

ANEXO 2

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES (Licencia de uso)

Bogotá, D.C., _____ 19 de julio 2012 _____

Señores
Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J.
Pontificia Universidad Javeriana
Cuidad

Los suscritos:

_____ **Andrea Marcela Martínez Peña** _____, con C.C. No **53115110**
_____, con C.C. No _____
_____, con C.C. No _____

En mi (nuestra) calidad de autor (es) exclusivo (s) de la obra titulada:

Aislamiento de especies de *Prevotella* y Enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica

(por favor señale con una "x" las opciones que apliquen)

Tesis doctoral Trabajo de grado Premio o distinción: Si No
cual: _____

presentado y aprobado en el año **2011**, por medio del presente escrito autorizo (autorizamos) a la Pontificia Universidad Javeriana para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre mi (nuestra) obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.

En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autorizan a la Pontificia Universidad Javeriana, a los usuarios de la Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J., así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado un convenio, son:

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La conservación de los ejemplares necesarios en la sala de tesis y trabajos de grado de la Biblioteca.	X	
2. La consulta física o electrónica según corresponda	X	
3. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer	X	
4. La comunicación pública por cualquier procedimiento o medio físico o electrónico, así como su puesta a disposición en Internet	X	
5. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previo convenio perfeccionado con la Pontificia Universidad Javeriana para efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones	X	
6. La inclusión en la Biblioteca Digital PUJ (Sólo para la totalidad de las Tesis Doctorales y de Maestría y para aquellos trabajos de grado que hayan sido laureados o tengan mención de honor.)	X	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso mi (nuestra) obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

De manera complementaria, garantizo (garantizamos) en mi (nuestra) calidad de estudiante (s) y por ende autor (es) exclusivo (s), que la Tesis o Trabajo de Grado en cuestión, es producto de mi (nuestra) plena autoría, de mi (nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi (nuestra) creación original particular y, por tanto, soy (somos) el (los) único (s) titular (es) de la misma. Además, aseguro (aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de mí (nuestro) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Pontificia Universidad Javeriana por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaré (continuaremos) conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

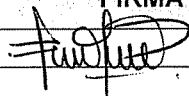
De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Pontificia Universidad Javeriana está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

NOTA: Información Confidencial:

Esta Tesis o Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de una investigación que se adelanta y cuyos

resultados finales no se han publicado. Si No

En caso afirmativo expresamente indicaré (indicaremos), en carta adjunta, tal situación con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

NOMBRE COMPLETO	No. del documento de identidad	FIRMA
Andrea Marcela Martínez Peña	53115110	

