por el hecho de ser poblaciones del mismo continente. (40)

Por otro lado, se tiene el hallazgo de un estudio realizado con la misma técnica de identificación realizado en una comunidad rural de indígenas de Centroamérica, específicamente en Guatemala, en el cual se les realizó un examen periodontal completo en 114 sujetos. Las muestras se recolectaron de la placa bacteriana de bolsas periodontales profundas y poco profundas, quienes reportan hallazgos microbiológicos que cuestionan la anterior suposición, los resultados muestran una prevalencia de *P. gingivalis* (31%), *T. forsythensis* (11%) y *T. denticola* (2%), tales resultados son significativamente más bajos que las reportadas en el estudio realizado en México, y

no detectaron *A. actinomycetemcomitans* en ninguna de las muestras analizadas. Sin embargo, estos resultados no fueron asociados a variables como el estado de salud periodontal, presencia de cálculo, signos visibles de inflamación y estado de salud sistémico. (41)

Respecto a la distribución de la microbiota en sujetos con periodontitis crónica según la ubicación geográfica, se reportó un estudio realizado por Haffajee *y cols.*, en el que se analizaron las muestras obtenidas de sujetos de cuatro países diferentes; trece especies diferían significativamente en las proporciones medias, *P. gingivalis* fue la especie que difirió más entre los países (Brasil, Chile, Suecia y E.E. U.U) obteniendo 7.5, 11.9, 1.6 y 6.6 % respectivamente. En este estudio concluyen que los perfiles microbianos de muestras de biofilm subgingival de sujetos con periodontitis crónica mostraron diferencias altamente marcadas, tales diferencias persistieron después de ajustar variables por edad, profundidad de bolsa, género y el hábito de fumar. (42)

Un estudio más reciente realizado en población mexicana fue reportado por Ayala *y cols.*, (2018) en el cual buscan la distribución de genotipos de *P. gingivalis fimA* en pacientes afectados por artritis reumatoide (AR) y periodontitis (PE), en el cual participaron 394 sujetos divididos en cuatro grupos (AR, PE, RA + PE y sujetos sanos). La detección bacteriana y sus genotipos fueron mediante PCR de placa subgingival, en donde encontraron que *P. gingivalis* fue más frecuente en pacientes con artritis reumatoide (82.69%) y el genotipo fimA II fue el más frecuente en todos los grupos, especialmente en el grupo PE + AR (76.71%). (19)

Estos reportes nos llevan a cuestionarnos las diferencias de la microbiota subgingival de sujetos en diversas partes del mundo, su relevancia, la escasa prevalencia reportada, y algo más importante aún, las consideraciones del clínico por los cambios sistémicos que podrían significar en las terapias periodontales realizadas como terapias físicas y/o farmacológicas que actualmente se llevan en nuestro país.

CONCLUSIONES

1. La prevalencia de *P. gingivalis* en paciente con periodontitis crónica fue de 78.56%.
2. Se observó que, a mayor estadio de la periodontitis, la frecuencia de *P. gingivalis* aumentó.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio se desarrolla con base a la Declaración de Helsinki, tiene como propósito mejorar los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y preventivos, así como la comprensión de la etiología y fisiopatología de ambas enfermedades que afectan al ser humano. Se efectuará bajo una serie de requerimientos que cuenta con una justificación razonable de seguridad que no expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación, se contará con un consentimiento informado por escrito del sujeto en quien se realizará la investigación con la certeza que los procedimientos realizados se llevan a cabo por profesionales de la salud en la Unidad de Posgrado e Investigación, vigilados por autoridades competentes. Se considera responsabilidad de la Institución proporcionar atención médica al sujeto que sufra algún daño que se encuentre directamente relacionado con la investigación sin perjuicio de indemnización correspondiente, se garantiza la compensación y el tratamiento adecuado a los pacientes que sufran daños como resultado de su participación en la investigación la comunidad de estudio se verá beneficiada de los conocimientos, prácticas o intervenciones que resulten de la investigación, el protocolo además ha sido enviado al Comité de Bioética para consideración, comentario, consejo y aprobación de investigación antes de comenzar el estudio con un criterio imparcial, transparente y altamente calificado, el cual recibirá un reporte final con los hallazgos y conclusiones, cabe aclarar que el estudio realizado no implica un riesgo adicional a la salud del sujeto, efectos adversos graves o daños irreversibles, y como resultado se obtendrá mejora de la terapéutica en donde se evaluarán las variables dependientes modificadoras del estudio.

