

Enfermedad periodontal destructiva y susceptibilidad antibiótica

ALEJANDRO BOTERO BOTERO*
HERNANDO VELASQUEZ ECHEVERRI**

RESUMEN

El paradigma tradicional con relación a la etiología de la enfermedad periodontal descrito desde los años 60, lo conforma la hipótesis de placa no específica, la cual señala que el solo aumento en número de bacterias por la formación de placa y cálculos sobre los dientes y los productos bacterianos tales como endotoxinas, ácidos orgánicos, enzimas, etc, sobrepasan la capacidad de defensa del huésped y la enfermedad aparecerá y progresará en severidad, de manera lineal. Así, un patrón de higiene oral deficiente con el tiempo llevará a la pérdida de los dientes. La placa se forma de manera universal y natural en todas las personas y llega a niveles dañinos en pocos días. La calidad de la placa presente en bocas sanas al ser comparada con aquellas que evidencian enfermedad periodontal y caries no muestra diferencias.

A mediados de los años 70 la investigación produjo un salto considerable al mejorarse las técnicas de cultivos cuantitativos para microorganismos anaerobios. Aparece la hipótesis de placa específica la cual señala en esencia que ciertas bacterias en la placa están más comprometidas en la etiología de una determinada patología en el periodonto. La invasión tisular aparece como un mecanismo de ataque, conformándose así el cuadro de una verdadera infección en el caso de algunas formas de enfermedad periodontal. Distintos enfoques terapéuticos se han utilizado, luego del fracaso en detener la enfermedad con la instrumentación mecánica tradicional, buscando una estrategia terapéutica dirigida a la etiología específica de la infección.

ABSTRACT

The current paradigm in relation to the etiology of periodontal disease was described in the 60's, it subscribes to the non specific plaque hypothesis which assigns an increase of bacteria due to build up of plaque and calculus on the teeth. The bacterial products such as endotoxins, organic acids, enzymes etc overcome the host's ability to neutralize them. The disease will develop and progress in severity in a

* Profesor Titular
Facultad de Odontología U. de A.
Odontólogo visitante Corporación para
Investigaciones Biológicas CIB.

** Profesor Asociado
Facultad de Odontología U. de A.

Para correspondencia: Doctor Alejandro Botero Botero
Facultad de Odontología
Universidad de Antioquia

linear fashion until with age the teeth will be lost. The plaque forms in an universal and natural way in all people and if allow it will reach noxious levels within several days. The quality of plaque being present in healthy mouth when compared to the one found in periodontal and caries diseases do not show great difference.

By the middle of the 70's the research progress in the anaerobic quantitative culturing techniques and this gave rise to the **specific plaque hypothesis** which assigns specific bacteria with certain forms of in periodontal disease. The direct bacterial penetration of the tissues as an attack mechanism conforms the scope of true infection in some forms of periodontal disease. Different therapeutic approaches have been utilized after the failure in arresting the disease by traditional procedures as mechanical instrumentation alone in the search of an therapeutic modality towards the specific etiologic agent.

PALABRAS CLAVES:

Enfermedad periodontal destructiva
Microbiología: Enfermedad periodontal
Terapia antibiótica
Enfermedad periodontal refractaria

KEY WORDS:

Destructive periodontal disease
Microbiology: Periodontal disease
Antibiotic therapy
Refractory periodontal disease

INTRODUCCION

Durante muchos años las técnicas de terapia periodontal han sido relativamente exitosas en el tratamiento de los defectos causados por las enfermedades periodontales. Sin embargo, hay sitios y aun pacientes en los cuales el tratamiento no es adecuado y en muchos casos no es posible saber por qué es insuficiente el tratamiento elegido, y aún menos vaticinar qué sitios o pacientes van a responder a un determinado procedimiento.

Las enfermedades periodontales destructivas pueden definirse como una serie de infecciones que afectan sitios en la cavidad oral y llevan a la pérdida

rápida de los tejidos periodontales de soporte. Así que tratamos enfermedades infecciosas y no "bolsas", "pérdida ósea" o "defectos anatómicos". Si fallamos en controlar la infección, se falla en mantener el periodonto saludable. Sin embargo, hay dos características que hacen el tratamiento de estas enfermedades algo diferente a otras infecciones sistémicas. La primera es que la cavidad oral es el único sitio en el organismo donde un tejido calcificado pasa a través del tinguimento de tejido blando hacia el medio externo. Esto da la oportunidad a los microorganismos de colonizar una superficie dura estable (el diente) y mantener una amenaza continua sobre los tejidos periodontales. La segunda es que las enfermedades periodontales parecen progresar en gran parte por períodos de exacerbación y remisión. Así que los patógenos pueden residir en o sobre un diente sin causar enfermedad. Un episodio de "actividad" puede ocurrir y ser controlada por el huésped, por otras especies de microorganismos en el sitio o el clínico que está realizando el tratamiento. Sin embargo, en muchos casos los agentes infecciosos no pueden ser eliminados dando la posibilidad para que la enfermedad pueda reiniciarse.

