

Detección de patógenos periodontales de una población con Periodontitis Agresiva en Uruguay mediante metodología convencional y molecular

Detection of periodontal pathogens in a Uruguayan population with Aggressive Periodontitis using conventional and molecular methodology

Andrea Badanian¹, Eduardo Ponce de León², Lucía Rodríguez³, Thais Bascuas⁴, Claudia Capo⁵, Alicia Battle⁶, Luis Bueno⁷, Virginia Papone⁸

DOI: 10.22592/ode2018n32a9

Resumen

Las enfermedades periodontales representan un importante problema de salud que afecta los tejidos de soporte de las piezas dentarias. Dentro de ellas, las Periodontitis Agresivas se caracterizan por su rápida progresión, agregación familiar, pacientes sistémicamente sanos¹ subdividiéndose en localizadas y generalizadas según la extensión del cuadro.

Los microorganismos juegan un papel importante en su etiopatogenia, entre los cuales se encuentran *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*.

El propósito de este trabajo fue estudiar cuáles de estos microorganismos estaba presente en 50 pacientes uruguayos con Periodontitis Agresiva. La detección se realizó con técnica convencional bacteriológica y PCR. En los cuadros generalizados se observó mayor prevalencia de *F. nucleatum* y *P. intermedia* seguido de *P. gingivalis* y *T. forsythia*. En los cuadros localizados destacaron *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans*. En nuestro país se presentó una flora similar a los que figuran en otras localizaciones geográficas.

Palabras clave: prevalencia, microbiota, Periodontitis agresiva.

Abstract

Periodontal diseases are a major health problem affecting tooth supporting tissues. Among them, aggressive periodontitis is characterized by rapid progression, family aggregation, systemically healthy patients¹ and is subdivided into localized and generalized according to the extent of the disease.

Microbiota plays a major role in the etio-pathogenesis of these diseases, including *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* and *Fusobacterium nucleatum*.

The aim of this work was to study the prevalence of these microorganisms in 50 Uruguayan patients with aggressive periodontitis. Detection was conducted with conventional bacteriological techniques and PCR. In the generalized disorders, a higher prevalence of *F. nucleatum* and *P. intermedia* was observed, although *P. gingivalis* and *T. forsythia* were also important. In the localized disorders, *P. intermedia*, *F. nucleatum* and *A. actinomycetemcomitans* were the main ones. A similar flora to other geographical locations was present in our country.

Keywords: prevalence, microbiota, aggressive periodontitis.

- 1 Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0001-8397-6639
- 2 Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0002-6702-8046
- 3 Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0002-9221-6671
- 4 Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0002-3011-2201
- 5 Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0001-9888-506X
- 6 Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0002-7307-2625
- 7 Cátedra de Periodoncia, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0002-7837-6492
- 8 Cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. ORCID: 0000-0003-4403-3376

Introducción y antecedentes

Las Periodontitis Agresivas son enfermedades periodontales destructivas que pueden afectar la salud de la dentición primaria o permanente y en un período corto de tiempo pueden llevar a la pérdida de los tejidos de soporte del diente. El término Periodontitis Agresiva fue aprobado en el *Workshop for the Classification of the Periodontal Diseases and Conditions* organizado por la *American Academy of Periodontology* (AAP) en 1999 para definir un grupo de enfermedades periodontales destructivas con una progresión rápida, clasificación vigente al momento de la realización de este trabajo ⁽²⁻⁴⁾.

Las Periodontitis Agresivas pueden presentarse en forma localizada Periodontitis Agresiva Localizada (PAL) o generalizada Periodontitis Agresiva Generalizada (PAG) de acuerdo a la extensión de la destrucción periodontal ⁽¹⁾.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades periodontales graves, que pueden desembocar en la pérdida de dientes, afectan a un 15%-20% de los adultos de edad media (35-44 años) ⁽⁵⁾. En cuanto a los cuadros agresivos, Albandar menciona que la prevalencia de la Periodontitis Agresiva es variable si se toma en cuenta diferentes localizaciones, si bien muchos de estos estudios utilizaron variables y metodologías diferentes. La prevalencia de la Periodontitis Agresiva Localizada varía considerablemente entre continentes y las diferencias entre razas/etnias parece ser un factor importante. Diferentes estudios mostraron en forma consistente que la Periodontitis Agresiva es más prevalente en África y en poblaciones afrodescendientes y menos prevalente en población caucásica de Europa y Norteamérica. Entre niños y adultos jóvenes la prevalencia es superior en el grupo etario mayor que en los más jóvenes ⁽⁶⁾. En Europa la prevalencia de la Periodontitis Agresiva es baja entre 0.1% y 0.2% y prevalencias más altas entre 3 y 10% en Brasil y Estados Unidos ⁽⁷⁾. En América Latina, estudios muestran que la prevalencia de la Periodontitis Agresiva es mayor en esta región

