
AVANCES en odontología

Vol. 34 - Núm. 6 - NOVIEMBRE-DICIEMBRE 2018

SUMARIO

A nuestros lectores	283
Tratamiento de pacientes edéntulos mandibulares con cirugía guiada y carga inmediata. ORDOÑEZ SOUSA B, JIMÉNEZ GUERRA A, ORTIZ GARCÍA I, ESPAÑA LÓPEZ A, MATOS GARRIDO N, VELASCO ORTEGA E.	285
Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC® 25175™). SILVA CF, VALENZUELA RM, PORTOCARRERO MJ.	293
Influencia del suero fetal bovino en el cultivo de fibroblastos gingivales. SIMANCAS-ESCORCIA V, VERGARA HERNÁNDEZ C, DÍAZ-CABALLERO A.	299
Principales conductas de riesgo sobre Papilomavirus Humano en universitarios argentinos. MEDINA ML, MEDINA MG, MERINO LA.	311

En la edición de abril 2012 del Ranking Web de Repositorios del Mundo (http://repositories.webometrics.info/index_es.html) publicado por el Laboratorio de Cibermetría del CSIC, el sitio SciELO España (<http://scielo.isciii.es>), coordinado y mantenido por la Biblioteca Nacional de Ciencia de la Salud del Instituto de Salud Carlos III, ocupa el puesto número 8 del mundo (http://repositories.webometrics.info/topportals_es.asp), subiendo un lugar con respecto a la pasada. Esos datos avalan la teoría de que SciELO es una excelente herramienta de visibilidad y difusión de nuestras publicaciones.

ACEPTADA EN EL ÍNDICE BIBLIOGRÁFICO ESPAÑOL EN CIENCIAS DE LA SALUD (IBECS) Y EN SCIELO.
LAS DIRECCIONES DE INTERNET PARA ENCONTRAR LAS REVISTAS INDEXADAS SON LAS SIGUIENTES:

AVANCES EN ODONTOESTOMATOLOGÍA
http://scielo.isciii.es/scielo.php/script_sci_serial/pid_0213-1285/Ing_es/nr

AVANCES EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA ORAL
http://scielo.isciii.es/scielo.php/script_sci_serial/pid_1130-1457/Ing_es/nr

AVANCES en odontología

Vol. 34 - Nmb. 6 - NOVEMBER-DECEMBER 2018

SUMMARY

To our readers	283
Treatment of mandibular edentulous patients with guided surgery and immediate loading. ORDOÑEZ SOUSA B, JIMÉNEZ GUERRA A, ORTIZ GARCÍA I, ESPAÑA LÓPEZ A, MATOS GARRIDO N, VELASCO ORTEGA E.	285
Comparison about antimicrobial effects of three different cain of honey bee on Streptococcus mutans (ATCC® 25175TM). SILVA CF, VALENZUELA RM, PORTOCARRERO MJ.	293
Influence of bovine fetal serum in the culture of gingival fibroblasts. SIMANCAS-ESCORCIA V, VERGARA HERNÁNDEZ C, DÍAZ-CABALLERO A.	299
Main risk behaviors on Human Papillomavirus in Argentine university students. MEDINA ML, MEDINA MG, MERINO LA.	311

A nuestros lectores

Comenzamos la revista con un trabajo titulado “Tratamiento de pacientes edéntulos mandibulares con cirugía guiada y carga inmediata” del **Dr. Ordoñez Sousa B. y cols.**, que nos dice que el objetivo del estudio es presentar estudios clínicos de la carga inmediata de implantes insertados en pacientes edéntulos mandibulares, como una alternativa terapéutica implantológica con una tasa elevada de éxito.

A continuación presentamos titulado “Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el *Streptococcus mutans*”, del **Dr. Silva CF. y cols.**, que tiene como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro de muestras de miel de *Apis mellifera* producida en la Cosa, Sierra y Selva contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Seguidamente tenemos con el trabajo del **Dr. Simancas-Escorcía V. y cols.**, titulado “Influencia del suero fetal bovino en el cultivo de fibroblastos gingivales”, que realiza un estudio para evaluar el efecto concentración dependiente de la suplementación de SFB en el medio de cultivo sobre el comportamiento, crecimiento, proliferación y supervivencia de los fibroblastos gingivales humanos.

Y finalmente terminamos con el artículo “Principales conductas de riesgo sobre Papilomavirus humano en universitarios argentinos” de la **Dra. Medina ML. y cols.**, que determina que las principales conductas de riesgo para la infección por VPH en esta población fueron haber tenidos dos o más parejas sexuales, sexo oral, y consumo de alcohol.

Tratamiento de pacientes edéntulos mandibulares con cirugía guiada y carga inmediata

Treatment of mandibular edentulous patients with guided surgery and immediate loading

Ordoñez Sousa B*, Jiménez Guerra A**, Ortiz García I**, España López A**, Matos Garrido N**, Velasco Ortega E.***

RESUMEN

Introducción. El objetivo del presente estudio era presentar los resultados clínicos de la carga inmediata de implantes insertados mediante la técnica de cirugía guiada en pacientes edéntulos mandibulares.

Pacientes y Métodos. Pacientes edéntulos totales mandibulares fueron diagnosticados mediante una tomografía computarizada de haz cónico y tratados con 8-10 implantes Galimplant® para su rehabilitación mediante la técnica de cirugía guiada y carga inmediata. Inmediatamente después de la cirugía sin colgajo se colocó una rehabilitación total inmediata provisional de resina. A los 3 meses se realizó la rehabilitación fija definitiva. El periodo de seguimiento clínico ha sido al menos de 48 meses después de la carga funcional.

Resultados y Discusión. 24 pacientes fueron tratados con 206 implantes. Desde un punto de vista implantológico, los resultados indican un éxito de los implantes del 97,6% después de un seguimiento clínico medio de 62,4 meses desde la rehabilitación definitiva. 5 implantes se perdieron durante el periodo de cicatrización con la prótesis provisional. La pérdida media de hueso marginal ha sido de 1,34 mm. Los hallazgos clínicos demuestran la eficacia clínica de este protocolo de carga inmediata, donde la estabilidad primaria de los implantes y el ajuste oclusal de la prótesis inmediata son factores determinantes del éxito.

Conclusiones. Este estudio indica que el tratamiento de pacientes edéntulos mandibulares con implantes dentales mediante cirugía guiada y carga inmediata constituye una alternativa terapéutica implantológica con una tasa elevada de éxito.

PALABRAS CLAVE: Implantología oral guiada, tomografía de haz cónico, carga inmediata, mandíbula, implantes dentales.

ABSTRACT

Introduction. The aim of this study was to present the clinical outcomes of immediate loading of implants inserted by guided surgery in edentulous mandibular patients.

Patients and methods. Mandibular edentulous patients were diagnosed by a cone beam tomography and treated with 8-10 Galimplant® implants for rehabilitation with guided surgery and immediate loading. After flapless surgery,

* Licenciada en Odontología. Máster en Implantología Oral. Facultad de Odontología. Universidad de Sevilla.

** Profesor Colaborador Docente de Odontología Integrada de Adultos y Gerodontología. Facultad de Odontología. Profesor del Máster de Implantología Oral. Universidad de Sevilla.

*** Profesor Titular de Odontología Integrada de Adultos y Gerodontología. Facultad de Odontología. Director del Máster de Implantología Oral. Universidad de Sevilla.

implants were loaded with an immediate acrylic temporary prosthesis. After a period of three months, a ceramic definitive full arch prosthesis were placed. The follow-up were at least of 48 months of functional loading.

Results and discussion. 24 patients were treated with 206 implants. Clinical outcomes showed a global success of 97.6% of implants after a mean follow-up of 62.4 months. Five implants were lost during the healing phase with provisional prosthesis. Mean marginal bone loss was 1.34 mm. Findings of the study showed clinical efficacy of immediate loading, primary stability and occlusal adjustment of immediate prosthesis are key determinants of success.

Conclusions. This study indicate that treatment of mandibular edentulous patients by guided surgery and immediate loading constitute an implant option with a high rate of success.

KEY WORDS: Guided-implant dentistry, cone beam tomography, immediate loading, mandible, dental implants.

Fecha de recepción: 5 de noviembre de 2018.

Fecha de aceptación: 15 de noviembre de 2018.

Ordoñez Sousa B, Jiménez Guerra A, Ortiz García I, España López A, Matos Garrido N, Velasco Ortega E.

Tratamiento de pacientes edéntulos mandibulares con cirugía guiada y carga inmediata. 2018; 34, (6): 285-292.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los avances en la cirugía de implantes tienen como objetivo mejorar las técnicas quirúrgicas para reducir la duración global del tratamiento y conseguir una menor morbilidad del paciente. Los protocolos de implantología guiada asistida por ordenador ayudan a los clínicos a simplificar todos los procedimientos desde la fase de diagnóstico hasta la realización de la rehabilitación prostodóncica final¹.

La introducción de los nuevos métodos diagnósticos 3D por imagen como la tomografía computarizada de haz cónico (cone beam computed tomography, CBCT) ha representado un paso importante en la planificación radiológica de los pacientes, unido a programas informáticos que simulan de forma muy precisa las fases quirúrgica y prostodóncica del tratamiento. De esta forma, las localizaciones de los implantes pueden ser establecidas según el volumen y la calidad óseas, la presencia de estructuras anatómicas (ej. nervio dentario inferior), y la valoración estética y funcional de la prótesis correspondiente².

Los programas informáticos de cirugía guiada basados en la información obtenida por la CBCT permiten planificar virtualmente, la posición tridimensional de los implantes y los pilares protésicos. Así mismo, mediante la exploración clínica del paciente y los registros oclusales, se completa la planificación con la realización de una férula quirúrgica guiada y un modelo predeterminado de rehabilitación prostodónci-

ca, con la elaboración de los pilares individualizados correspondientes³⁻⁴.

La realización de este protocolo integral de implantes consigue evitar la necesidad de técnicas quirúrgicas de aumento del tejido óseo ya que optimiza la disponibilidad ósea real mediante la valoración radiológica tridimensional de los rebordes óseos edéntulos, a la vez que se reduce significativamente la duración del tiempo de tratamiento mediante una cirugía mínimamente invasiva con menor riesgo de complicaciones⁵⁻⁶.

Aunque la precisión de esta técnica quirúrgica de inserción de implantes es muy elevada, definida como la diferencia entre la posición planificada del implante y su posición real en la boca del paciente; sin embargo, puede reflejar la acumulación de ciertas desviaciones desde la imagen tomográfica, su transformación en guía quirúrgica y la inserción posterior del implante durante la cirugía por la tolerancia del instrumental⁷⁻⁸.

La experiencia clínica con los protocolos de implantología guiada asistida por ordenador demuestra una tasa acumulativa de éxito por encima del 95% y una pérdida ósea marginal de los implantes de alrededor de 1,45 mm en estudios de 1-4 años de evolución clínica. No obstante pueden surgir algunas complicaciones quirúrgicas y prostodóncicas que indican la necesidad de una curva de aprendizaje para mejorar la técnica y conseguir el éxito del tratamiento⁹⁻¹⁰.

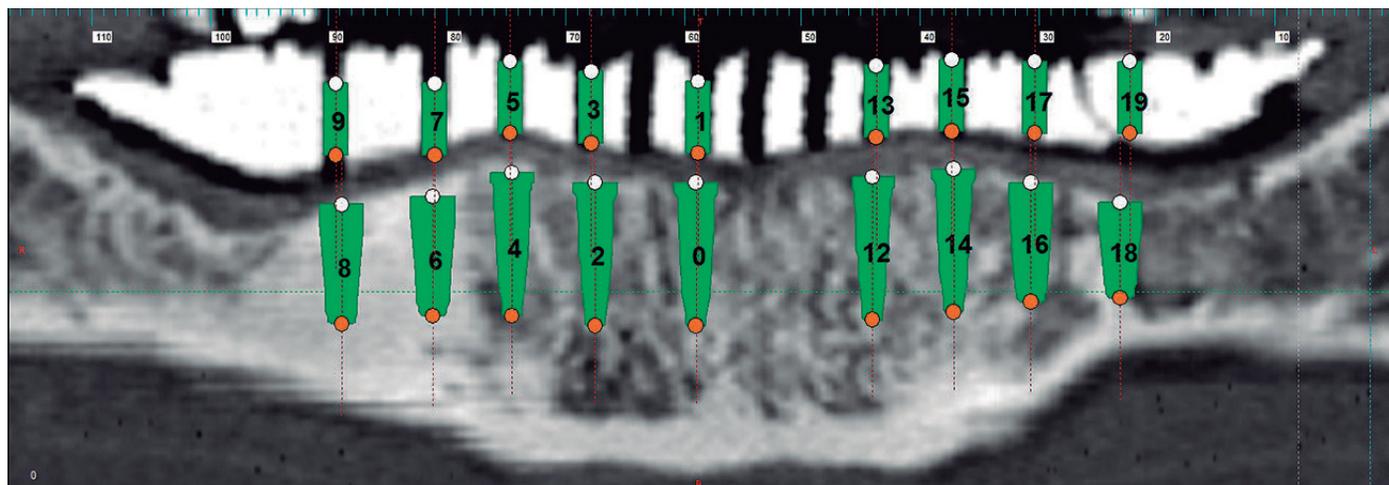


Figura 1. Planificación quirúrgica con software de imagen de CBCT. Visión panorámica

El objetivo del presente estudio es presentar los resultados clínicos del tratamiento con implantes mediante cirugía guiada y carga inmediata con una rehabilitación fija en pacientes edéntulos mandibulares.

PACIENTES Y METODOS

El presente estudio ha sido realizado en el Máster de Implantología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Sevilla. Previamente a la realización del estudio, aquellos pacientes que padecían trastornos sistémicos graves que podían comprometer la oseointegración fueron excluidos del estudio.

Todos los pacientes seleccionados eran adultos de ambos sexos y edéntulos totales mandibulares. Todos los pacientes seleccionados en el estudio fueron informados del protocolo del tratamiento con implantes, de los aspectos quirúrgicos y protodóncicos, así como de la posible existencia de complicaciones y pérdida de implantes. Los pacientes autorizaron el tratamiento implantológico mediante un consentimiento informado.

Antes del tratamiento, todos los pacientes fueron evaluados radiológicamente, con una tomografía computarizada de haz cónico. Se realizó la planificación de tratamiento mediante el programa informático para cirugía guiada Galimplant 3D® (Galimplant, Sarria, España) (Figuras 1 y 2). Con la información obtenida y la cirugía planificada se elaboraron las co-

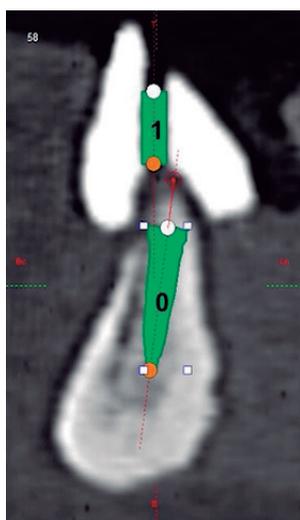


Figura 2. Planificación quirúrgica con software de imagen de CBCT. Corte transversal.

respondientes férulas quirúrgicas guiadas mandibulares (Figura 3).

CIRUGÍA. Una hora antes de la cirugía, los pacientes comenzaron un régimen antibiótico preventivo (amoxicilina + clavulánico) continuado durante una semana. Todos los pacientes recibieron anestesia local. Entre 8-10 implantes Galimplant® (Galimplant, Sarria, España) de conexión externa y con superficie arenada y grabada fueron insertados en cada paciente y todos fueron estables después de la inserción (Figura 4). La preparación del lecho y la inserción de los implantes se realizó según el protocolo estandarizado a una velocidad constante de 800 r.p.m. A los pacientes se les recomendó el enjuague diario con clorhexidina durante los primeros 30 días.

CARGA FUNCIONAL. Se realizó la carga funcional inmediata de los implantes a después de la cirugía con una prótesis total fija provisional de resina cementada (Figuras 5 y 6). A los 3 meses, después de la inserción de los implantes, se realizó la prótesis fija definitiva de cerámica cementada.

SEGUIMIENTO CLINICO. El tiempo transcurrido de seguimiento clínico desde la carga funcional de todos los implantes fué al menos de 48 meses. Se realizaron revisiones clínicas de los pacientes, valorando el estado de los implantes y de las rehabilitaciones fijas cementadas. Se evaluó la pérdida de hueso periimplantario con radiografías periapicales.

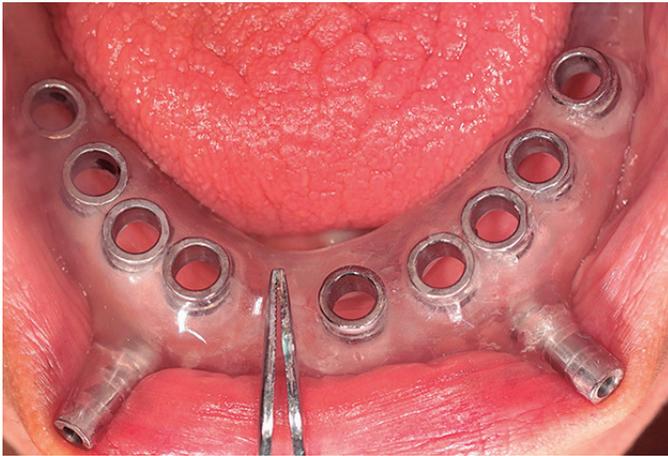


Figura 3. Imagen clínica del posicionamiento de la férula quirúrgica en el paciente.

