

R.8991



Departamento de Cirugía y Medicina Bucofacial
Facultad de Odontología
Universidad Complutense de Madrid
España



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5315189133

T

Folleto-022

HER

SUSCEPTIBILIDADES A ANTIBIÓTICOS EN LA FLORA SUBGINGIVAL:

ESTUDIO EN DOS MODELOS PATOLÓGICOS,
EL ABSCESO PERIODONTAL Y LA PERIODONTITIS DEL ADULTO.

David Herrera González

Tesis Doctoral



Madrid, 15 de Noviembre de 1999

Dirigida por:

Prof. Dr. Mariano Sanz.

X-53-376577-2



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

D. MARIANO SANZ ALONSO, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA BUCOFACIAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

CERTIFICA: que el presente trabajo titulado: "SUSCEPTIBILIDADES A ANTIBIÓTICOS EN LA FLORA SUBGINGIVAL. ESTUDIO EN DOS MODELOS PATOLÓGICOS, EL ABSCESO PERIODONTAL Y LA PERIODONTITIS DEL ADULTO" ha sido realizado bajo mi dirección por D. David Herrera González, y reúne, en mi criterio, los requisitos y méritos suficientes para optar, mediante el mismo, al grado de Doctor en Odontología por la Universidad Complutense de Madrid.

Madrid, a 16 de Septiembre de 1999.

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mariano Sanz Alonso'.

Fdo: Prof. Dr. Mariano Sanz Alonso
DIRECTOR DE TESIS



INSTANCIA: MENCIÓN DOCTORADO EUROPEO.

Universidad Complutense de Madrid

David Herrera González, natural de Madrid, con D.N.I. nº 4 182 582, y Licenciado en Odontología por la Universidad Complutense de Madrid.

EXPONE:

Que cumpliendo los requisitos indicados para la solicitud de obtener la mención de "Doctorado Europeo", como se comprueba en la documentación adjunta:

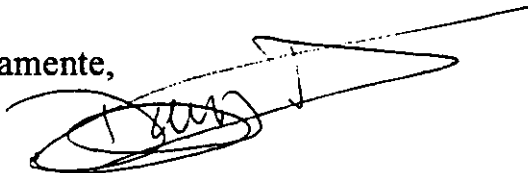
- Informes favorables de dos profesores pertenecientes a centros de enseñanza superior o institutos de investigación de otros dos países europeos.
- Certificación de estancia superior a 3 meses en otro país europeo, llevando a cabo en esa estancia trabajos relacionados con la Tesis presentada.

SOLICITA

Obtener la mención de "Doctorado Europeo" de la Universidad Complutense de Madrid.

En Madrid, a 14 de Octubre de 1999.

Atentamente,



David Herrera González

C/. Narciso Serra 4, 5ºB

28007 Madrid

Tfono: 91 552 75 21



From:
Professor D. F. Kinane, BDS, FDS, RCS, FDS RCPS, PhD
Professor Mariano Sanz,
Department of Periodontics,
Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria,
Avda. Ramon y Cajal,
28040 Madrid,
SPAIN



UNIVERSITY
of
GLASGOW

13th September 1999

Dear Professor Sanz,

Re: Doctoral Thesis by David Herrera, Faculty of Odontology, University of Complutense, Madrid.

Thank you for asking me to assess this thesis as an external assessor. I hereby provide my considered report.

In terms of scientific quality this is a good piece of work which addresses some important questions in a relatively novel area. My confidence in the quality of the work is supported by the acceptance for publication of the articles emanating from this work in international peer reviewed journals. The quantity is also sufficient and apt for the award of the doctoral degree.

In terms of originality and the questions addressed this thesis deals with new areas of oral clinical, microbiological and antimicrobial therapeutics in both Spain and The Netherlands which are very pertinent to the future clinical therapy of oral abscesses. The hypotheses tested are relevant and interesting and the approaches to testing these questions is appropriate and thorough.

I am impressed with the originality, quality and quantity of this work and I formally commend this thesis for the Doctorate in Odontology without reservation.

Yours sincerely

A handwritten signature in cursive script, reading 'Denis Kinane'.

Denis F. Kinane

Laboratoire de Stomatologie
Prof. M. Brex

Département de Parodontologie
Université Libre de Bruxelles
Campus Erasme cp 622
803, route de Lennik
1070 Bruxelles

Professor Mariano Sanz
Facultad de Odontologia
Universidad de Complutense
Madrid

Brussels, 5 October 1999

RE: The evaluation of the thesis of Dr. Herrera

Dear Colleague,

Two weeks ago you sent me the thesis of Dr. Herrera entitled "Antibiotic susceptibilities in the subgingival microflora: study on two periodontal infection models, the periodontal abscess and adult periodontitis" for evaluation.

I was impressed by this title which imposes a lot of work to answer so many questions. And that is the first point that I want to stress. This thesis has remarkably dealt with the problems. It starts with a complete review of the literature which enabled the doctoral student to understand the problem and to globalize the subject. Then he went methodically to the depth, and step by step asked and answered the right questions.

The review article is not only a compilation of many articles but also a mature digestion of the information collected.

1/2



The other articles have shown that Dr. Herrera had to learn , among other things, bacteriology, epidemiology and statistics which are of major importance for a future Ph.D. in Periodontology or Oral Biology.

The overall work gave birth to six internal publications in renowned Journals. I do hope that in the future Dr. Herrera will take some time to write a national manuscript to permit less scientific colleagues to profit from his experience.