REVISION DE LA LITERATURA

Tradicionalmente, la enfermedad periodontal ha sido considerada como una respuesta inflamatoria de los tejidos de soporte del diente a los productos bacterianos de la placa dentobacteriana acumulada sobre éste. Loe en 1965 (1) demuestra que con el crecimiento libre de placa por dos secciones las personas desarrollaban una gingivitis durante el experimento.

La placa inicialmente conformada por microorganismos gram(+) aerobios cambia con el tiempo a una flora gram(-) facultativa y anaerobia como lo evidencia Ritz (2) en 1967. La permanencia de esta estructura bacteriana hará que la inflamación persistente, progrese a niveles más profundos en los tejidos de soporte, conformándose una periodontitis.

El paso de gingivitis a periodontitis, no se ha identificado aún; algunas personas pueden sufrir de gingivitis por períodos largos de tiempo, sin progresar a periodontitis (3, 4).

En la última década, con el avance en el conocimiento de la placa y flora subgingival, se han identifi-

cado especies de gram(-) anaerobios (5, 6), asociados con una enfermedad periodontal de carácter destructivo, avance rápido e iniciación temprana que afecta a los individuos en la dentición decidua "Periodontitis Prepuberal" (7), en la dentición definitiva durante la adolescencia "Periodontitis Juvenil" (8) y en pacientes adultos jóvenes "Periodontitis Rápida Progresiva" (9) y en pacientes adultos tratados por métodos convencionales con mala respuesta "Periodontitis Refractaria".

Estas formas de periodontitis se asocian a diferentes especies de microbiotas subgingivales.

Varios estudios han tratado de correlacionar microorganismos individuales o asociados en la etiología de estas enfermedades, generándose el concepto por muchos años defendido de la hipótesis no específica de la placa (10) (11) (12). En algunas de estas enfermedades destructivas se ha descrito la invasión tisular de microorganismos al epitelio y tejido conectivo (13) (14), presentándose así un verdadero cuadro de infección periodontal.

Estas formas infecciosas de avance rápido se asocian con situaciones anormales en el estado sistémico del huésped, tales como: Defectos hereditarios o adquiridos en el sistema de defensa inmune (15) (16), enfermedades sistémicas como diabetes, SIDA, etc, (17) (18). Son en general pacientes de ambos sexos que no responden adecuadamente a la terapia inicial, tradicional, presentan recidivas con daño severo en corto tiempo asociado a situaciones de tensión emocional, la historia familiar es positiva para la existencia de padres o hermanos con historia de problema periodontal desde jóvenes. Al examen clínico, son bocas con un nivel de higiene bucal aceptable, pocos cálculos, variada respuesta tisular, supuración abundante a la presión digital sobre la encía, bolsas profundas, mal aliento, mal sabor, hipersensibilidad dental, movilidad dentaria, formación de diastemas y extrusión de dientes; pérdida ósea severa e irregular, sin un patrón definido al examen radiológico, pero con tendencia a la pérdida ósea vertical.

La periodontitis refractaria es considerada por muchos investigadores como una entidad patológica aparte y diferente, descrita en un paciente en particular que tiene múltiples sitios que no responden a terapia convencional. Dichos pacientes continúan

mostrando pérdida de inserción y de hueso alveolar, a pesar del frecuente tratamiento periodontal que incluye detartraje (18) (21) alisado radicular y cirugía, a menudo combinados con tetraciclina administrada sistémicamente.