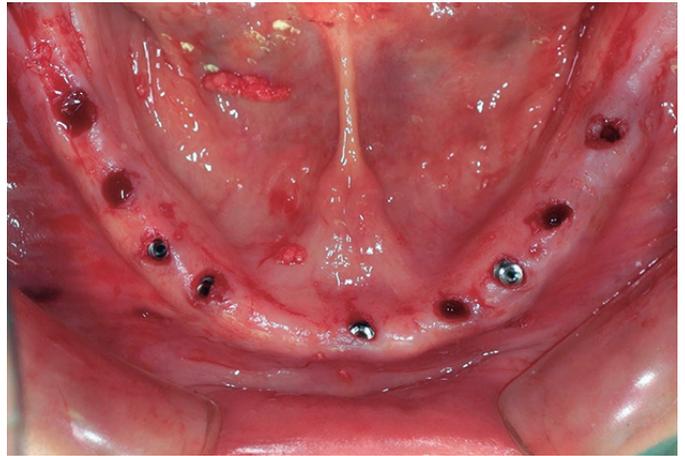


Figura 4. Imagen clínica de los implantes insertados por cirugía guiada.



Figura 5. Imagen clínica de los pilares colocados sobre los implantes después de la cirugía guiada.



Figura 6. Imagen clínica de la carga inmediata con rehabilitación fija provisional.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO. Se ha realizado una estadística descriptiva de los hallazgos clínicos del estudio, con referencia a las variables demográficas de los pacientes, los implantes insertados, las

prótesis realizadas, así como el éxito y las complicaciones del tratamiento.

RESULTADOS

PACIENTES. 24 pacientes edéntulos totales mandibulares (13 mujeres y 11 hombres) fueron tratados con implantes para su rehabilitación protodóncica fija con cirugía guiada y carga inmediata. La edad media era de 61,2 años (rango: 56-74 años). El seguimiento clínico medio ha sido de 62,4 meses.

IMPLANTES. Se insertaron un total de 206 implantes en los correspondientes 24 pacientes. Con respecto al diámetro, 38 implantes eran de 3,5 mm (18,4%) y 168 implantes de 4 mm (81,6%). Con respecto a la longitud, fueron insertados 84 implantes de 12 mm (40,8%) y 122 de 10 mm (59,2%). La pérdida media de hueso marginal ha sido de 1,34 mm.

PROTESIS IMPLANTOSOPORTADAS. En los 24 pacientes se realizaron rehabilitaciones fijas implantosoportadas, provisionales de resina y posteriormente rehabilitaciones definitivas metalcerámicas. Todas las rehabilitaciones fijas, provisionales y definitivas, fueron cementadas.

COMPLICACIONES. En 5 implantes (2,4%) hubo complicaciones inmediatas, durante la fase de cicatrización y se perdieron. Posteriormente, ningún implante se ha perdido durante el periodo de seguimiento clínico. Imágenes radiográficas compatibles con periimplantitis se observaron en 18 implantes (8,7%) en 6 pacientes (25%). No se perdió ningún implante con periimplantitis. En 2

pacientes (8,3%) se presentaron complicaciones prostodóncicas relacionadas con la fractura de la prótesis provisional de resina que fueron solucionadas. En 5 pacientes (20,8%) se presentaron fracturas de la cerámica de la rehabilitación fija que no necesitaron su sustitución

DISCUSIÓN

La implantología guiada asistida por ordenador está incrementando su popularidad debido fundamentalmente a los avances en la utilización de la CBCT y en los programas informáticos 3D específicos para planificación del tratamiento. Desde un punto de vista clínico, la planificación del tratamiento de implantes está frecuentemente basada en el diagnóstico por imagen computarizado 3D. La posición exacta de los implantes es uno de los objetivos más importantes de la fase quirúrgica en implantología oral, por lo que la cirugía implantológica actual debe basarse en la mejor tecnología diagnóstica que asegure al cirujano la mayor precisión posible¹¹⁻¹².

En este sentido, la información obtenida por la CBCT permite configurar en el ordenador, modelos anatómicos individualizados que simulan los resultados de la cirugía antes del tratamiento real del paciente. Posteriormente, el plan de tratamiento virtual puede transferirse a la práctica clínica mediante la colocación de la correspondiente férula quirúrgica guiada que favorezca la inserción de los implantes de acuerdo a la posición ideal predeterminada virtualmente 3,5.

Los resultados del presente estudio clínico demuestran la eficacia de este protocolo en el tratamiento con cirugía guiada en pacientes edéntulos mandibulares. Todos los pacientes fueron diagnosticados mediante una CBCT y su información fue utilizada para la planificación de la cirugía de implantes y la elaboración de una férula guiada. En este sentido, la férula quirúrgica en la mandíbula edéntula proporciona la posibilidad de realizar una técnica mínimamente invasiva mediante una cirugía sin colgajo¹³.

La escasa morbilidad de los pacientes intervenidos con cirugía guiada sin colgajo demuestra que es posible realizar una técnica menos traumática, con un menor disconfort para el paciente, reduciendo el tiempo del tratamiento y minimizando los efectos del trauma quirúrgico⁶. De hecho, algunos estudios confirman que este protocolo de implantología guiada

reduce significativamente las molestias inflamatorias y/o dolorosas de los pacientes y la necesidad de fármacos analgésicos y antiinflamatorios y proporciona a los pacientes una alta tasa de satisfacción con el tratamiento¹⁴⁻¹⁵.

Los resultados del presente estudio clínico demuestran un elevado éxito del tratamiento con implantes en pacientes edéntulos mandibulares mediante cirugía guiada y carga inmediata. 24 pacientes fueron rehabilitados con una prótesis fija sobre 206 implantes insertados con cirugía guiada. 5 implantes se perdieron por lo que la tasa de éxito fue del 97,6% después de un seguimiento de 5 años.

Estos resultados favorables son confirmados por diversos estudios que demuestran la alta predictibilidad de la inserción de implantes en pacientes edéntulos mandibulares con cirugía guiada y también de su carga inmediata¹⁶⁻¹⁸. Un estudio a 3 años valora los resultados clínicos de implantes insertados con cirugía guiada y cargados de forma inmediata con rehabilitaciones totales fijas. 90 implantes fueron insertados en la mandíbula, de 16 pacientes, 60 implantes postextracción y 30 implantes en localizaciones cicatrizadas. 2 implantes postextracción fracasaron, por lo que el éxito del tratamiento fue del 97,8%. Todas las rehabilitaciones fijas se mantuvieron estables y con una función favorable durante el periodo de seguimiento clínico¹⁶.

Un estudio a 5 años demuestra que el protocolo clínico de rehabilitación de pacientes edéntulos con implantes insertados mediante cirugía guiada y carga inmediata constituye una opción favorable de tratamiento con un éxito del 98%¹⁷. 18 pacientes edéntulos mandibulares fueron tratados con 92 implantes. En cada paciente se insertaron entre 4-8 implantes. Se realizó una carga inmediata con una prótesis provisional que fue sustituida por la definitiva 2-6 meses después de la cirugía¹⁷.

Un estudio retrospectivo a 7 años de cirugía guiada revela un 95,8% de éxito donde se insertaron 291 implantes en la mandíbula y fracasaron 13 implantes. En el sector anterior mandibular el éxito fue del 100% de 40 implantes insertados, mientras que en el sector posterior mandibular hubo 13 fracasos de 251 implantes insertados (94,8%)¹⁸.

La técnica de cirugía guiada asistida por ordenador basada en las imágenes 3D de la CBCT permite la elaboración de férulas quirúrgicas que aseguren un

grado de precisión importante para la inserción de los implantes. Este procedimiento incorpora una herramienta muy útil al clínico para mejorar las localizaciones de los implantes según la planificación quirúrgica y prostodóncica predeterminadas virtualmente¹⁹⁻²¹.

En general esta técnica es la más precisa actualmente para insertar los implantes en sus localizaciones adecuadas ya que se fundamenta en el diagnóstico individual del paciente según la anatomía del reborde alveolar edéntulo, su planificación quirúrgica (número, posición, longitud y diámetro de los implantes) y prostodóncica (oclusión y perfil de emergencia) para asegurar la mejor rehabilitación fija funcional y estéticamente favorables^{3,5,17}.

No obstante, existe algún grado de desviación con respecto a la localización de los implantes que se puede valorar en las zonas apical y cervical y que suele ser mayor en el maxilar superior que en la mandíbula. Se han descrito valores medios de desviaciones a nivel cervical de 1 mm y de 1,5 mm a nivel apical, aunque estos pequeños errores no afectan al grado de seguridad de la cirugía guiada de implantes en relación a estructuras anatómicas importantes como el nervio dentario inferior o el seno maxilar cuyo riesgo es mínimo, y además no es influenciado por el grado de experiencia del cirujano²¹⁻²².

Además de un volumen de hueso disponible para conseguir la inserción y posterior oseointegración de los implantes mediante la colocación de la férula quirúrgica en la técnica de cirugía guiada, es recomendable la presencia de un tejido blando queratinizado en la interfase huésped-implante para asegura más el éxito a largo plazo del tratamiento en relación a la estabilidad de los tejidos periimplantarios desde un punto de vista funcional y estético. Un tejido blando queratinizado menor de 2 mm incrementa el acúmulo de placa y contribuye potencialmente a una recesión con exposición de la superficie del implante²³.

Los resultados clínicos del presente estudio demuestran que la carga inmediata de los implantes insertados con cirugía guiada constituye un protocolo con un alto grado de predictibilidad en la rehabilitación de los pacientes edéntulos mandibulares²⁴. El hueso mandibular proporciona una buena calidad ósea que favorece la estabilidad primaria de los implantes, requisito imprescindible para conseguir el éxito de la carga inmediata. En este sentido, la CBCT

preoperatoria puede informar al profesional, además del volumen óseo, del nivel de densidad ósea en la mandíbula edéntula, optimizando el soporte funcional para la rehabilitación prostodóncica inmediata correspondiente²⁵.

La posibilidad de realizar una carga inmediata con los implantes insertados mediante cirugía guiada proporciona a los pacientes un alto grado de satisfacción^{6,9-10,15}. En este sentido, un estudio valora los resultados a 3 años de 30 pacientes edéntulos mandibulares con 117 implantes insertados cargados de forma inmediata²⁶. Después de un periodo de 4-6 meses se realizó la prótesis definitiva atornillada de metalresina o metalcerámica. El éxito fue del 99,2% ya que un implante fracasó por periimplantitis a los 2 años. A los 6 meses, los pacientes mostraron un significativo mayor grado de satisfacción comparado con las prótesis convencionales²⁶.

Aunque la técnica de cirugía guiada y carga inmediata presenta resultados muy favorables, superiores al 95% de éxito, sin embargo pueden aparecer complicaciones, como pérdida de implantes, fracturas de las guías quirúrgicas o de las prótesis, estabilidad primaria deficiente, lo que parece indicar la necesidad, como cualquier otra técnica implantológica compleja, de una curva de aprendizaje por el profesional para conseguir el éxito del tratamiento^{2,9}.

Una estabilidad primaria deficiente puede constituir una complicación quirúrgica frecuente en aquellos casos de tratamiento en maxilares edéntulos con hueso tipo IV que puede dificultar el posterior protocolo de carga inmediata o provocar la pérdida del implante²⁷. En la mandíbula, sin embargo, puede ser necesario un mayor fresado para facilitar el torque adecuado menor de 45-50 Ncm y evitar posibles fracturas de la férula quirúrgica o de la unión de la plataforma con el transportador del implante²⁸.

Como complicaciones biológicas más frecuentes se encuentran la mucositis y la periimplantitis como consecuencia de una higiene oral deficiente y también de antecedentes periodontales en los pacientes¹⁰. En el presente estudio clínico, lesiones de periimplantitis se observó en el 8,7% de los implantes, aunque no provocaron su pérdida.

Las complicaciones prostodóncicas más frecuentes son las fracturas sobre todo en las rehabilitaciones provisionales, probablemente debidas a que los pacientes no siguen las instrucciones del

profesional sobre la dieta blanda o a la ausencia de un ajuste adecuado entre la prótesis y los implantes después de la cirugía^{26,28}. En el presente estudio, 2 pacientes (8,3%) presentaron complicaciones prostodóncicas relacionadas con la fractura de la prótesis provisional de resina. En 5 pacientes (20,8%) se presentaron fracturas de la cerámica de la rehabilitación fija. Hay estudios que refieren una mayor tasa de complicaciones prostodóncicas (por encima del 50%) que indican la necesidad de realizar una fase protésica adecuada, con una oclusión ajustada y una buena conexión prótesis-implante²⁸.

CONCLUSIONES

El tratamiento de los pacientes edéntulos mandibulares mediante un protocolo con cirugía guiada y carga inmediata representa una opción implantológica predecible con una elevada tasa de éxito. Un diagnóstico clínico integral del paciente, una valoración por imagen 3D mediante CBCT y una correcta planificación quirúrgica y prostodóncica pueden conseguir unos resultados funcionales y estéticos muy favorables.

BIBLIOGRAFIA

1. Colombo M, Mangano C, Mijiritsky E, Krebs M, Hauschild U, Fortin T. Clinical applications and effectiveness of guided implant surgery: a critical review based on randomized controlled trials. *BMC Oral Health* 2017; 17:150.
2. d'Haese J, Ackhurst J, Wismeijer D, de Bruyn H, Tahmaseb A. Current state of the art of computer-guided implant surgery. *Periodontology* 2000 2017; 73:121-133.
3. Lorrio JM, Sierra L, García I, Lorrio C, Gómez R. La rehabilitación con implantes en el paciente edéntulo maxilar mediante cirugía guiada y carga inmediata. *Av Periodon Implantol* 2015; 27: 117-124.
4. Moin DA, Derksen W, Waars H, Hassan B, Wismeijer D. Computer-assisted template-guided custom-designed 3D printed implant placement with custom-designed 3D-printed surgical tooling: an in vitro proof of a novel concept. *Clin Oral Impl Res* 2017; 28:582-585.
5. Bragança L, Pato J, Díaz FJ, López JJ, Anache A. Rehabilitación fija maxilar con implantes mediante cirugía guiada asistida por ordenador. *Av Odontoestomatol* 2017; 33: 197-203.
6. Amorfini L, Migliorati M, Drago S, Silvestrini-Biavati A. Immediately loaded implants in rehabilitation of the maxilla: a two-year randomized clinical trial of guided surgery versus standard procedure. *Clin Impl Dent Relat Res* 2017; 19: 280-295.
7. Shen P, Zhao J, Fan L, Qiu H, Xu W, Wang Y, Zhang S, Kim YJ. Accuracy evaluation of computer-designed surgical guide template in oral implantology. *J CranioMaxilloFac Surg* 2015; 43: 2189-2194.
8. Zhou W, Liu Z, Song L, Kuo CL, Shafer DM. Clinical factors affecting the accuracy of guided implant surgery- a systematic review and meta-analysis. *J Evid Base Dent Pract* 2018; 18; 28-40.
9. Moraschini V, Velloso G, Luz D, Porto Barboza E. Implant survival rates, marginal bone level changes, and complications in full-mouth rehabilitation with flapless computer-guided surgery: a systematic review and meta-analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015; 44: 892-901.
10. Tallarico M, Meloni SM. Retrospective analysis on survival rate, template-related complications, and prevalence of peri-implantitis of 694 anodized implants placed using computer-guided surgery: results between 1 and 10 years of follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2017; 32:1162-1171.
11. Laverty DP, Buglass J, Patel A. Flapless dental implant surgery and use of cone beam computer tomography guided surgery. *Br Dent J* 2018; 224:601-611.
12. Vercruyssen M, Laleman I, Jacobs R, Quirynen M. Computer supported implant planning and guided surgery: a narrative review. *Clin Oral Impl Res* 2015; 26 (Suppl. 11): 69-76.
13. Velasco E, Pato J, García A, Segura JJ, Jiménez A. Implantología oral guiada asistida por ordenador en el tratamiento del paciente edéntulo mandibular. *Av Periodon Implantol* 2011; 23: 11-19.