I must add that during the last scientific meeting of the I.A.D.R.-C.E.D. in Montpellier Dr. Herrera demonstrated a good knowlegde of his work and its background.

Taking all of this into consideration I have absolutely no problem to affirm that the content of the thesis of Dr. Herrera has all scientific merit needed for presentation to the Doctorate Degree.

Best regards

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Brex', with a stylized flourish at the end.

Professor Michel Brex

Amsterdam, September 29, 1999

To whom it may concern

Dr. A.J. van Winkelhoff, Professor of Oral Microbiology of the Department of Oral Biology, director of the Clinical Periodontal Microbiology section, Faculty of Dentistry of the Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA)

Certifies that:

Mr. David Herrera has worked in the aforementioned laboratory and performed research activities directly related to his doctoral thesis research project during a period of 15 weeks, carried out on three consecutive summers (1996, 1997 & 1998).



Professor dr. A.J. van Winkelhoff
Department of Oral Biology
Academic Centre for Dentistry Amsterdam

A MIS PADRES,
PILAR Y FERNANDO.

AGRADECIMIENTOS.

Mi principal agradecimiento está dirigido a las dos personas cuya supervisión ha hecho posible la realización de este trabajo, mis dos Directores de Tesis.

Al Prof. Dr. Mariano Sanz Alonso, por haber despertado en mí el interés por la ciencia de la Periodoncia, y por haber tutelado y guiado mis pasos académicos, profesionales y científicos durante los últimos años. Además, tengo que agradecerle todo su cariño, confianza y apoyo durante todo el desarrollo de este trabajo.

Al Prof. Dr. Arie Jan van Winkelhoff, que me acogió generosamente en su laboratorio en Amsterdam durante tres veranos, y me dedicó mucho de su tiempo y conocimientos. Y por todo su trabajo de supervisión en relación con los artículos originales y la propia tesis, tremendamente crítico y detallado, que ha contribuido decisivamente a la calidad de este trabajo.

Estas investigaciones nunca habrían existido sin el arduo trabajo en los Laboratorios de Microbiología de Madrid y de Amsterdam.

En Madrid, Itziar González, Ana O'Connor y Rosa Simón han compartido conmigo largas horas de trabajo duro, y algunas menos, pero igual de intensas, de simpatía y cariño. Sin ellas, esta tesis no tendría resultados españoles.

En Amsterdam, Nancy Dellelijn-Kippuw trabajó duramente conmigo en la puesta a punto del estudio comparativo, en la calibración, y es la responsable de haber sacado adelante los resultados de los pacientes holandeses. Además, Carolien Bosch-Tijhof, Claudia Benschop, Astrid Stijne-van Nes, Elly van Deutekom-Mulder, Henk Boersma, y George Zeiler, me ayudaron con su paciencia y enseñanzas. Edwin Winkel me demostró todo su cariño, me enseñó Amsterdam desde sus canales, y ha colaborado activamente en todo el desarrollo del estudio comparativo. Hartelijk dank voor jullie behulpzaamheid en jullie steun.

Los pacientes son casi siempre una parte muy importante de la investigación clínica en Periodoncia. Tengo que agradecer la colaboración recibida en las tres clínicas involucradas en estas investigaciones.

Principalmente, la clínica del Master de Periodoncia, bajo la dirección del Prof. Dr. Antonio Bascones y el Prof. Dr. Mariano Sanz, en la que pasé muchas horas de aprendizaje, y recibí la colaboración, moral o material, de todos mis compañeros a lo largo de los años. Entre los profesores, estoy especialmente agradecido a Berta Legido y Ion Zabalegui.

En la Clínica Dental Herrera, en dónde siempre he recibido apoyo y cariño de mis dos colegas, con los que tengo el gusto de compartir largas jornadas: mi tío, Pedro Herrera García, y mi primo, Pedro Herrera Pereiro. Ellos, junto con Marina, me han hecho más llevadero el día a día. En el Centro Europeo de Ortodoncia (CEOSA), mis jefes, José Rábago y Mariano Sanz, aparte de apoyarme incondicionalmente, fueron especialmente comprensivos con mis “largas” vacaciones en Amsterdam.

Mis amigos han soportado con resignación mis malos humores y mi escasez de tiempo, y les estoy muy agradecido por su apoyo, comprensión y cariño.

Cristina, Edurne, Maica, Silvia, Carlos, Rubén, Santi, y Teddy, siempre han estado ahí, y sin ellos no tendría los pies en el suelo. Además, Rubén me regaló un año de mi vida para acabar la Tesis (aunque lo hizo porque se lo pidió Santiago, diga lo que diga Teddy).

Bettina, Cristina, Joana, y Marga, Isabel y Antonio, y José Luis y Josune, me hicieron primero mucho más llevaderas las jornadas en el Master, y luego hemos disfrutado juntos de muchos buenos momentos.

Familia no hay más que una, y a todos ellos tengo que agradecerles que estén siempre cerca de mí, con su apoyo y cariño. Especialmente a mis hermanas, Ana y Blanca, que me aguantan todos los días, a mis padres, por todo, y a mi hermano Fernando y M^a Jesús, por ellos mismos, y por darnos a Carla, mi ahijada y primera sobrina.

Los apoyos económicos no deben de olvidarse.

A la Comunidad Autónoma de Madrid, bajo cuyos auspicios disfruté de una beca de formación del personal investigador (FPI) durante casi 4 años, para la realización de esta Tesis. Y también gracias a ellos viajé a Amsterdam tres veranos consecutivos, con becas de estancias cortas en el extranjero para becarios FPI.