ANEXOS

ANEXO 1

CUESTIONARIO CORRESPONDIENTE AL ESTUDIO: “PREVALENCIA DE *Porphyromonas gingivalis* EN PACIENTES CON PERIODONTITIS ”

Nombre del paciente: _____ Sexo: _____ Edad: _____

Si usted es mujer, ¿Actualmente se encuentra embarazada? SI NO

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

¿Actualmente padece alguna enfermedad? SI NO

Especifique: _____

Subraye si padece alguna de las siguientes enfermedades:

- a. Agrandamiento de las encías
- b. Diabetes
- c. Enfermedades cardiovasculares
- d. Artritis reumatoide
- e. Carcinoma oral de células escamosas
- f. Pérdida de dientes por movilidad
- g. Mal aliento
- h. VIH
- i. Tratamiento está bajo quimioterapia y/o radiación por tumores malignos o cáncer
- j. Recientemente trasplantado y toma inmunodepresores

k. Enfermedades debilitantes (bulimia, desnutrición, anemia)

¿Qué medicamentos toma para controlarla y en qué dosis? _____

En el ÚLTIMO MES, ha tomado:

- a. Antibióticos
- b. Pepto bismol
- c. Omeprazol
- d. Esomeprazol
- e. Lansoprazol
- f. Rabeprazol
- g. Pantoprazol
- h. Otros: _____
- i. Dexlansoprazol
- j. Desparasitantes
- k. Medicamentos para quitar dolor y/o fiebre
- l. Aspirina
- m. Paracetamol/naproxeno
- n. Ibuprofeno

ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO Y VOLUNTARIO DEL PACIENTE

Título del protocolo: “DETECCIÓN DE *Porphyromonas gingivalis* EN PACIENTES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL”

Nombre del investigador: C.D. Berenice Espinosa Córdova.

Nombre del paciente: _____ Edad: _____

Como parte de la investigación sobre el desarrollo y prevalencia del *Porphyromonas gingivalis* en las bolsas periodontales, se desarrolló el presente protocolo, el cual tiene un impacto directo sobre la salud general de los pacientes que padecen diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares los cuales, con la presencia de esta bacteria podrían desencadenarse lesiones premalignas.

El paciente se compromete a asistir a la Clínica de Posgrado de Periodoncia en donde se realizará un conjunto de análisis dentales para emitir un diagnóstico periodontal y la toma de la muestra que se analizará por medio de PCR.

El protocolo de toma de la muestra será mediante un instrumento especializado, donde se tomará una porción de la placa bacteriana en la zona de dientes posteriores, según su presencia en la arcada, la cual se estudiará en el laboratorio mediante reactivos especializados.

Posterior a ello se hará un tratamiento inicial periodontal, el cual incluye eliminación de sarro y productos de la inflamación de las encías a profundidad, mediante anestesia local.

Todos los procedimientos periodontales, están confinados en la mejora y preservación de salud del paciente, con la finalidad de evitar daños y secuelas a largo plazo por la presencia y recidiva bacteriana.

Nombre completo y firma de conformidad del
paciente

ANEXO 3. PERIODONTOGRAMA.

der Universität Bern

Departamento de Periodoncia

Periodontograma

Fecha



UNIVERSITÄT
BERN

Apellido del paciente Nombre Fecha de nacimiento

Examen inicial Reevaluación Clínico

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Movilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Implante																
Fuica																
Sangrado al sondaje																
Placa																
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bucal

Palatino

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Placa																
Sangrado al sondaje																
Fuica																
Nota																

Medía de prof. de sondaje = mm
 Medía de nivel de inserción = mm
 % Placa
 % Sangrado al sondaje

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Nota																
Fuica																
Sangrado al sondaje																
Placa																
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Lingual