14. Arisan V, Karabuda CZ, Ozdemir T. Implant surgery using bone-and mucosa-supported stereolithographic guides in totally edentulous jaws: surgical and postoperative outcomes of computer-aided vs standard techniques. *Clin Oral Impl Res* 2010; 21: 980-988.
15. Youk SY, Lee JH, Park JM, Heo SJ, Roh HK, Park EJ, Shin IH. A survey of the satisfaction of patients who have undergone implant surgery with and without employing a computer-guided implant surgical template. *J Adv Prosthodont* 2014 ; 6 :395-405.
16. Ciabattoni G, Acocella A, Sacco R. Immediately restored full arch-fixed prosthesis on implants placed in both healed and fresh extraction sockets after computer-planned flapless guided surgery. A 3-year follow-up study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017;19:997-1008.
17. Meloni SM, Tallarico M, Pisano M, Xhanari E, Canullo L. Immediate loading of fixed complete denture prosthesis supported by 4-8 implants placed using guided surgery: a 5-year prospective study on 66 patients with 356 implants. *Clin Impl Dent Relat Res* 2017; 19:195-206.
18. Orentlicher G, Horowitz A, Goldsmith D, Delgado-Ruiz R, Abboud M. Cumulative survival rate of implants placed fully guided using CT-guided surgery : a 7-year retrospective study. *Compendium* 2014 ; 35 :590-598.
19. Kauffmann P, Rau A, Engelke W, Troeltzsch M, Brockmeyer P, Dagmar LS, Cordesmeier R. Accuracy of navigation-guided dental implant placement with screw versus hand template fixation in the edentulous mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2018; 33:383-388.
20. Marlière DAA, Demétrio MS, Picinini LS, De Oliveira RG, Chaves Netto HDM. Accuracy of computer-guided surgery for dental implant placement in fully edentulous patients: A systematic review. *Eur J Dent* 2018; 12:153-160.
21. Rungcharassaeng K, Caruso JM, Kan JYK, Schutyser F, Boumans T. Accuracy of computer-guided surgery: A comparison of operator experience. *J Prosthet Dent* 2015;114:407-413.
22. Van de Wiele G, Teughels W, Vercruyssen M, Coucke W, Temmerman A, Quirynen M. The accuracy of guided surgery via mucosa-supported stereolithographic surgical templates in the hands of surgeons with little experience. *Clin Oral Impl Res* 2015;26:1489-1494.
23. Deeb JG, Bencharit S, Loschiavo CA, Yeung M, Laskin D, Deeb GR. Do implant surgical guides allow an adequate zone of keratinized tissue for flapless surgery? *J Oral Maxillofac Surg* 2018. 1-11.
24. Yamada K, Hoshina H, Arashiyama T, Arasawa M, Arai Y, Uoshima K, Tanaka M, Nomura S. Immediate implant loading following computer-guided surgery. *J Prosthodont Res* 2011; 55: 262-265.
25. Merheb J, Vercruyssen M, Coucke W, Quirynen M. Relationship of implant stability and bone density derived from computerized tomography images. *Clin Implant Dent Relat Res* 2018;20:50-57.
26. Marra R, Acocella A, Rispoli A, Sacco R, Ganz SD, Blasi A. Full-outh rehabilitation with immediate loading of implants inserted with computer-guided flapless surgery: a 3-year multicenter clinical evaluation with oral health impact profile. *Impl Dent* 2013; 22:444-452.
27. Gillot L, Noharet R, Cannas B. Guided surgery and presurgical prosthesis: preliminary results of 33 fully edentulous maxillae treated in accordance with the NobelGuide protocol. *Clin Implant Dent Relat Res* 2010; 12(Suppl 1):104-113.
28. Komiyama A, Klinge B, Hultin M. Treatment outcome of immediately loaded implants installed in edentulous jaws following computer-assisted virtual treatment planning and flapless surgery. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19:677-85.

CORRESPONDENCIA:

Prof. Eugenio Velasco Ortega
 Facultad de Odontología
 C/ Avicena s/n
 Tfno: 954481132
 email: evelasco@us.es
 41009 Sevilla

Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™)

Comparison about antimicrobial effects of three different cain of honey bee on Streptococcus mutans (ATCC® 25175™)

Silva CF *, Valenzuela RM **, Portocarrero MJ ***

RESUMEN

Objetivo: Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* de muestras de miel de *Apis mellifera* producida en la Costa, Sierra y Selva contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material y métodos: Se evaluó el efecto en 3 grupos distribuidos en concentraciones de 100%, 50% y 25% para cada miel. Se hicieron 5 repeticiones por grupo experimental. La sensibilidad bacteriana se evaluó mediante el método de difusión en pozo. El espécimen bacteriano fue reactivado en caldo nutritivo, para inocularlo en cultivo Agar Cerebro Corazón.

Resultados: Al enfrentar el microorganismo a las mieles de abeja, se obtuvo halos promedios de inhibición de 27,84 mm y 14,38 mm para las concentraciones de 100% y 50% de la miel de abeja de origen de sierra.

Conclusión: sin embargo, las mieles de abeja de origen costa y selva no presentaron halos de inhibición. Se concluye que la miel de abeja de origen de Sierra al 100% y 50% tienen efecto antibacteriano sobre *S. mutans* ATCC 25175

PALABRAS CLAVE: miel de abeja, *Apis mellifera*, *Streptococcus mutans*. (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective: To compare the *in vitro* antibacterial effect of samples of *Apis mellifera* honey produced in Costa, Sierra and Selva against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Material and methods: The effect was evaluated in 3 groups distributed in concentrations of 100%, 50% and 25% for each honey. Five repetitions were made per experimental group. The bacterial sensitivity was evaluated by the well diffusion method. The bacterial specimen was reactivated in nutritious broth, to inoculate it in heart agar culture.

Results: When facing the microorganism to the honeys of bee, average halos were obtained of inhibition

* Bachiller en Estomatología de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán.

** DSS. PhD. Directora de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán, Lambayeque, Perú

*** Docente a Tiempo Completo de la Escuela de Estomatología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán. Responsable del Área de Estética y Restauradora del Centro Odontológico Americano Sede Chiclayo, Perú. Docente del Curso de Cariología y Operatoria dental de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Martín de Porres.

of 27,84 mm and 14,38 mm for the concentrations of 100% and 50% of the honey of bee of origin of saw. *Conclusion:* nevertheless, bee honeys of coastal and jungle origin did not present inhibition halos. It is concluded that bee honey of Sierra origin at 100% and 50% have antibacterial effect on *S. mutans* ATCC 25175

KEY WORDS: honey bee, *Apis mellifera*, *Streptococcus mutans* (**Source:** MeSH NLM).

Fecha de recepción: 7 de noviembre de 2018.

Fecha de aceptación: 15 de noviembre de 2018.

Silva CF , Valenzuela RM , Portocarrero MJ *Comparación del efecto antibacteriano de tres tipos de miel sobre el Streptococcus mutans (ATCC® 25175™)*. 2018; 34, (6): 294-298.

INTRODUCCIÓN

La caries dental no puede desarrollarse sin la presencia de carbohidratos fermentables en la dieta, en particular azúcar¹. Es conocido que existe diferentes factores que influyen en el desarrollo de la caries dental, uno de esos factores e la susceptibilidad a desarrollar caries en presencia de carbohidratos y esta puede verse influenciada por la genética y de los micronutrientes². Existen estudios que evidencia una relación significativa entre la actividad física, el comportamiento de la higiene dental y el estado de la caries dental. En este sentido, existen estudios que evidencian que el comer frutas y verduras no tiene una relación significativa con el estado de la caries dental, encontrando que los principales determinantes de la caries dental son el consumo de azúcar entre las comidas y el cepillado dental insuficiente^{3,4}.

Sin embargo, los conceptos de caries dental siempre han estado orientados a definirlos como una enfermedad caracterizada por la desmineralización del esmalte dental la ingesta dietética, las bacterias cariogénicas *Streptococcus mutans* *Streptococcus sanguinis* o *Streptococcus gordonii*⁵.

En técnicas vanguardistas en las que se emplean las secuencias de amplicones de ARNr 16S han sido identificadas de especies como *Streptococcus mutans* en todos los pacientes con caries, otras especies han sido identificadas en menor proporción⁶.

La miel se ha utilizado ampliamente como agente de curación a lo largo de la historia de la hu-

manidad, además de su uso generalizado como alimento popular. Existen varios experimentos han determinado que la miel de abeja posee actividad antibacteriana in vitro frente a diferentes bacterias de importancia en salud. Sin embargo, su actividad depende tanto de las especie de animal, como del microorganismo evaluado, así se ha reportado que diferente tipos de miel de abeja tener efecto antibacteriano frente a bacterias gram positivas y gram negativas tales como *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acetobacter baumani* como estreptococos β -hemolíticos del grupo A^{7,8}.

Por lo tanto, existen estudios del efecto antibacteriano de la miel de *Apis mellifera* en diferentes microorganismos pero hasta la actualidad no ha sido investigada su efecto sobre los *Streptococcus mutans* (ATCC® 25175™). Por lo que, el objetivo de la presente investigación se centra en comparar tres tipos de miel de *Apis mellifera* obtenidas en diferentes regiones del Perú.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron tres tipos de miel según su origen de recolección en la costa, sierra y selva. Los centros de apicultura estaban ubicados en tres regiones del Perú como se menciona anteriormente, para obtener el permiso de recolección de miel de abeja se coordinó con los propietarios quienes tenían licencia de apicultores certificados por la SENASA – Perú, además de ser exportadores de miel de abeja. Para el pre-

sente estudio se recolecto miel de abeja, de tres apicultores calificados, de eucalipto al 100% y fue envasada en un frasco de vidrio estéril, y de color ámbar. Se guardó por 4 días en un lugar seco, libre de humedad y sin exposición a la luz artificial o solar. Pasado los 4 días se abrió el frasco de las tres mieles y se procedió a evaluar el efecto antimicrobiano frente a la bacteria *Streptococcus mutans* siguiendo las recomendaciones de CLS (Clinical and Laboratory Standards Institute)⁹, el cual consiste en que para evaluar el efecto antimicrobiano puede expresarse como porcentaje, se recolecto 1ml de miel en un tubo esteril con 1 ml agua destilada, se centrifugo a 4000 rpm por 5 minutos, luego las fracciones solubles de la miel se usaron para realizar las diluciones dobles seriadas y calcular las concentraciones expresadas en porcentajes, después fueron distribuidas en la placa de agar. Siguiendo las orientaciones de la Clinical and Laboratory Standards Institute, se recolectó de 3 a 5 colonias de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar Cerebro Corazón después de 24 horas de su activación, así mismo se tocó con un asa esteril la parte superior de cada colonia formada, para transferir a un tubo con 4-5 mL de caldo Müller-Hinton y con ayuda del espectrofotómetro se midió turbidez a una longitud de onda 625nm con absorbancias de 0,08 – 0,1 para bacterias equivalente a 0,5 del estándar de McFarland, obteniéndose una suspensión bacteriana resultante de 1 a 2×10^8 (UFC/mL). En un lapso de tiempo óptimo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, con una torunda de algodón se inoculó sobre toda la superficie de una placa de agar Cerebro-Corazón

A través del método de difusión en pozo¹⁰, sobre las placas sembradas, se realizaron 5 perforaciones de 6 mm de diámetro, con un sacabocado y se colocaron 50 µL en cada pozo de la miel de abeja, posteriormente fueron selladas con parafilm y se incubó a 37 °C, por un periodo de 24 horas y después hacer la medición de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano.

Estadística

Para determinar la relación del efecto antibacteriano de la miel de abeja en el crecimiento bacteriano, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación de $P < 0,05$. Para de-

terminar si existe diferencia significativa entre los tipos de miel, se empleó la prueba t student

RESULTADOS

DE LA MIEL DE ABEJA

Se obtuvo 1 mL de la fracción soluble de la miel de abeja de origen de Costa, Sierra y Selva, considerando frascos comerciales.

A través de la fracción soluble se realizó 2 diluciones doble seriadas, obteniendo concentraciones (V/V) al 100%, 50% y 25% respectivamente para cada miel dependiendo de su origen.

DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

De acuerdo al promedio de las mediciones de los halos de inhibición de crecimiento microbiano, la miel de abeja comercial de origen de la Sierra presentó actividad antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

La miel de abeja comercial de la costa y selva no presento halos de inhibición de crecimiento antibacteriana contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

De acuerdo a la evaluación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* de origen sierra, presentó inhibición crecimiento a la

Tabla 1: Comparación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Concentraciones	<i>Apis mellifera</i>		
	Costa	Sierra Halos de inhibición	Selva
100%	0	28.10	0
	0	27.40	0
	0	27.78	0
	0	28.12	0
	0	27.82	0
50 %	0	14.46	0
	0	14.82	0
	0	14.6	0
	0	14.25	0
	0	13.75	0
25 %	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0

Tabla 2: Evaluación del efecto antibacteriano de la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra, contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Concentraciones	<i>Apis mellifera</i>					P
	Sierra Halo de inhibición (mm)					
100%	28.10	27.40	27.78	28.12	27.82	t = 60,06
50 %	14.46	14.82	14.6	14.25	13.75	P = 0,00
25 %	0	0	0	0	0	d = 1,89

concentración del 100 y 50 %, asimismo también se obtuvo las mediciones de los halos (Tabla 2), como también el resultado estadístico se comprobó la diferencia con la prueba t estudent (60,06) con un valor de P altamente significativo significancia ($p = 0,000$) y se verifica con d de cohen (1,89) cuya fuerza del efecto es mucho mayor que el típico.

DISCUSIÓN

La caries dental es un importante problema de salud pública a nivel mundial y es la enfermedad no transmisible más extendida¹⁰, además que se sido considerado a *S. mutans*, durante mucho tiempo como uno de los principales patógenos orales y responsables de la caries, asimismo que forma glucanos y fructanos que promueven la colonización bacteriana y son factores clave la virulencia en la formación de caries dental¹¹.

En el presente estudio se evidenció que la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra tuvo efecto antibacteriano a concentraciones del 100 % y 50 % respectivamente, además que la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 resultó tener sensibilidad frente a la miel de abeja de origen de Sierra.

La miel de abeja *A. mellifera* de origen de Sierra presentaron diferentes diámetros del promedio de inhibición de crecimiento de 27.84 mm y 14,38 mm, estudio coincidente con Kotris et al⁸ quienes revelaron la variabilidad del efecto antibacteriano de diferentes tipos de miel de abeja con respecto a su origen, obteniendo diferentes medidas de las zonas de inhibición. Esta diferencia se demuestra que las mieles de abeja presentan una variabilidad dependiendo del origen de su cosecha. Además otros autores como Kalidasan et al.⁷, compararon el efecto antibacteriano de muestras de miel natural y comercial contra bacterias patógenas indisti-

tamente de *Streptococcus mutans*, obtuvieron mayor actividad antibacteriana en miel natural que miel comercial presentando zonas de inhibición de 26 mm y 22 mm para *Staphylococcus aureus*. Otros estudios como Rani et al¹² demostraron la capacidad antibacteriana de la miel de abeja contra bacterias meticilino resistentes y meticilino sensibles mostrando una zona de inhibición de 36,2 mm y 46,16 mm respectivamente por otro lado Murugesan K et al¹³, compararon el efecto antibacteriano de tres mieles naturales y una miel de abeja comercial, obtuvieron rangos de inhibición de 16 a 30 mm, todas las mieles evaluadas presentaron efecto antibacteriano (14).

Complementando el estudio, otros autores también demostraron el efecto antibacteriano de la miel de abeja, tal como Wasihun y Kasa¹⁴, evidenciaron el potencial antibacteriano frente a bacterias multirresistentes, demostrando su actividad bacteriostática y bactericida, asimismo Mshelia, Adeshina y Onalapo demostraron también la actividad antibacteriana de la miel de abeja de manera sinérgica con el jugo de limón e independiente obteniendo como hallazgo su capacidad bactericida¹⁵.

Con el presente estudio se puede corroborar que la miel de abeja puede contribuir en el control del crecimiento de *Streptococcus mutans*, dependiendo de su origen natural o comercial y la región de cosecha.

CONCLUSIONES

- Los resultados del estudio comparativo demostraron, que la miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra presentó mayor efecto antibacteriano *in vitro* que el de origen de Costa y Selva contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Costa no presentó efecto antibacteriano en las concentraciones evaluadas.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Sierra presentó efecto antibacteriano a concentración del 100 y 50 % respectivamente.
- La miel de abeja *Apis mellifera* de origen de Selva no presentó efecto antibacteriano en las concentraciones evaluadas.

