

Cambios en la concentración de bacterias patógenas periodontales después de la fase I del tratamiento periodontal usando la prueba B.A.N.A.

Changes in the concentration of periodontal pathogenic bacteria after periodontal treatment phase I using the BANA test

Recibido: Octubre, 2010. Aceptado: Diciembre, 2010

Descriptor: bacterias periodontopatógenas, reacción enzimática, prueba BANA

Dr. Salvador Arróniz Padilla*
Mtro. Alberto T. Furuya Meguro**
Esp. Abel Gómez Moreno**
C.D. Luisa Adriana López Osuna**
Esp. Javier Garzón Trinidad**
Esp. César Redondo Caballero**
Esp. Juan Ángel Martínez Loza**

*Profesor de la especialización en Endoperiodontología, FES Iztacala, UNAM
Autor responsable

**Profesor de la especialización en Endoperiodontología, FES Iztacala, UNAM

- Arróniz, P.S., Furuya, M.A.T., Gómez, M.A., López, O.L.A., Garzón, T.J., Redondo, C.C., Martínez, L.J.A. Cambios en la concentración de bacterias patógenas periodontales después de la fase I del tratamiento periodontal usando la prueba B.A.N.A. Oral Año 12. Núm. 36. 2011. 662-665

Keyword: periodontal bacteria, enzymatic reaction, BANA test

resumen

Introducción: numerosas investigaciones han demostrado el papel que desempeñan los microorganismos en el establecimiento y progresión de la enfermedad periodontal. **Objetivo:** determinar los cambios en número de bacterias, al concluir la fase I del tratamiento. **Material y método:** de pacientes de primera vez, durante el periodo lectivo 2010-2, con periodontitis (profundidad de bolsa ≥ 4 mm y presencia de pérdida ósea). Se obtuvieron muestras de biopelícula dental pre y post tratamiento de fase I en 30 pacientes, más un grupo control integrado por 15 pacientes periodontalmente sanos. Las muestras de placa subgingival de cada paciente se obtuvieron de cuatro sitios periodontalmente afectados para realizar la PRUEBA BANA (N- α -benzoyl-DL-arginina-naftilamida) que mide la actividad de la enzima tripsina producida por patógenos periodontales. **Resultados:** se observó disminución en los resultados positivos de la prueba BANA, lo que demuestra una menor cantidad de patógenos periodontales. **Conclusiones:** se puede notar que existe una variación entre los microorganismos existentes en pacientes sanos y pacientes que presentan periodontitis. Además también puede observarse que efectivamente la fase I del tratamiento periodontal disminuye la flora microbiana de los pacientes con periodontitis y que esto puede contribuir a un mejoramiento en sus condiciones clínicas periodontales.

abstract

Introduction: several investigations have demonstrated the role of microorganisms in the development and progression of periodontal disease. **Objective:** determine changes in numbers of bacteria, at the end of phase I of treatment. **Material and methods:** patients care for first time during the 2010-2 academic year, with periodontitis (pocket depth ≥ 4 mm and presence of bone loss). Biofilm samples were obtained before and after dental treatment of stage I in 30 patients, plus a control group of 15 periodontally healthy patients. The subgingival plaque samples from each patient were obtained from four periodontally affected sites to test BANA (N- α -benzoyl-DL-arginine-naphthylamide) measuring the activity of the enzyme trypsin produced by periodontal pathogens. **Results:** there was a reduction in the positive results of the BANA test, showing a smaller amount of periodontal pathogens. **Conclusions:** it may be noted that there is a variation between the microorganisms found in healthy patients and patients with periodontitis. Also shows that indeed the phase I periodontal treatment reduces the microbial flora of patients with periodontitis and this may contribute to an improvement in periodontal clinical conditions.

Introducción

Las superficies dentarias se encuentran constantemente en contacto con la saliva formando la película adquirida que provee de un ambiente excelente para el desarrollo de la biopelícula.

Los microorganismos que colonizan estas superficies producen biopelículas de diferentes complejidades dependiendo de su localización intra bucal, aspectos genéticos y factores individuales relativos a cada sujeto.