Bucal

	18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
Margen gingival	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Profundidad de sondaje	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Placa																
Sangrado al sondaje																
Fuica																
Implante																
Movilidad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. M, Parra-Gil MA, Salgado-Morales YP, Muñoz-Guarín E, Fandiño-Henao V. CES odontología : órgano oficial de difusión de la Facultad de Odontología del Instituto de Ciencias de la Salud (CES). CES Odontol [Internet]. 1987;28(1):57–73. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2015000100006&lng=en&nrm=iso&tlng=es
2. Lauritano D, Cura F, Candotto V, Gaudio RM, Mucchi D. PERIODONTAL POCKETS AS A RESERVOIR OF HELICOBACTER PYLORI CAUSING RELAPSE OF GASTRIC ULCER : A REVIEW OF THE LITERATURE. 2015;29(3):123–6.
3. Chapple ILC, Mealey BL, Van Dyke TE, Bartold PM, Dommisch H, Eickholz P, et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Clin Periodontol. 2018;45(March):S68–77.
4. Ramseier C, Mirra D SC y cols. Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive periodontal therapy for at least 5 years. J Clin Periodontol. 2015;42:150–9.
5. Trombelli L, Farina R, Silva CO TD. Plaque-induced gingivitis. Case definition and diagnostic considerations. J Clin Periodontol. 2018;45:S44–67.
6. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. J Periodontol. 2018;89(March):S173–82.
7. Olsen I, Lambris JD, Hajishengallis G. Porphyromonas gingivalis disturbs host–commensal homeostasis by changing complement function . J Oral

Microbiol [Internet]. 2017;9(1):1340085. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1340085>

8. Goodson, J. M.; Tanner, A.; McArdle, S.; Dix, K. & Watanabe SM. Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy III. Microbiological response. *J periodontal Res.* 1991;26(5):440–51.
9. Arce Paniagua M, Ulloa Carmona M, Pozo Hernández P, Bravo Bown J. Detección de *Porphyromonas gingivalis* en Pacientes Adultos con Periodontitis Crónica. *Int J Odontostomatol.* 2017;11(1):13–8.
10. Rams, T. E.; Flynn, M. J. & Slots J. Subgingival microbial associations in severe human periodontitis. *Clin Infect Dis.* 1997;25(Suppl. 2):S224-6.
11. Takeuchi, Y.; Umeda, M.; Ishizuka, M.; Huang, Y. & Ishikawa I. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Japanese population. *J Periodontol.* 2003;74(10):1460–9.
12. López, N. J.; Socransky, S. S.; Da Silva, I.; Japlit, M. R. & Haffajee AD. Subgingival microbiota of chilean patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2004;5(5):717–25.
13. Gajardo M, Silva N, Gómez L, León R, Parra B, Contreras A GJ. Prevalence of Periodontopathic Bacteria in Aggressive Periodontitis Patients in a Chilean Population. *J Periodontol.* 2005;76:289–94.
14. Mayorga-Fayad I, Lafaurie GI, Contreras A, Castillo DM, Barón A, Aya M del R. [Subgingival microbiota in chronic and aggressive periodontitis in Bogotá, Colombia: an epidemiological approach]. *Biomedica* [Internet]. 2007;27(1):21–33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17546221>
15. Herrera, D.; Contreras, A.; Gamonal, J.; Oteo, A.; Jaramillo, A.; Silva, N.; Sanz, M.; Botero, J. E. & León R. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol.* 2008;35(2):106–13.

16. Ardila Medina, C. M.; Alzate Vega, J. & Guzmán Zuluaga IC. Asociación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y microorganismos del complejo rojo con parámetros clínicos de pacientes con periodontitis crónica. *Rev Arch Med.* 2010;14(3).
17. Virginia P, Carolina V, Lourdes Z, Alicia B, Capó C, Luis B, et al. Detección y prevalencia de patógenos periodontales de una población con periodontitis crónica en Uruguay mediante metodología convencional y metagenómica. *Odontoestomatología.* 2018;17(25):23–32.
18. Lafuente Ibáñez de Mendoza I, Maritxalar Mendia X, García de la Fuente AM, Quindós Andrés G, Aguirre Urizar JM. Role of *Porphyromonas gingivalis* in oral squamous cell carcinoma development: A systematic review. *J Periodontal Res.* 2020;55(1):13–22.
19. Ayala-Herrera JL, Abud-Mendoza C, Gonzalez-Amaro RF, Espinosa-Cristobal LF, Martínez-Martínez RE. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* fimA genotypes in patients affected by rheumatoid arthritis and periodontitis. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2018;76(7):520–4. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/00016357.2018.1469788>
20. Taxman DJ, Swanson KV, Broglie PM, et al. *Porphyromonas gingivalis* mediates inflammasome repression in polymicrobial cultures through a novel mechanism involving reduced endocytosis. *J Biol Chem.* 2012;287:32791–32799.
21. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol.* 2016;7(FEB):1–14.
22. Shigueo F, Raslan SA, Cortelli JR. Microbial characteristics in periodontal health and disease. Taubate, Brasil: Departamento de Odontología, Universidade de Taubate; 2003.
23. Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog.* 2001;84(Pt 3):235–

