

# Prevalencia de *Prevotella* spp y *Porphyromona* spp en periodontitis crónica

S. M. Ortega<sup>1,2</sup>, M.R. Britos<sup>1</sup>, C. S. Sin<sup>1,2</sup>, C. Caramello<sup>1</sup>, J. Monzon<sup>1</sup>

## RESUMEN

Las enfermedades del periodonto tienen una etiopatogenia compleja y puede considerarse multifactorial. El factor etiológico esencial en la patología inflamatoria periodontal es la biopelícula dental y cuando el desequilibrio entre el huésped y los microorganismos cambia la complejidad de la flora. Ciertas bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella loescheii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* y *Treponema* spp., han sido comúnmente relacionadas con la periodontitis crónica y son consideradas como indicadores de riesgo para la progresión de dicha enfermedad. El objetivo de este trabajo fue establecer la prevalencia de *Prevotella* spp y *Porphyromona* spp en los distintos estadios de periodontitis crónicas.

**Material y métodos:** Se estudiaron 48 pacientes sistémicamente saludables con diagnóstico de periodontitis crónica. Se completó el consentimiento informado, se realizó historia clínica y examen periodontal. El estado periodontal se clasificó en distintos grados de severidad: leve, moderada y severa. Se tomaron muestras de dos sitios con mayor profundidad de sondaje con conos de papel absorbente estériles y se transportaron en un medio prerreducido. Para el aislamiento de *Prevotella* spp se utilizó agar *Brucella* más sangre ovina al 5%, hemina, vitamina K al que se agregaron vancomicina y kanamicina; *Porphyromonas* sp se aisló en el mismo medio con el agregado de bacitracina y colistina. Se sembraron 10 µl de muestra entera y las placas fueron incubadas en jarras de anaerobiosis por 5 a 7 días a 37°C. **Resultados:** los distintos grados de periodontitis correspondieron a un 17% periodontitis leve, 57% moderada y 26% severa. En el total de pacientes se determinó la presencia de *Prevotella* spp en el 54% de los casos y un 12,5% de *Porphyromona* spp. **Conclusión:** De los pacientes estudiados con periodontitis crónica, un 52% correspondió al sexo masculino, un 57% de los casos correspondieron a periodontitis moderada. Se aisló *Prevotella* sp en todos los estadios de periodontitis crónica y *Porphyromonas* sp sólo en periodontitis severas.

**Palabras clave:** periodontopatogenos, periodontitis, *Porphyromonas*, *Prevotella*.

<sup>1</sup> Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes – Argentina.

<sup>2</sup> Biotecnología Microbiana para la Innovación Alimentaria (BiMIA) – (IMIT) Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica – CONICET. Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes – Argentina.

Lugar de trabajo: Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes – Argentina.

Dirección postal: Av. Libertad 5450, 3400 Corrientes

Teléfono fijo: 0379 445-7992

Teléfono móvil: 03794-503873

Correo electrónico: silviaortega14@yahoo.com.ar

## ABSTRACT

Periodontal diseases have a complex etiopathogenesis and can be considered multifactorial. The essential etiological factor in periodontal inflammatory pathology is the dental biofilm and when the imbalance between the host and the microorganisms changes the complexity of the flora. Certain bacteria such as *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella loescheii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* and *Treponema spp.*, have been commonly related to chronic periodontitis and are considered as risk indicators for the progression of said disease. The objective of this work was to establish the prevalence of *Prevotella spp* and *Porphyromonas spp* in the different stages of chronic periodontitis. Forty eight systemically healthy patients diagnosed with chronic periodontitis were studied. Informed consent was completed, a medical history and periodontal examination was carried out. The periodontal state was classified into different degrees of severity: mild, moderate and severe. Samples were taken from two sites with greater depth of probing with sterile absorbent paper cones and transported in a prerduced medium. For the isolation of *Prevotella spp*, *Brucella* agar plus 5% sheep blood, hemin, vitamin K to which vancomycin and kanamycin were added. For *Porphyromonas spp*, the same medium was used and bacitracin and colistin were added. 10 l of the whole sample was seeded and the plates were incubated in anaerobic jars for 5 to 7 days at 37 ° C. Different degrees of periodontitis corresponded to 17% mild periodontitis, 57% moderate and 26% severe. In the total number of patients, the presence of *Prevotella spp* was determined in 54% of the cases and 12.5% of *Porphyromona spp*. Of the patients studied with chronic periodontitis, 52% corresponded to the male sex, 57% of the cases corresponded to moderate periodontitis. *Prevotella spp* was isolated in all stages of chronic periodontitis and *Porphyromonas sp* only in severe periodontitis.