que en los países industrializados. El rango de prevalencia varía entre 0.3% a 4.5% siendo la forma localizada la menos prevalente ⁽⁸⁾. A nivel mundial, la prevalencia de PAL es menor a 1%, la de PAG es de 0.13% ⁽⁹⁻¹⁰⁾.

Los cuadros de Periodontitis Agresivas responden a un origen multifactorial como es la respuesta del hospedero, factores genéticos y la microbiota subgingival ^(6,9,11).

Algunas de las especies bacterianas patógenas que han sido asociadas con el desarrollo de la Periodontitis Agresiva son: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) ^(2,12) y *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) ⁽¹³⁾ siendo el primero particularmente importante en cuadros localizados ⁽¹⁴⁻¹⁵⁾ y el segundo en generalizados ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾ pero también se han relacionado otro grupo de periodontopatógenos como *Tannerella forsythia* (*Tf*), *Prevotella intermedia* (*Pi*) ⁽¹⁻¹⁵⁾ y *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) ⁽¹⁵⁾.

En Uruguay se han realizado estudios utilizando metodologías de identificación bacteriológicas tradicionales pero no existen hasta el momento estudios en relación a los niveles de prevalencia simultánea de los patógenos periodontales mencionados anteriormente en los cuadros de Periodontitis Agresiva. Por otra parte, las técnicas bacteriológicas tradicionales presentan ciertas limitaciones como el mantenimiento de la viabilidad de la muestra, el tiempo de desarrollo bacteriano (de 7 a 15 días) así como la dificultad del crecimiento bacteriano ya que responden a microorganismos que requieren nutrientes particulares y son en su mayoría anaerobios estrictos. Además el reconocimiento bacteriano implica la realización de pruebas adicionales, como pruebas bioquímicas, para la identificación de la especie ⁽¹⁷⁾.

Con la introducción de los métodos de estudio moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha podido ampliar y simplificar los estudios de la composición de la microbiota oral de los pacientes con patologías periodontales, mejorando la sensibilidad, especificidad y eficiencia ⁽¹⁸⁾.

En nuestro trabajo se analizó la presencia de cinco patógenos periodontales: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* y *Fusobacterium nucleatum* en las bolsas periodontales de pacientes uruguayos de la Clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de la República de Uruguay. Las técnicas de identificación microbiológica incluyeron técnicas bacteriológicas tradicionales así como técnicas de identificación del material genético presente a través de PCR⁽¹⁷⁾.

Con este estudio se pudo identificar qué microorganismos están presentes y son más prevalentes en los cuadros de Periodontitis Agresiva en Uruguay tanto en los cuadros generalizados como localizados y determinar si se mantienen los niveles de prevalencia que aparecen en otras localizaciones geográficas.

Además, permitió correlacionar las técnicas bacteriológicas tradicionales con las técnicas moleculares.

Metodología

Se seleccionaron 50 pacientes de la Clínica de Periodoncia de la Facultad de Odontología con cuadros de Periodontitis Agresiva, sin previo tratamiento periodontal y que hayan firmado el consentimiento informado. Se exceptuaron pacientes con Diabetes, Artritis, Colitis Ulcerativas, VIH, Cáncer y Patología Cardiovascular, mujeres embarazadas y aquellos que recibieron tres meses antes tratamientos con antibióticos y/o antiinflamatorios. El comité de ética de la Facultad de Odontología UDELAR, aprobó el diseño del estudio basándose en la normativa MERCOSUR y la Declaración de Helsinki sobre la experimentación en la cual participan seres humanos.

Las muestras se obtuvieron removiendo la placa supragingival evitando el sangrado usando gasa estéril. La toma se realizó introduciendo puntas estériles de papel medianas (N°25) en lo más profundo de la bolsa y dejándolas durante 15 se-

gundos. Luego de esto, se colocaron en 1.5 ml de medio reducido RTF (*Reduced Transport Fluid*)⁽¹⁸⁾. Cada muestra constó de 8 puntas de papel de 4 sitios seleccionados en cada cuadrante.