24. Holt, S. C. & Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000*. 2005;38:72–122.
25. Clerehugh V, Tugnait A. Diagnosis and management of periodontal diseases in children and adolescents. *Periodontol 2000*. 2001;26(1):146–68.
26. Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque , saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection. 2014;20(19):5639–53.
27. Hu Z, Zhang Y, Li Z, Yu Y, Kang W, Han Y, et al. Effect of *Helicobacter pylori* infection on chronic periodontitis by the change of microecology and inflammation. *Oncotarget*. 2016;7(41).
28. Gebara ECE, Pannuti C, Faria CM, Chehter L, Mayer MPA, Lima LAPA. Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*. 2004;19(4):277–80.
29. Bodet, C., Chandad, F., and Grenier, D. (2006). [Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis]. *Pathol.-Biol*. 55, 154–162. doi: 10.1016/j.patbio.2006.07.045
30. Kriauciunas A, Gleiznys A, Gleiznys D, Janužis G. The Influence of *Porphyromonas Gingivalis* Bacterium Causing Periodontal Disease on the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Systematic Review of Literature. *Cureus*. 2019;11(5).
31. Blasco-Baque V, Garidou L, Pomié C, Escoula Q, Loubieres P, Le Gall-David S, et al. Periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* drives periodontal microbiota dysbiosis and insulin resistance via an impaired adaptive immune response. *Gut*. 2016;66(5):872–85.
32. Shiheido Y, Maejima Y, Suzuki J ichi, Aoyama N, Kaneko M, Watanabe R, et al. *Porphyromonas gingivalis*, a periodontal pathogen, enhances myocardial vulnerability, thereby promoting post-infarct cardiac rupture. *J Mol Cell*

- Cardiol [Internet]. 2016;99:123–37. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.03.017>
33. Katz J, Onate MD, Pauley KM, Bhattacharyya I CS. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in gingival squamous cell carcinoma. *Int J Oral Sci.* 2011;3:209–15.
 34. M. Sanz, L. Lau, D. Herrera, J.M. Morillo, A. Silva. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review *J. Clin. Periodontol.*, 31 (12) (2004), pp. 1034-1047
 35. T. A. da Costa, M.J.B. Silva, P.M. Alves, J.E.L. Chica E.Z. Barcelos, M.A.A. Giani, G.P. Garlet, J.S. da Silva, V. Rodrigues Júnior, D.B.R. Rodrigues. Inflammation biomarkers of advanced disease in nongingival tissues of chronic periodontitis patients. *Mediat Inflamm.* (2015), p. 983782.
 36. J.M. Logan, K.J. Edwards, N.A. Saunders. Real-time PCR: current technology and applications. *Applied and Functional Genomics*, Health Protection Agency, Caister Academic Press (2009).
 37. Yee JKC. Are the view of *Helicobacter pylori* colonized in the oral cavity an illusion? *Exp Mol Med.* 2017;49(11):e397.
 38. Argelia Almaguer-Flores, Velia Jacobo-Soto, Luis Octavio Sánchez-Vargas ML-C, Eulalio Alcántara-Maruri ILAX-F. Descripción de la microbiota subgingival de sujetos mexicanos con periodontitis crónica. *Rev Odontológica Mex.* 2005;9(1):7–15.
 39. Rafiei M, Kiani F, Sayehmiri K, Sayehmiri F, Tavirani M, Dousti M, et al. Prevalence of Anaerobic Bacteria (*P.gingivalis*) as Major Microbial Agent in the Incidence Periodontal Diseases by Meta-analysis. *J Dent (Shiraz, Iran)* [Internet]. 2018;19(3):232–42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30175194>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6092461>

40. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalem WJ, Mendes MC UM. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2002;73(4):360–9.
41. Dowsett SA, Kowolik MJ, Archila LA, Eckert GJ LD. Subgingival microbiota of indigenous Indians of Central America. *J Clin Periodontol.* 2002;29(2):159–67.
42. Ad H, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Nij L, Subgingival SSS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol.* 2004;31:996–1002.