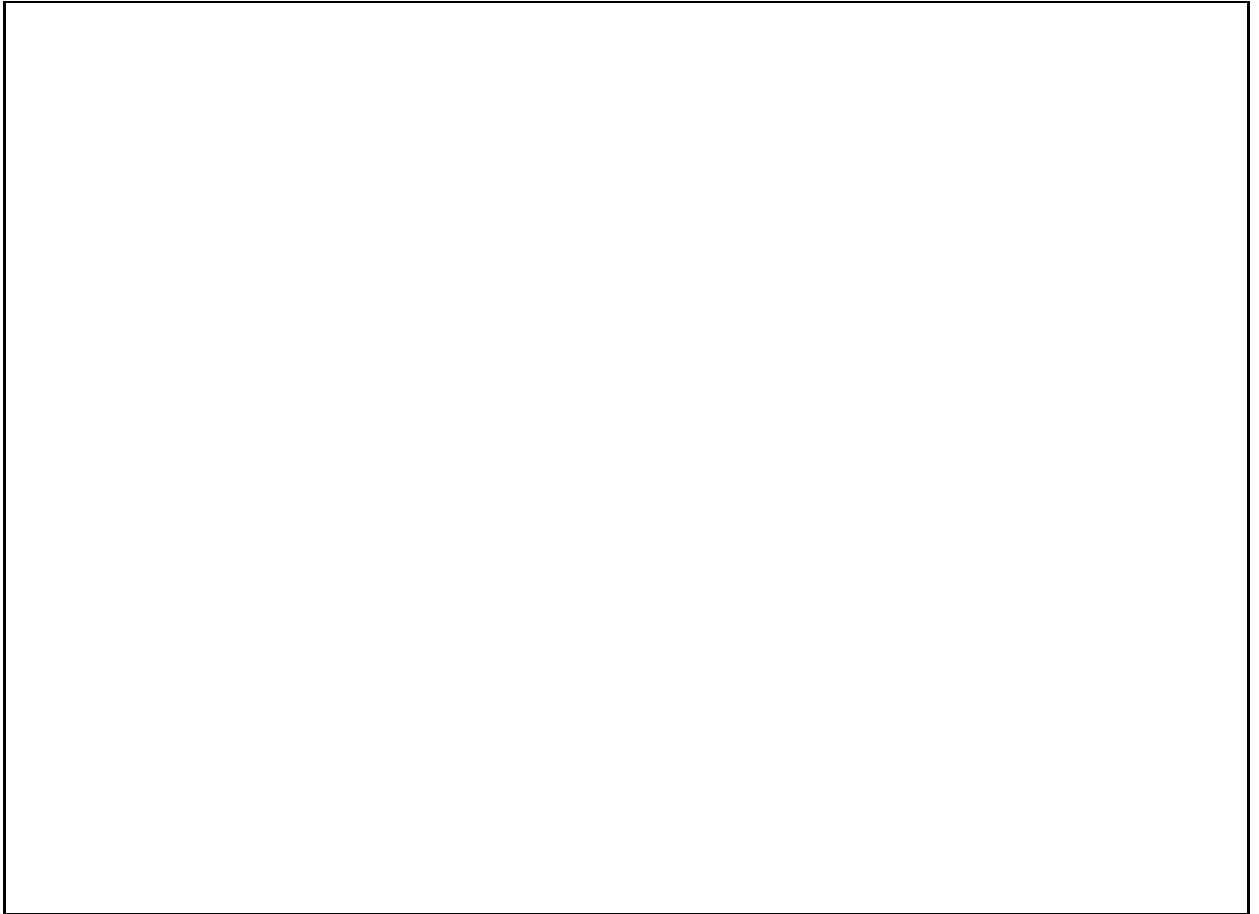
FACULTAD: Ciencias

PROGRAMA ACADÉMICO: Bacteriología

ANEXO 3
BIBLIOTECA ALFONSO BORRERO CABAL, S.J.
DESCRIPCIÓN DE LA TESIS DOCTORAL O DEL TRABAJO DE GRADO
FORMULARIO

TÍTULO COMPLETO DE LA TESIS DOCTORAL O TRABAJO DE GRADO						
Aislamiento de especies de <i>Prevotellay</i> Enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica						
SUBTÍTULO, SI LO TIENE						
AUTOR O AUTORES						
Apellidos Completos			Nombres Completos			
Martínez Peña			Andrea Marcela			
DIRECTOR (ES) TESIS DOCTORAL O DEL TRABAJO DE GRADO						
Apellidos Completos			Nombres Completos			
Gamboa			Freddy			
FACULTAD						
Ciencias						
PROGRAMA ACADÉMICO						
Tipo de programa (seleccione con "x")						
Pregrado	Especialización	Maestría	Doctorado			
X						
Nombre del programa académico						
Bacteriología						
Nombres y apellidos del director del programa académico						
Diana Patiño						
TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:						
Bacterióloga						
PREMIO O DISTINCIÓN (En caso de ser LAUREADAS o tener una mención especial):						
CIUDAD		AÑO DE PRESENTACIÓN DE LA TESIS O DEL TRABAJO DE GRADO			NÚMERO DE PÁGINAS	
Bogotá		2011			34	
TIPO DE ILUSTRACIONES (seleccione con "x")						
Dibujos	Pinturas	Tablas, gráficos y diagramas	Planos	Mapas	Fotografías	Partituras
		X			X	
SOFTWARE REQUERIDO O ESPECIALIZADO PARA LA LECTURA DEL DOCUMENTO						
Nota: En caso de que el software (programa especializado requerido) no se encuentre licenciado por la Universidad a través de la Biblioteca (previa consulta al estudiante), el texto de la Tesis o Trabajo de Grado quedará solamente en formato PDF.						

MATERIAL ACOMPAÑANTE					
TIPO	DURACIÓN (minutos)	CANTIDAD	FORMATO		
			CD	DVD	Otro ¿Cuál?
Vídeo					
Audio					
Multimedia					
Producción electrónica					
Otro Cuál?					
DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVE EN ESPAÑOL E INGLÉS					
Son los términos que definen los temas que identifican el contenido. (En caso de duda para designar estos descriptores, se recomienda consultar con la Sección de Desarrollo de Colecciones de la Biblioteca Alfonso Borrero Cabal S.J en el correo biblioteca@javeriana.edu.co , donde se les orientará).					
ESPAÑOL			INGLÉS		
Enfermedad periodontal			Periodontal disease		
Periodontitis crónica			Chronic periodontitis		
<i>Prevotella</i>			<i>Prevotella</i>		
Enterobacterias			Enterobacteriaceae		
RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLÉS					
(Máximo 250 palabras - 1530 caracteres)					
<p>La enfermedad periodontal se encuentra distribuida a nivel mundial representando uno de los mayores problemas de salud oral después de la caries. En Colombia la búsqueda de especies de <i>Prevotella</i> y <i>Enterobacterias</i> es limitada y escasa, la identificación de microorganismos periodontopatógenos es de gran utilidad para el adecuado abordaje en el cuidado oral preventivo, terapéutico y seguimiento clínico del paciente. Participaron 79 pacientes, 15 con gingivitis y 64 con periodontitis crónica, para el aislamiento de <i>Prevotella</i> se proceso en Agar Wilkins Chalgren suplementado con Hemina y Menadiona y para la identificación se utilizo el sistema RapiD-ANA, para el aislamiento de Enterobacterias se proceso en Agar MacConkey, la identificación se utilizo el sistema API 20E. Pacientes con periodontitis crónica, presentan una mayor frecuencia de <i>P.intermedia</i>, la presencia de <i>enterobacterias</i> en los hombres fue mayor, observándose <i>Serratia liquefaciens</i>.</p> <p>Periodontal disease are widely distributed in the World and represent a major oral health problem, after caries. In Colombia the search for species of <i>Prevotella</i> and <i>Enterobacteriaceae</i> is limited and low, the identification of periodontal microorganisms is very useful for the proper approach in preventive oral care, treatment and monitoring of the patient. Involved 79 patients, 15 with gingivitis and 64 with chronic periodontitis, for the isolation of <i>Prevotella</i> was processed in Wilkins-Chalgren agar supplemented with Hemin and Menadione and was used to identify the RapiD-ANA, for the isolation of <i>Enterobacteriaceae</i> was processed in MacConkey Agar, identification was used to identify the API 20E system. In the results in patients with chronic periodontitis have an increased frequency of <i>P.intermedia</i>, the presence of <i>enterobacteria</i> in men was higher, showing <i>Serratia liquefaciens</i>.</p>					



**Aislamiento de especies de *Prevotella* y Enterobacterias en pacientes con
periodontitis crónica**

ANDREA MARCELA MARTINEZ PEÑA

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
Para obtener el título de
BACTERIÓLOGA**



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA
Bogotá 2011**

**Aislamiento de especies de *Prevotella* y Enterobacterias en pacientes con
periodontitis crónica**

ANDREA MARCELA MARTINEZ PEÑA

Ingrid Schuler, Ph.D.

Decana Académica

Diana Patiño

Bacterióloga, Msc



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE BACTERIOLOGÍA**

**Aislamiento de especies de *Prevotella* y Enterobacterias en pacientes con
periodontitis crónica**

ANDREA MARCELA MARTINEZ PEÑA

Freddy Gamboa
Ph.D en Ciencias Biológicas

Director

Margarita Chaves

Jurado



PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BACTERIOLOGÍA
Bogotá D.C. 2011

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos
por sus alumnos en sus trabajos de tesis.

Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica
y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna,
antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	
INTRODUCCIÓN.....	8
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	10
MARCO TEORICO.....	12
Gingivitis.....	12
Periodontitis.....	13
Patogénesis.....	13
Género <i>Prevotella</i>	14
Factores de virulencia.....	14
Genero Enterobacteria.....	15
Patogénesis de las Enterobacterias.....	15
Prevalencia.....	16
Pregunta de investigación.....	17
OBJETIVOS.....	17
OBJETIVO GENERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Tipo, lugar de estudio y línea de investigación.....	18
Población y muestra.....	18

Aislamiento e identificación.....	12
RESULTADOS.....	19
CONCLUSIONES.....	20
RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS	31

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio de carácter observacional y descriptivo (Casos y Controles). En donde se tomaron muestras de 15 pacientes con diagnóstico de gingivitis y 64 pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica que asistieron a la clínica de pregrado y posgrado de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, con el fin de ver la frecuencia de especies de *Prevotella* y enterobacterias.

Utilizando el sistema de identificación RapiD-ANA para el género *Prevotella* y el sistema de identificación API 20E para el género enterobacteria.

Los resultados obtenidos mostraron que 15 pacientes (100%) 11 mujeres y 4 hombres de los pacientes con gingivitis y 64 (100%) 29 mujeres y 35 hombres de los pacientes con periodontitis crónica, presentaron mayor frecuencia de *Prevotella intermedia*, mientras que los pacientes con gingivitis, del sexo femenino presentan una mayor frecuencia de ambos géneros *Prevotella* y enterobacterias en comparación con los hombres.

En periodontitis crónica los resultados obtenidos mostraron que 64 pacientes (100%) 29 mujeres y 35 hombres, presentaron mayor frecuencia de enterobacterias los hombres que las mujeres.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial representando uno de los mayores problemas de salud oral tanto en países desarrollados como en vía de desarrollo, después de la caries. En Colombia se presenta una alta prevalencia de periodontitis afectando el 50% de la población, presentándose el 12% en individuos menores de 35 años con pérdida de inserción dental; aumentando al 42% después de los 60 años, indicando que es una enfermedad que progresa con la edad.(15)

Las enfermedades periodontales comprenden un grupo de trastornos de origen inflamatorio e infeccioso en los tejidos periodontales; la enfermedad más representativa es la periodontitis. La periodontitis es una enfermedad infecciosa polimicrobiana que genera un proceso inflamatorio en los tejidos de soporte del diente en respuesta a la acumulación de placa bacteriana, causa pérdida de inserción y pérdida ósea, lleva a la formación de bolsas periodontales con profundidades mayores a 5mm; esta asociada a microorganismos Gram-negativos anaerobios que varían en cada región dependiendo de diferentes factores geográficos, raza, dieta, higiene oral etc (2, 15,18)

Las bacterias encontradas en boca son aerobias y anaerobias y forman más de 500 especies que hacen parte de la flora normal en placa dental, dorso de la lengua y saliva; su colonización se debe a las adhesinas y receptores específicos bacterianos; algunas bacterias han sido estudiadas y otras están en proceso de investigación. Entre los microorganismos más representativos se encuentran un grupo de bacilos anaerobios Gram-negativos relacionados en la etiología de la enfermedad periodontal que comprenden los géneros *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, y del género enterobacteria, patógenos oportunistas, como *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Shigella spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Erwinia sp*, entre otros.(1, 3, 10).

Estos microorganismos son esenciales pero insuficientes para causar la enfermedad, existen factores inherentes al huésped como la herencia, factores ambientales, el hábito de fumar, la falta de higiene oral, alimentos o agua contaminada y autoinoculación por los cepillos de dientes que son determinantes en la evolución y severidad de la enfermedad.

En estudios realizados por Ardila (10) y colaboradores se ha documentado la importancia y el papel de la composición microbiana en la enfermedad periodontal. Por ser una enfermedad infecciosa, la presencia de bacterias periodontopatógenas del género *Prevotella* ayudan al inicio de la infección, mientras que la presencia de enterobacterias se ha reportado que son responsables de la progresión de la periodontitis crónica y el fracaso de la terapia periodontal, además de la alta virulencia, presentan asociación con enfermedades sistémicas y multirresistencia antibiótica en especial a la clorhexidina. (16,10)

Estudios realizados en Colombia por Herrera y cols (14) y Mayorga y cols (21) presentan una alta frecuencia de *Prevotella intermedia*, respectivamente, de 72,5% y 72,6% en pacientes con periodontitis crónica, lo que verifica la incidencia de periodontitis en nuestro país. (10,14,16)

Barbosa (20) en 2001 reporta en pacientes con periodontitis crónica procedentes de Brasil una alta frecuencia de enterobacterias 31.2% en edades entre los 17 y 80 años, Mayorga en 2001 y Contreras en 2002 reportaron en Colombia rangos similares de enterobacterias 39.2% y 28.33% respectivamente, así como en estudios realizados en otras poblaciones de Chile y España. (10,14,20)

Por lo anterior es recomendable que cada país tenga su propia identificación del perfil microbiológico en enfermedad periodontal.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

En Colombia la búsqueda de especies de *Prevotella* y Enterobacterias es limitada y escasa, lo que demuestra la importancia de investigar estos microorganismos en pacientes atendidos en las clínicas de pregrado y posgrado de la Facultad de Odontología. La identificación de microorganismos periodontopatógenos clásicos y otros como las enterobacterias es de gran utilidad para el adecuado abordaje en el cuidado oral preventivo, terapéutico y seguimiento clínico del paciente.

JUSTIFICACIÓN

La enfermedad periodontal está ampliamente distribuida en el mundo y representa el mayor problema de salud oral tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. La periodontitis es una enfermedad infecciosa que genera inflamación de los tejidos de soporte dental, pérdida de inserción progresiva y pérdida ósea. En Colombia, la enfermedad periodontal evaluada mediante la pérdida de inserción clínica afecta al 50,2% de la población, lo que ratifica su alta incidencia en nuestro país. En su etiología, no hay una única especie bacteriana implicada, sino que es considerada una infección polimicrobiana en la que están implicados diversos microorganismos. El conocimiento de la presencia, cantidad y distribución de los microorganismos involucrados en la enfermedad periodontal es vital para el avance en la investigación microbiológica, ya que pueden variar de una región geográfica a otra o de un país a otro por aspectos como raza, dieta, nivel de desarrollo y condiciones de vida, entre otros. Diferentes estudios clínicos han identificado de 10 a 15 especies bacterianas con fuerte potencial patógeno periodontal en adultos. Tres de estas bacterias, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* están claramente identificados como agentes etiológicos de enfermedad periodontal. La detección e

identificación de estas bacterias es un indicador muy útil de enfermedad periodontal y de riesgo alto de pérdida de inserción gingival.