A Pfizer, S.A., que financiaron el estudio de abscesos periodontales, dentro de un proyecto multicéntrico.

Silvia ha quedado para el final, pues no sabía si habría espacio para los demás si le agradecía a ella primero todo lo que ha hecho para que esta tesis exista: ha colaborado en la investigación de abscesos periodontales, es coautora de varios artículos originales, crítica evaluadora de todo mi trabajo, y mi principal apoyo diario y cuando los momentos se tuercen. Además, ha soportado estoicamente la ausencia de vacaciones verdaderas. Espero ayudarle al menos la mitad en la realización de su tesis.

INDICE.

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	2
1. Resistencias bacterianas ante antimicrobianos.	2
1.1. Situación global de las resistencias bacterianas.	2
1.2. Mecanismos de resistencias bacterianas.	3
1.3. Mecanismos de resistencia ante antibióticos usados comúnmente.	4
1.3.1. Resistencia bacteriana a antibióticos β -lactámicos.	4
1.3.2. Resistencia a tetraciclinas.	5
1.3.3. Resistencia a metronidazol.	6
1.3.4. Resistencia a clindamicina.	7
1.3.5. Resistencia a macrólidos.	7
1.4. Distribución geográfica de las resistencias bacterianas.	7
2. Modelos de enfermedades infecciosas. Infecciones periodontales.	10
2.1. Infecciones orales que requieren tratamiento antibiótico.	10
2.2. Infecciones periodontales.	10
2.2.1. Absceso periodontal.	11
2.2.2. Periodontitis refractaria.	12
2.2.3. Periodontitis del adulto.	13
<i>Factores que afectan a la prevalencia de los patógenos periodontales</i>	14
<i>Resultados comparados sobre la prevalencia de los patógenos periodontales</i> ...	15
3. Susceptibilidades a antimicrobianos en la flora subgingival.	18
3.1. Antibióticos empleados en los tratamientos periodontales.	18
3.2. Factores que afectan a la eficacia de los antibióticos sistémicos en la microflora subgingival.	19
3.3. Métodos de estudio de las susceptibilidades a antimicrobianos, empleados en el estudio de la microflora subgingival.	20
3.3.1. Procedimiento de dilución en agar.	20
3.3.2. Procedimiento de dilución en agar limitado.	20
3.3.3. Procedimiento de microdilución en caldo (dilución en microcaldo).....	21
3.3.4. Procedimiento de macrodilución en caldo.	22
3.3.5. Test epsilométrico (E-test).	22
3.3.6. Procedimiento del Spiral Gradient Endpoint (gradiente en espiral para puntos de ruptura).	22
3.3.7. Detección de la producción de β -lactamasas.	23
3.3.8. Otros métodos.	23
3.4. Susceptibilidades a antimicrobianos de la microflora subgingival.....	24
3.4.1. Resultados expresados como porcentaje de flora resistente.....	24
3.4.2. Resultados expresados como valores CMI (Dilución en agar).....	25
3.4.3. Porcentaje de cepas resistentes/susceptibles.	26
3.4.4. E-test.	27
3.4.5. Prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas.	27
3.5. Influencia de los tratamientos antimicrobianos en las resistencias en la microflora subgingival.	29
3.5.1. Tratamientos antimicrobianos locales.	29
3.5.2. Terapia antimicrobiana local frente a sistémica.	30

3.5.3. Terapia antimicrobiana sistémica: Aumento en las resistencias.	30
3.5.4. Terapia antimicrobiana sistémica: Sobre-infecciones.	33
4. Importancia e implicaciones de las susceptibilidades a antimicrobianos en periodoncia.	33
III.OBJETIVOS.	36
IV.RESULTADOS.	37
Modelo I: El absceso periodontal.	
<u>Artículo original 1.</u> Herrera, D., Roldán, S., Sanz, M. "Review article: the periodontal abscess" <i>Journal of Clinical Periodontology</i> 2000; 27 (6).	
<u>Artículo original 2.</u> Herrera, D., Roldán, S., González, I., Sanz, M. "The periodontal abscess: I. Clinical and microbiological findings." <i>Journal of Clinical Periodontology</i> 2000; 27 (6).	
<u>Artículo original 3.</u> Herrera, D., Roldán, S., O'Connor, A., Sanz, M. "The periodontal abscess: II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotics regimes". <i>Journal of Clinical Periodontology</i> 2000; 27 (6).	
Modelo II: Periodontitis del adulto.	
<u>Artículo original 4.</u> Sanz, M., van Winkelhoff, AJ., Herrera, D., Dellelijn-Kippuw, N., Simón, R., Winkel, EG. "Prevalence of putative periodontal bacteria in the subgingival microflora of adult periodontitis patients. A comparison between Spain and The Netherlands". <i>European Journal of Oral Sciences</i> (enviado para publicación).	
<u>Artículo original 5.</u> van Winkelhoff, AJ., Herrera, D., Winkel, EG., Dellelijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, CMJE., Sanz, M. "Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain." <i>Journal of Clinical Periodontology</i> 2000; 27 (1).	
<u>Artículo original 6.</u> Herrera, D., van Winkelhoff, AJ., Dellelijn-Kippuw, N., Winkel, EG., Sanz, M. "β-lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands." <i>Journal of Clinical Periodontology</i> 2000; 27 (8)	
DISCUSIÓN.	38
Modelo I. Infección periodontal aguda: el absceso periodontal.	38
El absceso periodontal: definición y categorización.	38
Clasificación del absceso periodontal basada en la etiología.	38
Diagnóstico y tratamiento del absceso periodontal.	39
Descripción clínica y microbiológica del absceso periodontal "en periodontitis".	40
Susceptibilidades a antimicrobianos de patógenos aislados en abscesos periodontales "en periodontitis".	41
Tratamiento del absceso periodontal "en periodontitis".	43
Modelo II. Infección periodontal crónica: Periodontitis crónica del adulto.	47
Prevalencia y proporciones de la flora total de los patógenos periodontales.	47
Porcentaje de microflora total resistente en susceptibilidades de placa entera.	48
Frecuencia de detección de patógenos resistentes en procedimientos de placa entera.	50

