



Presencia de actividad enzimática bacteriana en bolsas periodontales en pacientes de la ciudad de Corrientes

Presence of bacterial enzymatic activity in patients with periodontal pockets in the city of Corrientes (Argentina)

Miguel Acuña,* Javier Monzón,§ Ernesto Canga,|| Ricardo Diez,¶ Elías Azzi**

RESUMEN

El objetivo de este trabajo, determinar la actividad enzimática de las bolsas periodontales en un sector de la población de la ciudad de Corrientes, mediante la aplicación del Test de Diagnóstico Bioquímico Enzimático o Reacción de la N&-benzilo - DL - arginina - 2 - naftil - amida (BANA), como coadyuvante del diagnóstico clínico convencional. Se trabajó con 62 pacientes cuya profundidad de bolsa fue mayor a 3 mm. Se tomaron 10 pacientes cuya profundidad de bolsa fuese de 2 mm como máximo para grupo control. De los 72 pacientes observados la totalidad de sitios examinados fueron 124 de los cuales la actividad enzimática se manifestó de la siguiente manera: seis sitios dieron *positivos* con el Test BANA (más de 500,000 CFU anaerobios en el sitio de la toma de muestra). Ochenta muestras de las bolsas periodontales dieron como resultado en el Test BANA: *ligero positivo*. Lo que indica la presencia de bacterias periodontopáticas en un rango de 100,000 a 500,000 CFU anaerobios en cada sitio muestreado. Dieciocho muestras dieron *negativo* lo cual indica que la presencia de bacterias en el sitio muestreado no llega a 100,000 CFU. De los 10 pacientes grupo control se observaron en total 20 sitios donde *no hubo actividad enzimática*. Mediante los resultados obtenidos en este trabajo podemos resaltar el valor que representa la inclusión de las Técnicas de Diagnósticos no Convencionales como la prueba de hidrólisis BANA (N-&-bencil-DL-arginina-2-naftilamida) al examen clínico periodontal debido a la necesidad que se le presenta al odontólogo para realizar un diagnóstico precoz de esta enfermedad.

Palabras clave: Bolsa periodontal-Test BANA-diagnóstico enfermedad periodontal.

Key words: Periodontal pocket-Test BANA-diagnostic periodontal disease.

INTRODUCCIÓN

La prueba de hidrólisis BANA; consiste en aprovechar la síntesis de una enzima tripsinoide producida por tres patógenos posibles: *Phorphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* y *Treponema denticola*. Esta enzima no sólo degrada las proteínas de la matriz extracelular del huésped, sino que también es capaz de hidrolizar el péptido sintético N-&-bencil-DL-arginina-2-naftilamida, o BANA. Este péptido es incoloro, pero su hidrólisis libera el cromóforo, beta-naftilamida, que, al unirse con otra

ABSTRACT

The aim of this work, to determine the enzyme activity of periodontal pockets in one sector of the population of the city of Corrientes, by applying the diagnostic test or biochemical enzymatic reaction of N &- benzoyl - DL - arginine - 2 - naphthyl - amide (BANA) as an adjunct to conventional clinical diagnosis. We worked with 62 patients whose pocket depth was greater than 3 mm. It took 10 patients with pocket depth was 2 mm. than for control group. Of the 72 patients observed all sites examined were 124, which enzyme activity is expressed as follows: 6 (Six) sites tested positive for the BANA test (more than 500,000 CFU anaerobic at the site of the sample). 80 Samples from periodontal pockets resulted in the BANA test: slightly positive. This indicates the presence of periodontopathic bacteria in a range of 100,000 to 500,000 anaerobic CFU in each sample site. 18 Samples were negative, indicating that the presence of bacteria at the sampling site is less than 100,000 CFU. Of the 10 patients in control group were observed in all 20 sites where there was no enzymatic activity. Using the results obtained in this work we highlight the value that represents the inclusion of Non-Conventional Diagnostic Techniques such as BANA hydrolysis test (N-&-benzyl-DL-arginine-2-Naphthylamide) Periodontal clinical examination due to the need that is presented to the dentist for an early diagnosis of this disease.