Desde hace algunos años se muestra interés por especies bacterianas poco frecuentes en la microbiota subgingival y que podrían contribuir con la patogenia periodontal en personas que no responden adecuadamente a la terapia periodontal. Dentro de estos microorganismos se citan especies de la familia Enterobacteriaceae y bacilos Gram-negativos no fermentadores como especies de *Pseudomonas* y también algunos otros como levaduras y estafilococos. La característica que comparten los microorganismos inusuales es la de ser patógenos oportunistas, es decir que se consideran parte de la microbiota normal en determinados sitios anatómicos y aprovechan algunas condiciones que se dan en el paciente para generar o agravar una enfermedad.

MARCO TEORICO

La enfermedad periodontal representa el mayor problema de salud oral, la forma más severa de la enfermedad está presente en aproximadamente del 10 al 15% de la población adulta mundial, mientras que un 35% presentan signos moderados o leves de la enfermedad.(28), en Colombia se presenta una alta prevalencia de periodontitis afectando el 50% de la población, presentándose en el 12% en individuos menores de 35 años con pérdida de inserción aumentando al 42% después de los 60 años, indicando que es una enfermedad que progresa con la edad.(15)

En los últimos 15 años, varios estudios han reportado asociaciones epidemiológicas entre la periodontitis y enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, los análisis detallados sugieren que esta relación es débil, y que podría resultar de los diferentes estilos de vida y factores de riesgo como el tabaquismo y la diabetes, también de la liberación de productos bacterianos o citoquinas proinflamatorias de la lesión periodontal al torrente sanguíneo.(1,28)

Las enfermedades periodontales comprenden un grupo de trastornos de origen inflamatorio e infeccioso en los tejidos periodontales.(18) entre los que encontramos :

Gingivitis

La gingivitis es la forma más leve de la enfermedad periodontal, afecta del 50 al 90% de adultos en todo el mundo, es causada por un biofilm bacteriano o acumulación de placa bacteriana en los dientes junto a la encía. En esta situación clínica se produce inflamación y sangrado de las encías sin afectar la estructura de soporte del diente, con tendencia reversible si se tiene una buena higiene oral. (1,18).

Periodontitis

La periodontitis crónica es una de las enfermedades periodontales de mayor importancia a nivel clínico, asociada a microorganismos anaerobios Gram negativos; es un proceso inflamatorio que se produce en los tejidos que rodean el diente en respuesta a la acumulación de placa bacteriana (2). Si estas acumulaciones no son retiradas, diversas bacterias por los productos y sus componentes celulares como los lipopolisacáridos (LPS), antígenos o enzimas pueden provocar una respuesta inflamatoria en el tejido gingival, formando cálculos dentales o sarro (2) que conducen a la pérdida de tejido conectivo, evitan la unión de colágeno al diente y afectan el soporte al hueso. En esta enfermedad se forman bolsas de tejido blando con una profundidad $\geq 4\text{mm}$ hasta 12mm entre la encía y la raíz del diente.(1, 2, 10, 18).

La enfermedad progresa a periodontitis severa produciendo el debilitamiento de los dientes, dolor, malestar, problemas al masticar y mal aliento. Esta enfermedad es la mayor causa de pérdida de piezas dentales en adultos.(1), afecta tanto la parte estética, como el bienestar y calidad de vida de las personas. (10).

Sin embargo, la prevalencia, la severidad y la progresión de la enfermedad varían en todo el mundo, se presentan con mayor prevalencia en países subdesarrollados, mayormente en hombres que en mujeres y con gran incremento en menores de 35 años (1, 2)

Patogénesis

Una persona con enfermedad periodontal presenta inflamación gingival y sangrado por la acumulación de placa bacteriana; la respuesta inmune inflamatoria del huésped se da por la actividad de la bacteria que produce enzimas proteolíticas, factores quimiotácticos que reclutan polimorfonucleares y leucocitos que liberan enzimas que dañan el tejido. (1)

Cuando no hay una progresión de la inflamación predominan los linfocitos T y los macrófagos lo que permite controlar la enfermedad; en las lesiones destructivas o formación de bolsas periodontales predominan los linfocitos B y células plasmáticas lo que indica que no hay una buena inmunidad humoral que conduce a la pérdida de la pieza dental.(1)

En la boca encontramos diferentes bacterias aerobias y anaerobias, que forman más de 500 especies y que son flora normal en placa dental, dorso de la lengua y saliva; su colonización se debe a las adhesinas y receptores específicos bacterianos. (1, 3).

Género *Prevotella*

El género *Prevotella* pertenece a la familia *Bacteroidaceae*, son bacilos cortos anaerobios, pleomórficos, inmóviles no esporulados algunos producen pigmentos marrón o negro, son sacarolíticos y resistentes a la vancomicina.(11).

Las especies de *Prevotella* presentan como característica la producción de colonias pigmentadas, no pigmentadas y florecen a la luz UV.(2, 11)

Se considera que el papel de los microorganismos del Género *Prevotella* en el desarrollo de enfermedades periodontales se debe a procesos de sinergia con otros microorganismos (11).

Factores de virulencia

La *Prevotella* presenta factores de virulencia entre los que se encuentran las fimbrias, encargadas de la adhesión, agregación y congregación al microorganismo. Las adhesinas, son moléculas que interactúan con un receptor proteico o polisacárido ubicado en otra bacteria; otras adhesinas como residuos proteicos y glucoproteicos superficiales; tienen la capacidad de degradar inmunoglobulinas, tienen acción sobre los fibroblastos, y actividad fibrinolítica e inhibición de células B. (11)

Así mismo, se ha demostrado una correlación importante entre la presencia de *P. intermedia* con la inflamación y la profundidad del saco periodontal (11). Su identificación se realiza utilizando el sistema de identificación para anaerobios RapiD-ANA II.