BIBLIOGRAFIA

1. Hujoel PP, Lingström P. Nutrition, dental caries and periodontal disease: a narrative review. *J Clin Periodontol.* marzo de 2017;44 Suppl 18:S79-84.
2. John JR, Daniel B, Paneerselvam D, Rajendran G. Prevalence of Dental Caries, Oral Hygiene Knowledge, Status, and Practices among Visually Impaired Individuals in Chennai, Tamil Nadu. *Int J Dent* [Internet]. 2017 [citado 21 de octubre de 2018];2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5387819/>
3. Suratri MAL, Indirawati T, Vivi S. Correlation between dental health maintenance behavior with Dental Caries Status (DMF-T). [Internet]. 2018 [citado 21 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://www.bali-medicaljournal.org/index.php/bmj/article/view/836>
4. Diouf M, Kebe M, Guirassy ML, Diop M, Diouf A, Kanoute A, et al. Dental Caries and Associated Determinants among Students of the Military School of Saint Louis (Senegal). *Open J Epidemiol.* 13 de septiembre de 2017;07:299.
5. Garcia SS, Blackledge MS, Michalek S, Su L, Ptacek T, Eipers P, et al. Targeting of *Streptococcus mutans* Biofilms by a Novel Small Molecule Prevents Dental Caries and Preserves the Oral Microbiome. *J Dent Res.* julio de 2017;96(7):807-14.
6. Ribeiro AA, Azcarate-Peril MA, Cadenas MB, Butz N, Paster BJ, Chen T, et al. The oral bacterial microbiome of occlusal surfaces in children and its association with diet and caries. *PloS One.* 2017;12(7):e0180621.
7. Kalidasan I, Saranraj, Ragul P, Sivasakthi S. Antibacterial Activity of Natural and Commercial Honey-A Comparative Study. *Adv Biol Res.* 11(6):365-72.
8. Kotris I, Talapko J, Drenjan evi D. Evaluation of Antibacterial Activity of Two Different Honeys against Clinical Isolates of β -hemolytic *Streptococci* Group A. *SEEMED J.* 2017;(1):67-73.
9. M11Ed9 | Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, 9th Edition [Internet]. Clinical & Laboratory Standards Institute. [citado 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m11/>
10. WHO | Sugars and dental caries [Internet]. WHO. [citado 22 de octubre de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/sugars-dental-caries-keyfacts/en/>
11. Giacaman RA. Sugars and beyond. The role of sugars and the other nutrients and their potential impact on caries. *Oral Dis.* octubre de 2018;24(7):1185-97.
12. Rani GN, Budumuru R, Bandaru NR. Antimicrobial Activity of Honey with Special Reference to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA). *J Clin Diagn Res JCDR.* agosto de 2017;11(8):DC05-8.
13. Murugesan K, Vijayan H, Ezhilarasi MR, Maheshwaran P, Radha RS, Shama M. Antibacterial Activity of Honey against Selected Pyogenic Bacteria. (26):4.
14. Wasihun AG, Kasa BG. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder Referral and Teaching Hospital, Northern Ethiopia. *SpringerPlus.* 2016;5(1):842.
15. Bm M. The Antibacterial Activity of Honey and Lemon Juice against *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* Isolates from Respiratory Tract Infections. *Adv Biotechnol Microbiol* [Internet]. 14 de agosto de 2017 [citado 22 de octubre de 2018];5(2). Disponible en: <http://juniperpublishers.com/aibm/AIBM.MS.ID.555660.php>

CORRESPONDENCIA:

Dra. Marisel Roxana Valenzuela Ramos.
Teléfono: +51956291247
Correo electrónico: vmarisel@hotmail.com

Influencia del suero fetal bovino en el cultivo de fibroblastos gingivales

Influence of bovine fetal serum in the culture of gingival fibroblasts

Simancas-Escorcia V*, Vergara Hernández C**, Díaz-Caballero A***

RESUMEN

Introducción. Los fibroblastos gingivales (FGs) son células responsables del mantenimiento de la homeostasis, cicatrización y tolerancia inmunitaria del tejido conjuntivo gingival. Por sus características fisiológicas, los FGs pueden ser un candidato en la terapia celular. Sin embargo, la conservación de su fenotipo en cultivo celulares requiere de condiciones estrictamente definidas. Una de ellas es la concentración de Suero Fetal Bovino (SFB). Nuestro objetivo es evaluar el efecto concentración-dependiente de la suplementación de SFB en el medio de cultivo sobre el comportamiento, crecimiento, proliferación y supervivencia de los fibroblastos gingivales humanos. **Materiales y métodos.** FGs fueron cultivados con DMEM (Dulbecco's modification of Eagle medium) y concentraciones de 0%, 0.5% y 10% de SFB durante tres semanas. Análisis morfológico, de proliferación e inmunohistoquímicos fueron llevados a cabo en el presente trabajo. Se llevó a cabo un análisis factorial de varianza (ANOVA) por medio el software R Project. Los resultados fueron considerados significativos con un valor de $p < 0,05$.

Resultados y Discusión. Los FGs cultivados con 10% de SFB alcanzaron un desarrollo morfológico más notorio y en menor tiempo comparados con los FGs cultivados a 0.5% y 0% de SFB. La efectividad de la concentración del SFB 0,5% fue mucho más alta en relación a la concentración del SFB 10%. La inmunodetención de la actina, vimentina y fibronectina fueron más notorias en los FGs tratados con 10% y 0.5% de SFB. Este estudio concluye que los FGs humanos presentan una mejor capacidad de supervivencia, desarrollo y proliferación cuando son cultivados en presencia de SFB.

PALABRAS CLAVE: Encía; Medios de Cultivo; Medio de Cultivo Libre de Suero; Proliferación Celular; Inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Introduction. Gingival fibroblasts (FGs) are cells responsible for the maintenance of homeostasis, healing and immune tolerance of the gingival connective tissue. Due to their physiological characteristics, FGs can be a

* Odontólogo. Universidad de Cartagena (Colombia). Magister en Biología Celular, Fisiología y Patología, Université Paris Diderot (Francia). Candidato a Doctor en Fisiología y Patología, Université Paris Diderot (Francia). Investigador grupo GITOUC, Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena (Colombia).

** Odontóloga. Universidad de Cartagena (Colombia). Especialista en Patología y Cirugía Oral, Universidad Javeriana (Colombia). Doctora en Educación, Universidad de Cartagena (Colombia). Docente Facultad de Odontología Universidad de Cartagena.

*** Odontólogo. Universidad de Cartagena (Colombia). Especialista en Periodoncia, Universidad Javeriana (Colombia). Doctor en Ciencia Biomédicas, Universidad de Cartagena (Colombia). Docente Facultad de Odontología Universidad de Cartagena. Director Grupo de investigaciones GITOUC.

candidate in cell therapy. However, the conservation of their phenotype in cell culture requires strictly defined conditions. One of them is the concentration of Bovine Fetal Serum (FBS). Our aim is to evaluate the concentration-dependent effect of SFB supplementation in the culture medium on the behavior, growth, proliferation and survival of human gingival fibroblasts.

Materials and methods. FGs were cultured with DMEM (Dulbecco's modification of Eagle medium) and concentrations of 0%, 0.5% and 10% of SFB for three weeks. Morphological, proliferation and immunohistochemical analyzes were carried out in the present work. A factorial analysis of variance (ANOVA) was carried out using the R Project software. The results were considered significant with a value of $p < 0.05$.

Results and discussion. The FGs grown with 10% FBS reached a more noticeable morphological development and in a shorter time compared to the FGs grown at 0.5% and 0% FBS. The effectiveness of the concentration of the SFB 0.5% was much higher in relation to the concentration of the SFB 10%. The immunodetection of actin, vimentin and fibronectin were more evident in the FGs treated with 10% and 0.5% FBS. This study concludes that human FGs have a better capacity for survival, development and proliferation when they are grown in the presence of FBS.

KEY WORDS: Gingiva; Culture Media; Culture Media, Serum-Free; Cell Proliferation; Immunohistochemistry.

Fecha de recepción: 12 de noviembre de 2018.

Fecha de aceptación: 20 de noviembre de 2018.

Simancas-Escorcia V, Vergara Hernández C, Díaz-Caballero A. *Influencia del suero fetal bovino en el cultivo de fibroblastos gingivales.* 2018; 34, (6): 299-309.

INTRODUCCIÓN

Los fibroblastos son células mesenquimatosas ubicuitarias mononucleadas, de forma alargada e involucradas en diferentes funciones vitales como la embriogénesis, la homeostasia y la reparación tisular. Se localizan mayoritariamente en tejidos conjuntivos blandos y participan en la síntesis de colágenos y glicoproteínas⁽¹⁾. En su estado fisiológico, los fibroblastos son células quiescentes sometidas a pocas señales, pero aunque no proliferan, son metabólicamente activas y capaces de sintetizar y degradar los diversos elementos de la matriz extracelular (MEC). Durante el periodo de quiescencia, los fibroblastos mantienen una interacción bidireccional con los elementos de la MEC y otras células vecinas a través de uniones ligando-receptor favoreciendo la homeostasis tisular⁽²⁾.

En condiciones inflamatorias, los fibroblastos son capaces de modificar su fenotipo. Esta transformación fenotípica hace posible la proliferación, migración, remodelación de los elementos de la MEC y síntesis de citoquinas implicadas en la cicatrización⁽³⁾. Aunque todas estas características son comunes a todos los fibroblastos, existe una variación fenotípica entre los fibroblastos de tejidos diferentes, conocida como heterogeneidad inter-tisular mientras que la varia-

ción de fenotipo al interior de un mismo tejido, se denominada heterogeneidad intra-tisular. La perturbación de las células fibroblásticas a lo largo de su morfogénesis o en el transcurso de su participación en los procesos de cicatrización, puede generar diversos procesos patológicos, entre ellos, la alteración de la interacción con las células inflamatorias, evento que da origen a procesos patológicos⁽⁴⁾. Alteraciones en la reparación tisular puede dar lugar a una producción excesiva de tejido fibroso cicatricial, provocando una cicatriz hipertrófica o queloides. Así mismo, los fibroblastos, como cualquier otra célula del organismo, pueden ser objeto de una transformación maligna que desencadenaría en un proceso cancerígeno de tejido conjuntivo⁽⁵⁾.

En la cavidad bucal, los fibroblastos gingivales (FGs) constituyen entre un 60-70% de las células del tejido conjuntivo gingival, es decir, un promedio de 200.106 células por cm^3 ⁽⁶⁾. Los FGs participan en el mantenimiento de la homeostasis del tejido conjuntivo, su cicatrización y en los procesos de respuesta y tolerancia inmunitaria⁽⁷⁾. Con un perfil de expresión genético específico, los FGs presentan aspectos fenotípicos y funcionales únicos que le permiten llevar a cabo la reparación y curación de heridas a un ritmo mayor en comparación con otros tejidos del organismo, incluso sin generar la formación de lesiones causada por el

crecimiento exagerado de tejido cicatrizal. Esta característica es atribuible al rol del tejido vascular, que aporta los elementos nutritivos necesarios; las células epiteliales, que iniciada una lesión, migran para reconstruir el epitelio; la saliva, que favorece una humedad favorable en la cicatrización, además de contener los factores de crecimiento EGF, TGF- β , FGF y, los iones, que favorecen las reacciones enzimáticas⁽⁸⁾. In vivo, los FGs son células fusiformes constituida de un núcleo voluminoso, retículo endoplásmico y aparato de Golgi bien desarrollado junto a numerosas mitocondrias, vacuolas y vesículas. In vitro, a diferencia de su aspecto in vivo, los FGs presentan un número considerado de contactos intercelulares (uniones gap y uniones adherentes) con un citoesqueleto integrado por microfilamentos de actina y vimentina⁽⁸⁾.

El potencial de cicatrización y/o regeneración de la encía humana ha permitido posicionar a los FGs como células claves en este proceso. En consecuencia, los FGs autólogos parecen ser un candidato en la terapia celular con miras en la reparación de otros tejidos. Sin embargo, la obtención de un crecimiento adecuado de los FGs mediante el cultivo celular, conservando su fenotipo y aspectos fisiológicos, requiere de condiciones estrictamente definidas y acorde a las características micro-ambientales en las que se encuentran estas células in vivo, respetando el pH, osmolaridad, temperatura y el oxígeno⁽⁹⁾. Este micro-ambiente deberá ser proporcionado por las condiciones de cultivo celular. De una parte, el soporte del cultivo preverá las condiciones apropiadas por medio de su revestimiento, para la fijación de las células. Y de otro lado, el medio de cultivo, aprovisionará los nutrientes, sales, hormonas y factores de crecimiento a las células⁽⁹⁾. De manera casi sistemática, los medios de cultivo celular son suplementados con Suero Fetal Bovino (SFB). El SFB es una mezcla compuesta de un variado número de factores como glucosa, proteínas, vitaminas, oligoelementos, hormonas y factores de crecimiento esenciales para el mantenimiento, crecimiento y proliferación de las células⁽¹⁰⁾.

La utilización de SFB en los cultivos celulares es objeto de muchos debates, de una parte, por la existencia de una amplia variación en su composición, que permitiría la introducción de elementos que pueden ocasionar efectos inhibidores en el desarrollo y la diferenciación de las células, y por otro lado, la posibilidad de una contaminación biológica proveniente de la línea de producción del SFB, que representa un riesgo biológico importante en su utilización⁽¹¹⁾. Sin embargo, a pe-

sar de la discusión y los riesgos biológicos que representa la utilización del SFB, este suplemento continua siendo utilizado de manera rutinaria en el cultivo de células dada su provisión de factores de crecimiento y en consecuencia, su rol en la proliferación y supervivencia de las células cultivadas⁽¹²⁾.

Para comprender los mecanismos implicados en la regeneración de la encía, el desarrollo de un modelo in vitro a partir de los fibroblastos gingivales se hace necesario. Así, la comprensión de los aspectos fisiológicos de estas células requiere prioritariamente la caracterización de los elementos necesario para su cultivo, entre ellos, el SFB y su influencia en el desarrollo de los procesos fisiológicos de los FGs. El presente trabajo busca evaluar el efecto concentración-dependiente de la suplementación de SFB en el medio de cultivo sobre el comportamiento, crecimiento, proliferación y supervivencia de los fibroblastos gingivales humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

CULTIVO CELULAR

Los fibroblastos gingivales fueron amplificados a partir de biopsias provenientes de donantes clínicamente sanos. La biopsia fue realizada en la zona de premolares superiores de paciente sometido a la extracción de dichos órganos dentales por razones ortodónticas. El tejido gingival recuperado fue lavado dos veces en una solución salina tamponada con fosfato (PBS 1X, Gibco™) suplementada con 1% de penicilina-estreptomomicina (10,000 U/mL) (Gibco™). A continuación, el tejido gingival fue seccionado con un bisturí estéril en porciones de 1-2 mm³ y luego incluidos en cajas de Petri (Gosselin™) para su cultivo. El medio de cultivo utilizado estaba compuesto por DMEM (Dulbecco's modification of Eagle médium) (1X) con GlutaMAX™ (Gibco™), 20% de Suero Fetal Bovino-SFB (Gibco™), 1% de penicilina-estreptomomicina (10,000 U/mL) (Gibco™), 0,5 de Anfotericina B (Gibco™) y 50 μ m/mL de ácido ascórbico (Gibco™). La caja de Petri con el tejido y el medio de cultivo fueron incubados a 37°C en una atmosfera húmeda que contenía 5% de CO₂, siendo posteriormente reemplazado dos veces por semana hasta la obtención de células a una confluencia de 70-80%.

Una vez obtenida la confluencia deseada, las células fueron disociadas de su soporte mediante Trysine

EDTA (Gibco™) y cultivadas en frascos de 25 cm² en tres medios de cultivo diferentes: Medio de cultivo 1 (DMEM + SFB 10%), compuesto de DMEM (1X) con GlutaMAX™ (Gibco™), 10% de Suero Fetal Bovino-SFB (Gibco™), 1% de penicilina-estreptomocina (10,000 U/mL) (Gibco™), 0,5 de Anfotericina B (Gibco™). Medio de cultivo 2 (DMEM + SFB 0.5%), constituido por los mismos elementos del medio de cultivo 1 pero con 0.5% de Suero Fetal Bovino-SFB (Gibco™). Medio de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%), compuesto por los elementos descritos en el medio de cultivo 1 en ausencia de SFB. Cada pasaje celular correspondía alrededor de una semana de cultivo. Las células fueron tripsinizadas cuando las células se encontraban entre 80-90% de confluencia.

ANÁLISIS MORFOLÓGICO

La forma de las células fue observada a lo largo del proceso de proliferación y en estado confluyente mediante un microscopio de contraste de fases (Zeiss) equipado de una cámara fotográfica.

PROLIFERACIÓN

Con el fin de comparar la proliferación celular, posterior a ser tripsinizadas y contadas, 2000 células/pozo fueron cultivadas por triplicado en placas de 24 pozos en los medios de cultivo 1 (DMEM + SFB 10%), medio de cultivo 2 (DMEM + SFB 0.5%) y medio de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%). La proliferación fue evaluada a 24, 48, 72 y 96 horas mediante el conteo de células gracias a la coloración fluorescente en azul del ADN de las células cultivadas mediante Hoechst 33342 (Thermo Fisher Scientific) y registradas mediante un microscopio de contraste de fases (Zeiss) equipado de una cámara fotográfica. El análisis fue llevado a cabo mediante el software ImageJ.

INMUNOHISTOQUÍMICA

A los 7 días de cultivo celular, las células destinadas a la detención inmunológica fueron fijadas mediante la utilización de una solución de PBS1X (Gibco™) que contenía 4% de paraformaldehído (Sigma-Aldrich®) durante 12 minutos. Con el fin de una mejor detención de las moléculas intracelulares, las células fueron permeabilizadas utilizando 0.5% de Triton X-100 (Sigma-Aldrich®), para evitar una eventual coloración no específica, las células fueron incubadas durante 20 minutos

en PBS1X que contenía 1% de BSA (Sigma-Aldrich®) / 1% de glicina (Sigma-Aldrich®) a temperatura ambiente. Posteriormente, las células fueron puestas en contacto con los anticuerpos primarios a 4°C durante toda la noche. Para la doble inmunofluorescencia, los anticuerpos primarios se incubaron conjuntamente. Pasado este tiempo, las células fueron colocadas en contacto con los anticuerpos secundarios apropiados durante 2h a temperatura ambiente. Los núcleos celulares fueron coloreados con DAPI (Life Technologies Corporation), seguido por el montaje de las células mediante la solución Immu-Mount™ (Thermo Scientific).