El diagnóstico bacteriológico a través de metodología tradicional se realizó para *A. actinomycetemcomitans* y para los anaerobios pigmentados *P. gingivalis* y *P. intermedia*. La identificación por PCR se realizó además de los anteriormente mencionados para *T. forsythia* y *F. nucleatum*. Las muestras se procesaron en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología realizando la agitación rigurosa durante 45 a 60 segundos y posteriormente realizando diluciones seriadas en RTF. Se tomaron 100 µl de la muestra colocándolos en un tubo *Eppendorf* con otros 900 µl de RTF logrando una dilución de 1:10. De ésta se sembraron 100 µl expandiendo la muestra con una varilla de vidrio sobre una placa de TSVB: tripticasa soya, bacitracina (75 µg/ml), vancomicina (5.0 µg/ml), 10 ml de suero de caballo (10%) para el aislamiento de *A. actinomycetemcomitans*. Las placas fueron incubadas en jarra con vela (para generar atmósfera rica en anhídrido carbónico) durante 7 días a 37°C. Por otro lado, se tomaron 100 µl de la muestra original de RTF y se obtuvieron diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 en RTF. De éstas, se sembraron 100 µl de las dos últimas, en medio agar base con sangre con menadiona y hemina, incubándose durante 14 días a 37°C en anaerobiosis estricta para la recuperación de anaerobios (*Porphyromonas* y *Prevotella*).

De la muestra en RTF se tomaron muestras de 100 µl además de la muestra original y se almacenaron a -30°C para luego ser procesadas con la técnica de PCR. Se utilizaron las cepas silvestres como controles positivos: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *Porphyromonas gingivalis* (BAA-308), *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Tannerella forsythia* (ATCC 43037) y *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586).

Identificación por cultivo

Las colonias presuntivas de *A. actinomycetemcomitans* se identificaron por la presencia de una estructura semejante a una estrella en el interior de las colonias con una lupa estereoscópica (Fig. 1), técnica de coloración de Gram, prueba de catalasa (+) y MUG negativa (4-Metilumbeliferil- β -D-galactósido) para investigar la fermentación de la lactosa.



Fig. 1: Colonia de *A. actinomycetemcomitans*

Las bacterias anaerobias pigmentadas (*Porphyromonas* y *Prevotella*) se identificaron por la formación de pigmento (Fig. 2). Para su diferenciación, se observaron también mediante fluorescencia bajo luz ultravioleta (360 nm) donde las colonias de *P. gingivalis* no fluorescen y las de *P. intermedia* si lo hacen (Fig. 3). En caso de dudas se realizó la identificación con pruebas bioquímicas para anaerobios a través del kit API®.

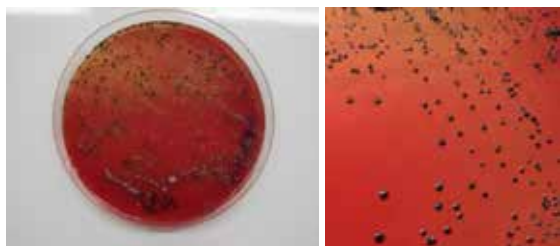


Fig. 2: Colonias de bacterias pigmentadas en medio selectivo para anaerobios estrictos

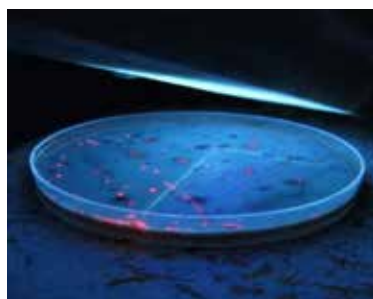


Fig. 3. Fluorescencia en pigmentados. Colonias fluorescentes de *Prevotella intermedia* frente a luz ultravioleta

Como forma de validar el estudio se tomó un grupo de control consistente en 10 pacientes seleccionados que no presentaban el cuadro de periodontitis. Como resultado no se obtuvo crecimiento en 8 de los 10 casos en el medio selectivo para *A. actinomycetemcomitans*. En los dos restantes hubo crecimiento pero no se trataba de *A. actinomycetemcomitans*. Para el caso de pigmentados se obtuvo crecimiento en 4 de los 10 casos pero con un recuento bajo.

Identificación por PCR.

Extracción del ADN genómico microbiano.