* Auxiliar Docente 1ra.Categoría Cátedra Periodoncia y Física-Química Biológica.

§ Profesor Adjunto Cátedra Periodoncia.

|| Profesor Titular Cátedra Periodoncia.

¶ Profesor Titular Cátedra Física-Química Biológica.

** Becario Iniciación en la Investigación.

(F.O.U.N.E.).

Fecha de recepción: 17 de septiembre de 2009.

Fecha de aceptación: 5 de marzo de 2010.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medicgraphic.com/facultadodontologiaunam>

sustancia, la anilina negra evans (fast black) produce un viraje hacia un color azul. Tanto el sustrato BANA como el colorante fast black integran la tarjeta radiactiva Ora tec, que es el material específico para la realización de este procedimiento de diagnóstico enzimático.¹⁻⁸

El objetivo de este trabajo, determinar la actividad enzimática de las bolsas periodontales en un sector de la población de la ciudad de Corrientes, mediante la aplicación del Test de Diagnóstico Bioquímico Enzimático o Reacción de la N& – benzoil – DL – arginina – 2 – naftil – amida (BANA), como coadyuvante del diagnóstico clínico convencional.



Figura 1. Incubadora.



Figura 2. Frasco y tiras reactivas.

MATERIAL Y MÉTODOS (FIGURAS 1-9)

CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Se trabajó con 72 pacientes con una profundidad de bolsa de 3 mm. Presentaron un rango de 20 (veinte) a 50 (cincuenta) años de edad y de ambos sexos. Los muestreos se efectuaron en el Sector de Clínicas, Servicio de Urgencias y Derivación de Pacientes de la Facultad de Odontología dependiente de la U.N.N.E.

- Se tomaron 10 pacientes cuya profundidad de bolsa fuese de 2 mm como máximo para grupo control.



Figura 3. Sondaje periodontal.



Figura 4. Toma de muestra placa bacteriana.

CONDICIÓN DE LOS PACIENTES

Los criterios de inclusión de los pacientes con los cuales se trabajó en este proyecto de investigación, fueron no haber recibido tratamiento periodontal anterior, no haber utilizado antibióticos o cualquier otra medicación durante los seis meses anteriores a la consulta y no presentar compromiso sistémico o tratamiento con aparatología fija ortodóntica.

Los pacientes seleccionados debieron conformar un protocolo de consentimiento informado para avalar su participación.

MANEJO DE LOS PACIENTES

a) Historia clínica médica y dental.



Figura 5. Muestra en la tira BANA.



Figura 6. Unión de las matrices.



Figura 7. Introducción de la tira en la incubadora.



Figura 8. Incubación de la tira.



Figura 9. Lectura de las tiras.

Se realizó una historia clínica que nos proporcionó toda la información médica y sistémica del paciente. Se confeccionó un cuestionario sencillo, mediante el cual se confirmaron o descartaron situaciones que presentasen riesgo médico (cardiopatías, alergias, trasplantes, etc.).

b) Examen periodontal.

Se observó y palpó la encía insertada en ambas arcadas, se describió el color, el contorno y su consistencia. Se localizó la línea mucogingival, y se trazó su ubicación en el periodontograma, se evaluó la cantidad de encía insertada y se tomó nota de los dientes que tengan escasa cantidad de encía. El grado de retracción gingival se midió en milímetros, con la sonda periodontal a partir de la línea amelocementaria.

Se indicó la posición de los dientes, si los mismos están lingualizados o vestibulizados y su relación con la papila interproximal en caso de apiñamiento, diastemas o rotación dental.

c) Aplicación del Test BANA.

- *Toma de muestras:*

Se tomó una tira reactiva del Test BANA anotando la fecha y el diente de donde se efectuaría la toma de la muestra de la placa bacteriana.

Se efectuó la remoción de la placa supragingival (en el caso que tuviera) previa a la toma de la muestra definitiva. Posteriormente se extrajeron muestras de placa subgingival en los sitios de mayor profundidad de las bolsas periodontales con curretas Gracey 5/6.