Un estudio de Hirshfield y Wassermann (19) reportó que el 83% de 600 pacientes seguidos por un período de 22 años después del tratamiento inicial estaban en buenas condiciones (0 - 3 dientes perdidos por paciente), el 13% perdió 4 - 9 dientes y fueron considerados en deterioro, mientras el 4% que perdió 10-23 dientes fueron considerados en franco retroceso. Un estudio similar de McFall (20) en 100 pacientes, seguidos al menos durante 15 años, encontró que el 15% de los pacientes estaba en retroceso y el 8% en franco retroceso. Estos dos grupos de pacientes han sido clasificados como "refractarios". El clínico, cuando recibe dicho paciente frecuentemente, incluye el uso de un agente antimicrobiano o antibiótico, los cuales se han utilizado con resultados variables (32) (34). La disparidad notada sin duda, ha sido influenciada por los diferentes síntomas de enfermedades tratadas y por el hecho de que la selección, dosis y usos de muchos agentes han sido empíricos. En muchos casos no se han considerado, ni las susceptibilidades de la bacteria, ni la dosis necesaria para mantener niveles terapéuticos en la bolsa periodontal. A pesar de que dichos agentes han mostrado efectividad en otras infecciones agudas, ha sido difícil demostrar igual eficacia en el tratamiento de enfermedades periodontales destructivas. Se ha evidenciado cómo las concentraciones de varios agentes antimicrobianos son diferentes en el fluido crevicular cuando se compara a la sangre o al suero (35) (40).

La tetraciclina ha sido el antimicrobiano más utilizado en enfermedades periodontales destructivas; muchos estudios han demostrado algunos efectos benéficos con su uso que no pueden ser obtenidos por medio de terapias periodontales convencionales solas (41) (43). Sin embargo, muchos investigadores han reportado una respuesta pobre al uso de la tetraciclina y de otros antibióticos utilizados sistémicamente (19) (20) (23) (43) (44). Algunos investigadores consideran que el síndrome de enfermedad periodontal que no responde adecuadamente a terapias convencionales combinadas con el uso de la tetraciclina, es indicativo de periodontitis refractaria (45) (50) (60) (61). El porcentaje exacto de la población con esta condición es desconocido. Sin embargo, Magnusson (50) estima

que puede ser entre 4% - 8% los de franco retroceso, pero Haffajee (46) cuestiona si estos casos existen y dice que quizás lo que ha ocurrido es una inadecuada instrumentación o la escogencia de una terapia **incorrecta**. Sin embargo no es explicable cómo un paciente periodontal tiene varios sitios que demuestran pérdida de inserción a pesar de una terapia apropiada y un mantenimiento regular. Esta respuesta del paciente no debe confundirse con una recurrencia de la enfermedad por falta de mantenimiento. Esta situación también difiere de la periodontitis crónica de un paciente, en el cual unos pocos sitios pueden no responder a la terapia convencional. Parece que la periodontitis refractaria sólo puede diagnosticarse longitudinalmente por el monitoreo cuidadoso de pacientes periodontales, quienes por una razón no determinada aún, fallan en la respuesta a la terapia convencional. Hasta ahora un reducido número de estudios longitudinales, utilizando grupos de pacientes con monitoreo intensivo, sugieren que el uso adjunto de un antibiótico apropiado es benéfico (47 - 48). Los datos de investigaciones epidemiológicas y de estudios longitudinales monitoreados de sujetos con y sin evidencia de enfermedad periodontal destructiva, indican que la destrucción periodontal es un evento escaso que ocurre periódicamente en algunos sitios de algunos individuos (51 - 57).

La progresión de la enfermedad parece ser un evento episódico. Algunos de los factores que influyen la actividad de dicha enfermedad (58) se presentan en la figura 1. El reconocer que un número de factores deben estar presentes simultáneamente para que la enfermedad prospere, sugiere las bases biológicas para el control de la enfermedad: Es esencial que el **huésped** sea "susceptible" a la infección sistémica y localmente. Algunos de los factores que afectan la susceptibilidad del huésped están ilustrados en la figura 1. Además, es esencial que uno o más **patógenos** estén presentes en el sitio. Estos pueden ser de tipo virulento, poseer el complemento de la información genética codificada para factores virulentos y deben estar en suficiente número para sobrepasar la capacidad del huésped. Algunas especies de grupos microbianos que son patógenos periodontales se encuentran en la figura 1. No aparecen cultivos de bacterias únicas aislados de sitios subgingivales. Por lo tanto, la interacción entre las especies es crítica para generar el resultado de enfermedad o no enfermedad. La presencia y los niveles de huésped-es-

pecies compatibles o huésped - **especies benéficas** son definitivas para la iniciación de la enfermedad y el control de ella post-tratamiento. Las fallas para establecer la microbiota compatible con el huésped post-tratamiento, pueden llevar al fracaso por recurrencia de infección. Finalmente el **medio** puede conducir a la progresión de la enfermedad, así estos factores afectan la rata de crecimiento de especies subgingivales, sus productos metabólicos y la regulación de los factores de virulencia de las especies.