**Keywords:** periodontopathogens, periodontitis, *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del periodonto tienen una etiopatogenia compleja y puede considerarse multifactorial; entre estos factores se consideran los relacionados al huésped como la herencia o predisposición genética, el hábito de fumar, la dieta, enfermedades como diabetes y obesidad e inclusive factores geográficos y socioeconómicos<sup>1,2,3</sup>. El factor etiológico esencial en la patología inflamatoria periodontal es la biopelícula dental. Cuando se desarrolla una periodontitis en realidad lo que se produce es un desequilibrio entre los microorganismos y los mecanismos de defensa del hospedero. Dicho desequilibrio puede ser consecuencia de un cambio en el tipo de microorganismos, aunque a veces se producen alteraciones en los mecanismos de defensa que permiten el desarrollo de cambios patológicos con pequeñas modificaciones

de la placa. Asimismo, los factores del medio pueden establecer un ambiente propicio para que se produzca dicho desequilibrio. El biofilm subgingival se desarrolla siguiendo el esquema de colonización, agregación, coagregación y sucesión microbiana según lo sugerido por Socransky<sup>4</sup>: grupo 3, compuesto *Streptococcus mitis*, *oralis* y *sanguinis*, *intermedius*, *gordonii*; grupo 5 *Actinomyces odontolyticus* y *Veillonella parvula* y *Actinomyces naeslundii*, que aparece como uno de los primeros colonizadores; ellos presentan adhesinas con afinidad por los tejidos duros. El grupo 4 formado por *Eikenella corrodens* y especies de *Capnocytophaga*, preparan el nicho ecológico para la instalación del grupo 2 o naranja, integrado principalmente por *Fusobacterium nucleatum* y *periodonticum* que hacen de nexo con bacterias de aparición tardía, como las especies de *Prevotella inter-*



*media*, *nigrescens* y *Micromonas micro*. La presencia de estos microorganismos induce a un cambio en el nicho ecológico estableciendo las condiciones físicas y químicas así como la aparición de nutrientes para el establecimiento del grupo rojo formado por *P. gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*. El género *Prevotella* comprende un grupo amplio de microorganismos cuyo hábitat natural es el surco gingival. Presentan forma de bacilos pequeños, Gram negativos, anaeróbicos, inmóviles, no esporulados, que se clasifican en pigmentados y no pigmentados. Entre los no pigmentados y sacarolíticos se hallan *Prevotella oris*, *Prevotella buccae*, *P. bivia*, *P. buccalis*, *P. disiens*, *P. oulorum*, *P. veroralis*, *P. heparinolytica*, *P. zoogloformans*; *P. bivia* y *P. disiens* son fuertemente proteolíticas y no fermentan sacarosa aunque *P. bivia* fermenta lactosa<sup>5</sup>. Entre las especies pigmentadas se mencionan a *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *P. loescheii*, *P. corporis*, *P. nigrescens*, *P. pallens*, *P. denticola*. *P. intermedia* es asociada con la presencia de enfermedad periodontal, mientras que a *P. nigrescens* se la relaciona con más frecuencia con los sitios sanos periodontalmente. Las colonias pigmentadas deben su coloración, que puede ser marrón oscuro o negro, a la formación de pigmentos del mismo color alrededor de sus paredes que consisten en depósitos de hemina; este característico desarrollo lo realizan en medio agar sangre enriquecido con hemina y vitamina K6, siendo estos factores de crecimiento para su desarrollo. Esta característica se observa a las dos a 3 semanas de desarrollo. Se mencionan entre ellas a *P. loescheii*, *P. melaninogénica*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. denticola*, *P. corporis* y poseen la propiedad de fermentar algunos azúcares. Se incuban en atmósfera anaerobia. Su principal factor de virulencia es la presencia de fimbrias que posibilitan la adhesión y coagregación de otros microorganismos que reconozcan sus moléculas e interactúen con un receptor proteico o polisacárido. Su capacidad de degradar inmunoglobulinas, su acción sobre fibroblastos, su actividad fibrinolítica e inhibición de células B se suman a su patogenicidad<sup>7</sup>.