Los anticuerpos primarios utilizados para la coloración inmunológica fueron: anti-Fibronectin sc-71113 (Santa Cruz Biotechnology, INC) (1/200), anti-Vimentin (Sigma-Aldrich®) 1/200. Los anticuerpos secundarios fueron Alexa Fluor 488 donkey anti-ratón (Life Technologies Corporation) -1/400 y Alexa Fluor 594 donkey anti-ratón (Life Technologies Corporation) -1/400, respectivamente. La coloración mediante la faloidina fue realizada después de la incubación del segundo anticuerpo, utilizando Alexa Fluor™ 594 Phalloidin (Thermo Fisher Scientific) durante 15 minutos y siguiendo las recomendaciones del fabricante. Todas las coloraciones fueron observadas utilizando el microscopio confocal Zeiss LSM 710.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se debutó con los cálculos estadísticos descriptivos para identificar la dinámica de la variable respuesta (proliferación), luego se definió las hipótesis del diseño experimental y posteriormente se llevó a cabo un análisis factorial de varianza (ANOVA) con el fin de validar las hipótesis. Las diferencias entre los periodos de tiempo se llevó a cabo por medio de un análisis post Hoc (Prueba de Turkey). Finalmente, se comprobó la validez del modelo y resultados mediante la validación de supuestos teniendo en cuenta la homocedasticidad (prueba de Bartlett), independencia (test Durbin-watson) y normalidad de los residuos (prueba de Shapiro-Wilk). Los cálculos y graficas fueron obtenidos a través del software R Project versión 3.4. Los resultados fueron considerados como significativos con un valor de $p < 0,05$.

DECLARACIÓN SOBRE ASPECTOS ÉTICOS

Para su ejecución, esta investigación tuvo en cuenta las normas éticas establecidas en la declaración de

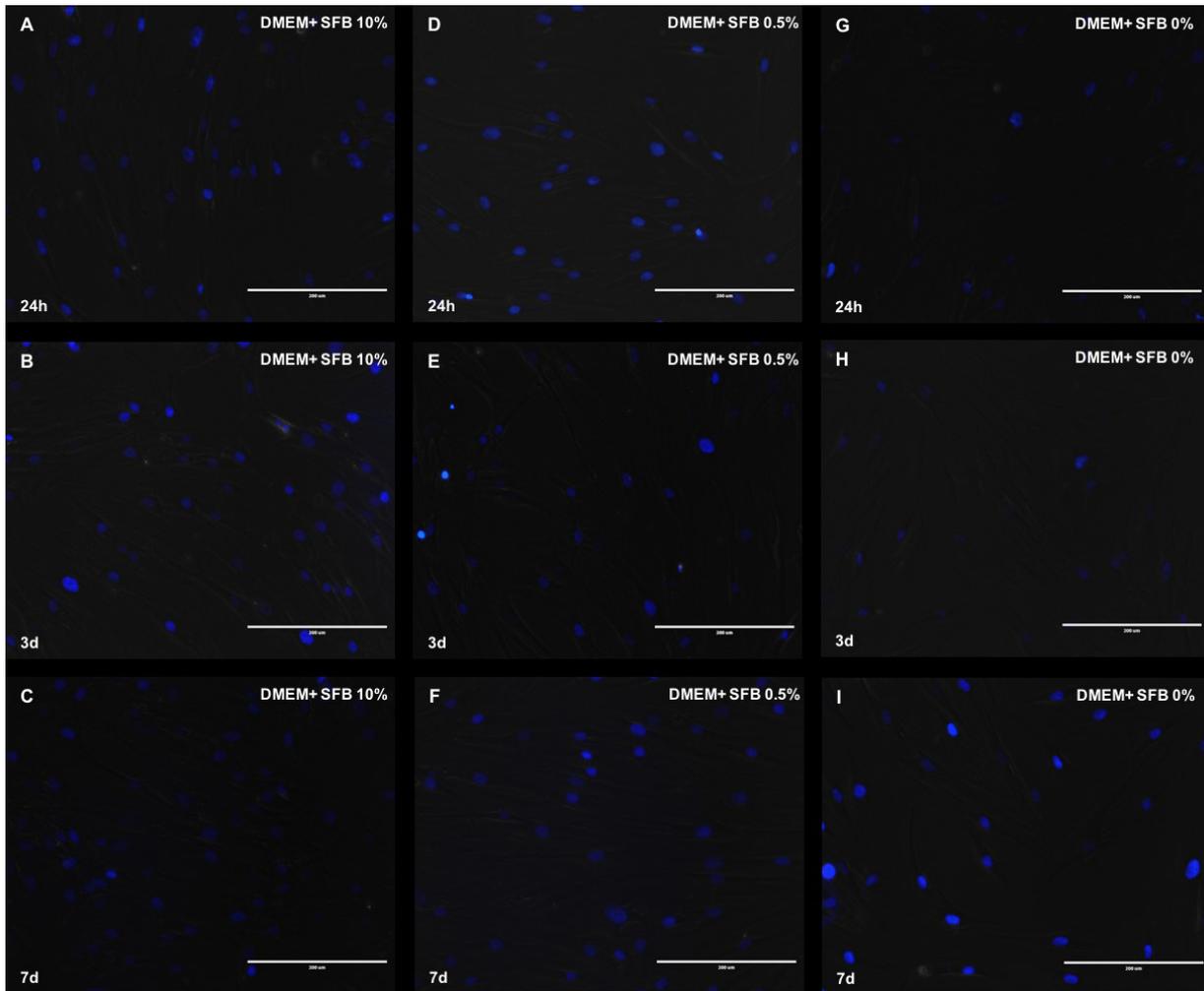


Figura 1. Microfotografías muestran marcaje de los núcleos en azul (Hoechst) de los fibroblastos gingivales después de ser cultivadas con SFB 10% (A,B,C), SFB 0,5% (D,E,F) y SFB 0% (G,H,I) a 24, 3d, y 7d. SFB: Suero Fetal Bovino. Barra blanca: 200 µm

Helsinki, y previa autorización del consentimiento informado por parte del paciente.

RESULTADOS

La influencia sobre los fibroblastos gingivales en tres condiciones de cultivo celular con concentraciones de 0%, 0,5% y 10% de SFB fueron estudiadas en este trabajo. En todas las condiciones testadas, los fibroblastos sobrevivieron a lo largo de 7 días y, al ser observados microscópicamente, estas células mostraron un aspecto fusiforme, acompañado de un núcleo voluminoso durante la proliferación y/o confluencia. (Figura 1, A-I). En función de la concentración del suero fetal bovino, una variación en el número y confluencia de los fibroblastos gingivales fue constatada (Figura 2, A-I). En la condición de cultivo 1 (DMEM + SFB 10%), se pudo apreciar que los FGs alcanzaron una confluencia de aproximadamente 80% luego de 24 horas de ser cultivadas (Figura 2,A). Por su parte, en la condición de

cultivo 2 (DMEM + SFB 0,5%), los FGs se vieron con una confluencia de alrededor 80% a los 3 días de cultivo (Figura 2, E) mientras que en la condición de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%), los FGs alcanzaron una confluencia estimada de 50-60% a los 7 días después de ser cultivadas (Figura 2, I).

Una cantidad no cuantificable de células flotantes fueron observadas especialmente durante la proliferación celular en la condición de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%), pero estas células fueron desapareciendo con el paso de los días luego de los cambios respectivos del medio de cultivo (Figura 2. G,H,I).

PROLIFERACIÓN

En promedio la proliferación de los FGs cultivados a 24 horas en las concentraciones de SFB 0%, 0,5% y 10% fueron de 34.76, 45.89 y 53.96 respectivamente. Hubo un aumento progresivo

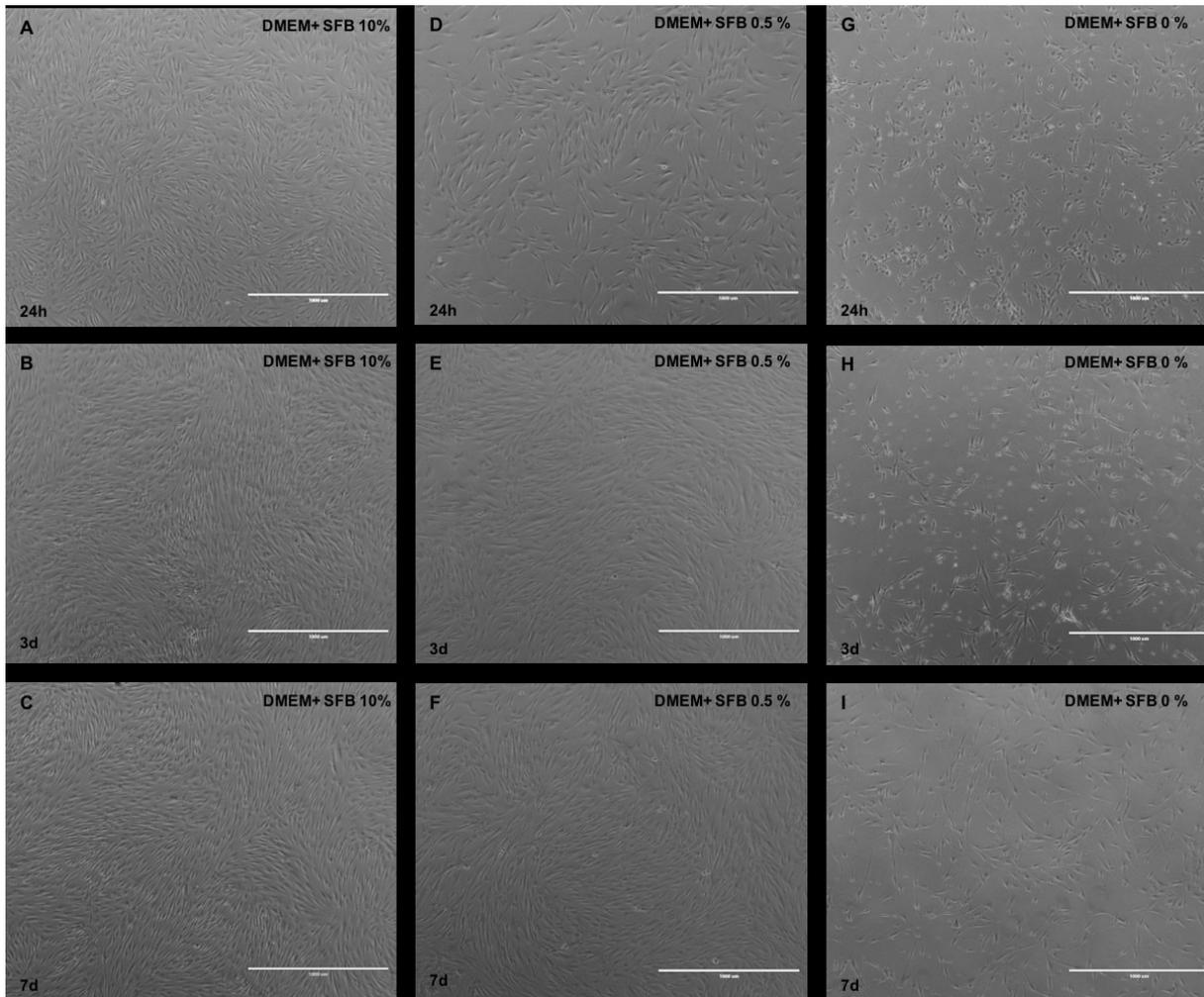


Figura 2. Microfotografías muestran la migración de las células fibroblásticas de la encía después de ser cultivadas con SFB 10% (A,B,C), SFB 0,5% (D,E,F) y SFB 0% (G,H,I) a 24 horas, 3 y 7 días. DMEM: Dulbecco's modification of Eagle médium. SFB: Suero Fetal Bovino. Barra blanca: 1000 μ m

constante en la proliferación de los FGs hasta alcanzar un promedio a las 96 h de 54.67, 65.88 y 84.73 en las concentraciones de SFB 0%, 0.5% y 10%, respectivamente. El coeficiente de variación fue casi idéntico en todos los periodos de tiempo dentro de un rango de 22%-23%, indicando una dispersión baja y homogénea en los periodos mencionados (**Figura 3A**). La mediana de proliferación fueron similares al promedio de la proliferación de los FGs, confirmando la homogeneidad de los datos. La prueba de contraste de hipótesis permitió inferir que hubo diferencias estadísticamente significativas en al menos dos periodos de tiempo durante la proliferación de FGs. La prueba de Turkey identificó que hubo diferencia estadísticamente significativa en el periodo de proliferación celular comprendido entre 24 a 72h, 24 a 96h y 48 a 96h. Estos resultados son validados en la **Figura 3B**. La validación de supuestos permiten mencionar que existe la suficiente evidencia estadís-

tica para afirmar que el tiempo suele influir en la proliferación de los FGs.

La concentración del SFB arrojaron en promedio diferentes niveles de penetración, sin embargo, la razón de cambio fue similar aun cuando el cambio de SFB 0% - SFB 0.5% no es igual de proporcional a una concentración de SFB 0,5% - SFB10%. Se cumplieron los supuestos del análisis de varianza (homocedasticidad, independencia y normalidad de los residuos del modelo). La ANOVA evidencia que la concentración de SFB influye significativamente en la proliferación de las células. La prueba Tukey evidenció que existieron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de SFB, confirmando que esta variable afecta la proliferación de FGs (**Figura 3C**). Sin embargo, la efectividad de la concentración del SFB 0,5% fue mucho más alta en relación a la concentración del SFB 10% , indicando que la efectividad en la proliferación de FGs estudiada no fue lineal.

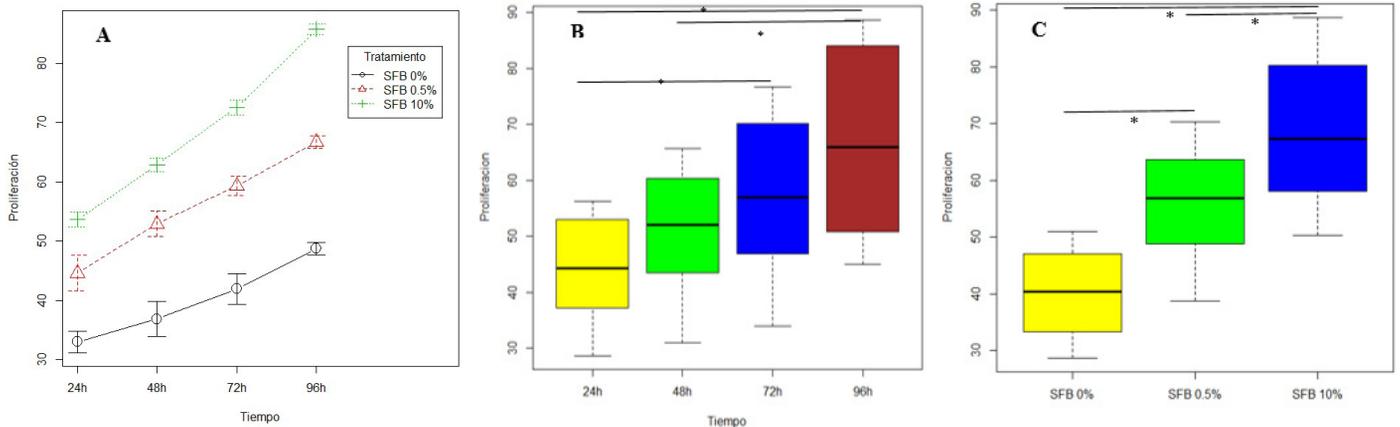


Figura 3. Proliferación celular de Fibroblastos gingivales. (A) Gráfico de medias de la proliferación de los fibroblastos gingivales con diferentes concentraciones de SFB a las 24,48,72 y 96 horas. (B) Diferencias estadísticamente significativa en la proliferación de fibroblastos gingivales entre 24 a 72h ($p=0.02078$); 24 a 96h ($p=0.00004$) y 48 a 96h ($p=0.00637$). (C) Diferencias estadísticamente significativa en la proliferación de fibroblastos gingivales cultivados a concentraciones entre SFB 0% a 0.5% ($p=0.00001$); SFB 0% a 10% ($p=0.00000$) y SFB 0.5% a 10% ($p=0.00045$). SFB: Suero Fetal Bovino. * $p<0,05$.

MATRIZ EXTRACELULAR Y CITOESQUELETO

La unión, adhesión e incluso la migración celular son procesos realizados entre las diferentes moléculas de la MEC y las células que la componen. Después de 7 días, los fibroblastos gingivales cultivados a diferentes concentraciones de SFB mostraron mediante inmunohistoquímica la expresión de la fibronectina y la actina. La expresión de la fibronectina fue detectada, aunque con una notable variación en las diferentes condiciones de cultivo (Figura 4. A,B,C). Los FGs tratados con el cultivo 1 (DMEM + SFB 10%) demuestran una importante y compacta red de uniones en su MEC a través del inmunomarcaje de la fibronectina (coloración verde) (Figura 4. A) en comparación a la evidenciada en los FGs cultivados con el medio de cultivo 2 (DMEM + SFB 0.5%) (Figura 4.B) y el medios de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%) (Figura 4.C). Los FGs expuestos con el medio de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%) aunque registran cierta cantidad de núcleos marcados (en azul) exponen visiblemente una cantidad reducida de interacciones y por ende, mayor cantidad de espacio intercelular (Figura 4.C).