FIGURA No. 1

FACTORES QUE SE REQUIEREN ESTAR PRESENTES PARA EL PROGRESO DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL (Tomado de Socransky, Haffajee. J. Periodontology. 64(8) 755, 1993.

ENFERMEDAD ACTIVA			
Huésped susceptible	Presencia de patógenos	Ausencia de especies benéficas	Medio circundante
Neutrófilos en mal función	A. Actinomicetem comitans	Actinomicetes Species	Temperatura
Respuesta inmunológica inadecuada o irregular	W. Recta	S. Mitis	Concentración de Fe ++
SIDA	E. Corrodens	S. Oralis	Profundidad de bolsa
Diabetes	F. Nucleatum	V. Parvula	Estado inflamatorio
Fumadores	P. Gingivalis	C. Ochracea	
Drogas	P. Intermedia		
	Peptomicros		
	Selenomonas species		
	Eubacterium species		
	Spirochetes		

De varios estudios longitudinales se deduce que en los pacientes con enfermedad periodontal, de un 7% al 15% presentan pérdida continua de inserción periodontal, a pesar de realizárseles la terapia periodontal convencional y el cuidado sistémico. A éstos se les diagnostica como pacientes con periodontitis "refractaria". Los microorganismos comúnmente encontrados en estos estudios se presentan en la figura 2. La mayor razón para que la terapia no sea exitosa, es la inhabilidad para controlar la flora patógena subgingival que es inaccesible en su totalidad a la instrumentación mecánica. Algunos pacientes refractarios pue-

den tener unas defensas disminuidas o defectuosas, las cuales permiten que un pequeño número de patógenos afecten el periodonto. El uso suplementario de agentes antimicrobianos específicos vía sistémica, pueden ayudar a eliminar los patógenos subgingivales.

FIGURA No. 2

MICROORGANISMOS SUBGINGIVALES AISLADOS EN PERIODONTITIS "REFRACTARIA DEL ADULTO". (DATOS COMBINADOS DE VARIOS ESTUDIOS). (TOMADO DE SLOTS J. Y RAMS T. EN CONTEMPORARY ORAL MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY". CAP. 23, PÁG. 432).

Microorganismos presentes	Porcentaje aproximado de sitios "refractarios" con microorganismos
Actinobacilo Actinomycetemcomitans	30%
Porphyromona gingivalis*	15%
Prevotella intermedia*	40%
Bacteroides forsythus	25%
Peptoestreptococos micros	30%
Wolinella recta	25%
Fusobacterium nucleatum	75%
Estafilococos epidermidis/aureus	30%
Enterobacterias/especies pseudomonas	10%
Candida albicans	15%

* Como especies bacteroides

Un estudio hecho con análisis microbiano longitudinal y cruzado de la microflora, asociada con sitios activos comparado con sitios controles, mostró lo siguiente: En nueve pacientes se tomaron muestras para análisis microbiano una semana después de que fue detectada la actividad de la enfermedad en sitios profundos (igual o mayores a 5 mms.) y se comparó con sitios control. Los mismos sitios fueron monitoreados 1 año después del tratamiento por medio de microscopio de campo oscuro. Los resultados muestran que la composición microbiana de los sitios antes de la terapia fue: 35% espiroquetas, 23% bacilos móviles, 38% no móviles y 4% de formas cocoides. Un mes después de tratamiento la composición varió a 4% espiroquetas, 0% bacilos móviles, 38% bacilos no móviles y 58% de formas cocoides. En la evaluación al año después de la terapia, se encontraron: 8% de espiroquetas, 6% de bacilos móviles, 57% de bacilos no móviles y 28% de formas cocoides (49).

Al análisis en el cultivo de la flora predominante, los sitios activos contenían aproximadamente: 25% bacterias pigmentadas de negro, (BPN) que se distribuían como sigue: 6.3% porphyromonas gingivales, 15% prevotella intermedia y 3.2% otras especies de prevotella pigmentada de negro. Los anaerobios gram negativos no fueron detectados a los tres meses en muchos sitios, pero se encontraron en cerca de un 20% de la flora, seis meses después de la terapia. Sin embargo las BPN encontradas fueron menos del 3% de la flora durante todo el tiempo después del tratamiento (49) (50).