Frecuencia de detección de bacterias productoras de β -lactamasas.	50
Resistencias bacterianas en la flora subgingival en España frente a penicilinas, tetraciclina y clindamicina.	52
Implicaciones.	53
<u>VI. CONCLUSIONES</u>	55
<u>TABLAS</u>	57
<u>REFERENCIAS</u>	74
<u>ANEXO: ARTÍCULOS ORIGINALES</u>	91

I. INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades infecciosas han sido tratadas con antimicrobianos desde la introducción de las sulfonamidas hace 80 años. Cuando empezó el uso de los agentes antimicrobianos, aparecieron las resistencias bacterianas, y luego se diseminaron por todo el mundo ¹. Esto está probablemente relacionado, entre otras cosas, con una sobre-exposición de los microorganismos ante estas drogas ². Las resistencias bacterianas son un problema serio desde el punto de vista médico, económico, y de salud pública, debido a que las infecciones son todavía una de las mayores causas de mortalidad y morbilidad, ³.

En odontología, las cuatro razones principales para prescribir antibióticos son ⁴: infecciones orofaciales, indicaciones médicas como la profilaxis de endocarditis, después de procedimientos de cirugía oral para prevenir secuelas traumáticas o infecciosas, y en el tratamiento de ciertos tipos de periodontitis.

Las periodontitis, debido a su naturaleza infecciosa ⁵, pueden precisar de antibióticos sistémicos como parte del tratamiento, aunque los tratamientos antibacterianos de tipo mecánico han demostrado ser efectivos en detener esta enfermedad en estudios longitudinales ^{6,7}. Solo algunos tipos específicos de periodontitis e infecciones periodontales pueden necesitar el uso coadyuvante de antibióticos sistémicos. Estos tipos incluyen las periodontitis recurrentes y refractarias ^{8,9}, la periodontitis del adulto asociada con patógenos bacterianos específicos ¹⁰, y los abscesos periodontales ^{11,12}.

Cuando se emplean antibióticos en el tratamiento de las periodontitis, se debe disponer de información en relación con: a) qué tipos de especies bacterianas patógenas están presentes en la zona subgingival para distinguir claramente el objetivo del tratamiento; y b) cuáles son los perfiles de susceptibilidades a antibióticos de estas bacterias. La mayoría de los datos sobre estos campos han sido obtenidos en los EE.UU. y en los países del norte de Europa, lo que lleva a cuestionarnos si esos datos son aplicables a otros países como España.

España es un país con alto nivel de resistencias bacterianas ¹³⁻¹⁷, principalmente entre los denominados patógenos adquiridos en la comunidad ¹⁸. Este hecho se ha asociado al alto nivel de consumo de antibióticos en nuestro país desde los años sesenta ¹⁸⁻²², y a la alta tasa de no cumplimiento cuando se toman estas drogas ¹⁸.

Basándonos en estos hechos, nuestra hipótesis es que la composición de la microflora subgingival responsable de las infecciones periodontales (entre ellas, los abscesos periodontales y la periodontitis del adulto) es diferente en España, y que sus perfiles de susceptibilidades antimicrobianas son también diferentes. Previsiblemente, los niveles de resistencias bacterianas ante antimicrobianos serán más elevados en España.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

1. Resistencias bacterianas ante antimicrobianos.

1.1. Situación global de las resistencias bacterianas.

Las enfermedades infecciosas siguen siendo una de las mayores amenazas para el género humano en todo el mundo. Este hecho se agrava además por el aumento en el número de bacterias que no responden al tratamiento debido al desarrollo de resistencias ante diferentes agentes antimicrobianos ²³.

Las resistencias ante antibióticos son un serio problema médico, económico y de salud pública ³. Hace sesenta años, no había apenas genes de resistencia, y las cepas resistentes no aparecieron hasta que los agentes antimicrobianos fueron usados durante años o décadas ¹. Hoy en día, la aparición de bacterias resistentes a las drogas antibacterianas más comunes está llegando a ser un hecho frecuente. Se han descrito recientemente diferentes cepas multi-resistentes, incluyendo microorganismos virtualmente resistentes a todos los antimicrobianos ^{2,3}. Las resistencias bacterianas han aparecido en respuesta a una sobre-exposición debida al uso mal seleccionado, excesivo e inapropiado de los antibióticos ². La velocidad a la que se desarrollan las resistencias en las poblaciones microbianas está a menudo directamente relacionada con el grado de empleo de determinados agentes en un medio definido ²⁴.

El incremento en el consumo de antibióticos es el resultado de la combinación de una serie de factores ^{2,3,25}: un uso para profilaxis muy extendido; un aumento en la población de individuos muy mayores o muy jóvenes, que son particularmente susceptibles a infecciones; el incremento en la cantidad de individuos inmunocomprometidos (por SIDA, cáncer, transplantes...); prácticas en agricultura y en ganadería, en las cuales los antimicrobianos se emplean como promotores del crecimiento; las compañías farmacéuticas, que apoyan el consumo masivo de antibióticos para compensar las inversiones en investigación y desarrollo; la tendencia de los médicos a recetar la droga más novedosa; y el uso de medicamentos genéricos, que conduce a un menor coste del producto.