Con el objetivo de constatar la estructura del citoesqueleto, el inmunomarcaje de la actina de los fibroblastos gingivales mediante la faloidina fue positiva e independiente de las diferentes condiciones de cultivos utilizadas en el presente estudio (Figura 4. D,E,F). No obstante, en el medio de cultivo 1 (DMEM + SFB 10%) (Figura 4.D), seguramente por la mayor cantidad de células presen-

te, el marcaje de la faloidina mostró la existencia de una relación muy próxima entre los FGs, aspecto que no fue similar en los FGs cultivados con el medio de cultivo 2 (DMEM + SFB 0.5%) (Figura 4. E) y el medio de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%) (Figura 4.F).

Mediante doble inmunofluorescencia, la monocapa de células gingivales cultivadas a diferentes concentraciones de SFB reflejaron la expresión de las proteínas: vimentina y fibronectina (Figura 5.A-I). De manera similar a los resultados hallados precedentemente, los fibroblastos gingivales en contacto con el medio de cultivo 1 (DMEM + SFB 10%) registraron una mayor red entre las moléculas de la MEC y las células, de acuerdo a lo identificado con la fibronectina y, una significativa apreciación de la vimentina, proteínas fibrosas que forman los filamentos intermedios del citoesqueleto (Figura 5.A,B,C). En las células cultivadas con el medio 2 (DMEM + SFB 0.5%) (Figura 5, D,E,F) y el medio de cultivo 3 (DMEM + SFB 0%) (Figura 5, G,H,I) aunque fue evidente la expresión de la fibronectina y la vimentina, se evidenció una red menos compacta en comparación con los FGs cultivados con el medio de cultivo 1.

DISCUSIÓN

Este estudio ha permitido mostrar in vitro la supervivencia, proliferación, comportamiento y organización en forma de monocapa de los FGs humanos cultivados a diferentes concentraciones de SFB. El

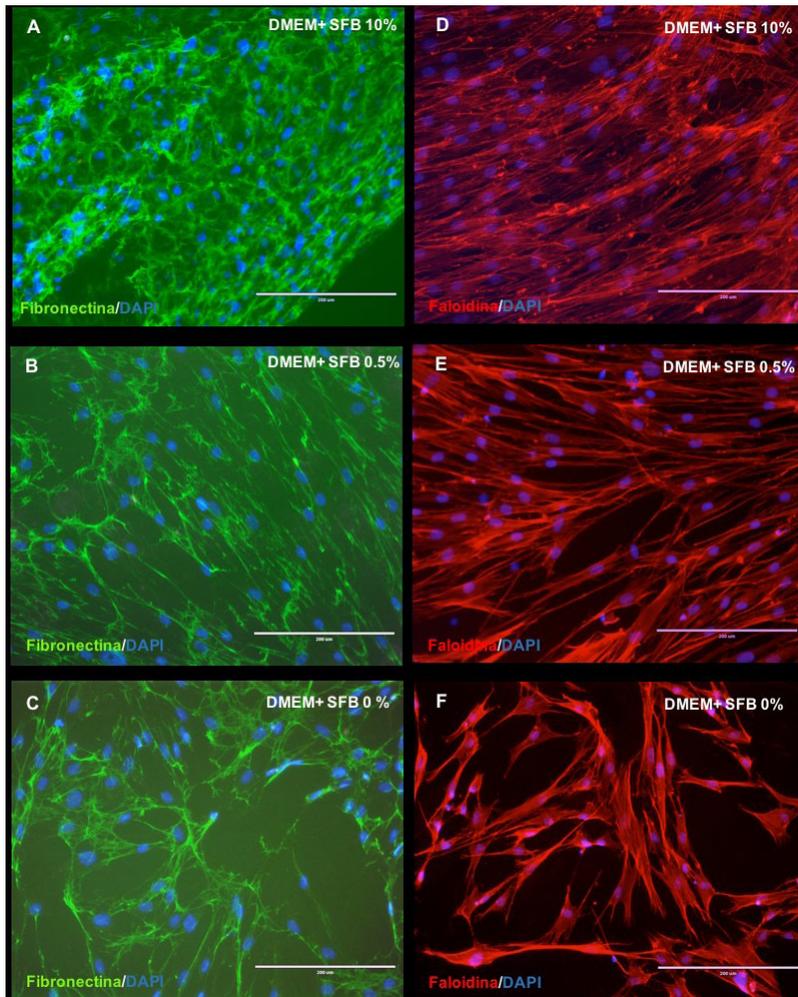


Figura 4 Microfotografías muestran proteína de la matriz extracelular y el citoesqueleto mediante inmunofluorescencia de fibroblastos gingivales a diferentes concentraciones de SFB. Inmunomarcaje de la fibronectina (A,B,C) y los filamentos de actina por medio de la faloidina (D,E,F) de fibroblastos gingivales a los 7 días de cultivo en SFB 10%, SFB 0,5% y SFB 0%. Los núcleos fueron coloreados con DAPI (azul). DMEM: Dulbecco's modification of Eagle médium. SFB: Suero Fetal Bovino. Barra blanca: 200 μ m.

suero fetal bovino contiene una variedad de factores de crecimiento, que inciden en la supervivencia, proliferación y diferenciación celular⁽¹³⁾. La elección de una concentración diferencial de SFB nos faculta a decir que este componente es vital en los cultivos de células y tiene un influencia determinante en la vida, proliferación y ciertamente, en las funciones fisiológicas de los fibroblastos gingivales. En las tres condiciones testadas, hemos constatado que los FGs son capaces de continuar proliferando durante una semana y alcanzar su confluencia en tiempos diferentes. Constancia de ello y conservando una misma cantidad de células desde el inicio del cultivo en las tres concentraciones de SFB, los

FGs cultivados con una concentración de 10% de SFB presentaron una adherencia y confluencia mucho más temprana en comparación la concentración de 0.5% y 0% de SFB. De hecho, en esta última concentración, los FGs, luego de una semana de cultivo, no presentaron una confluencia completa ni igual a la obtenida comparadas con células que fueron cultivadas a 0.5% y 10% de SFB.

El SFB, quien desempeña un rol esencial en el crecimiento de las células en cultivo, su metabolismo y estimulación de su proliferación, ha sido probablemente el responsable de la variación en la confluencia de las células fibroblásticas estudiadas en este trabajo. Intuimos que la ausencia de SFB en el medio de cultivo 3, seguramente fue un factor determinante en el ausencia de hormonas estimulantes en el crecimiento y proliferación de las células tales como: el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento similares a la insulina I y II (IGF-I, IGF-II)⁽¹⁴⁾. Probablemente la ausencia de SFB minimizara la presencia de factores de estabilización y de detoxificación que inhiben las proteasas como la Alfa 1-antitripsina o la Alfa-2 macroglobulina y otras moléculas tóxicas, necesarios para el mantenimiento del pH celular. Otro aspecto que también pudo haber afectado el crecimiento de las células fibroblásticas en ausencia de SFB fue la disminución y/o ausencia del transporte de proteínas portadoras de las hormonas, minerales, elementos como la transferrina y el transporte de lípidos como las lipoproteínas⁽¹⁴⁾.

Independientemente del porcentaje de confluencia que los FGs presentaron a lo largo de su cultivo a diferentes concentraciones de SFB, anatómicamente estos se distinguieron por presentar un núcleo ovalado, un aspecto fusiforme y dimensiones variables. De acuerdo a los resultados, los FGs cultivados con 10% de SFB alcanzaron un desarrollo morfológico más notorio y en menor tiempo comparados con los FGs cultivados a 0.5% y 0% de SFB. De hecho, los fibroblastos cultivados a 0%

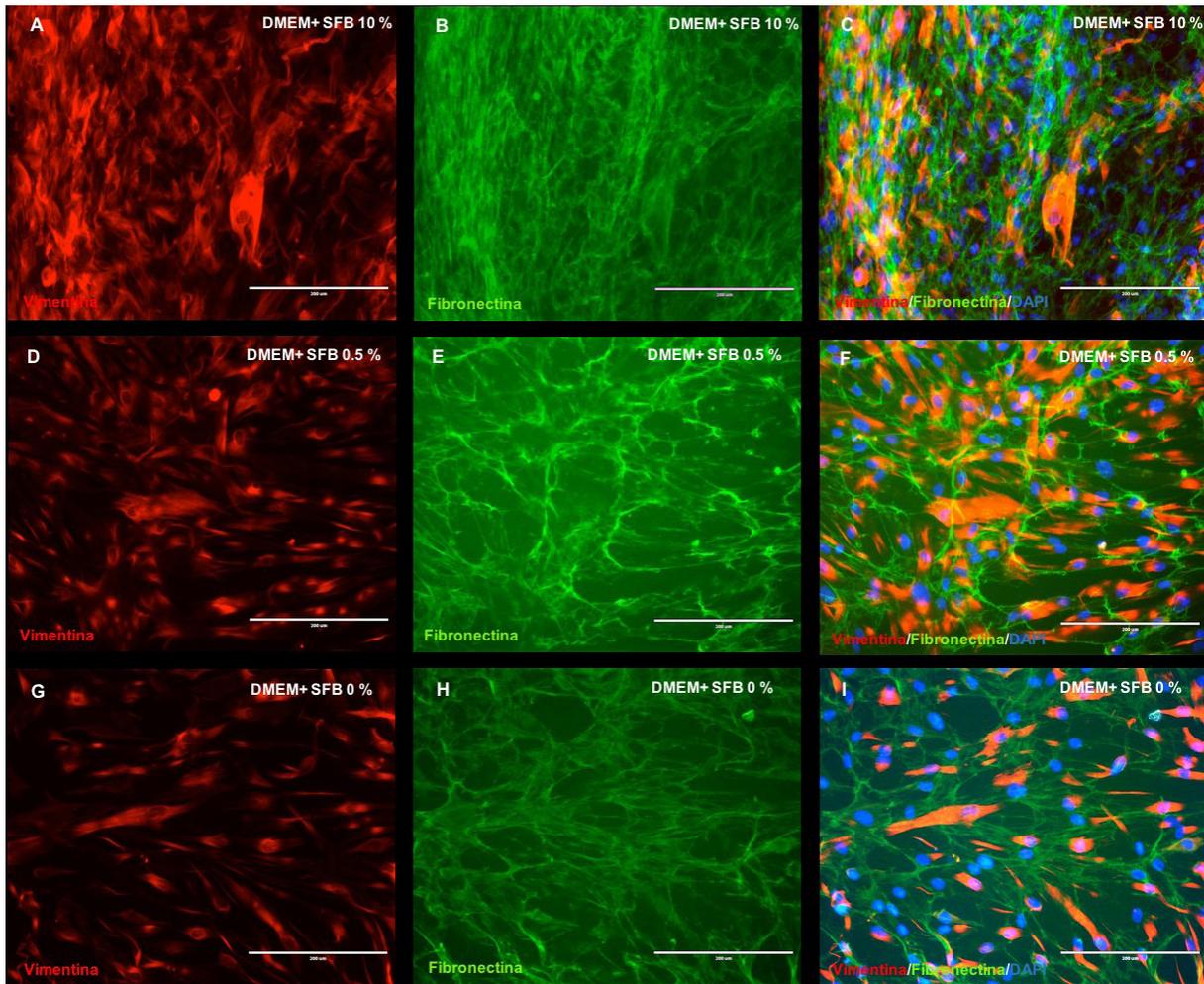


Figura 5. Análisis del citoesqueleto y matriz extracelular. Microfotografías muestran la expresión de la vimentina y la fibronectina fibroblastos gingivales a diferentes concentraciones de SFB. Inmunomarcaje de la vimentina, fibronectina y DAPI a 7 días de cultivo en: SFB 10% (A,B,C); SFB 0,5% (D,E,F); SFB 0% (G,H,I). DMEM: Dulbecco's modification of Eagle médium. SFB: Suero Fetal Bovino. Barra blanca: 200 μ m.

de SFB no llegaron a alcanzar el mismo desarrollo morfológico en comparación con los otros dos grupos de fibroblastos, incluso luego de 21 días de cultivo celular (resultados no mostrados). Probablemente, este aspecto fue la consecuencia de un número reducido de factores de crecimiento dada la ausencia del SFB, que dificultó la principal función de los fibroblastos como es la producción, organización, y remodelación de la MEC⁽³⁾. En consecuencia, la alteración del buen funcionamiento de los fibroblastos impidió su comunicación con otros tipos de células por contacto directo, mediante la creación de una red de comunicación celular o incluso mediante la secreción y liberación de moléculas como factores de crecimiento y/o citoquinas en la MEC. Estos diferentes métodos de interacciones hacen posible que los fibroblastos contribuyan a la homeostasis tisular, es decir, les permite intervenir en el equilibrio cualitativo y cuantitativo de los componentes de la MEC necesarios para la funcionalidad tisular⁽²⁾.

Con una representación cercana a un tercio de células del tejido conjuntivo gingival, los FGs sintetizan colágeno, glicoproteínas, glucosaminoglicanos entre otras proteínas, pero a diferencia de otras MEC, ciertos componentes puede ser cuantitativamente menos sintetizados⁽⁶⁾. Nuestros resultados demuestran la presencia de la fibronectina, glicoproteína estructural cuya función es asegurar las uniones entre las moléculas de la MEC y las células, fue observada en todas las condiciones de cultivo utilizadas en este estudio. Sin embargo, una menor distribución de la fibronectina fue encontrada en las células fibroblásticas cultivadas con 0% de SFB, revelando eventualmente la dificultad en la adhesión y migración de los FGs carentes de diversos factores de crecimiento cuyo efecto fue constatado con la observación de una cantidad no cuantificable de células flotantes los primeros días de cultivo. Aunque una de las principales moléculas secretadas por la MEC presenta una menor distribución entre los fibroblastos cultivados con 0% de

SFB, un análisis de la expresión de ARN de la fibronectina pudiese ser necesaria en la determinación de una probable alteración de esta molecular en las tres condiciones de cultivo presentadas.

La visualización de la distribución de la actina (gracias a la faloidina) y de la vimentina, una proteína fibrosa que participa en la formación de los filamentos intermedios del citoesqueleto sirviendo de soporte para las organelas intracelulares, estuvieron presentes en los FGs cultivados y estudiados en nuestro trabajo. Si bien, la visualización de la actina y la vimentina fueron siempre más notorias en los fibroblastos gingivales tratados con 10% y 0.5% de SFB, su expresión también fue visualizada en la condición de cultivo con 0% de SFB. Una caracterización morfológica mediante microscopía electrónica a transmisión y de barrido podría revelar si existe diferencias significativas en la estructura de la MEC de los FGs, influenciados por la variación de la concentración de SFB. La existencia de una óptima organización de la MEC producida por los fibroblastos gingivales nos permitiría confirmar que los fibroblastos se encuentran fisiológicamente activos y capaces de responder de manera adecuada en un eventual proceso de cicatrización.

Gracias a este estudio, se ha constatado la importancia de SFB en la supervivencia y proliferación de los FGs humanos. Sin embargo, es necesario continuar explorando el impacto de diferentes condiciones de cultivo celular sobre las organelas citoplasmáticas de los FGs *in vitro*. Un mejor conocimiento de todos los aspectos fisiológicos celulares de los fibroblastos gingivales nos permitirá comprender los mecanismos implicados en el poder regenerativo de la encía y la probable utilización de estas células en la terapia celular, no solo a nivel de cavidad bucal sino como tratamiento de procesos patológicos sistémicos.

CONCLUSIÓN

Este estudio sugiere que los fibroblastos gingivales humanos presentan una mejor capacidad de supervivencia, desarrollo y proliferación cuando son cultivados en presencia de SFB. En efecto, un análisis exhaustivo de los componentes del medio de cultivo, así como la concentración y los componentes del SFB deben ser considerados en detalle con el fin de recrear un ambiente *in vitro* lo más cercano posible a las condiciones *in vivo* en

la que se hallan inmersos los FGs humanos.

AGRADECIMIENTOS

Al programa Bolívar Gana con Ciencia de la Gobernación de Bolívar, Colombia y la Fundación Ceiba por el acompañamiento y financiamiento.