Por complejo que pueda parecer, las aproximadamente 500 especies detectadas en la placa subgingival (cualquier individuo puede albergar 150 o más especies diferentes), son solo una fracción minúscula del billón o más bacterias que se ha estimado habitan en el planeta Tierra y que tienen el potencial de colonizar la cavidad bucal. Las

biopelículas, son comunidades microbianas estructuradas metabólica y espacialmente dentro de una matriz de polímero extracelular y situadas en una interfase.¹

Las más comunes y mejor estudiadas formas de biopelícula son aquellas que se encuentran en las interfase líquida-sólida, siendo la biopelícula dental (PLACA DENTAL BACTERIANA) una de ellas.²

La placa dental como depósito microbiano natural representa una verdadera biopelícula, compuesta de bacterias en una matriz constituida principalmente por polímeros bacterianos extracelulares o productos salivales o de exudado gingival.

La biopelícula provee un medio protector para la colonización de microorganismos y promueve las propiedades metabólicas que no serían posibles si las

especies existiesen en un estado de libertad.³

Las enfermedades periodontales son infecciones causadas por las bacterias residentes en las biopelículas.⁴

Cuando la higiene supragingival no se mantiene, la placa dental inmediatamente desarrolla una dinámica interacción, que termina con el establecimiento de una comunidad de microorganismos.

Como ya se ha establecido las enfermedades periodontales están asociadas con los microorganismos presentes en la placa subgingival, y el uso de las bacterias periodontopáticas como indicadores de la estabilidad periodontal se ha evaluado en diversos estudios.

Para que estas bacterias periodontopáticas sean capaces de causar enfermedad periodontal, es esencial que puedan colonizar bolsas subgingivales y producir factores de virulencia que dañen directamente a los tejidos del huésped.⁵

Las bacterias (normalmente Gram negativas) que poseen factores de virulencia son normalmente encontradas en bolsas periodontales cuando la destrucción periodontal está en fase activa.⁶

El papel de las especies microbianas subgingivales en la etiología de la enfermedad periodontal se ha documentado extensamente y en la actualidad se sabe que los microorganismos específicos o grupos de especies más frecuentes en altos niveles y proporciones en los sitios con periodontitis son las siguientes: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythensis* (Tf) y *Treponema denticola*.⁷

La estrategia contra una infección causada por la biopelícula consiste en alterar la comunidad de la placa dental bacteriana removiendo a los miembros que son claves y más fáciles de eliminar, de esta manera la comunidad de la biopelícula no puede darle soporte a las especies más patógenas. La evidencia muestra que la eliminación mecánica no puede erradicar todas las bacterias periodontopáticas del ambiente subgingival, especialmente aquellas que habitan en áreas inaccesibles como las zonas de furca, surcos, concavidades o bolsas periodontales profundas.⁷

La terapia periodontal no quirúrgica está directamente dirigida a remover la biopelícula microbiana de las superficies radiculares en los dientes con enfermedad periodontal. El objetivo de este tratamiento es eliminar de las superficies radiculares y el área subgingival, las bacterias vivas presentes en la biopelícula y los microorganismos calcificados (ej. Sarro), sin necesidad de algún procedimiento quirúrgico.^{8,9}

En la terapia periodontal de inicio, la finalidad del raspado y alisado radicular es remover la capa de cemento contaminada por microorganismos y eliminar o reducir el número de microorganismos patógenos en las bolsas periodontales a niveles menores de los que se requieren para inducir alguna enfermedad.¹⁰

Mc Nabb y cols, reportaron que el control de la placa supragingival que se logra mediante una limpieza profesional, induce cambios significativos en la composición de la micro flora subgingival, incluyendo una disminución en la *P. gingivalis* y espiroquetas.¹¹

Dahlén y cols, examinaron el efecto del control personal de placa sobre la microbiota subgingival, después del raspado supragingival, durante un periodo de dos años. El control de la placa supragingival provocó marcados cambios en la cantidad y composición de la microbiota

subgingival, tanto en bolsas periodontales profundas y superficiales.

Estos hallazgos pueden implicar que la microbiota subgingival se ve influenciada no solo por factores locales de las bolsas periodontales sino también por el ambiente supragingival.