En otro estudio longitudinal de dos meses a seis años, de Haffajee y otros (46) en un grupo heterogéneo de setenta y seis pacientes, con evidencia de enfermedad periodontal destructiva, se tomaron muchos de los sitios activos e inactivos de igual profundidad y pérdida de inserción antes de la terapia, en veintisiete de los setenta y seis sujetos que tenían la enfermedad activa. Se les realizó terapia quirúrgica asociada con antibióticos sistémicos de tetraciclina (un gramo diario) durante veintiún días, se monitorearon de ocho a sesenta y seis meses y se dividieron en cuatro grupos según la respuesta a la terapia. El grupo IV de trece sujetos se clasificó con enfermedad periodontal refractaria. De ellos, seis perdieron en total treinta y ocho dientes después de la terapia, en contraste con los otros tres grupos que no perdieron dientes. Los pacientes del grupo IV mostraron una elevada respuesta por presencia de fusobacteria nucleatum y cinco de este grupo, una alta respuesta a la presencia de B. intermedius (principalmente prevotella).

Microbiológicamente se obtuvieron niveles altos de B. forsythus, F. nucleatum, estreptococos intermedios, eikenella corrodens y bacteroides gingivalis, (principalmente porphyromonas) en aquellos sujetos que respondieron pobremente a la terapia.

Se encontró una alta relación entre el número de sitios con pérdida de inserción previa y la tasa de mortalidad postterapia. Se concluyó que los sujetos refractarios examinados no constituyen un grupo homogéneo, sino que los parámetros clínicos microbiológicos e inmunológicos pueden ayudar a identificar este tipo de paciente.

Características en los cultivos microbiológicos: (59).

La fusobacteria nucleatum es un organismo estrictamente anaerobio, asociado a la placa subgingival y enfermedad periodontal. Tiene la habilidad de formar "mazorcas" con los estreptococos hacia el lado externo, pudiendo representar un mecanismo para "infectar" la cavidad oral y mantenerse, a pesar de la fuerza de lavado que pueda ejercer el fluido gingival. Además, la fusobacteria tiene una proteína hacia el lado interno que ha sido identificada como receptora para la adhesión de estreptococos. La proteína ha sido clonada y los estudios tienden a identificar el dominante funcional de la molécula. Así, al menos algunas de las "mazorcas" son formadas por una interacción bioquímica entre un ácido teicoico de los estreptococos y hacia el lado interno con la proteína de la fusobacteria.

Una amplia variedad de organismos presentan coagregación que en muchos casos representa combinación de organismos de la placa supragingival (ejemplo: *Streptococcus sanguis*) con organismos de la placa supragingival (ejemplo: *Porphyromonas gingivalis*). Estas interacciones pueden representar un mecanismo general de transmisión y colonización de la bacteria.

La hemina, que es una proteína sanguínea presente en epitelios gingivales inflamados, es uno de los factores requeridos para el crecimiento de la porphyromonas gingivalis; ésta a su vez facilita la interposición de la fusobacteria con el estreptococos sanguis para formar las "mazorcas", teniendo así la fusobacteria un medio propicio para crecer.

La fusobacteria nucleatum es un patógeno potencial y puede utilizar tanto el azúcar como las proteínas para alimentarse. Los productos del metabolismo proteolítico son aminoácidos descarboxilados llamados ptomaines, (ejemplo: Putrecina, cadaverina, espermina, spermidina) que pueden ser usados por las espiroquetas como alimento suplementario y pueden transmitirse de padre a hijo. Algunos investigadores han sugerido que los ptomaines pueden producir cambios inflamatorios y también contribuyen al feto oris, el cual es característico de algunas formas de enfermedad periodontal.

En cada paso hacia la formación de la placa subgingival, una combinación de adhesión, coagregación y puentes entre los organismos, llevan a mante-

ner una comunidad microbiana que puede contener alrededor de 400 especies. Los estudios con microscopio electrónico han revelado la complejidad de la flora subgingival por tener células más pequeñas y formar una delgada capa de diferentes espesores que se adhieren a la superficie radicular. Las capas más internas al tejido contienen organismos flagelados y no tienen una matriz celular definida como en la placa supragingival. Las coagregaciones consisten de un eje central compuesto de una o más bacterias filamentosas, de aproximadamente 1 milimicra de diámetro. Las paredes celulares de estos organismos no son típicas de gram negativos o gram positivos. Las espiroquetas y las bacterias gram negativas con cuerpos bicóncavos y múltiples flagelos (posiblemente selenemona sputigena) se observan frecuentemente. También son comunes los organismos cocoides y una variedad de bastones gram negativos.