Se colocó la muestra de placa subgingival extraída en la parte inferior de la tira del Test BANA.

- *Incubación de las muestras:*

Se humedeció con agua destilada la parte superior del Test usando una torunda de algodón estéril.

Se pusieron en contacto ambos extremos de la tira reactiva colocándose en la incubadora del BANA.

Las muestras de placa bacteriana se incubaron a 55 °C durante 15 minutos. Correspondiente al nivel Nº 3 de la incubadora.

La incubadora comienza a funcionar cuando la luz se enciende y finaliza cuando ésta se apaga. Esto determina cuando empieza y termina la incubación de la tira.

Al finalizar se separaron los extremos de las tiras y se procedió a la lectura de las mismas.

Los resultados fueron leídos usando la matriz reactiva según W. Löesche. (Löesche et al, 1990).¹⁰

Positivo: Cambio de color al azul fuerte. *Ligero positivo:* Cambio de color azul débil. *Negativo:* Sin cambio de color.

A mayor intensidad del color cuando la muestra es positiva, mayor será la cantidad de colonias bacterianas presentes en la placa bacteriana muestreada.

RESULTADOS

En un total de 72 pacientes observados la totalidad de sitios examinados fueron 124, de los cuales la actividad enzimática se manifestó de la siguiente manera:

De los 62 pacientes con una profundidad de bolsa de 3 mm:

- 6 (seis) sitios dieron *positivo* con el Test BANA (más de 500,000 CFU anaerobios en el sitio de la toma de muestra).
- 80 muestras de las bolsas periodontales manifestaron como resultado en el Test BANA: *Ligero positivo*. Lo que indica la presencia de bacterias periodontopáticas en un rango de 100,000 a 500,000 CFU anaerobios en cada sitio muestreado.
- 18 muestras fueron *negativas*, lo cual indica que la presencia de bacterias en el sitio muestreado no llega a 100,000 CFU.
- De los 10 pacientes grupo control con una profundidad de bolsa de 2 mm:
- 20 sitios dieron como resultado *negativo* al Test BANA (Figura 10).

DISCUSIÓN

La reacción débil positivo de la prueba enzimática BANA se manifiesta como un color azul pálido sobre un área muy pequeña o sobre el área total de contacto con la placa. El significado de esta intensidad de color en un paciente libre de síntomas clínicos de en-

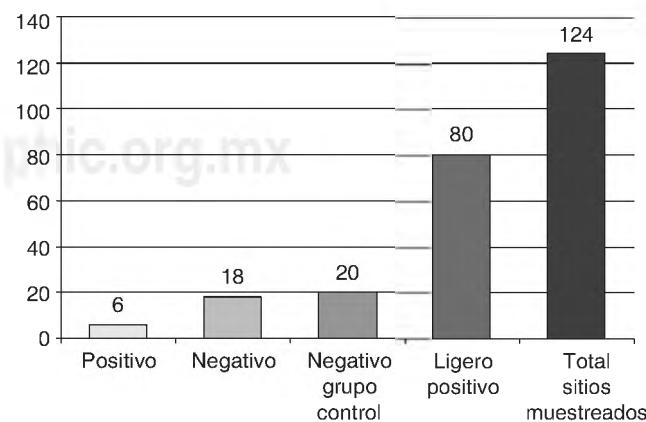


Figura 10. Actividad enzimática de las bolsas periodontales

fermedad periodontal, indica la presencia de bacterias patógenas en un rango de 100,000 a 500,000 CFU anaerobios en el sitio de la toma de la muestra, esto determina que el paciente presenta un riesgo mediano de enfermedad periodontal.