Sin embargo, a pesar de todos estos factores, el incremento en el consumo de antibióticos está decreciendo lentamente. A finales de los setenta y a principios de los ochenta, el mercado de antibióticos crecía alrededor de un 25% cada año, mientras que en los noventa este crecimiento se sitúa en solo 6% por año ²⁵.

Además, la importancia de los antibióticos en el mercado farmacéutico está disminuyendo, y la investigación sobre nuevos antimicrobianos se ha reducido en un 50% ²⁵. Desde 1960, todo

los antibióticos nuevos son modificaciones químicas de estructuras básicas existentes, y no hay ningún antibiótico nuevo de importancia en la fase III de desarrollo que pudiera salir al mercado en los próximos años ^{3,25}.

En esta situación, y mientras llegamos a la denominada “era post-antibiótica”, se han sugerido una serie de esfuerzos para cambiar la tendencia de incremento en las resistencias bacterianas ². Uno de los puntos fundamentales es el desarrollo de estrategias racionales para el uso de los agentes antimicrobianos, para lo que se han propuesto diferentes recomendaciones ²⁶, dirigidas no solo a mejorar el uso racional de los antibióticos, sino también a reducir su consumo. Esta reducción disminuiría tanto la aparición de genes de resistencia, como su diseminación una vez que han aparecido ¹. Otros medios de retardar la diseminación incluyen las barreras físicas sobre las comunidades bacterianas mediante técnicas estériles, precauciones barrera, limpieza general, prácticas de control de infecciones, higiene general, suministro de aguas limpias, preparación de comida de manera adecuada, etc. ^{1,2}.

La importancia de los laboratorios de microbiología tiene que ser subrayada. Deben realizar diferentes funciones, como la monitorización y vigilancia de los organismos resistentes, la aportación de datos sobre susceptibilidades antibióticas a los clínicos para dirigir los tratamientos, y la detección temprana de resistencias significativas, con objeto de limitar el uso inapropiado de antibióticos o de drogas nuevas seleccionadas empíricamente ²⁷.

1.2. Mecanismos de resistencias bacterianas.

La resistencia bacteriana ante antibióticos puede adquirirse mediante varios mecanismos ^{2,3,28}:

- Intrínseca. Esta resistencia existe de manera natural y es inherente a diferentes especies bacterianas.
- Recombinación entre especies. Es también específica de cada especie bacteriana, y la resistencia se intercambia entre especies transformables de manera natural (genes mosaico).
- Mutación. Aunque es raro, incluso cambios en un nucleótido puede conducir a resistencia ante ciertos antibióticos. Los cambios en las proteínas que se unen a penicilinas, o en las proteínas que se asocian a la permeabilidad de la membrana, están causados por mutaciones espontáneas. Las mutaciones cromosómicas aleatorias causan un incremento moderado en el nivel de resistencia.
- Adquisición horizontal. Este es el proceso más común en la diseminación de resistencias bacterianas. Implica la adquisición de elementos genéticos que codifican la resistencia. Se han descrito diferentes mecanismos.

Transformación. Adquisición de segmentos de ADN libre, desde el medio circundante.

Transducción. El ADN se transfiere de una bacteria a otra mediante la inserción de un fago bacteriano.

Conjugación. Contacto de célula a célula, que involucra la transferencia de ADN plasmídico, desde una bacteria donante a una bacteria receptora.

Los genes de resistencia pueden estar situados en el cromosoma, y en plásmidos, transposones, o integrones^{1,2}, lo que permite una amplia diseminación de los genes de resistencia dentro de un ecosistema, y entre bacterias no relacionadas de diferentes ecosistemas².

Los plásmidos son pequeños elementos extra-cromosómicos de ADN. Los plásmidos conjugantes tienen la habilidad de transferir información genética directamente desde un microorganismo a otro.

Algunos plásmidos contienen regiones con gran movilidad, denominadas transposones, que tienen la capacidad para desplazarse desde un plásmido al ADN cromosómico. Los transposones y los transposones conjugantes pueden insertarse también en el cromosoma del huésped.

Los integrones son elementos genéticos móviles y discretos, diferentes de los transposones en su estructura y en el tipo de proteínas que llevan.

Un gen de resistencia puede ser constitutivo o inducible. En relación con la producción de un enzima, como las β -lactamasas, una producción constitutiva genera una cantidad basal relativamente constante del enzima, que no se ve afectada por estímulos externos. Una producción inducible puede resultar en un gran incremento en la producción del enzima, después de la exposición ante ciertos agentes antimicrobianos²⁸.

1.3. Mecanismos de resistencia ante antibióticos usados comúnmente.

1.3.1. Resistencia bacteriana ante antibióticos β -lactámicos.

Se han descrito tres mecanismos principales^{28,29}:

- Alteración del lugar de acción, mediante cambios en el número o en el tipo de las proteínas de unión a penicilinas.
- Evitar el acceso al lugar de acción mediante el bloqueo de los poros externos o porinas. En las bacterias gram-negativas, esta puerta es necesaria para el acceso de la droga al interior de la bacteria.
- Inactivación del agente antimicrobiano mediante la producción de β -lactamasas^{28,30,31}.