Los polimorfos nucleares del tipo leucocitos y los macrófagos están presentes en la superficie de la placa en contacto con el epitelio gingival y a menudo contienen bacterias que han sido fagocitadas.

A pesar de que las reacciones adhesivas alrededor de la bacteria pueden presentarse en la colonización inicial de la placa, una vez el área subgingival es "abierta" para la colonización, el total de los nutrientes llegados del surco se difunden en el fluido gingival para los organismos.

El mantenimiento del nicho microbiológico en la placa subgingival requiere un complejo de relaciones entre comensales, simbióticos y aun antibióticos. El uso de un metabolito del huésped, la hemina, por la porphyromonas y las prevotellas ha sido discutido. Algunas espiroquetas requieren la espermina, spermidina y putrecina producidos por la fusobacteria.

La vitamina K (menadione) es producida por la prevotella oralis y la veillonella alcalescens y es utilizada por la prevotella intermedia y porphyromona gingivalis. Las bacteriocinas producidas por el actinobacillus actinomycetemcomitans, puede inhibir al estreptococo sanguis en algunas placas y así encontrarse éstos en bajas proporciones en casos de periodontitis juvenil. Las hormonas esteroideas producidas durante la pubertad, el embarazo y la menstruación también se cree que influyen la cantidad y el tipo de bacterias encontradas en la placa subgingival.

Así que las proporciones finales de las bacterias que puedan encontrarse en la flora subgingival representan la suma de interacciones adhesivas y metabólicas.

CONCLUSIONES

Con las consideraciones anteriores, pensamos que en un enfoque terapéutico racional, se requiere: Una adecuada historia médico odontológica, la primera realizada por el médico, con los exámenes de laboratorio necesarios para detectar o descartar la existencia de una patología sistémica activa, inmune, metabó-

lica, nutricional, vascular o viral que ofrezca el terreno al daño periodontal. Una completa historia odontológica. Un estudio microbiológico de los microorganismos más predominantes en la bolsa periodontal, que sean reconocidos como patógenos putativos. Un antibiograma sobre estos últimos para identificar su mayor susceptibilidad, así como las posibles resistencias, y definir de esta manera la quimioterapia antibiótica más indicada. La formulación y monitoreo de cualquier enfermedad sistémica deben ser hechas por el médico y la terapia local odontológica sobre la superficie dura o blanda de la bolsa, deberá ejecutarse por el periodoncista durante la ingestión del antibiótico elegido.