Este género ha sido aislado de infecciones polimicrobianas de la cavidad oral, como la enfermedad periodontal, lesiones cavitadas de caries, abscesos<sup>8</sup> y otras infecciones como abscesos cerebrales y pulmonares, enfermedad inflamatoria pélvica y abscesos tubo-ováricos<sup>7</sup>. *Porphyromona gingivalis* es un coco o cocobacilo pleomórfico Gram negativo, inmóviles, no esporulado, anaerobio estricto asacarolítico; son vancomicina resistentes. Su preferencia por protoporfirina como dador de hierro permite la entrada de acumulación de un dímero que ejerce función protectora antioxidante y proporciona el color característico a las colonias, negras o marrón oscuro. Produce proteínas con apetencia por arginina y lisina, denominadas *arginina gingipain* y *lisina gingipain*, vistas como uno de los factores de virulencia<sup>9</sup> a los que se agregan la cápsula en algunas mutantes, las fimbrias o adhesinas, vesículas de la membrana externa, lipopolisacáridos (LPS) y hemolisinas. Libera metabolitos finales como amonio butirato, acetato y propionato que penetran en los tejidos y producen daño celular. Tres de sus especies se relacionan con el desarrollo y progreso de la periodontitis, *P. gingivalis*, *P. endodontalis* y *P. asaccharolytica*. Tradicionalmente se han utilizado técnicas microbiológicas para su aislamiento e identificación. Los medios de cultivo más utilizados para su desarrollo son agar base Columbia, agar base Brucella y otros suplementados con ácido nalidíxico y vancomicina, además de, sangre, hemina y vitamina K, los cuales favorecen el crecimiento. La condición para su desarrollo es bajo atmósfera anaerobia estricta que se logra con sobres especiales o cámaras de anaerobiosis. Durante años el diagnóstico de la enfermedad periodontal se ha basado en las mediciones clínicas y radiográficas. Los parámetros de evaluación como: inflamación de los tejidos, profundidad del surco gingival y evidencias radiográficas de pérdida de hueso alveolar, permanecen como las bases en el diagnóstico clínico de la enfermedad en los pacientes<sup>10</sup>. El desarrollo de las técnicas microbiológicas anaerobias durante los últimos 30 años, ha permitido con-

siderablemente la comprensión de la etiología de las infecciones periodontales; se sabe por diversos estudios, que las infecciones son polimicrobianas, dominadas principalmente por especies de bacilos anaerobios<sup>11</sup>. Algunas investigaciones evidencian, que ciertas bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella loescheii*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia* (antes *Bacteroides forsythus*), *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* y *Treponema spp.*, han sido comúnmente relacionadas con la periodontitis crónica y son consideradas como indicadores de riesgo para la progresión de dicha enfermedad<sup>12,13,14,15</sup>. *Porphyromona spp* ha sido asociada a formas de periodontitis más destructivas mientras que *Prevotella spp* se considera un habitante común en pacientes con periodontitis, gingivitis e incluso en surco de personas sin periodontitis. El objetivo de este trabajo fue establecer la prevalencia de *Prevotella spp* y *Porphyromona spp* en los distintos estadios de periodontitis crónicas.

#### MATERIAL Y MÉTODO:

Se estudiaron 48 pacientes sistémicamente saludables con diagnóstico de periodontitis crónica. Los criterios de inclusión fueron: pacientes no fumadores, que no hayan recibido terapia antibiótica por lo menos tres meses antes, que no hayan recibido tratamiento periodontal ni tratamiento tópico con antisépticos. Se completó el consentimiento informado, se realizó historia clínica y examen periodontal. El estado periodontal se clasificó en distintos grados de severidad según Escudero Castaño<sup>16</sup>: leve (hasta 4 mm), moderada (hasta 6 mm) y severa (más de 6 mm). Se tomaron muestras de dos sitios con mayor profundidad de sondaje (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL). Se utilizaron conos de papel absorbente estériles<sup>6</sup> que se dejaron por 30 segundos en el surco gingival y se transportaron en un medio de transporte prerreducido (RTF). Para el aislamiento de *Prevotella spp* se utilizó agar Brucella (Britania, Argentina) que se

enriqueció con sangre ovina al 5% (Britania, Argentina), hemina (5 mg/L), vitamin K1 mg/L; se agregaron antibióticos inhibidores de cepas Gram positivas como vancomicina y kanamicina. Se sembraron 10 µl de muestra entera, en las placas con medio selectivo. Las placas fueron incubadas en jarras de anaerobiosis con sobres para anaerobiosis (Anaero Pack, MGC, Japan) por 5 a 7 días a 37°C. Se repicaron las colonias de interés (pigmentadas) para su purificación e identificación. Para la identificación bioquímica se realizaron las pruebas de: fermentación de lactosa, prueba de indol, catalasa, y B-acetilglucosidasa. Para aislamiento de *Porphyromona spp* se utilizó agar base Columbia (Britania, Argentina); se enriqueció con sangre ovina al 5% y se adicionaron vancomicina y colistina para inhibición de la flora acompañante; se incubaron las placas a 37° C en jarra de anaerobiosis con sobres generadores. La identificación fue en base a las características morfológicas de la colonia y características microscópicas ante coloración de Gram.