Las muestras se descongelaron y se homogenizaron durante 30 segundos con riguroso vórtex. Posteriormente se transfirió el contenido a otro tubo *Eppendorf* y se centrifugaron a 13500 rpm durante 3 minutos. Se descartó el sobrenadante y nuevamente se suspendió el pellet por pipeteo en 500 μ l de RTF durante 5 minutos a 100°C. Posteriormente se colocaron en hielo por 5 minutos y posterior centrifugación a 13500 rpm por 5 minutos a 4°C. Finalmente se tomó el sobrenadante conteniendo el ADN genómico microbiano y se almacenó a -30°C hasta el momento de realizar el PCR.

La extracción del genoma de cada cepa silvestre control, se realizó utilizando el Kit ZymoBead™ Genomic DNA (como lo describe el fabricante). La determinación de la concentración del ADN (ng/ μ l) se cuantificó por NanoDrop 2000.

Para el diseño de los cebadores se utilizó la base de datos NCBI (*National Center of Biotechnology Information*) con la finalidad de buscar y seleccionar las secuencias del 16S ARNr, como blanco en el diseño de los cebadores específicos para *T. forsythia* (GenBank: AP013045.1) y *F. nucleatum* (GenBank: MH078456.1). Asimismo, se utilizó información bibliográfica donde se realizaron estudios con oligonucleótidos validados para la especie ¹⁹.

Se realizaron PCR con cada par de oligonucleótidos utilizando los genomas extraídos de la cepa silvestre. Los cebadores utilizados para la detección de las especies bacterianas *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* y *F. nucleatum* fueron los que se muestran en la Tabla 1. Las condiciones de las PCR multiplex para la detección de estos microorganismos se muestran en las Tablas 2 y 3.

Tabla 1. Diseño de cebadores para la detección de las especies bacterianas presentes en las muestras periodontales.

Cebadores (5'-3')	Especie	Longitud (pb)
CGTGCCAGCAGCCCGGTAATACG	<i>P.gingivalis</i>	527
CTTTGCACATCAGCGTCAGTACATCCCAAGG	<i>P.intermedia</i>	163
TCCGCATACGTTGCGTCACTCAAG	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	253
TACATAGAAGCCCGAAGGAAGACG		
GATGCTCCTGCTGGTCTGT	<i>T. forsythia</i>	394
CCGACACTTCGGATCGTTAG		
AGGCGATGATGGTAGCC	<i>F. nucleatum</i>	214
AGCCGTCCTTCTGTG		

Tabla 2. Condiciones de la PCR multiplex para la detección de *T. forsythia* y *F. nucleatum*

	Ciclado	
35 ciclos	95 °C a 2 minutos	Buffer KCl 1X (Bioron) suplementado con 1 mM de MgCl ₂ , 0,5 uM de dNTPs, 0,5 uM de cada cebador, 1,2 unidades de High taq (Bioron) y 40-100 ng de ADN.
	94 °C a 30 segundos	
	57 °C a 1 minuto	
	72 °C a 2 minuto	
	72 °C a 5 minutos	

Tabla 3. Condiciones de la PCR multiplex para la detección de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*

	Ciclado	
30 ciclos	94 °C a 10 minutos	Buffer KCl 1X (Bioron) suplementado con 1,5 mM de MgCl ₂ , 0,5 uM de dNTPs, 0,5 uM de cada cebador, 2,5 unidades de High taq (Bioron) y 40-100 ng de ADN.
	94 °C a 1 minutos	
	70 °C a 1 minuto	
	72 °C a 1 minuto	
	72 °C a 10 minutos	

La visualización de los resultados de las ampliificaciones (bandas) se realizaron en geles de agarosa al 1.2%, buffer TBE (Tris-borato-EDTA) 0.5x, 5µl de GoodView, 2µl de cyan/orangeo-

ding buffer; 2-5 µl del producto del PCR durante 2h a 80V; y fotografiados con una cámara digital colocada encima de un transiluminador con luz ultravioleta (UV) (Figs. 4 y 5).

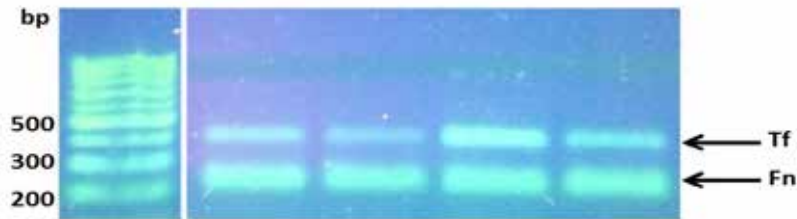


Fig. 4 Detección de los patógenos periodontales Tf= *Tannerella forsythia* (394 pb) y Fn = *Fusobacterium nucleatum* (214 pb) por PCR clásica. Marcador de peso (Bioron # 304005). Tamaño de fragmentos (bp): 1000, 900, 800, 700, 500, 400, 300, 200.