Los resultados débiles positivos obtenidos de la prueba enzimática BANA en bolsas periodontales de 3 mm demuestran una posible actividad de las bacterias de la placa subgingival en ausencia de signos clínicos evidentes de enfermedad periodontal.¹⁰⁻¹²

Los resultados negativos puede ser que estén debajo del límite de detección del Test BANA, siguiendo lo propuesto por el estudio de Löesche et al 1989.¹³

CONCLUSIONES

Mediante los resultados obtenidos en este trabajo podemos resaltar el valor que representa la inclusión de las Técnicas de Diagnósticos no Convencionales como la prueba de hidrólisis BANA. (N-&-bencil-DL-arginina-2-naftilamida) al examen clínico periodontal debido a la necesidad que se le presenta al odontólogo para realizar un diagnóstico precoz de esta enfermedad, causa principal de la pérdida de piezas dentarias, debido a que las técnicas de diagnóstico tradicionales o convencionales como el sondeo periodontal no dan una información eficaz acerca de la misma sino más bien objetiva, y consecuentemente se hace muy difícil diagnosticar clínicamente su actividad y realizar un tratamiento apropiado en el momento oportuno.

REFERENCIAS

1. Carranza, Newman. *Periodontología Clínica*. Octava edición. McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V. 1998: 836.
2. Grisi MFM, Correa FTA, Fanganiello CLS, Martins Jr W, Silvano Neto CR, Salvador SL. Relación entre la presencia o ausencia de sangrado gingival y el test enzimático de BANA. *Braz Dent J* 2001; 12 (1): 23-26.
3. Ledesma MC, Miñarro RJ, Gacés OM, Martínez AG, Rodríguez MA. La reacción BANA como método de diagnóstico de periodontitis activa. *Rev ADM* 1995; 52 (5): 251-254.
4. Grisi MFM, Ito IY, Novaes AB. BANA hydrolysis and probing depth to monitor periodontal treatment. *J Dent Res* 1991 70 (special issue): 320 (abstract).
5. Bretz WA, Lopatin D, Hujoel P, Taylor C, Löesche WJ. BANA hydrolysis and *T. denticola* and/or *B. gingivalis* in periodontal plaques. In: Annual Session of IADR 18. San Francisco, 1989. *Apud J Dent Res* 1989 68(sp. issue): 241 (abstract 481).
6. Schmidt EF, Bretz WA, Hutchinson RA, Löesche WJ. Correlation of the hydrolysis of Benzoyl-Arginine-Naphthylamide (BANA) by plaque with clinical parameters and subgingival levels of spirochetes in periodontal patients. *J Dent Res* 1988; 67: 1505-1509.
7. Bretz WA, Löesche WJ. Characteristics of trypsin-like activity in subgingival plaque samples. *J Dent Res* 1987; 66: 1669-1672.
8. Löesche WJ, Syed SA, Stoll J. Trypsin-like activity in subgingival plaque. A diagnostic marker for spirochetes and periodontal disease? *J Periodontal* 1987; 58: 266-273.
9. Mühlmann HR, Son S. Gingival sulcus bleeding a leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica Odontológica Acta* 1971; (15): 107-113.
10. Löesche WJ, Bretz WA, Kerschensteiner D, Stoll J, Socransky SS, Hujoel PP, Lopatin DE. Development of hydrolysis of Benzoyl-DL-Arginine-Naphthylamide. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 1551-1559.
11. Grisi MFM, Novaes AB, Ito IY, Salvador SL. Relationship between clinical probing depth and reactivity to the BANA test of samples of subgingival microbiota from periodontally involved patients. *Braz Dent J* 1998; 9: 77-84.
12. Acuña M, Monzón J, Caramello CR, Diez R. Estudio comparativo entre la prueba enzimática BANA y el índice gingival de Löe en pacientes de la Provincia de Corrientes, Argentina. *R Cúspide* 2006; 13: 22-25.
13. Löesche WJ, Bretz W, Kilroy W, Rau C, Weber HP, Lopatin D. Detection of *T. denticola* and *B. gingivalis* in plaque with perioscan. In: Annual Session of IADR, 18. San Francisco. *Apud J Dent Res* 1989; 68 (special issue): 241 (abstract 482).

Dirección para correspondencia:

Miguel Acuña

Auxiliar Docente 1ra. Categoría Cátedra Periodoncia y Física-Química Biológica (F.O.U.N.N.E.). Argentina.

E-mail: odontoacuna@gmail.com