BIBLIOGRAFIA

1. Loe H, Theilade E & Jensen, S. B. Experimental gingivitis in man. *J. Periodontol.* 36: 177-187, 1965.
2. Rizt H. L. Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch. Oral. Biology.* 12: 1561, 1967.
3. Listgarten M. A. Sahifter Scand Laster L. 3 year Longitudinal study of the periodontal status of adult population with gingivitis. *J. Periodontol.* 12: 225-238, 1987.
4. Page R. C. Schroeder H. E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.* 33: 235-249, 1976.
5. Slots J. Listgarten, M. A. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides Intermedius* and *actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J. Periodontol.* 13: 570-577, 1986.
6. Socransky S. S. Haffajee A. D. & Drink J. L. Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites. *J. Periodontol.* 15: 440-444, 1988.
7. Page. R. C. Bowen T. Altman L. C. Vandesteen E. Ochsh., Mackensie P. Osterberg, S. K. Engel L. D. and Williams B. L. Prepubertal periodontitis. I. Definition of a Clinical disease entity. *J. Periodontol* 54: 257 - 271.
8. Baer, P. N. The case for periodontosis as a clinical disease entity. *J. Periodontol.* 42: 516-520, 1971.
9. Page R. C. Altman L. C. Ebersole J. L. Vandesteen. G. E. Dahlberg W. H. Williams. B. L. and Ostenberg S. K. Rapidly Progressive Periodontitis. A distinct clinical condition. *J. Periodontol* 54: 257-27, 1983.
10. Socransky S. S. and Haffajee. A. D. Current concepts of bacterial etiology. *J. Periodontol* 63: 322-331, 1992.
11. Slots, J. Bragd T., Wikstrom M. & Dahlem G. The occurrence of *Actinobacillus*, *Actinomycetemcomitans* *bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J. Periodontol* 13: 570-577, 1986.
12. Tammer ACR, Haffer, C. Brathal G. T., Visconti R. A. & Socransky S. S. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis. *J. Clin. Periodont.* 6: 278-307, 1979.
13. Saglie, R. A. Scanning electromicroscope study of the relationship between the most apically located subgingival plaque and the epithelial attachment. *J. Periodontol* 48: 105-115, 1977.
14. Listgarten, M. A. Electron microscopical observations on the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J. Periodontol*, 36: 328, 1965.
15. Genco, R. J., Slots, J. Host responses in periodontal disease. *J. Dent. Res.* 63: 441-451, 1984.
16. Van-Dyke T. E., LeVibe M. J. Genco R. J. Neutropenil function in oral disease. *J. Oral Path.* 14: 95-120, 1985.
17. Cianciola, L. J., Park, B. H., Bruck, E. Muscovich, L. & Genco R. J. Prevalence of periodontal disease in insulindependent diabetes mellitus J.A.D.A. 104: 655-660, 1982.
18. Steidley, K. E., Thonson, S. H. McQuade, M. J. Strong J. L., Scheidt, M. J., Van Dyke, T. E. A comparison of T4-T8 lymphocyte ratio in periodontal lesion of healthy and HIV-positive patients. *J. Periodontol.* 63: 753-756, 1992.
19. Hirschfeld L. Wassemann B. A. long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *J. Periodontol* 1978; 49: 225-237.
20. McFall WT. Tooth loss in 100 treated patients with periodontal disease. A long-term study. *J. Periodontol* 1982; 53: 539-549.
21. Lundstrom A. Johansson L-A, Hamp S-E. Effect of combined systemic antimicrobial therapy and mechanical plaque control in patients with recurrent periodontal disease. *J. Clin Periodontol* 1984; 11: 312-330.
22. Ciancio SG, Genco RJ., The use of antibiotics in periodontal disease, *Int. J. Periodont. Res. Dent.* 1983; 4:55-71.
23. Genco RJ. Antibiotics in the treatment of human periodontal disease. *J. Periodontol.* 1981; 52: 545-558
24. Slots J, Mashimo P. Levine MJ. Genco RJ. Periodontal therapy in humans 1. Microbiological and clinical effects of a single course of periodontal scaling and root planing and of adjunctive tetracycline therapy. *J. Periodontol.*, 1979; 50: 495-509.
25. Korman KS. Karl Eh. The effect of long-term, low-dose tetracycline therapy on the subgingival microflora in refractory adult periodontitis *J. Periodontol.*, 1982; 53: 604-610.