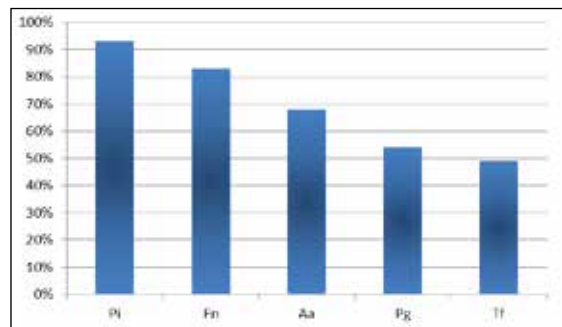
Fig. 5 Detección de los patógenos periodontales Pg = *Porphyromonas gingivalis* (527 pb), Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (253 pb) y Pi = *Prevotella intermedia* (163 pb) por PCR clásica. Marcador de peso (Bioron # 304005). Tamaño de fragmentos (bp): 1000, 900, 800, 700, 500, 400, 300, 200.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva utilizando frecuencias absolutas en porcentaje. Las comparaciones entre poblaciones se realizaron utilizando Test Student-T con un nivel de significancia de 0.05.

Resultados

Los microorganismos que aparecieron con mayor prevalencia en los cuadros de Periodontitis Agresiva fueron *P. intermedia* y *F. nucleatum*. Éstos aparecieron en el 93% y 83% de los pacientes respectivamente. Le siguió en incidencia *A. actinomycetemcomitans*, microorganismo que se correlaciona fuertemente con los cuadros de Periodontitis Agresiva ^(9,11-12,16). *A. actinomycetemcomitans* apareció en el entorno del 70% de los pacientes estudiados (Gráfica 1).



Gráfica 1: Prevalencia de patógenos periodontales en Periodontitis Agresiva
Pi=Prevotella intermedia 93%,
Fn=Fusobacterium nucleatum 83%,
Aa=Aggregatibacter actinomycetemcomitans 68%,
Pg=Porphyromonas gingivalis 54%,
Tf=Tannerella forsythia 49%

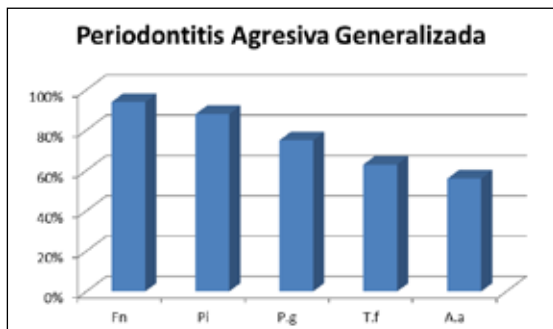
Cuando se hace la distinción entre Periodontitis Agresiva Localizada y Generalizada, la microbiota se diferencia poniendo en relieve la

distinta etiopatogenia microbiológica de ambos cuadros. Cabe resaltar, que de los cuadros agresivos estudiados, el 60% de los casos correspondió a casos localizados y el 40% a cuadros generalizados. Es por este motivo que al estudiar la microbiota de los cuadros agresivos sin distinguir entre localizados y generalizados, los porcentajes de prevalencia están condicionados por el mayor número de casos localizados.

Periodontitis Agresiva Generalizada

Si bien en ambos tipos de cuadros *F. nucleatum* fue un microorganismo de alta prevalencia, se destacó fundamentalmente en los cuadros agresivos generalizados presentándose en casi el 95% de los pacientes.

En los cuadros generalizados, el microorganismo que le siguió en prevalencia fue *P. intermedia* (en el entorno del 90%), seguido por *P. gingivalis* en el 75% de las muestras y por *T. forsythia* en un 63%. Por otra parte, *A. actinomycetemcomitans* si bien es recuperado en varios pacientes, fue de los microorganismos estudiados, el menos prevalente presentándose en un 56% (Gráfica 2).