Genero *Enterobacteria*

Las especies de este género son bacilos Gram-negativos que forman parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal y se encuentran en el ambiente. Son fermentadores, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados, reducen nitratos a nitritos, oxidasa negativa, catalasa positiva, movilidad variable y son patógenos oportunistas (3, 10)

En estudios microbiológicos en pacientes con periodontitis se ha detectado la presencia de enterobacterias, que muestran gran resistencia a la terapia antimicrobiana. También el LPS presente en su pared estimula la activación celular y la producción de citoquinas proinflamatorias que podrían causar enfermedades sistémicas en estos pacientes, al entrar en el torrente sanguíneo, y podrían llevar a septicemias en pacientes inmunosuprimidos, aumentando el riesgo de un infarto agudo del miocardio, accidente cerebro vascular, bajo peso al nacer y parto pretérmino.(10).

Patogénesis de las enterobacterias

El LPS de la pared celular de las enterobacterias está asociado con shock séptico, procesos alérgicos, desviación de respuesta celular Th2 a fenotipo inflamatorio Th1 por la inducción de citoquinas y son iniciadores de mediadores inflamatorios, activación celular, proliferación, inducción e inhibición de apoptosis.(10)

El complejo LPS-LBP es reconocido por el CD14, estimulando al fagocito a sintetizar una serie de citoquinas como TNF, IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 e IL-15. (10). Además este complejo presenta la capacidad de activar monocitos por la activación de la vía de las citoquinas aumentando el riesgo cardiovascular. (10)

Prevalencia

La prevalencia de las *enterobacterias* varía entre diferentes regiones del mundo, siendo las especies más representativas, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter sakazakii*.

En estudios multicéntricos realizados en Colombia, Chile y España se reportaron prevalencias del 36% y 17.6% en Colombia y Chile, mientras que en España no se encontraron entéricos. (10)

Las especies que se encontraron con mayor frecuencia en el estudio realizado en Colombia fueron *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*. (10).

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

En este contexto se podrían plantear las siguientes preguntas de investigación:

¿Cuál es la frecuencia de especies de *Prevotella*? ¿Cuál es la especie de *Prevotella* más frecuente? ¿Cuál es la frecuencia de enterobacterias en los pacientes con periodontitis crónica? ¿Cuál es la especie enterobacteriana más frecuente?

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de especies de *Prevotella* y *Enterobacterias* en pacientes con periodontitis crónica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aislar e identificar especies de *Prevotella* y *Enterobacterias* en muestras provenientes de pacientes con periodontitis crónica.
2. Determinar la frecuencia de especies de *Prevotella* y *Enterobacterias* en pacientes con periodontitis crónica.
3. Determinar la tasa de coexistencia de especies de *Prevotellas* con especies de *Enterobacterias*.

MATERIALES Y METODOS

Tipo, lugar de estudio y línea de investigación

Este es un estudio de tipo descriptivo realizado en el Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO) de la Pontificia Universidad Javeriana en el área de Microbiología oral.

Población y muestra

Este es un estudio descriptivo. Se incluyeron 79 pacientes, 15 con gingivitis y 64 con diagnóstico de periodontitis crónica generalizada de moderada a avanzada que asistieron a la clínica de pregrado y posgrado de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana. Los 79 pacientes incluidos en el estudio firmaron el consentimiento informado y la encuesta relacionada con la recolección de datos correspondientes a la investigación.

Aislamiento e identificación

Para el aislamiento de los microorganismos, las muestras fueron tomadas de pacientes con periodontitis crónica colocando conos estériles durante 1 min en las bolsas periodontales con una profundidad mayor de 4mm y puestas en 900 μ l de caldo Tioglicolato suplementado con Hemina y Menadiona al (1%). El tubo con los conos se dejó en incubación durante 4 horas a 37°C en anaerobiosis, después del periodo de incubación se centrifugaron las muestras a 400 rpm durante 10 min con el fin de concentrar las bacterias. Finalmente se descartaron 300 μ l y se resuspendió el pellet.

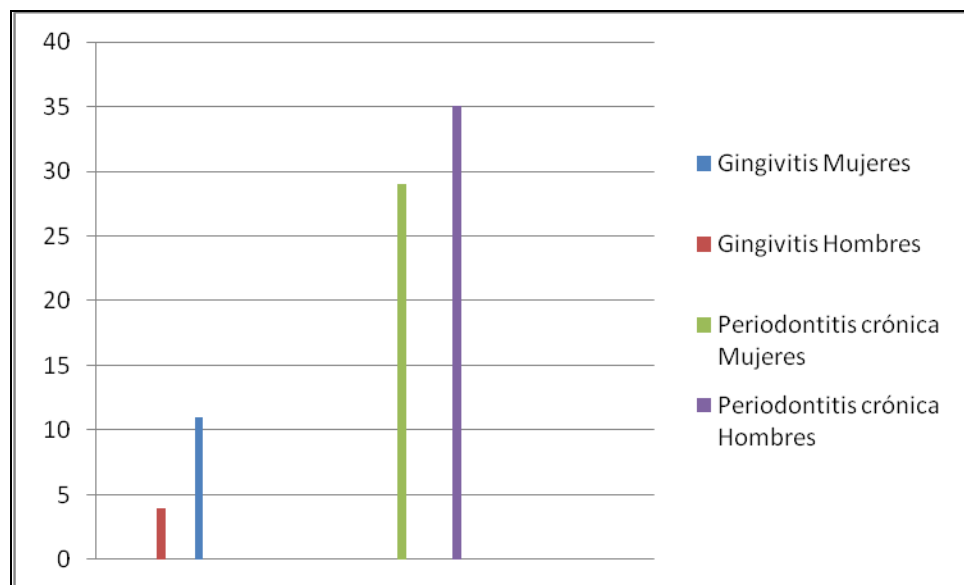
Para el aislamiento de *Prevotella* a partir de la muestra clínica se hicieron diluciones seriadas en base 10, (10^3 , 10^4 , 10^5) y se sembraron 100 μ l de cada dilución en Agar WILKINS-CHALGREN suplementando con Hemina y Menadiona. Los medios se dejaron incubando durante 8 días a 37°C en anaerobiosis, después de la incubación las colonias pigmentadas se pusieron bajo luz UV y las que fluorescieron se tomaron como presuntivas de *Prevotella*. El aislamiento de las colonias presuntivas se realizó en Agar WILKINS-CHALGREN y se identificó utilizando el sistema RapiD-ANA. Finalmente las bacterias se preservaron en Tioglicolato en Glicerol al 3%.