DECLARACIÓN SOBRE CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no poseer ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFIA

1. Carrel A, Ebeling AH. Age and multiplication of fibroblasts. *J Exp Med.* 1921 Nov 30;34(6):599–623.
2. Fournier BPJ, Larjava H, Häkkinen L. Gingiva as a source of stem cells with therapeutic potential. *Stem Cells Dev.* 2013 Dec 15;22(24):3157–77.
3. Häkkinen L, Uitto VJ, Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontol 2000.* 2000 Oct;24:127–52.
4. Bhattacharyya S, Wei J, Varga J. Understanding fibrosis in systemic sclerosis: shifting paradigms, emerging opportunities. *Nat Rev Rheumatol.* 2011 Oct 25;8(1):42–54.
5. Räsänen K, Vaheri A. Activation of fibroblasts in cancer stroma. *Experimental Cell Research.* 2010 Oct 15;316(17):2713–22.
6. Schroeder HE, Münzel-Pedrazzoli S, Page R. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue in early chronic gingivitis in man. *Arch Oral Biol.* 1973 Jul;18(7):899–923.
7. Schroeder HE, Listgarten MA. The gingival tissues: the architecture of periodontal protection. *Periodontol 2000.* 1997 Feb;13:91–120.
8. Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodon-*

- tol 2000. 2000 Oct;24:28–55.
9. Odioso LL, Doyle MJ, Quinn KW, Bartel RL, Zimmer MP, Stevens Burns D. Development and characterization of an in vitro gingival epithelial model. *Journal of Periodontal Research*. 1995 May 1;30(3):210–9.
 10. Lee JA, Parrett BM, Conejero JA, Laser J, Chen J, Kogon AJ, et al. Biological alchemy: engineering bone and fat from fat-derived stem cells. *Ann Plast Surg*. 2003 Jun;50(6):610–7.
 11. Van der Valk J, Brunner D, De Smet K, Fex Svenningsen A, Honegger P, Knudsen LE, et al. Optimization of chemically defined cell culture media--replacing fetal bovine serum in mammalian in vitro methods. *Toxicol In Vitro*. 2010 Jun;24(4):1053–63.
 12. Mucci N, Aller J, Kaiser GG, Hozbor F, Cabodevila J, Alberio RH. Effect of estrous cow serum during bovine embryo culture on blastocyst development and cryotolerance after slow freezing or vitrification. *Theriogenology*. 2006 May;65(8):1551–62.
 13. Tsugeno Y, Sato F, Muragaki Y, Kato Y. Cell culture of human gingival fibroblasts, oral cancer cells and mesothelioma cells with serum-free media, STK1 and STK2. *Biomed Rep*. 2014 Sep;2(5):644–8.
 14. Brunner D, Frank J, Appl H, Schöffl H, Pfaller W, Gstraunthaler G. Serum-free cell culture: the serum-free media interactive online database. *ALTEX*. 2010;27(1):53–62.

CORRESPONDENCIA:

Víctor Simancas Escorcía
Barrio Zaragocilla.
Campus de la Salud.
Facultad de Odontología.
Universidad de Cartagena.
Cartagena de Indias. Bolívar. Colombia.
Correo electrónico:
vsimancasescorcia@hotmail.com

Principales conductas de riesgo sobre Papilomavirus Humano en universitarios argentinos

Main risk behaviors on Human Papillomavirus in Argentine university students

Medina ML *, Medina MG **, Merino LA ***

RESUMEN

Introducción: El Papilomavirus Humano (VPH) es una enfermedad de transmisión sexual, siendo los estudiantes universitarios una población vulnerable para adquirir esta infección. La educación sexual es una estrategia fundamental en la promoción de la salud y prevención de la misma. *Objetivo:* Describir principales conductas de riesgo sobre VPH en estudiantes universitarios. *Materiales y métodos:* Se seleccionaron estudiantes de Facultad de Odontología de Universidad Nacional del Nordeste durante 2010. Luego del consentimiento informado, se empleó cuestionario anónimo sobre conductas sexuales de riesgo en relación al VPH.

Resultados: Quedaron incluidos 61 estudiantes; 47 (77 %) mujeres y 14 (23 %) hombres. La edad media fue 22 años. Se observó que 36 (59%) tuvieron relaciones sexuales precozmente, (13 años y 27). En 41 (67 %) refirió haber tenido dos o más parejas sexuales. Se observó que 26 (43 %) nunca o rara vez usaron preservativos. Del total 33 (54 %) refirió sexo oral; 25 (41 %) no consumió anticonceptivos orales. El consumo de alcohol se observó en 31 (51 %).

Conclusión: Las principales conductas de riesgo para la infección por VPH en esta población fueron haber tenido dos o más parejas sexuales, sexo oral y consumo de alcohol.

PALABRAS CLAVE: VPH, universitarios, comportamientos de riesgo.

ABSTRACT

Background: Human papillomavirus (HPV) is a sexually transmitted disease, being college students vulnerable to acquiring this infection population. Sex education is a key strategy in promoting health and preventing it. To describe major risk behaviors in college students about HPV. *Methods:* Students of Faculty of Dentistry, National

* Docente-Investigador. Jefe de Unidad de Investigación. División de Educación Permanente e Investigación. Hospital Pediátrico Dr. Avelino Castelán. Jefe de Trabajos Prácticos. Cátedra de Metodología de la Investigación. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Adscripta Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional de Nordeste.

** Docente-Investigador. Infectólogo-Dermatólogo. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional de Nordeste. Jefe de Trabajos Prácticos. Cátedra de Microbiología, Inmunología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Nordeste. Jefe de Trabajos Prácticos. Cátedra de Salud Pública. Facultad de Veterinaria. Universidad Nacional de Nordeste.

*** Docente-Investigador. Co-Director. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Secretario General de Ciencia y Técnica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Jefe del Dpto. de Bacteriología. Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Nordeste. Profesor Titular Cátedra de Microbiología, Inmunología y Parasitología. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Nordeste

University of the Northeast were selected in 2010. After informed consent, anonymous questionnaire on sexual risk behavior in relation to HPV was used.

Results: 61 students were included; 47 (77%) women and 14 (23%) men. The mean age was 22 years. It was observed that 36 (59%) had sex early (13 and 27). In 41 (67%) reported having had two or more sexual partners. It was observed that 26 (43%) never or rarely used condoms. Of the total 33 (54%) reported oral sex; 25 (41%) did not consume oral contraceptives. Alcohol consumption was observed in 31 (51%).

Conclusion: The main risk behaviors HPV infection in this population were to have had two or more sexual partners, oral sex and alcohol.

KEY WORDS: HPV, college students, risk behaviors.

Fecha de recepción: 26 de enero de 2016.

Fecha de aceptación: 27 de septiembre de 2017

Medina ML, Medina MG, Merino LA. *Principales conductas de riesgo sobre Papilomavirus Humano en universitarios argentinos.* 2018; 34, (6): 311-319.

INTRODUCCIÓN

La infección por *Papilomavirus Humano (VPH)* es una enfermedad de transmisión sexual (ETS), que afecta a un alto porcentaje de mujeres jóvenes de todo el mundo, principalmente de países en desarrollo, cuyas edades fluctúan entre los 20 y 25 años^(1,2). La alta incidencia de infección por VPH está asociada al inicio precoz de la actividad sexual, mayor frecuencia de actividad sexual en la etapa de adolescentes y adultos jóvenes y mayor número de parejas sexuales^(3,4). La importancia de la infección por VPH, radica en ser el principal factor etiológico del cáncer cervicouterino (CC)⁽⁵⁾. A pesar que la infección por VPH está ampliamente difundida en el mundo⁽⁶⁾, es una infección aún desconocida por parte de la población en riesgo, lo que asociado a diversos factores culturales, favorecen el desarrollo de creencias que dificultan su prevención y diagnóstico precoz^(2,3,7,8). Las creencias^(7,8) interfieren en las conductas preventivas y por lo tanto, en la toma informada de decisión en salud^(7,9). Según datos de la OMS (2004), el CC es uno de los mayores problemas de salud pública mundial, constituyendo la primera causa de muerte en las mujeres de los países en desarrollo, como América Latina y el Caribe, donde la mortalidad por esta patología sólo es superada por países de África Oriental y Melanesia⁽¹⁰⁾.

En la actualidad existen pocas medidas de salud pública estructuradas para educar a la población sobre la asociación del VPH y el CC⁽¹¹⁾, por consiguiente, resulta de vital importancia incorporar en

los programas de educación y pesquisa, aspectos relacionados a esta condición, teniendo en consideración las barreras que se presentan en relación a las ETS y al CC descritas ampliamente en la literatura nacional e internacional en especial lo concerniente al CC y su forma de pesquisa^(9,12,13). Estudios realizados aluden a la carencia de programas que tiendan a la prevención orientada a la población objetivo, desde el prisma de la cultura y creencias de la población, de manera que permitan la toma de decisión en salud sobre la enfermedad y las conductas de prevención⁽¹¹⁾.

Una de las razones principales de la efectividad del programa de screening en los países desarrollados ha sido su alta cobertura para el Test de Papanicolaou⁽¹⁴⁾. Sin embargo, alcanzar altos niveles de cobertura en los países en desarrollo ha sido una tarea mucho más difícil, debido a la dificultad para ponerse en contacto con mujeres para el screening⁽¹⁴⁾. Los determinantes de la participación de las mujeres en el screening son los conocimientos y creencias sobre el CC y las estrategias preventivas⁽¹⁵⁾. En Argentina, los datos del análisis de la encuesta nacional de factores de riesgo realizada en 2005 revelaron que el 44% de las mujeres sin seguro de salud nunca se realizaron un Test de Papanicolaou⁽¹⁶⁾. Los resultados de un estudio indican que en Argentina la falta de conocimiento se asoció con no haberse sometido al screening⁽¹⁷⁾. En Argentina, según la Encuesta Nacional sobre el Uso y el Gasto en Servicios de Salud demostró que el 75% de las mujeres habían tenido al menos un contacto con

el sistema de salud en el año previo al estudio⁽¹⁸⁾. Esto indica que se pierden oportunidades en los servicios de salud para fomentar que las mujeres se realicen el control cervical⁽¹⁷⁾. Según un estudio realizado en Argentina sobre el conocimiento de VPH halló que sólo el 47% de mujeres examinadas y 30 % de las no examinadas nunca habían oído hablar del VPH. Además, las mujeres que habían oído hablar del VPH sabían muy poco sobre el virus y su relación con CC⁽¹⁷⁾. En el nuevo escenario de prevención del CC se hace aún más necesario proporcionar a las mujeres información precisa sobre éste y el VPH para que puedan tomar decisiones informadas sobre el uso de nuevas técnicas. En Argentina, un análisis de la Encuesta Nacional de Factores de riesgo mostró que las mujeres que no tenían seguro de salud eran menos probable que se hayan realizado el screening en los últimos dos años⁽¹⁹⁾. Este hecho podría estar vinculado a las deficiencias en la infraestructura y la organización de algunos centros de salud pública en Argentina⁽²⁰⁾.

En Argentina, las actividades de prevención implementadas en los últimos 20 años no han sido efectivas para reducir significativamente la mortalidad por CC. La experiencia de los países desarrollados ha demostrado que es posible reducir la carga de la enfermedad mediante la aplicación organizada de programas de screening⁽²¹⁾. Sin embargo, los resultados presentados en un estudio demuestran que los programas en Argentina tienen como problema la baja cobertura de citología vaginal y ausencia de controles de calidad, así como la falta de sistemas de monitoreo y evaluación. Además señalan que el nivel de cumplimiento de las recomendaciones nacionales es bajo, y que en general, no fueron traducidos en acción a nivel provincial. Los Programas provinciales recomiendan más screening para rangos etarios más amplios y con una frecuencia mayor que la recomendada por el programa nacional (35-64 años de edad; anualmente durante 2 años y si es negativo, cada 3 años). Esto podría limitar la posibilidad de aumentar la cobertura ya que muchos laboratorios de citología no tienen los recursos humanos y equipos necesarios⁽²²⁾. Sin duda, la adhesión de los programas provinciales a las directrices nacionales constituirán un desafío en un país donde el sistema de salud está descentralizado y el Ministerio de Salud tiene limitado poder sobre las administraciones provinciales⁽²³⁾. Otra falencia es que en Argentina, muy pocas Provincias tienen

un sistema de información, por lo que existen pocos datos con respecto a la ejecución de Programas y sus resultados⁽²⁴⁾.

La subutilización de los servicios de prevención del CC en las mujeres en el grupo de alto riesgo de 30 a 60 años se puede atribuir a factores de servicio de salud (como la escasa disponibilidad, la mala accesibilidad, y la mala calidad de la atención prestada), a la falta de información de las mujeres, y las barreras culturales y de comportamiento. Existen organizaciones, agrupadas bajo la Alianza para la Prevención del Cáncer Cervical (ACCP), que están trabajando para clarificar, promover e implementar estrategias para la prevención del cáncer cervical en los países en desarrollo. La ACCP ha estado tratando de identificar estrategias eficaces para aumentar la participación voluntaria de las mujeres en los programas de prevención en los países en desarrollo. Las experiencias ACCP incluyen el desarrollo de asociaciones de la comunidad para escuchar y aprender de la comunidad, mejorando así la adecuación de los servicios, el desarrollo de mensajes culturalmente apropiados y materiales educativos; haciendo que el acceso a los servicios de screening sea sencillo, de alta calidad, y la identificación de formas eficaces para alentar a las mujeres y sus parejas para completar el diagnóstico y tratamiento. Los Programas de prevención del CC que utilizan estas estrategias son más proclives a aumentar la demanda, garantizar el seguimiento y reducir la carga de morbilidad⁽²⁵⁾.

En Argentina, la vacunación contra el VPH fue aprobada en 2006, pero no incluida en el programa nacional de inmunización. En 2008 se llevó a cabo una campaña de medios de comunicación por una organización no gubernamental (ONG) de cáncer, pero se detuvo debido a las críticas sobre la publicidad. En octubre de 2011 el Ministerio de Salud (MINSa) ha introducido la Vacunación VPH en el programa nacional de inmunización. En Argentina, la aceptabilidad de la vacuna es alta, teniendo en cuenta que hay aceptación entre la comunidad profesional, los médicos lo recomiendan, y la vacuna es asequible⁽²⁶⁾.

El objetivo de este trabajo fue describir las principales conductas de riesgo y el nivel de conocimientos en relación al VPH en estudiantes universitarios.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO:

Se efectuó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal.

POBLACIÓN:

El universo lo constituyeron 87 estudiantes que se encontraban cursando Materias de la Carrera de Odontología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste (F.O.U.N.N.E.) durante el primer semestre académico del año 2010.

MUESTRA:

El tamaño de la muestra fue de $n=61$ estudiantes, el cálculo de dicho tamaño se realizó a partir de la estimación de un intervalo de confianza de 95 % para una proporción de 5 %, con una precisión de 3 %.

SELECCIÓN DE SUJETOS:

La selección de los estudiantes se realizó mediante muestreo no probabilístico de tipo intencional, seleccionándose los cinco primeros estudiantes voluntarios al salir de clases.

Participaron en la investigación aquellos estudiantes que luego de conocer los objetivos, las condiciones de la misma, la confidencialidad respecto a su nombre y el no riesgo que la investigación implicaba, firmaron el consentimiento informado.

Se definieron dos niveles académicos: básico y clínico. El nivel básico estuvo conformado por 1er., 2^{do.} y 3^{er.} Año y el nivel clínico por 4^{to.} y 5^{to.} Año.

INSTRUMENTO:

A los sujetos seleccionados al salir de clase se les auto administró, sin entrevistador, un cuestionario anónimo diseñado por el grupo de investigación validado por expertos y con alta confiabilidad. Dicho instrumento estaba integrado por 2 partes fundamentales:

I. Información sociodemográfica, que incluía las siguientes variables: edad, género, estado civil, año de cursado académico.

II. Preguntas de opción cerrada que evaluaban las conductas sexuales de riesgo en relación al VPH: inicio de actividad sexual, edad de la primera relación, cantidad de parejas sexuales, parejas

ocasionales, utilización de preservativos, sexo oral, consumo de alcohol, consumo de cigarrillos.

Los datos fueron tabulados mediante el Programa estadístico Excel.

CUESTIONES ÉTICAS:

El presente estudio previo a su realización fue revisado y autorizado para su realización por el Comité de Ética institucional. El cuestionario anónimo fue autoadministrado afín de preservar el anonimato y la confidencialidad.

RESULTADOS

Quedaron incluidos 61 estudiantes; 47 (77 %) fueron mujeres y el resto 14 (23 %) hombres. La edad media fue de 22 años oscilando en un rango entre 17 y 39 años; siendo el 97 % de ellos solteros. Del total 43 (70 %) habían iniciado su sexualidad al momento del presente interrogatorio, mientras que 18 (30 %) no la habían iniciado aún. Se observó que en 36 (59%) habían iniciado las relaciones sexuales de manera precoz (antes de los 14 años), siendo la edad mínima de inicio de relaciones sexuales de 13 años y 27 la máxima. En 41 de 43 estudiantes reportaron más de una pareja sexual a lo largo de su vida; de los cuales 13 (32%) fueron con parejas ocasionales. De los 13 con parejas ocasionales; 6 consumían anticonceptivos y usaron preservativos: 7 todas las veces; 3 mayoría de las veces; 2 nunca y 1 rara vez. Del total de encuestados se observó que en 26 (43 %) nunca o rara vez usaron preservativos durante sus relaciones sexuales; 23 de los con pareja estable y 3 de los con parejas ocasionales. En 25 (41 %) de los encuestados consumía anticonceptivos orales. Se observó en 33 (54 %) de los estudiantes la práctica de sexo oral; de los cuales 8 lo tuvieron con pareja ocasional y 25 con pareja estable. El consumo de alcohol se observó en 31 (51 %) y el consumo de tabaco en el 9 (15 %) de los encuestados respectivamente. Se observó que las mujeres tuvieron mayores conductas de riesgo que los hombres, siendo el haber tenido 2 o más parejas sexuales el factor de riesgo más frecuente entre mujeres. Mientras que en hombres los factores de riesgo más frecuentes fueron inicio precoz de relaciones sexuales, haber tenido 2 o más parejas sexuales y el consumo de alcohol. En la **Tabla 1** se detallan las conductas de riesgo según género.