#### RESULTADOS:

Se estudiaron 48 pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica; el promedio de edad fue 45 años; un 47,9% correspondió al sexo femenino y un 52% al masculino. De acuerdo a la clasificación de la periodontitis según el grado de lesión, se registraron los valores que se muestran en la *figura 1*.

En el total de pacientes se determinó la presencia de *Prevotella spp* en el 54% de los casos y un 12,5% de *Porphyromona spp*. En la *tabla 1* se exponen las frecuencias de aislamiento de dichos microorganismos en los distintos grados de periodontitis.

#### DISCUSIÓN

*Prevotella spp* y *Porphyromonas spp* forman parte del biofilm subgingival; son periodontopatógenos con variada carga de virulencia. *Prevotella*,



al pertenecer al grupo naranja de Socransky precede en su instalación en el biofilm gingival a *Porphyromonas*, perteneciente al grupo rojo y coexiste con ella<sup>8</sup>. Aunque *Prevotella* presenta muchas especies, las más habituales en cavidad bucal son *P. intermedia*, *P. melaninogenica* y *P. nigrescens*, siendo esta última considerada como marcador de salud periodontal<sup>17</sup>. Estas especies presentan iguales características fenotípicas sobre todo por el color de sus colonias al igual que *P. gingivalis*. *Prevotella* es considerada un comensal de la cavidad bucal y eventualmente oportunista patógeno. *P. gingivalis* es fuertemente relacionada con enfermedad periodontal y raramente detectada en sujetos sanos<sup>18,19</sup> aunque Van Winkelhoff, en 2002<sup>20</sup> sugiere que *P. gingivalis*, *T. forsythia* y otros periodontopatógenos pueden ser aislados de sujetos con y sin destrucción periodontal. Los bacilos que producen colonias con pigmentación negra fueron hallados en un estudio en un 71.1% de sujetos sin periodontitis; en sujetos con periodontitis halló un 47,1% en sitios sanos y un 87,7% en sitios enfermos. *P. gingivalis* fue hallada en el 17,8% de sujetos con enfermedad periodontal, no así en sujetos sanos periodontalmente. Varios estudios han evaluado la presencia de microorganismos periodontopatógenos por métodos de cultivo para determinar su frecuencia<sup>8, 21, 22,23,24</sup> y hallaron entre un 40,33% y 78,55%. Condorelli en 1998<sup>25</sup>, en su estudio determinó un 78,3% de desarrollo de *P. gingivalis* en muestras de líquido crevicular de pacientes con periodontitis activas y un 34,7% de sitios inactivos en los mismos pacientes. Menciona que, en fases tempranas de enfermedad periodontal, pueden detectarse altos niveles de *P. gingivalis*, mientras que en bolsas que se hacen recurrentes, evolucionan a la forma crónica y dan lugar al establecimiento de otras bacterias modificando la ecología del nicho. En otro estudio<sup>26</sup> se observó que *Prevotella* alcanzaba un 35% de frecuencia frente a *Porphyromonas* con sólo el 20%. Estos géneros estaban acompañados por otras bacterias anaerobias, 15% en el caso de *Actinomyces spp*, 15% *Bifidobacterium spp*, 10% *Bacteroides spp* y un 5%

*Fusobacterium spp. Van Winkelhoff y col*, en 1988<sup>20</sup>, hallaron que luego del tratamiento periodontal *P. intermedia* aumentaba su número, por lo que expresaron que la combinación de ambas provoca fases menos agresivas de enfermedad y estimaron que la presencia de *P. gingivalis* solamente, determina más agresión. Lopez, en 2000<sup>27</sup>, halló una gran prevalencia de ambos microorganismos en periodontitis del adulto en sujetos chilenos.

Gamboa en 2014<sup>28</sup>, estudió 30 pacientes con periodontitis, en 13 (40.33%) de ellos identificó *Prevotella spp*, en 4 (13.33%) *Porphyromonas spp*, y en 5 (16.67%) *Prevotella spp* y *Porphyromonas spp* juntas, observando que *Prevotella spp* es la más frecuente en todas las edades, y *Porphyromonas spp*, en pacientes mayores de 30 años, lo que coincide con reportes previos en que dichas bacterias están asociadas principalmente con la periodontitis del adulto<sup>29,30</sup>.