Un meticuloso control de la placa supragingival puede causar una contracción de la encía y disminuir la profundidad al sondeo en los sitios afectados periodontalmente y de esta manera provocar cambios en la micro flora subgingival.¹¹

Para el diagnóstico microbiano de las bacterias periodontopáticas existen diversas alternativas como son: cultivos bacterianos, análisis inmunológicos, ensayos enzimáticos y pruebas de DNA.¹

El propósito presente trabajo fue determinar la presencia de los patógenos periodontales antes de la fase 1 del tratamiento periodontal y posteriormente de esta fase, a través de la prueba enzimática BANA (por sus siglas en inglés, N-benzoyl-DL-arginine-2-naphthylamide) prueba que identifica la presencia de microorganismos de reconocido papel etiológico en la enfermedad periodontal, a través de un proceso de hidrólisis de un péptido sintético por parte de una enzima de aquellas bacterias lo que determina finalmente una reacción cromática que actúa como indicadora de la presencia de las bacterias mencionadas.

Material y método

La muestra se constituyó de 30 pacientes que acudieron por primera vez para su atención durante el periodo 2010-2 en la clínica de Endoperiodontología y que fueron diagnosticados con Periodontitis (profundidad de bolsa 4 mm y presencia de pérdida ósea), además de un grupo control constituido por 15 pacientes periodontalmente sanos.

El procedimiento para su recepción y atención fue el mismo que es empleado rutinariamente, es decir, elaboración de expediente clínico. En la primera cita, se midió la profundidad al sondeo de los dientes presentes en boca, mediante una sonda periodontal graduada (PCP 11.5 B B7), las mediciones se hicieron de seis sitios en cada diente (mesial, medio y distal, de las caras vestibular y palatina o lingual) y se registraron en el periodontograma. Las mediciones mayores de 3 mm fueron registradas en color rojo y las menores en color azul.

Además, se obtuvo el índice de placa (O'Leary), mediante la tinción con Fuscina básica de los dientes presentes en boca. Para obtener este índice, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{No. de caras teñidas}}{\text{No. de caras totales}} \times 100$$

No. de caras totales

El porcentaje obtenido, se registró en el formato utilizado en la clínica de la especialización.

Recolección y procesamiento de las muestras de placa dental bacteriana: Prueba BANA.

Treponema denticola, *Tannerella forsythensis* y *Porphyromonas gingivalis*, comparten un perfil enzimático ya que todas producen en su metabolismo una enzima parecida a la tripsina.

Se ha desarrollado una prueba que mide la actividad de dicha enzima a través de la hidrólisis de una sustancia

incolores denominada *N*- α -benzoyl-DL-arginina-naftilamida (BANA), un sustrato sintético que es hidrolizado por la peptidasa bacteriana mencionada anteriormente.

Cuando la muestra de placa que contiene cualquier combinación de estas bacterias, es colocada en una tira de papel impregnada con BANA, el sustrato produce una coloración azul cuya intensidad es proporcional a la cantidad total de las bacterias.

Uno de los productos de descomposición es la β -naftilamida, el cual se hace visible en la reacción de color y por lo tanto provee evidencia de patogenicidad bacteriana. Las muestras de placa subgingival de cada paciente del grupo experimental se obtuvieron de cuatro sitios periodontalmente afectados (uno por cuadrante), con una profundidad de bolsa 4 mm. De la misma forma, para el grupo control, se obtuvieron muestras de cuatro sitios periodontalmente sanos. Las muestras subgingivales se obtuvieron introduciendo curetas Gracey en las bolsas periodontales seleccionadas para cada cuadrante. El sitio de la toma de muestra se aisló con rollos de algodón y se secó suavemente con aire. La muestra de placa dentobacteriana recolectada de cada sitio se colocó sobre la tira reactiva para después introducirse en el dispositivo BANA que rápidamente eleva su temperatura a 37° centígrados, lo que permitió obtener los resultados en cinco minutos. Dependiendo de la concentración de los microorganismos la prueba resultó negativa, levemente positiva o fuertemente positiva, en relación con el resultado de la comparación de la escala de color. (Figura 1).