TABLA 1.- CONDUCTAS DE RIESGO PARA HPV EN LA POBLACIÓN ESTUDIANTIL SEGÚN EL GÉNERO

Conductas de riesgo	Hombres (n)	Mujeres (n)
Inicio precoz de las relaciones sexuales	9	27
Haber tenido dos o más parejas sexuales en toda la vida	9	32
Relaciones sexuales con parejas ocasionales	5	8
No haber utilizado preservativos	5	21
Sexo oral	5	28
Consumo de alcohol	9	22
Consumo de cigarrillos	3	6

RESULTADOS

El VPH se ha convertido en un problema de salud pública^(27,28), siendo transmitido sexualmente, las mujeres son víctimas directas y los hombres como portadores asintomáticos del virus, son responsables de su propagación^(29,30). Dentro de los factores de riesgo para adquirir la infección por VPH se encuentran entre otros: iniciar las relaciones sexuales antes de los 14 años, tener múltiples parejas compañeros sexuales, usar anticonceptivos de forma indiscriminada, no utilizar preservativos en cada relación sexual, práctica de sexo oral, consumir tabaco y alcohol^(31,32,33).

El inicio de una vida sexual a edad temprana, antes de los 14 años, constituye uno de los principales riesgos, originando conductas riesgosas, conjugado con la falta de protección y la posibilidad de que la(s) pareja(s) pudieran estar infectadas lo que aumentan los riesgos de infecciones de transmisión sexual⁽³⁴⁾. Al empezar una vida sexual activa antes de los 20 años tienen mayor actividad sexual y por consiguiente más tiempo de exposición y probabilidades de estar en contacto con diferentes tipos de virus del papiloma o bien tener mayor cantidad de inoculo⁽³⁵⁾. Nuestro estudio coincidió con aquellos reportados por otros autores donde se observó el inicio precoz de las relaciones sexuales en la población de universitarios.

Otro factor de riesgo para contraer la infección por VPH es haber tenido o tener dos o más parejas sexuales, nuestro estudio lo observó en un alto porcentaje de los encuestados. Coincidiendo

nuestros datos con otros reportados por la literatura donde se mencionó a los jóvenes con dos o más parejas sexuales con mayor propensión de contagio con el VPH^(35,36).

El uso prolongado de anticonceptivos orales es otro factor de riesgo, el cual se vincula con la persistencia de infecciones provocadas por el virus, lo mismo sucede con una alteración hormonal. Algunos estudios estiman que las mujeres que utilizan anticonceptivos orales por más de cinco años duplican el riesgo de contraer cáncer cervicouterino por el exceso de hormonas⁽³⁷⁾. En nuestro estudio se observó baja frecuencia de consumo de anticonceptivos orales.

El comportamiento inadecuado en la adolescencia puede tener repercusiones durante toda la vida, el acceso de información sexual dispersa, la mayor libertad y el desconocimiento de las consecuencias de una actividad sexual sin protección llevan a los adolescentes a incurrir en prácticas de riesgo para la salud⁽³⁸⁾. El uso incorrecto del preservativo o la ausencia del mismo en todas las relaciones sexuales predisponen al contagio del VPH y otras ITS. Una de las medidas de prevención que puede disminuir ese fenómeno es promoviendo un mayor conocimiento de los beneficios que proporciona su correcta utilización⁽³⁴⁾. Nuestro estudio observó que un alto porcentaje la población estudiada no uso preservativos en sus relaciones sexuales.

Es difícil para la mayoría de la gente pensar que el alcoholismo y tabaquismo tienen alguna relación con el contagio del VPH, pero en el ámbito

científico está comprobado que el hábito de fumar o tomar bebidas alcohólicas, tienen un efecto que favorece la infección de VPH. 39 El hábito de fumar tiene un efecto nocivo en las secreciones vaginales, sobre todo en el epitelio del canal endocervical en donde es el reservorio del virus del papiloma, generando la inoculación con mayor facilidad en un ambiente óptimo para su propagación⁽⁴⁰⁾. En nuestra población se observó que el hábito tabáquico no fue frecuente. Mientras que se observó que un alto porcentaje de los encuestados consumía alcohol.

La infección del virus del papiloma humano tiene relación con los hábitos sexuales de los individuos y ha sido demostrado que la frecuencia de esta infección es mayor en personas con múltiples contactos sexuales sin protección, y con el contacto orogenital, anogenital y oroanal; la identificación de virus del papiloma humano en la orofaringe de parejas de pacientes con neoplasia intraepitelial cervical asociada al virus, es mayor que en aquéllas en las que el virus no se identifica; la presencia del virus del papiloma humano podría ser la causa del incremento en el número de pacientes con cáncer de lengua-orofaringe que no fuman ni beben alcohol y en menores de 45 años de edad⁽⁴¹⁾.

El desconocimiento de los adolescentes sobre las ITS es una realidad preocupante. Por eso se necesitan lineamientos que contribuyan a que las personas adopten prácticas personales saludables, entre las cuales se encuentran los métodos de barrera, los factores nutricionales, la cesación del hábito tabáquico, el control mediante el examen de papanicolaou y las pruebas de detección de infecciones de transmisión sexual⁽³⁴⁾. La falta de conocimientos sobre los aspectos básicos con relación al VPH coloca a las personas en mayor riesgo de adquirir dichos microorganismos, de transmitirlos y de sufrir complicaciones posteriores, especialmente cuando existen co-morbilidades⁽⁴²⁾. Tanto los hombres como las mujeres deben contar con los conocimientos suficientes que les permita manifestar una actitud responsable ante las consecuencias de sus actos⁽⁴³⁾.

En este estudio se halló que casi la mitad de los encuestados tuvo un conocimiento sobre VPH de muy bueno a excelente. No obstante, por ser jóvenes universitarios de un nivel de educación superior se esperaba que el conocimiento sobre estos eventos que pueden afectar el proceso salud-en-

fermedad de las personas fuera el adecuado, lo cual fue así sólo en casi la mitad de los encuestados situando a estas personas en una situación de alerta, pues se encuentran en el rango de edad con más riesgo para infectarse del VPH. Algunos factores como la cultura actual de prácticas sexuales que inician tempranamente, proceso de definición y de curiosidad sexual, así como factores sociales de grupo y relacionados con las modas exponen a los jóvenes a las ITS⁽⁴³⁾. Tanto hombres como mujeres tienen carencias de conocimiento sobre el VPH, que sumado a la edad y a la falta de acciones preventivas, colocan a estas personas en una condición orientada hacia un posible contagio y sus posteriores efectos⁽⁴³⁾.

Por todo lo señalado precedentemente, resulta fundamental que el personal de los centros involucrados en el proceso enseñanza-aprendizaje, se disponga al establecimiento de estrategias para minimizar oportunamente las consecuencias que pueden derivarse de ciertos comportamientos inadecuados de los estudiantes, muchas veces producto de falta de conocimientos suficientes y adecuados. Asimismo, resulta fundamental que las Instituciones formadoras de profesionales de las Ciencias de la Salud, implementen estrategias de fortalecimiento de sus Programas con características idóneas en materia de ITS.

BIBLIOGRAFIA

1. Sánchez M, Uribe F, Conde C. La infección por el virus del papiloma humano, un posible marcador biológico de comportamiento sexual en estudiantes universitarios. *Salud Pública de Mex* 2002;44:442-447.
2. Castro M, Arellano M. Acceso a la información de mujeres con VPH, displasia y cáncer cervical in situ. *Salud Pública Mex* 2010; 52:207-12.
3. Castro I. Conocimientos y factores de riesgo sobre infecciones de transmisión sexual en adolescentes. *RevHabanCiencMéd* 2010; 9(5):705-16.
4. Montero A, González E, Molina T. Salud sexual y reproductiva de los y las adolescentes en Chile. *RevChil Salud Pública* 2008;12:42-7.

5. Kahn J, Ding L, Huang B, Zimet G, Rosenthal S, Frazier L. Mothers' intention for their daughters and themselves to receive the human papillomavirus vaccine: a national study of nurses. *Pediatrics* 2009; 123:1439-45.
6. Denny-Smith T, Bairan A, Page M. A survey of female nursing students' knowledge, health beliefs, perceptions of risk, and risk behaviors regarding human papillomavirus and cervical cancer. *J Am Acad Nurse Pract* 2006;18:62-9.
7. Barbosa L, Bezerra A, Teixeira M. Ser mulher portadora do HPV: uma abordagem cultural. *RevEscEnferm* 2008; 42:737-43.
8. Lee E, Tripp-Reimer T, Miller A, Sadler GR, Lee SY. Korean American women's beliefs about breast and cervical cancer and associated symbolic meanings. *Oncol Nurse Forum* 2007;34:713-20.
9. Lamadrid, S. Conocimientos y temores de las mujeres chilenas con respecto a la prueba de Papanicolaou. *Bol Of SanitPanam* 1996; 121:542-9.
10. Donoso E, Cuello M, Villarroel L. Reducción de la mortalidad por cáncer cérvico uterino en Chile, 1990-2003. *RevChilObstetGinecol* 2006; 71:307-12.
11. De Acevedo S, Antero Sousa M, Vieira N. Motivos que levamulheres a nao retornarem para receber o resultado de examen Papanicolaou. *Rev Latino-am Enfermagen* 2006;14:503-9.
12. Urrutia MT, Poupin L, Concha X, Vinales D, Iglesia C, Reyes V. ¿Por qué las mujeres no se toman el Papanicolaou?: Barreras percibidas por un grupo de mujeres ingresadas al programa de cáncer cervicouterino AUGE. *RevChilObstetGinecol* 2008;73:98-103.
13. Rubio D, Restrepo M. Creencias en salud en mujeres universitarias relacionadas a la toma de citología vaginal. *RevColombPsicol* 2004;13:102-12.
14. Sankaranarayanan, R., A. M. Budukh, and R. Rajkumar. Effective screening programmes for cervical cancer in low- and middle-income developing countries. *Bulletin of the World Health Org* 2001; 79 (9):54-62.
15. Tacken, M. A., J. C. Braspenning, R. P. Hermens, P. M. Spreeuwenberg, H. J. van den Hoogen, D. H. de Bakker, et al. 2007. Uptake of cervical cancer screening in The Netherlands is mainly influenced by women's beliefs about the screening and by the inviting organization. *European J of Public Health* 17:178-85.
16. Arrossi, S., and M. Paolino. 2008. Argentina. Diagnóstico de Situación del Programa Nacional de Prevención de Cáncer de Cuello de Útero, y Programas Provinciales. Publicación N° 64-Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). Buenos Aires.
17. Paolino MA & Arrossi S. Women's Knowledge About Cervical Cancer, Pap Smear and Human Papillomavirus and Its Relation to Screening in Argentina, *Women & Health*, 2011; 51 (1): 72-87.
18. Ministry of Health Encuesta de Utilización y Gasto en servicios de salud, Argentina, Ministerio de Salud, Buenos Aires. 2005
19. Arrossi, S., S. Ramos, M. Paolino, and R. Sankaranarayanan. Social inequality in Pap smear coverage: Identifying under-users of cervical cancer screening in Argentina. *Reproductive Health Matters* 2008; 32:50-8.
20. Arrossi, S., and M. Paolino. Argentina. Diagnóstico de Situación del Programa Nacional de Prevención de Cáncer de Cuello de Útero, y Programas Provinciales. Publicación Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) 2008.Buenos Aires.
21. Arbyn M, Raifu AO, Bray F, Weiderpass E, Antila A. Trends of cervical cancer mortality in the member states of the European Union. *Eur J Cancer*. 2009;45:2640-8.
22. Arrossi S, Paolino M. Proyecto para el mejoramiento del Programa Nacional de Prevención de Cáncer de Cuello Uterino en Argentina: Diagnóstico de situación del Programa Nacional de Prevención de Cáncer de Cuello

- de Útero, y Programas Provinciales.
Buenos Aires: Organización Panamericana de la Salud; 2008. (Informe Técnico No. 64).
23. Holland-Barkis P, Forjuoh S, Couchman G, Capen C, Rascoe T, Reis M. Primary care physicians' awareness and adherence to cervical cancer screening guidelines in Texas. *Prev Med.* 2006;42:140-5.
24. Arrossi S, Paolino M, Sankaranarayanan R. Challenges faced by cervical cancer prevention programs in developing countries: a situational analysis of program organization in Argentina. *Rev Panam Salud Publica.* 2010;28(4):249-57.
25. Bradley J, Coffey P, Arrossi S, Agurto I, Bingham A, Dzuba I, Kleine A, Lewis R, White S. Women's perspectives on cervical cancer screening and treatment in developing countries: experiences with new technologies and service delivery strategies. *Women and Health*, 43:103-21, 2006.
26. Arrossi S, Maceira V, Paolino M, Sankaranarayanan R. Acceptability and uptake of HPV vaccine in Argentina before its inclusion in the immunization program: a population-based survey. *Vaccine*, 30(14):2467-74, 2012.
27. Lucumí-Cuesta DI, Gómez Gutierrez LF. Accesibilidad a los servicios de salud en la práctica de citología reciente de cuello uterino en una zona urbana de Colombia. *RevEsp Salud Publica.* 2004;78(3):367-77.
28. Posso HJ. Carga de cáncer asociado con el HPV en América latina. *Revista HPV* 2007; 12:3.
29. Lazcano Ponce E. El factor masculino en la historia natural del virus de papiloma humano. *HPV* 2007; 12:5.
30. Guzmán P, Ili C, Rifo P, Briceño G, Araya J, Villaseca M, et al. Prevalencia de la infección genital por virus papiloma humano en hombres universitarios voluntarios de la IX Región, Chile. *Revista médica de Chile* 2008;136(11):1381-89.
31. Escobar GM. Relación entre las conductas sexuales y algunas patologías crónicas del tracto genital inferior femenino. *Hacia la Promoción de la Salud* 2007;12:65-177.
32. Ortiz R, Uribe CJ, Díaz LA, Dangond YR. Factores de riesgo para cáncer de cuello uterino. *Revista Colombiana de obstetricia y ginecología* 2004;55(2):146-60.
33. González González del Pino MM, Hernández González M, Castro Barberena A. Factores asociados al Papillomavirus Humano: Área V, Cienfuegos. *Rev Electr Ciencias Médicas en Cienfuegos Medisur* [Seriada en línea] 2008; 6(2): 118-121. Disponible en: URL: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/rt/printerFriendly/454/47>
Consultado Abril 2, 2014.
34. Hernández-Carreño L, Padilla-Loredo S, Quintero-Soto ML. Factores de riesgo en adolescentes para contraer el Virus del Papiloma Humano. *Revista Digital Universitaria* 2012; 13(9): 1-17.
35. Tirado L, Mohar A, López M, García , Franco F, Borgues G. Factores de riesgo de cáncer cervicouterino invasor en mujeres mexicanas. *Salud Pública de Mex* 2005; 47: 342-350.
36. Sánchez M, Uribe F, Conde C. La infección por el virus del papiloma humano, un posible marcador biológico de comportamiento sexual en estudiantes universitarios. *Salud Pública de Mex* 2002; 44: 442-447.
37. Melo Santiesteban G, Waliszewski SM. El virus del papiloma humano. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana.* [Seriada en línea] 2009; 22 (2): [1 página]. Disponible en: URL: http://www.uv.mx/cienci_ahombre/revistae/vol2_2num2/articulos/virus/index.html
Consultado Abril 2, 2014.
38. Sam S, Ortiz A, Lira J. Virus del papiloma humano y adolescencia. *Ginecología y Obstetricia en México* 2011; 79: 214-224.
39. León G, Bosques O, Silveira P, De la Torre

- A, Soto P y Rodriguez B. Incidencia de los factores en mujeres cubanas con diagnóstico de cérvix. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología 2009; 1: 1-9.
40. Alaniz, A., Flores, J. & Salazar, C. Factores de riesgo para el desarrollo de la displasia leve cervical. Revista de la Facultad de Medicina UNAM 2009; 52: 69-72.
41. Gallegos-Hernández JF, Paredes-Hernández E, Flores-Díaz R, Minauro-Muñoz GG, Apreza-García T, Hernández-Hernández DM. Virus del papiloma humano asociado a cáncer de cabeza y cuello. CirCir2007;75:152-155.
42. Cameron JE, Mercante D, O'Brien M, Gaffga A, Leigh J, Janet E, Fidel PL, Hagensee ME. The impact of highly active antiretroviral therapy and immunodeficiency on Human Papillomavirus infection of the oral cavity of human Immunodeficiency virus-Seropositive adults. Sexually Transmitted Diseases 2005; 32 (11): 703-09.
43. Jiménez Herrera LG. Conocimiento de estudiantes de la Universidad de Costa Rica sobre el Virus de Papiloma Humano, durante el II Ciclo Lectivo del año 2006, Costa Rica. Rev. Costarric. Salud Pública 2007; 16 (31): 42-47.

CORRESPONDENCIA:

Dra. Myriam L. Medina.

Teléfono: 054-3624420138.

Correo electrónico: dramyriammedina@yahoo.com.ar