Las β -lactamasas inactivan antibióticos β -lactámicos por medio del uso de iones de zinc, o de manera más frecuente mediante el mecanismo serina-éster. La producción de estas enzimas representa la mayor causa de resistencia tanto en bacterias gram-negativas como gram-positivas. Se han identificado alrededor de 200 β -lactamasas^{32,33}. La producción de β -lactamasas puede ser constitutiva o inducible, y cromosómica o mediada por plásmidos²⁸.

En bacterias anaerobias (*Bacteroides* sp., *Fusobacterium nucleatum*), las enzimas son cromosómicas y constitutivas^{28,29,34}. Por ejemplo, se han caracterizado enzimas de *Prevotella intermedia* que eran constitutivas e intracelulares³⁵.

Estas enzimas constitutivas cromosómicas no son fácilmente transferibles entre cepas, a pesar de que se han publicado casos de transferencia conjugativa de resistencia³⁴. La resistencia ante antibióticos en *Prevotella melaninogenica* puede estar codificada por ADN cromosómico, sin estar involucrados plásmidos³⁶. Se ha investigado la transmisión horizontal de resistencias mediante la producción de β -lactamasas, o mediante protección ribosomal frente a tetraciclina (*tetQ*) en una cepa donante de *P. intermedia*. Se observó una alta frecuencia de transferencia de este fenotipo de resistencia, y la resistencia frente a penicilinas y tetraciclinas se transfería de manera conjunta³⁷.

Para prevenir el efecto de las enzimas β -lactamasas, se han empleado diferentes estrategias³⁰, incluyendo la adición de cadenas laterales alternativas a la molécula de antibiótico, la modificación del núcleo β -lactámico, y la adición de otros compuestos β -lactámicos que se unan a las β -lactamasas.

1.3.2. Resistencia a tetraciclinas.

Se han descrito tres mecanismos principales^{2,3,34,38,39}.

- Flujo de tetraciclina, las bacterias resistentes expulsan tetraciclina fuera de la célula (*tetA-tetE* y *tetK-tetL*).
- Protección ribosomal. Mediante proteínas que protegen a los ribosomas de la acción de la tetraciclina (*tetM*, *tetN*, *tetO*, *tetQ*, *tetS*)
- Alteración enzimática de la tetraciclina (*tetX*).

En *Bacteroides* sp., el mecanismo más importante es la protección ribosomal mediada por el gen *tetQ*³⁴. *TetM* también actúa mediante protección ribosomal y se puede detectar en bacterias subgingivales en el 69% de los pacientes con periodontitis del adulto, representando alrededor del 10% de la microflora resistente a tetraciclina, y del 1.2% de la flora total. A pesar de que el *tetM* está muy extendido entre la microflora en periodontitis del adulto, afecta

sobre todo a microorganismos no patógenos, con las excepciones de *Peptostreptococcus* sp. y *Streptococcus intermedius*⁴⁰. También se ha detectado en muchas cepas de *F. nucleatum* en un transposón conjugativo. Se ha encontrado el *tetK* en *Eubacterium* sp., y se ha indicado la presencia de un gen parecido al *tetQ*, localizado en el cromosoma bacteriano y transmisible mediante conjugación, en *P. intermedia* y *T. denticola*. La resistencia a tetraciclina se ha descrito también en *Porphyromonas* sp., *Eubacterium* sp., *Capnocytophaga* sp., y *Selenomonas* sp., pero no se estudiaron los mecanismos involucrados³⁹.

Se han descrito 18 determinantes de la resistencia a tetraciclina, de los cuales 13 estaban asociados con plásmidos. Por lo tanto, la mutación de los genes cromosómicos existentes parece ser relativamente poco importante en la resistencia a tetraciclina². También los genes localizados en elementos cromosómicos se pueden transmitir mediante conjugación³⁹. Además, se ha observado un sistema de transferencia inducible, denominado elemento de transferencia de resistencia a tetraciclina, cuyo mecanismo es conjugación y que está localizado en el cromosoma. Este sistema es también capaz de movilizar plásmidos crípticos y otros determinantes de resistencia³⁴. El hallazgo de los mismos mecanismos de resistencia a tetraciclina en especies bacterianas diferentes, localizadas en elementos conjugativos, sugiere que ha tenido lugar una extensa transmisión horizontal de elementos genéticos^{3,38,39}.

1.3.3. Resistencia a metronidazol.

Está relacionada con 4 genes (*nimA*, *nimB*, *nimC*, *nimD*), que codifican una 5-nitroimidazol reductasa. Estos genes están localizados en el cromosoma o en un grupo de plásmidos, y se pueden transferir mediante conjugación o mediante transformación^{2,41}.

En *Bacteroides* sp., la resistencia se ha asociado con una combinación de factores, incluyendo una captación reducida de la droga, una actividad disminuida de la nitro-reductasa, una menor actividad de la piruvato-ferrodoxina oxido-reductasa, y un aumento de la actividad de la lactato dehidrogenasa. Se requiere la combinación de todos estos mecanismos para un nivel elevado de resistencia, explicándose así la poca frecuencia de la resistencia ante metronidazol

34

Se ha descrito la transmisión de niveles moderados de resistencia a metronidazol en *Bacteroides* sp., asociada con un plásmido no auto-transmisible, movilizado mediante un plásmido conjugativo, o introducido mediante conjugación³⁴. La resistencia de algunas cepas de *Bacteroides* puede transferirse también mediante plásmidos, o estar determinada cromosómicamente, y parece no ser tan infrecuente como se pensaba. Por ello, se ha

recomendado la realización de tests de susceptibilidad para metronidazol en cepas de importancia clínica ⁴².