Figura 1.

Procedimiento para toma y procesamiento de la muestra.

Los resultados de esta prueba se registraron en la bitácora, además de: nombre del paciente, número de expediente, diagnóstico periodontal, fecha de obtención de la muestra, diente del cual se obtuvo la muestra, así como la profundidad al sondeo del mismo.

Fase I del tratamiento periodontal.

Se realizó el raspado y alisado radicular, así como el pulido coronal de los dientes de los pacientes seleccionados para este estudio.

Para eliminar el cálculo supra y subgingival se utilizó la instrumentación manual mediante el uso de curetas (Serie

Gracey o Universales [McCall o Columbia]) y hoces (Limpiadores de Jaquete) o la instrumentación ultrasónica (Cavitrón).

Después de la instrumentación, las coronas clínicas fueron pulidas con pasta abrasiva y cepillo de profilaxis así como copas de hule.

El paciente recibió información detallada sobre su estado dentario y la relación entre la presencia de placa dental y sarro en la boca, así como la ubicación de los sitios con enfermedad gingival o periodontal. Además de las consecuencias de no seguir las medidas correctas de control personal de placa. Se explicó a cada paciente el método de cepillado de Bass, sobre la técnica correcta para el uso de hilo dental.

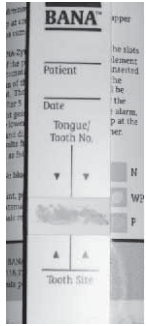
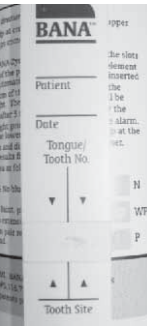
Una vez completado los procedimientos anteriores, se evaluaron semanalmente el índice de placa y el progreso en la aplicación de las medidas de control personal de placa.

Transcurrido un mes desde el raspado y alisado radicular y pulido coronal, así como de la instauración de las medidas de control personal de placa, se realizó una revaloración de la profundidad al sondeo y de nueva cuenta se tomaron las muestras bacterianas siguiendo la misma metodología explicada con anterioridad.

Resultados

Prueba de Actividad Enzimática a través de B.A.N.A.

Los resultados de la prueba B.A.N.A. se interpretaron de la siguiente manera:

P > 100,000 (Positivo): Todos los sitios en la tira reactiva cambian a color azul intenso al compararlo con la referencia.	
WP > 10,000 < 100,000 (Medio positivo): Solo algunos sitios en la tira reactiva cambian a un color azul suave al compararlo con la referencia.	

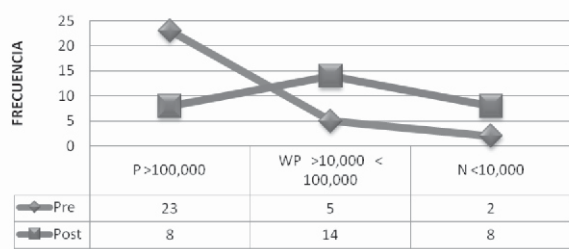
N <100,000

(Negativo):

No existe cambio de color.

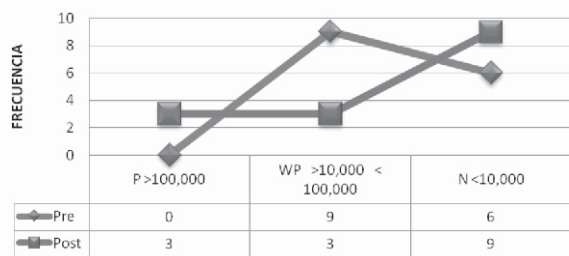


PRUEBA BANA GRUPO OBSERVACIONAL



En esta gráfica se puede observar la disminución en la frecuencia de pacientes con resultado B.A.N.A. positivo y un aumento en los pacientes con resultado B.A.N.A. Negativo lo que indica una disminución en la cantidad de bacterias periodontopatógenas.

PRUEBA BANA GRUPO CONTROL



Para el grupo control predominó el resultado NEGATIVO.