En este trabajo se consideraron los estadios leve, moderado y severo de periodontitis crónicas, hallando en los tres grados, presencia de *Prevotella spp* en variados porcentajes. El mayor se determinó en las periodontitis moderadas coincidiendo con los autores que refieren que *Prevotella spp* junto *Fusobacterium spp* son colonizadores previos a la instalación de *P. gingivalis*; se determinó la presencia *P. gingivalis* en 4 pacientes (66,6%) con periodontitis avanzadas coincidiendo con Guilarte<sup>31</sup> en el grupo de edad (mayores de 45 años) y con Ardila Medina, 2011<sup>32</sup> que halló *P. gingivalis* en los pacientes con mayores profundidades de bolsa que se corresponden con el grado severo de periodontitis.

La periodontitis crónica está fuertemente relacionada con *P. gingivalis*; su permanencia en forma crónica depende de su habilidad para evadir ciertas respuestas del huésped sin inhibir otras bacterias; el exudado inflamatorio aportado por el fluido crevicular es el origen esencial de sus nutrientes basados en péptidos y el hierro derivado de la hemina<sup>33</sup>. La metodología convencional por cultivo es la prueba de oro sobre todo porque permite estudios de

antibiograma<sup>34</sup>, pero algunas especies bacterianas como *P. gingivalis* que en muchas ocasiones no puede aislarse primariamente, quizás por su sensibilidad al oxígeno convendría en estos casos recurrir a otras técnicas de diagnóstico como PCR para su identificación en muestras clínicas.

### CONCLUSIONES

De los pacientes estudiados con periodontitis crónica, un 52% correspondió al sexo masculino. Un 57% de los casos se ubicaron en periodontitis

moderada. Se aisló *Prevotella spp* en todos los estadios de periodontitis crónica y *Porphyromonas spp* sólo en periodontitis severas. ■

### AGRADECIMIENTOS

*Un especial agradecimiento al staff de profesores de la asignatura Periodoncia perteneciente al Modulo Diagnóstico y Patología Clínica II de la Facultad de Odontología de la UNNE.*

### BIBLIOGRAFÍA

1. Lindhe, J. Is Periodontitis a unique disease entity. *J Clin Periodontol* 2000; 1 Supp: 27:11
2. Bradshaw D, Marsh PD, Watson GK, Allison C. Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. *Infect Immun* 1998; 66: 4729–4732.
3. Holt J, Krieg N, Sneath P, Staley J. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. 1994
4. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25:134–144.

*Para consultar la bibliografía completa ver nuestra página web: [www.fundacioncarraro.org](http://www.fundacioncarraro.org)*

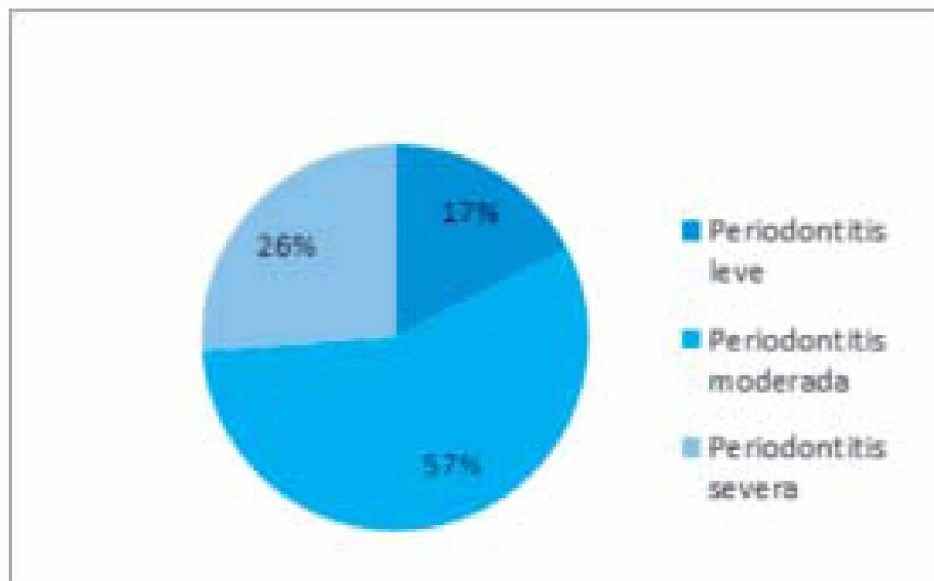


Figura 1. Distribución de grados de periodontitis según la profundidad de sondaje

Periodontitis	<i>Prevotella spp</i>	<i>Porphyromonas spp</i>
Leve	15%	0%
Moderada	54%	0%
Severa	34%	6,25%

Tabla 1: Aislamiento de *Prevotella spp* y *Porphyromonas spp* de acuerdo al grado de periodontitis