1.3.4. Resistencia a clindamicina.

Se han identificado tres mecanismos ³⁴, incluyendo la inactivación de la droga, el flujo hacia fuera del antibiótico, y la modificación del lugar de acción, el ribosoma.

El mecanismo más importante es la modificación del ribosoma, mediante la metilación de la fracción 23S de ARNr, y que es conocido como mecanismo MLS (macrolido-lincomicina-estreptogramina B), debido a que confiere también resistencia a los antibióticos MLS.

La resistencia a clindamicina puede transmitirse mediante plásmidos auto-transmisibles, transposones, y transposones conjugativos, indicando una gran movilidad y capacidad para diseminarse con rapidez ³⁴, aunque no ha sido estudiado adecuadamente en bacterias periodontales.

1.3.5. Resistencia a macrólidos.

Se han observado diferentes mecanismos ²:

- La presencia de metilasas de ARNr, que modifican un residuo de adenina, evitando que los antibióticos MLS se unan a la subunidad ribosómica 50S.
- Enzimas de inactivación, que son relativamente raras.
- Mecanismo de flujo, común en *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.
- Mutaciones en las secuencias de ARNr 23S.

El mecanismo de metilación es el más importante en la resistencia a macrólidos, y se han descrito alrededor de 30 genes diferentes. Se pueden encontrar en las bacterias orales, incluidos los patógenos periodontales. Está codificada mediante plásmidos y transposones. Puede ser inducible (macrólidos de 14 ó 15 átomos), o constitutivo (macrólidos de 16 átomos, y lincosaminas) ⁴³.

1.4. Distribución geográfica de las resistencias bacterianas.

Las bacterias resistentes no están distribuidas de manera equilibrada en el mundo. Diferentes estudios han comparado las susceptibilidades a antimicrobianos en aislamientos bacterianos de diferentes países ^{13-16.19.44-49}. Durante los últimos años han aparecido varios grupos diferentes de microorganismos que son causas significativas de morbilidad y mortalidad, y refractarios al tratamiento, principalmente debido al desarrollo de resistencias ante múltiples

agentes antimicrobianos ¹⁴. Este hecho es de particular relevancia en las bacterias anaerobias ⁵⁰, que han demostrado un incremento en sus resistencias y la aparición de cepas multi-resistentes ³⁴.

Por ejemplo, se ha detectado un rápido incremento en la resistencia del grupo del *Bacteroides fragilis* ante clindamicina ⁵⁰. En la actualidad está bien documentado un incremento en la frecuencia de resistencia ante antibióticos β -lactámicos entre las bacterias anaerobias en Europa ¹⁷ y en EE.UU. ³³, y se ha observado la misma tendencia con respecto a clindamicina y a tetraciclina en Europa ¹⁷. Incluso, aislamientos clínicos de *Bacteroides* sp. han demostrado resistencia ante metronidazol ⁴².

Se están aislando cada vez con más frecuencia neumococos resistentes a antibióticos, especialmente cepas resistentes a penicilina, en muchas partes del mundo ⁵¹. También se ha observado un incremento en las resistencias en *Haemophilus* sp. y en otros patógenos adquiridos en la comunidad, en diferentes zonas del mundo ^{13,14,48}.

Estudios prospectivos en varios países europeos han demostrado unánimemente que los países escandinavos, el Reino Unido y Holanda tienen las incidencias más bajas de resistencias bacterianas, y que los países del sur de Europa tienen las mayores ⁵². Esta afirmación es también válida para las bacterias anaerobias, en las cuales se han identificado mayores resistencias en los países del sur de Europa (Grecia, Italia, Portugal y España) ¹⁷.

España es uno de los países donde se han identificado tasas más elevadas de resistencia frente a antibióticos. Este hecho se refiere principalmente a aislamientos de bacterias adquiridas en la comunidad, mientras que los aislamientos de bacterias nosocomiales obtienen resultados dentro de los rangos calculados en otros países de Europa ¹⁸.

Los porcentajes más altos de Europa en cuanto a resistencias de *S. pneumoniae* ante penicilinas, macrólidos y tetraciclinas, se han detectado en España ^{48,49}. Se han identificado cepas de *S. pneumoniae* multi-resistentes en España y en Sudáfrica ⁵¹. De acuerdo con los estudios revisados, la resistencia de *S. pneumoniae* en España frente a 0.1 μ g/ml de penicilina está entre las más altas de Europa ^{16,19} y del mundo ⁵¹.

Los hospitales españoles han obtenido los porcentajes más altos de producción de β -lactamasas por *Haemophilus* sp. en Europa ^{13,14} incluyendo *Haemophilus influenzae* ¹⁵. La resistencia de *Haemophilus* sp. frente a cefaclor, cloranfenicol y co-trimoxazol es considerada como "inesperadamente elevada" en cepas españolas ^{13,14}. Lo mismo ocurre con la resistencia de *H. influenzae* ante ampicilina, cefaclor, y eritromicina ¹⁵. También se ha encontrado una

alta frecuencia de *H. influenzae* resistente a ampicilina en cepas españolas, en comparación con la de otros siete países europeos ¹⁶.

Un estudio sobre la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en Europa, indicó que España, Italia y Francia tenían las prevalencias más altas ⁵³.

La resistencia en anaerobios también está en aumento. García-Rodríguez et al. ⁵⁴ señalaron un incremento de las resistencias del grupo del *B. fragilis*, entre 1975 y 1987. Las resistencias ante clindamicina en anaerobios están más elevadas en España, en relación con las de otros países europeos ¹⁷.