Gráfica 2: Prevalencia de patógenos periodontales en Periodontitis Agresiva Generalizada

Fn = *Fusobacterium nucleatum* 94%,

Pi = *Prevotella intermedia* 88%,

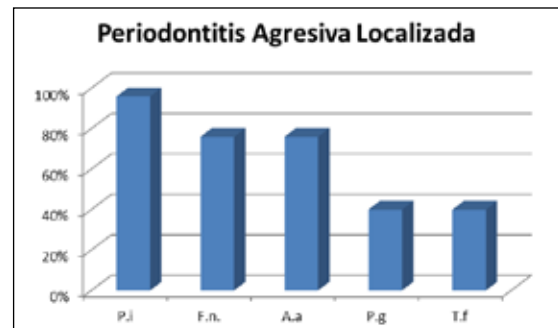
Pg = *Porphyromonas gingivalis* 75%,

Tf = *Tannerella forsythia* 63%,

Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* = 56%

Periodontitis Agresiva Localizada

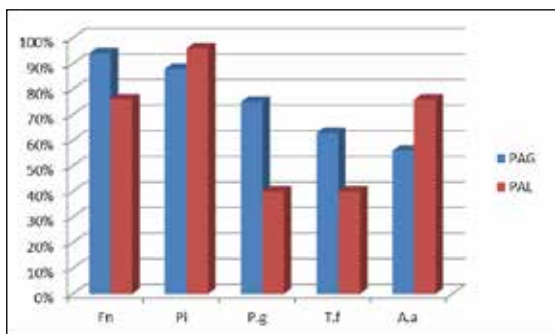
En cuanto al cuadro localizado el microorganismo más prevalente fue *P. intermedia* presentándose en el 96% de los pacientes, seguido de *F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans* ambos con una prevalencia en el entorno del 75%. Se destaca la mayor prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* que en los cuadros generalizados. Esto es concordante con la importancia que tiene este microorganismo en los cuadros localizados⁽¹³⁻¹⁵⁾. Finalmente, los microorganismos *P. gingivalis* y *T. forsythia* presentaron la menor prevalencia detectándose en el 40% de los pacientes estudiados (Gráfica 3).



Gráfica 3: Prevalencia de patógenos periodontales en Periodontitis Agresiva Localizada
Pi=Prevotella intermedia 96%
Fn=Fusobacterium nucleatum 76%
Aa=Aggregatibacter actinomycetemcomitans 76%
Pg= Porphyromonas gingivalis 40%
Tf= Tannerella forsythia 40%

Comparativo de la prevalencia microbiana entre PAG y PAL

Para facilitar la comparación, a continuación se presenta en forma consolidada las respectivas prevalencias de los diferentes patógenos en los cuadros generalizados y localizados en nuestros estudios con pacientes uruguayos (Gráfica 4).

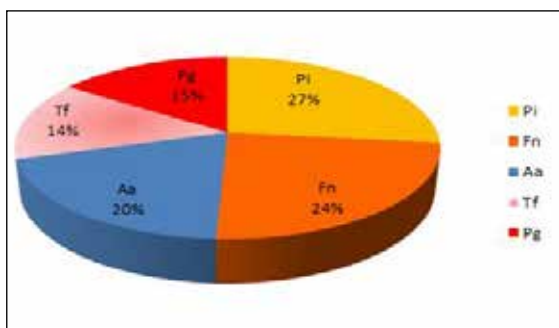


Gráfica 4: Comparativo prevalencia patógenos periodontales entre Periodontitis Agresiva Generalizada (PAG) y Localizada (PAL)

Fn = *Fusobacterium nucleatum*, Pi = *Prevotella intermedia*, Pg = *Porphyromonas gingivalis*, Tf = *Tannerella forsythia*, Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Proporción de los patógenos estudiados en los cuadros de Periodontitis Agresiva

Otra forma de analizar la importancia del microorganismo en el cuadro es estudiándolo en relación a la detección del resto de los patógenos estudiados. Si consideramos como una ocurrencia la detección de un determinado patógeno en un paciente, el 100% de ocurrencias estaría representado por el total de detecciones de los cinco patógenos estudiados. Al estudiar la proporción en que se presenta cada microorganismo en relación al resto de los microorganismos (al total de ocurrencias) se observan las siguientes proporciones (Gráfica 5).



Gráfica 5: Proporción de patógenos en Periodontitis Agresiva

El microorganismo que apareció en mayor proporción fue *P. intermedia*, seguido de *F. nucleatum*. El tercer lugar correspondió a *A. actinomycetemcomitans* representando el 20%.

Aquí nuevamente los porcentajes están mayormente influenciados por el mayor número de casos localizados que generalizados.

No se detectaron diferencias significativas en la proporción de microorganismos al considerar el sexo con un nivel de significación de 0.05 utilizando la prueba T para dos muestras suponiendo varianzas iguales (Tabla 4).