26. Lundstrom A, Johansson L-A, Hamp S-E. Effect of combined systemic antimicrobial therapy and mechanical plaque control in patients with recurrent periodontal diseases. *J. Clin Periodontol* 1984; 11: 321-330.
27. Bragd L, Wikstrom M, Slots J. Clinical and Microbiological study of "refractory" adult periodontitis. *J. Dent Res* 1985; 64 (Spec. Issue): 234 (Abstr. 538).
28. Fiehn N-E, Westergaard J. Recurrent periodontitis: Effect of doxycycline on the subgingival microflora. *J. Dent Res* 1989; 68 (Spec. Issue): 910 (Abstr. 400).
29. McCulloch CAG, Birck P, Ovorall C, Aitken S, Lee W, Kulkarni G. Randomized controlled trial of doxycycline in prevention of recurrent periodontitis in high risk patients: Antimicrobial activity and collagenase inhibition. *J. Clin Periodontol* 1990; 17: 616-622.
30. Rams TE, Keyes PH, Wright WE, Howard SA. Long Term effects of microbiologically modulated periodontal therapy on advanced periodontitis. *J. Am Dent Assoc* 1985; 111: 429-441.
31. Haffajee AD, Dzink JL, Socransky SS. Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. *J. Clin Periodontol* 1988; 15: 255-262.
32. Gusberi FA, Syed Sa, Lang NP. Combined antibiotic (metronidazole) and mechanical treatment effects of the subgingival bacterial flora of sites with recurrent periodontal disease. *J. Clin Periodontol* 1988; 15: 353-359.
33. Christersson LA, van Winkelhoff AJ, Zambon JJ, De Graaff J, Genco RJ. Systemic antibiotic combination therapy in recalcitrant and recurrent localized juvenile periodontitis. *J Dent Res* 1989; 68 (Spec. Issue): 197 (Abstr. 128).
34. Rams TE, Feik D, Slots J. Ciprofloxacin/metronidazole treatment of recurrent adult periodontitis. *J. Dent Res* 1992; 71 (Spec. Issue): 319 (Abstr. 1708).
35. Gordon JG, Walker CB, Murphy JC, Goodson JM, Socransky SS. Tetracycline levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect of subgingival organisms. Part I. Concentrations in crevicular fluid after repeated doses. *J Periodontol* 1980; 52: 609-612.
36. Gordon JG, Walker CB, Murphy JC, Goodson JM, Socransky SS. Concentration of tetracycline in human gingival fluid after single doses. *J Clin Periodontol* 1981; 8: 177-121.
37. Walker CB, Gordon JM, McQuikin SJ, Niebloom TA, Socransky SS. Tetracycline levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect on subgingival organisms. Part II. Susceptibilities of periodontal bacteria. *J Periodontol* 1981; 52: 613-616.
38. Walker CB, Gordon JM, Cornwall HA, Murphy JC, Socransky SS. Gingival fluid levels of clindamycin compared with its minimal inhibitory concentrations for periodontal bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 19: 687-871.
39. Pascale D, Gordon J, Lamster I.
40. Britt MR, Pohiod DJ. Serum and crevicular fluid concentrations after a single oral dose of metronidazole. *J Periodontol* 1986; 57: 104-107.
41. Slots J, Mashimo P, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal therapy in humans. *J Periodontol* 1979; 50: 495-509.
42. Weeks DB. Tetracycline in the treatment of periodontal disease: Review of current literature. *J Am Dent Assoc* 1980; 101: 935-936.
43. Scopp IW, Froum SM, Sullivan M, Kazandjian G, Wank D, Fine A. Tetracycline: A clinical study to determine its effectiveness as long-term adjunct. *J Periodontol* 1980; 51: 328-330.
44. Linsgarten MA, Lindhe J, Helledén L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1978; 5: 246-271.
45. Gordon J, Walker C, Lamster I, et al. Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis: 12 month results. *J. Periodontol* 1985; 56 (Suppl): 75-80.
46. Haffajee AD, Socransky SS, Dzink JL, Taubman MA, Ebersole JL. Clinical, Microbiological and immunological features of subjects with refractory Periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 390-398.
47. Gordon J, Walker C, Holiaras C, Socransky S. Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis: 24 month results. *J Periodontol* 1990; 61: 686-691.
48. Magnusson I, Clark WB, Low SB, Maruniak J, Marks RG, Walker CB. Effect of non-surgical periodontal therapy combined with adjunctive antibiotics in subjects with "refractory" periodontal disease. I. Clinical results. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 647-653.
49. Walker C, Gordon J. The Effect of clindamycin on the microbiota associated with refractory periodontitis. *J Periodontol* 1990; 61: 692-698.
50. Magnusson I, Marks RG, Clark WB, Walker CB, Low SB, McArthur WP. Clinical microbiological and immunological characteristics of subjects with "refractory" periodontal disease. *J. Clin Periodontol* 1991; 18: 291-299.
51. Douglass CW, Gillings D, Sollecito W, Gammon M. National trends in the prevalence and severity of periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1983; 107: 403-412.
52. Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Comparison of different data analyses for detecting changes in attachment level. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 298-310.
53. Haffajee AD, Socransky SS, Lindhe J, Kent RL, Okamoto H, Yoneyana T. Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 117-125.
54. Okamoto H, Yoneyana T, Lindhe J, Haffajee A, Socransky SS. Methods of evaluating periodontal disease data in epidemiological research. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 430-439.
55. Miller AJ, Brumelle JA, Carlos JP, Brown LJ, Löe H. Oral Health of United States adults. Bethesda, Maryland: National Institute of Dental Research, 1987; NH Publications No. 87-2868.
56. Machtei EE, Christersson LA, Grossi SG, Dunford R, Zambon JJ, Genco RJ. Clinical criteria for the definition of "established periodontitis". *J Periodontol* 1992; 63: 206-214.
57. Goodson JM. Diagnosis of periodontitis by physical measurement: Interpretation from episodic disease hypothesis. *J Periodontol* 1992; 63: 373-382.
58. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J Periodontol* 1992; 63: 322-331.
59. Rosan B: "Mechanism of oral colonization" en Slots y Rams Contemporary oral microbiology and immunology St. Louis: Mosby year Brook Inc; 1992.
60. Socransky SS, Haffajee A. D. Effect of therapy on periodontal infections. *J Periodontol* 1993; 64: 754-759.
61. Walker C, Gordon J, Magnusson I, Clark W: A role for antibiotics in the treatment of refractory periodontitis. *J Periodontol* 1993; 64: 772-781.