Para el aislamiento de *Enterobacterias* se tomo 50 μ l de la muestra inicial, se sembró en Agar Mac Conkey se dejó incubando durante 24 horas en aerobiosis. La identificación se realizó con el sistema API 20E.

RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 79 pacientes que asistieron a la clínica de pregrado y posgrado de periodoncia de la Facultad de Odontología de la Pontificia Universidad Javeriana, de los cuales 15 pacientes presentaron gingivitis con edades entre los 20-41 años y fueron tomados como pacientes control, 64 pacientes presentaron periodontitis crónica con edades entre los 30-80 años. En los grupos de gingivitis y periodontitis crónica, 11 fueron mujeres y 4 hombres y 29 mujeres y 35 hombres.(Figura1).

Figura 1 Distribución de los pacientes según genero con gingivitis y periodontitis crónica.



Pacientes con gingivitis

Se tomo como grupo control 15 pacientes con gingivitis 11 mujeres y 4 hombres (86,6%) se encontró la siguiente frecuencia del genero *Prevotella* (Tabla 1).

Tabla 1. Principales hallazgos de *Prevotella* en pacientes con gingivitis.

Microorganismo	Presencia <i>Prevotella</i> Mujeres n=11	Presencia de <i>Prevotella</i> en hombres n=4
<i>Prevotella intermedia</i>	8 (72,72%)	1 (25%)
<i>P.intermedia</i> y <i>P. corporis</i>	1 (9,09%)	0
<i>Prevotella melaninogenica</i>	1 (9,09%)	0
<i>P.melaninogenica</i> y <i>P.corporis</i>	1(9,09%)	0
<i>Prevotella disiens</i>	0	1 (25%)
<i>P.intermedia, Pcorporis</i> y <i>P.melaninogenica</i>	0	1 (25%)

En 4 mujeres y 1 hombre (33.3%) de los 15 pacientes afectados con gingivitis se encontró la siguiente frecuencia del genero enterobacteria (Tabla 2).

Tabla 2. Principales hallazgos de enterobacterias en pacientes con gingivitis.

Microorganismo	Presencia de enterobacterias	Presencia de enterobacterias
	Mujeres n=11	Hombres n=4
<i>Erwinia sp</i>	1 (9,09%)	1 (25%)
<i>K.pneumoniae</i>	1 (9,09%)	0
<i>S.liquefaciens</i>	1 (9,09%)	0
<i>Shigella sp</i>	1 (9,09%)	0

Pacientes con Periodontitis crónica

En 24 mujeres y 24 hombres (75%) de los 64 pacientes afectados con periodontitis crónica se encontró la siguiente frecuencia del genero *Prevotella*(Tabla 3).

Tabla 3. Principales hallazgos de *Prevotella* en pacientes con periodontitis crónica.

Microorganismo	Presencia <i>Prevotella</i> Mujeres n=29	Presencia de <i>Prevotella</i> en hombres n=35
<i>P. intermedia</i>	10 (34,4%)	11 (31,4%)
<i>P. corporis</i>	6 (20,6%)	7 (20%)
<i>P. melaninogenica</i>	4(13,7%)	1 (2,8%)
<i>Prevotella disiens</i>	0	1 (2,8%)
<i>P.intermedia</i> y <i>P. corporis</i>	2 (6,8%)	2 (5,7%)
<i>P.melaninogenica</i> y <i>P.corporis</i>	0	1 (2,8%)
<i>P.intermedia</i> y <i>P.disiens</i>	1 (3,4%)	0
<i>P.intermedia</i> y <i>P.melaninogenica</i>	1 (3,4%)	1 (2,8%)

En 10 mujeres y 16 hombres (40,6%) de los 64 pacientes afectados con periodontitis crónica se encontró la siguiente frecuencia de enterobacterias. (Tabla 5).

Tabla 5. Principales hallazgos de enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica.

Microorganismo	Presencia de enterobacterias	Presencia de enterobacterias
	Mujeres n=29	Hombres n=35
S.liquefaciens	0	3 (8,5%)
K.oxytoca	0	2 (5,7%)
S.marcescens	0	1(2,8%)
E.coli	0	1(2,8%)
Erwinia sp	0	1(2,8%)
C.braakii	0	1(2,8%)
S.odorifera	0	1(2,8%)
K.pneumoniae	1 (3,4%)	1(2,8%)
Capnocythophaga sp	3 (10,3%)	1(2,8%)
K.oxytoca y E.coli	0	1(2,8%)
K.pneumoniae y E.cloacae	0	1(2,8%)
K.pneumoniae y Erwinia	0	1(2,8%)
Shigella sp	2 (6,8%)	0
H.alvei	0	0
E.cloacae	1 (3,4%)	0
C. baumanii	1 (3,4%)	0
P.stuartii	1 (3,4%)	0
K.oxytoca y H.alvei	1 (3,4%)	0

Figura 1 Crecimiento de colonias del género *Prevotella* en Agar Wilkins Chalgren suplementado con Hemina y Menadiona.