Tabla 4. Proporción patógenos en cuadros de Periodontitis Agresiva según sexo (nivel significancia $\alpha = 0.05$)

	Femenino	Masculino
Pi	26%	26%
Fn	25%	21%
Aa	20%	24%
Pg	15%	16%
Tf	14%	13%

Discusión

Los microorganismos presentes en la Periodontitis Agresiva Generalizada (PAG) en nuestro estudio son similares a los encontrados en los cuadros de Periodontitis Agresiva en otros países ⁽¹⁵⁻¹⁶⁾. De acuerdo a la bibliografía, los microorganismos que suelen detectarse en los cuadros de PAG son *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *T. forsythia* ⁽¹⁶⁾.

En particular se destaca *P. gingivalis* por sobre *A. actinomycetemcomitans* en los cuadros generalizados ⁽¹⁵⁾.

Respecto a la presencia de los patógenos estudiados en nuestro estudio, se revela que en los cuadros de Periodontitis Agresiva Generalizada sobresalió *P. gingivalis* sobre *A. actinomycetemcomitans* en concordancia con la bibliografía y otras localizaciones como Chile y Colombia ⁽²⁰⁻²¹⁾.

En cuanto a los cuadros de Periodontitis Agresiva Localizada, en nuestros resultados, *A. acti-*

actinomycescomitans superó a los periodontopatógenos *P. gingivalis* y *T. forsythia* similarmente a otras localizaciones como en Europa y Norteamérica ^(2,11,15,21) donde se recupera *A. actinomycescomitans* especialmente en los cuadros localizados. Sin embargo, en estudios en Latinoamérica (Chile, Colombia) la recuperación de *P. gingivalis* y *T. forsythia* superó a *A. actinomycescomitans* en estos cuadros ^(20, 22-23). Es interesante también mencionar que algunos autores remarcan la importancia de *A. actinomycescomitans* en su rol en la patogénesis de la Periodontitis Agresiva, en especial en la forma localizada, si bien se ha planteado que es probable su particular importancia en el comienzo de la patología para luego ser reemplazada por otras bacterias patógenas a medida que progresa la enfermedad ^(11,13).

Conclusiones

Se verificó una flora diferenciada entre los cuadros localizados y los generalizados en los pacientes uruguayos estudiados.

El microorganismo más prevalente de la Periodontitis Agresiva Localizada fue *P. intermedia* mientras que en la Periodontitis Agresiva Generalizada fue *F. nucleatum*.

Por otro lado, en los cuadros generalizados los microorganismos *P. gingivalis* y *T. forsythia* son más prevalentes que en los cuadros localizados. Asimismo, confirmamos la importancia del microorganismo *A. actinomycescomitans* en los cuadros de Periodontitis Agresiva, destacándose en los cuadros localizados.

En nuestro país se presentó una flora similar en los cuadros agresivos a los que figuran en otras localizaciones geográficas, si bien en algunas de éstas se destaca *P. gingivalis* sobre *A. actinomycescomitans* en todos los cuadros de Periodontitis Agresiva ^(20, 22). Esta relación, en nuestro caso, se da sólo en los cuadros agresivos generalizados. Por otro lado, en los cuadros agresivos localizados el microorganismo *A. actinomycescomitans* apareció en mayor proporción a *P.*

gingivalis lo cual es concordante con los datos reportados en la bibliografía ⁽¹⁶⁾.

Se pudo además correlacionar el estudio bacteriológico tradicional con técnicas de estudio molecular.

Referencias

1. Bascones-Martínez A, Figuro Ruiz E. Periodontal diseases as bacterial infection. Av Periodon Implantol. 2005; 17 (3): 111-118.
2. Hinrichs E, Novak MJ. Clasificación de las enfermedades y condiciones que afectan el periodonto. En: Newman M.G., Takei H, Klokke-vold P.R, Carranza F.A. Periodontología Clínica de Carranza. 11a ed. Venezuela: Amolca, 2014. p 60-67.
3. Armitage, GC. Development of a Classification System for Periodontal Diseases and Conditions. Ann Periodontol. 1999; 4 (1): 1-6.
4. G Caton J, Armitage G, Berglundh T, Chapple ILC, Jepsen S, Kornman K, Mealey B, Papapanou PN, Sanz M, Tonetti M. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and key changes from the 1999 classification. J Clin Periodontol. 2018; 45 (20): s1-8.
5. OMS. Salud bucodental Nota informativa No 318 Abril 2012, [Fecha de acceso: 26 de noviembre de 2017] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/es/>
6. Albandar JM. Aggressive and acute periodontal diseases. Periodontol 2000. 2014; 65: 7-12.
7. Chan-Myung C, Hyung-Keun Y, Seong-Nyum J. The clinical assessment of aggressive periodontitis patients. J Periodontal Implant Sci. [en línea] 2011, 41(3): 143-148. [Fecha de acceso: 17 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://europepmc.org/articles/PMC3139048>
8. Oppermann, RV. An overview of the epidemiology of periodontal diseases in Latin America. Braz Oral Res [en línea] 2007, 21: 8-15. [Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2017]. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242007000500003>
9. Joshipura V, Yadalam U, Brahmavar B. Aggressive periodontitis: A review. J Int Clin Dent Res Organ. 2015; 7 (1): 11-17.