Discusión

Se ha reconocido ampliamente que el remover los depósitos de placa dental bacteriana (PDB o biopelícula) y de sarro de la superficie de los dientes, presenta efectos benéficos para los tejidos periodontales adyacentes. La fase I del tratamiento periodontal es en este aspecto la piedra angular de la terapia periodontal. Sin embargo, el efecto que tiene este tratamiento sobre la microbiota subgingival no ha sido ampliamente estudiado.

Al remover los depósitos de PDB ocurren dos fenómenos que son el cambio en las proporciones de las especies durante el periodo de recolonización y la modificación del hábitat. (Haffajee, Teles, Socransky,

2006).

La mayoría de los sitios que en un inicio resultan positivos para ciertos patógenos periodontales, pueden resultar positivos aun después de la Fase I del tratamiento periodontal. La mera presencia de patógenos periodontales no implica que la enfermedad se encuentre activa o que pueda desarrollarse, ya que tal vez se requiera de un número mayor de estos o de sus factores de virulencia. (D'Ercole, Simonetta, Catamo, Giovanni, Piccolomini, Raffaele, 2008)

En el presente trabajo, a través de la prueba B.A.N.A. que permite identificar la presencia de cierto grupo de patógenos periodontales, se pudo observar que después de la Fase I existe una disminución en la cantidad de los mismos y esto se refleja en el mejoramiento de las condiciones periodontales del paciente al observar de igual forma la disminución en la profundidad al sondeo periodontal.

Conclusiones

Se puede concluir que existe un cambio en la presencia de especies bacterianas antes y después de la Fase I del tratamiento periodontal a través de las pruebas realizadas mediante el sistema B.A.N.A.

Dichos cambios, se relacionan con una disminución en la profundidad al sondeo periodontal, indicador clínico de un mejoramiento en las condiciones de salud periodontal del paciente.

Agradecemos al programa
de apoyo a profesores de carrera 2009-2010
(PAPCA) de la FES Iztacala por el financiamiento
para realizar esta investigación.

Bibliografía

- 1.-Socransky, S., Haffajee, A. Periodontal microbial ecology. 2005. Periodontology 2000. 38:135-187.
- 2.-Nikolaev, Y.A., & Plakunov, V.K. Biofilm "City of Microbes" or an Analogue of Multicellular Organisms? 2007. Microbiology. 76:125-138.
- 3.-Lindhe J., et al. 2005. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. Editorial Médica Panamericana; Buenos Aires, Argentina. pp.110-111.
- 4.-Haffajee, A., Teles, R., & Socransky, S. 2006. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. Periodontology 2000. 42:219-258.
- 5.-Nishihara, T., & Koseki, T. 2004. Microbial etiology of periodontitis. Periodontology 2000. 36:14-20.
- 6.-Umeda, M., Takeuchi, Y., Noguchi, K., Huang, Y., Koshy, G., & Ishikawa, I. Effects of nonsurgical periodontal therapy on the microbiota. Periodontology 2000. 36:98-120.
- 7.-Wolf, H., & Hassell, T. Atlas a Color de Periodontología. 2008. Trad. Dr. Guillermo A. Park-Doreste. Editorial Amolca. Colombia. Pp.24-38, 56-66.
- 8.-Adriaens, P., & Adriaens, L. Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. 2004. Periodontology 2000. 36:121-145.
- 9.-Ishikawa, I., & Baehni, P. Nonsurgical periodontal therapy- where do we stand now? 2004. Periodontology 2000. 36:9-13.
- 10.-Hurt, J., et al. 2007. Manual of Environmental Microbiology. Editorial ASM PRESS, EUA; pp 69-75, 101-111.
- 11.-Claffey, N., Polyzos, I., & Ziaka, P. An overview of nonsurgical and surgical therapy. 2004. Periodontology 2000. 36:35-44.
- 12.-Takamatsu, N., Yano, K., He, T., Umeda, M., & Ishikawa, I. Effect of Initial Periodontal Therapy on the Frequency of Detecting Bacteroides forsythus, Porphyromonas gingivalis and Actinobacillus actinomycetemcomitans. 1999. J Periodontol. 70:574-580.