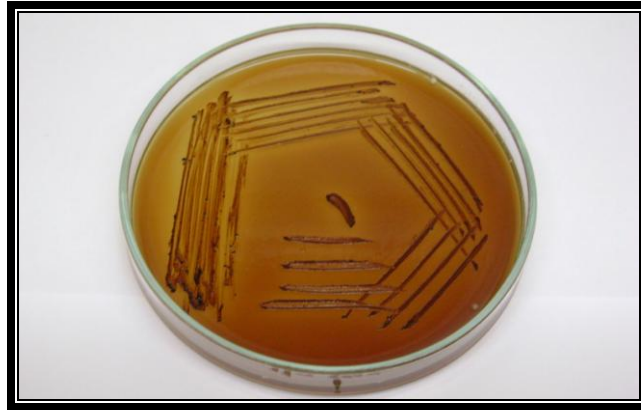
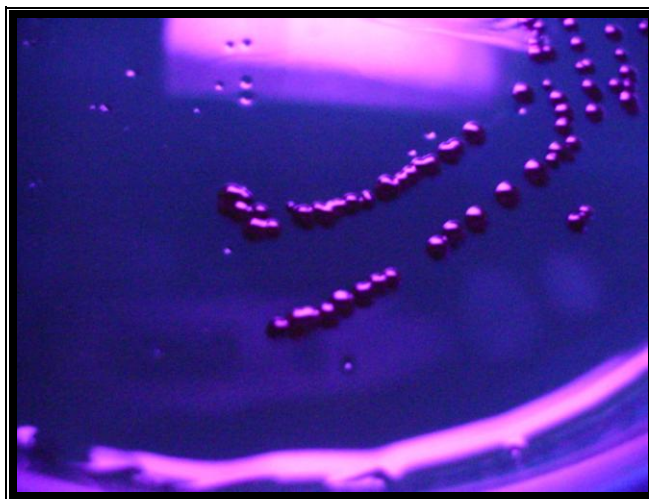


Figura 2. Crecimiento de colonias pigmentadas en Agar Wilkins Chalgren suplementado con Hemina y Menadiona, puestas bajo luz UV presentando fluorescencia presuntivas de *Prevotella*.



Discusión

En este estudio se observó que los pacientes con periodontitis crónica presentaron mayor frecuencia de *P.intermedia* (15-30%) lo que concuerda con resultados obtenidos en estudios realizados por Mayorga y colaboradores con una frecuencia de *P.intermedia* de (72,6%) coincidiendo la alta prevalencia de este género en periodontitis crónica; seguida de *P.corporis* (20,31%); *P.melaninogenica* (7,81%) mientras *P.disiens* presentó baja frecuencia de (1,5%) Tabla 2. El género *Prevotella* y sus especies son de gran importancia clínica; involucrados en infecciones de cavidad oral, cumpliendo un papel importante en la patogénesis de la enfermedad en el caso de *P.intermedia* sus diferentes factores de virulencia, como la capacidad de adhesión e invasión de células epiteliales; su actividad hemolítica y proteolítica ayudan al inicio de la infección.(16)

Mientras que *Serratia liquefaciens* perteneciente al género enterobacteria presentó una mayor frecuencia (4,6%); en pacientes con periodontitis crónica, también fueron hallados entéricos como *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella spp*, *Erwinia sp*, *E.coli*, entre otros lo que concuerda con algunos estudios realizados en España, Chile y Brasil reportando prevalencia de estas enterobacterias. (6, 7, 14, 15).

De los 35 hombres 15 (42.8%) del estudio presentaron mayor frecuencia de enterobacterias a comparación de las 29 mujeres de las cuales 10 (34,4%) presentaron enterobacterias, comparado con los estudios realizados por Slots, Barbosa y Ardila donde también se reportó mayor frecuencia de enterobacterias en hombres que en mujeres llegaron a la conclusión que esta diferencia de géneros podría estar relacionado a hábitos como el tabaquismo, la alimentación y a controles más frecuentes por parte de las mujeres al periodoncista., además el último censo de salud oral en Colombia reportó, que los hombres presentaban mayor prevalencia de enfermedad periodontal por este mismo motivo.(19)

Además se sugiere que la presencia y contaminación con entéricos podría deberse a factores socio económicos, condiciones demográficas y características culturales además de la mala higiene oral, la ingesta de alimentos contaminados, contaminación mano, ano, boca; uso indiscriminado de antibióticos como la terapia sistémica con doxiciclina debido a q produce un sobrecrecimiento de entéricos en pacientes con periodontitis crónica, impidiendo la curación de la infección, uno de los factores más comunes y poco tratados es la autoinoculación con cepillos dentales, raza y ubicación geográfica.(10,15).

Estudios realizados por Ardila y colaboradores han sugerido que la presencia de enterobacterias en periodontitis crónica podría dificultar el cuadro clínico de los pacientes por ser microorganismos oportunistas habitantes usuales del tracto gastrointestinal humano que presentan la capacidad de colonizar y proliferarse en la cavidad bucal actuando como mediadores en la destrucción de tejido periodontal ; también por su alta frecuencia encontrada y reportada en la literatura; se han asociado al riesgo de contraer enfermedades sistémicas; ya sean por asociación causal, sinérgica o desarrollo paralelo, dependiendo de la susceptibilidad de dicha enfermedad y su desarrollo clínico teniendo en cuenta las condiciones inmunológicas y anatómicas del huésped, al ser la periodontitis crónica considerada una infección crónica de impacto sistémico se recomienda mejorar el manejo periodontal en pacientes con riesgo cardiovascular y prenatal.(10).

También actúan principalmente en la resistencia a antibióticos como amoxicilina y metronidazol y clorhexidina; a causa de la falta de control en la prescripción de los antibióticos, influyendo en la resistencia y crecimiento de estos microorganismos en las bolsas periodontales siendo responsables de la respuesta no adecuada a la terapia periodontal, por esto es importante establecer en nuestro país un perfil propio microbiológico para establecer esquemas adecuados de prevención y tratamiento.(14,15).

Sin embargo, para determinar las relaciones entre estos grupos de microorganismos, con los hallazgos clínicos de personas periodontalmente comprometidas y la comparación con individuos con gingivitis, se deberían realizar futuros estudios y así ayudar a comprender la verdadera implicación de la microbiota inusual en la enfermedad periodontal lo cual podría tener un impacto sobre el diagnóstico, pronóstico y tratamiento periodontal de la enfermedad.

CONCLUSIONES

-Este estudio determinó que 15 pacientes (100%) 11 mujeres y 4 hombres de los pacientes con gingivitis y 64 (100%) 29 mujeres y 35 hombres de los pacientes con periodontitis crónica, presentan una mayor frecuencia de *P.intermedia*.

-En cuanto al género se determinó que los pacientes con gingivitis, del sexo femenino presentan una mayor frecuencia de *Prevotella* y enterobacterias en comparación con los hombres, posiblemente por la mayor asistencia al odontólogo por parte de las mujeres.