10. Sharmal P, Vishnoi S, Chandran S, Rathod D. Generalized Aggressive Periodontitis, Multifactorial treatment modalities - A case report, IJAR [en línea] 2016, 4 (5): 1053-1057. [Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://www.journalijar.com/uploads/532_IJAR-10305.pdf
11. Könönen E, Müller HP. Microbiology of aggressive periodontitis. *Periodontol* 2000. 2014; 65 (1): 46-78.
12. Ardila Medina CM, Botero Zuluaga L, Guzmán Zuluaga IC. Comparación de las características sociodemográficas, clínicas y microbiológicas de pacientes con periodontitis agresiva y crónica. *AMC* [En línea] 2014; 18 (5): 532-544. [Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2017]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000500009
13. Nibali L. Aggressive Periodontitis: microbes and host response, who to blame?. *Virulence* [En línea] 2015; 6 (3): 223-228. [Fecha de acceso: 10 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://europepmc.org/articles/PMC4601283>
14. Avila-Campos MJ, Simionato MRL, Cai S, Mayer MPA, De Lorenzo JL, Zelante F. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: other putative factors. *Pesqui. Odontol. Bras.* 2000; 14 (1): 05-11.
15. Manakil J. *Periodontal Diseases - A Clinician's Guide* [en línea]. Rijeka: InTech; 2012. [Fecha de acceso: 22 de noviembre de 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/236935155_Periodontal_Diseases_-_A_Clinician%27s_Guide
16. Novak KF, Novak MJ. Periodontitis agresiva. En: Newman M.G., Takei H, Klokkevold PR, Carranza F.A. *Periodontología Clínica de Carranza*. 11a ed. Venezuela: Amolca, 2014. p 232-236.
17. Frías López MC, Uria Ovando V, Carasol Campillo M. Métodos de diagnóstico microbiológico en la enfermedad periodontal. *Cient. Dent* [En línea] 2009; 6 (2): 93-101. [Fecha de acceso: 9 de diciembre de 2017]. Disponible en <http://www.coem.org.es/sites/default/files/revista/cientifica/vol6-n2/17-25.pdf>
18. Syed SA, Loesche WJ. Survival of Human Dental Plaque Flora in Various Transport Media. *App. Microbiol.* 1972; 24 (4): 638-644.
19. García L, Tercero JC, Legido B, Ramos JA, Alemany J, Sanz M. Rapid detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis* by multiplex PCR. *J Periodontal Res.* 1998; 33 (1): 59-64.
20. Gajardo M, Silva N, Gómez L, León R, Parra B, Contreras A, Gamonal J. Prevalence of Periodontopathic Bacteria in Aggressive Periodontitis Patients in a Chilean Population. *J Periodontol.* 2005; 76: 289-294.
21. Mayorga-Fayad I, Lafaurie GI, Contreras A, Castillo DM, Barón A, Aya MR. Microflora subgingival en periodontitis crónica y agresiva en Bogotá, Colombia: un acercamiento epidemiológico. *Biomédica.* 2007; 27 (1): 21-33.
22. Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce RM. Occurrence of Periodontopathic and Superinfecting Bacteria in Chronic and Aggressive Periodontitis Subjects in a Colombian Population. *J Periodontol.* 2007; 78 (4): 696-704.
23. Contreras A, Moreno SM, Jaramillo A, Pelaez M, Duque A, Botero JE, Slots J. Periodontal microbiology in Latin America. *Periodontol* 2000. 2015; 67: 58-86.

Andrea Badanian: andybad@vera.com.uy

Fecha de recibido: 14.02.18 – Fecha de aceptado: 07.08.18