- En periodontitis crónica tanto mujeres como hombres presentaron igual número de *Prevotella*, mientras que la presencia de enterobacterias en los hombres fue mayor, observándose *Serratia liquefaciens* en un (8,5%) de los hombres.

RECOMENDACIONES

- Aumentar el tamaño de muestra para el grupo control (Gingivitis).
- Tener en cuenta más información sobre los pacientes, como estado socioeconómico, si presentan alguna enfermedad de base, con que regularidad cambian el cepillo de dientes etc.

REFERENCIAS

- 1-Bruce L, Bryan M, Newell J, Periodontal diseases Vol 366 November 19, 2005
Pag 1809–20
- 2- Walter L, Natalie G, Periodontal Disease as a Specific, albeit Chronic, Infection: Diagnosis and Treatment, CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, Vol. 14, No. 4 Oct. 2001, p. 727–752.
- 3- Jorn A, Bruce P, Lauren S, Ingar O Floyd , E. Dewhirst Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity Journal of clinical microbiology Nov. 2005, p. 5721–5732.
4. Guilarte, C Bacterias periodontopatógenas: bacilos anaerobios Gram Negativos como agentes etiológicos de la enfermedad periodontal. Octubre 2003, p 16.
5. Fulgencio S, Esther Bastos, Paulo R, Milton U , Maria C, Luiz F, Elizabeth S, Susceptibility of *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens* (and *Porphyromonas gingivalis*) to Propolis (Bee Glue) and other Antimicrobial Agents, *Anaerobe* (2002) 8, 9–15.
6. Maria A, Whasun C, Marilyn R, Jose F, Antimicrobial Susceptibilities of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, and *Prevotella nigrescens* spp. Isolated in Spain, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* Nov. 1998, p. 3022–3023.
7. Carlos A, Natalia F, Isabel G, Antimicrobial suceptibility of moxifloxacin against Gram –Negative Enteric Rods From Colombian Patients with chronic Periodontitis, *J periodontal* febrero 2010, p 292, 297.
8. Linda. M, Jean S, Linda W, Yolanda P, Becky S, Stephen A, Evaluation of the New RapID-ANA II System for the Identification of Clinical Anaerobic Isolates *Journal of clinical Microbiology*, May 1991, p. 874-878

9. Deborah C, Paul S, Clinical Evaluation of the RapID-ANA II Panel for Identification of Anaerobic Bacteria JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Mar. 1991, p. 457-462.
- 10- Ardila M, Effect of enterobacteriaceae in patients with chronic periodontitis, Av Periodon Implantol. 2010; 22, 1: 27, Volumen 22 - Nº 1 – Abril.
- 11-Elsi B, Germán P, Marianella P, NUEVAS ESPECIES DEL GENERO *Prevotella* Y SU IMPORTANCIA EN EL AREA ODONTOLOGICA -VOLUMEN 47 Nº 4 / 2009.
- 12- P.S. Kumar, A.L. Griffen, J.A. Barton, B.J. Paster M.L. Moeschberger, E.J. Leys, New Bacterial Species Associated with Chronic Periodontitis J Dent Res 82(5):338-344, 2003
- 13-Gloria L, Adolfo C, Demographic, Clinical, and Microbial Aspects of Chronic and Aggressive Periodontitis in Colombia: A Multicenter Study , J Periodontol April 2007, Volumen 78 Numero 4 (629-639).
- 14-Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. J Clinic periodontal 2008; 35: 106-113.
- 15-Fayad L, Lafaurie G, Contreras A, Castillo D, Baròn A, Aya M. Microflora subgingival en periodontitis crònica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. Biomedica 2007; 27:21-33.
- 16- Gursoy UK, Ko"no"nen E, Uitto V-J. *Prevotella intermedia* ATCC 25611 targets host cell lamellipodia in epithelial cell adhesion and invasion. Oral Microbiol Immunol 2009: 24: 304–309. _ 2009
- 17- David A. Tipton, Michael J. Pabst, Edwin L. Thomas, Jegdish P. Babu, Sidney H. Stein, Hiram R. Fry ,Association of high plaque levels of *Prevotella intermedia* with aggressive periodontitis in 16 years old female. Clinical report.
- 18- Mariano S, Francesco D, John D, Francisco F, European workshop in periodontal health and cardiovascular disease—scientific evidence on the association between periodontal and cardiovascular diseases: a review of the literature, European Heart Journal Supplements (2010) 12 (Supplement B), B3–B12.

- 19- Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis. Oral Microbiol Immunol 1990; (5):149-54
- 20- Barbosa FCB, Mayer MPA, Saba-Chuifi E. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol. 2001; (16): 306-310
- 21-Mayorga de Fayad I, Lafaurie G, Galindo R, Hurtado P, Cadena A. Identificación de *P. gingivalis* y bacterias entéricas en pacientes con periodontitis crónica avanzada en una muestra de población de Bogotá D.C. Revista Científica Universidad El Bosque 6. 2000; (1): 30-36
- 22-Goldberg S, Cardash H, Browning H, Isolation of enterobacteriaceae from the mouth and potential association with malodor. J DentRest 1997;(76):1770-75.
- 23-Botero JE, Arce RM, Escudero M, Betancourth M, Jaramillo, A, Contreras A I. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subject in a Colombia population. J Periodontol. 2007; (78): 696-704
- 24-Ali RW, Velcescu C, Jivanescu MC. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. J ClinPeriodontol 1996; (23):133-39.
- 25-Haffajje AD, Borgen A, Hasturk H, Feres M, López NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. J ClinPeriodontol 2004; (31):996-1002
- 26-Colombo AP, Palmier R, Torres MC, Rosalém W., Mendes MC, Souto R, Uzeda M. Effects of Non-Surgical Mechanical Therapy on the Subgingival Microbiota of Brazilians With Untreated Chronic Periodontitis: 9-Month Results. J Periodontol 2005; (76): 778-84
- 27- Dahlen G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of enterococci isolated from root canal. Oral Microbiol Immunol 2000; (15): 309-312

28- Kare B, Anders G, A. Graham P, Johan F, Bjorn Klingea, Risk factors for cardiovascular disease in patients with periodontitis, European Heart Journal (2003) 24, 2099–2107