La alta prevalencia de cepas resistentes a antibióticos en España se ha relacionado con el elevado consumo de antibióticos en este país (Tabla I). El pico en el consumo de antibióticos ocurrió entre 1966 y 1976, con 31 dosis diarias definidas (DDD) por 1000 habitantes en 1976. A partir de entonces se ha experimentado un descenso continuado, con 23 DDD en 1992. A pesar de ello, en ese año solo Francia tenía un consumo más elevado ^{18,19}.

En 1992, penicilinas y cefalosporinas representaban el 70% de las dosis diarias definidas, siendo los macrólidos el segundo grupo terapéutico de antimicrobianos más importante (Tabla II) ^{18,19}.

En 1997, se incluyeron 3 antibióticos, como monofármacos, entre los 35 medicamentos más vendidos: amoxicilina (el más vendido, con 10.7 millones de envases), ciprofloxacino, y claritromicina ²². En la Tabla III se muestra el consumo anual de diferentes grupos terapéuticos y monofármacos, en millones de envases.

El mal uso de los antibióticos puede estar también asociado al incremento en las resistencias. España tiene las más alta tasas de no cumplimiento en el uso de antibióticos (42%), seguido por Italia (34%), Francia (16%) y Alemania (9%).

Los altos niveles de resistencias en España y Francia se han achacado al consumo masivo de antimicrobianos orales, a una mala selección de las drogas, y a un bajo cumplimiento en el tratamiento por parte del paciente ¹⁸.

Los agentes antimicrobianos no se usan únicamente en seres humanos. El consumo de antibióticos en la alimentación de animales como estimuladores del crecimiento se estima que puede representar dos tercios del consumo humano, mientras que el uso terapéutico para tratar infecciones en mascotas, o la adición en los alimentos o en el agua no se ha calculado ¹⁸. Su influencia en las resistencias a antibióticos no se ha definido claramente ⁵².

En conjunto, estos datos demuestran que la política en el uso de los agentes antimicrobianos en España ha incrementado el nivel de las resistencias bacterianas, siendo alto en relación con los países vecinos, y estando principalmente relacionado con las bacterias adquiridas en la comunidad y con los antibióticos β -lactámicos.

2. Modelos de enfermedades infecciosas. Infecciones periodontales.

2.1. Infecciones orales que requieren tratamiento antibiótico.

Hay cuatro situaciones principales en las que los dentistas pueden necesitar prescribir antibióticos sistémicos ⁴.

- Infecciones orofaciales. Las infecciones más frecuentes son las de origen odontogénico, que pueden tener diferentes causas, incluidas la necrosis pulpar, las infecciones periodontales, la pericoronaritis, así como los traumas y la cirugía ⁵⁵.
- Para la prevención de infecciones relacionadas con bacteremias, como la endocarditis.
- Después de procedimientos de cirugía oral, y también con un objetivo profiláctico, para prevenir infecciones post-quirúrgicas y secuelas traumáticas.
- Y para el tratamiento de ciertos tipos de periodontitis, principalmente formas de progresión rápida, de comienzo temprano y refractarias.

Únicamente dos de estas indicaciones tienen un objetivo terapéutico claro. Con el propósito de definir susceptibilidades antimicrobianas, las infecciones periodontales como el modelo patológico, y la microflora subgingival como agente bacteriano etiológico, parecen ser el modelo de estudio más adecuado.

2.2. Infecciones periodontales.

Enfermedad periodontal es un amplio concepto que define diferentes condiciones clínicas asociadas con cambios inflamatorios en los tejidos periodontales, relacionados con la acumulación de placa bacteriana. Sin embargo, solo se ha establecido una clara etiología bacteriana específica para las periodontitis, caracterizadas por la destrucción del aparato de inserción ⁵. La destrucción del aparato de inserción periodontal requiere de la presencia de bacterias patógenas, pero también de un huésped susceptible, de un ambiente favorable, y de la ausencia o baja cantidad de especies bacterianas protectoras ⁵⁶.

El tratamiento de las periodontitis normalmente requiere la modificación de la microflora subgingival, mediante terapias no específicas que buscan la remoción mecánica de la placa bacteriana subgingival, como el raspado y alisado radicular, o la cirugía periodontal. A esto le sigue el mantenimiento de unas encías clínicamente sanas, con medidas de higiene oral

adecuadas, y profilaxis profesional periódica. Estudios longitudinales a largo plazo han demostrado la efectividad de estos tratamientos en detener la destrucción periodontal^{6,7,57-63}.

Sin embargo, hay pacientes en los que el tratamiento mecánico no es suficiente para detener la progresión de la enfermedad^{8,64}, y se pueden beneficiar del uso de antibióticos sistémicos como terapia coadyuvante^{8,9}. Así, ciertos tipos de periodontitis pueden precisar del uso coadyuvante de antibióticos sistémicos, incluyendo las periodontitis refractarias o recurrentes⁸⁻¹⁰, y la periodontitis del adulto asociada con patógenos bacterianos específicos⁶⁵⁻⁶⁸. En estas situaciones, para un uso adecuado de los antibióticos sistémicos se requeriría la caracterización previa de la microflora subgingival asociada y de sus perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos¹⁰.

Junto con estas infecciones periodontales específicas, el absceso periodontal es una condición aguda, en la que los antibióticos sistémicos pueden ser necesarios como parte del tratamiento de urgencia^{11,12}.

2.2.1. Absceso periodontal

Los abscesos odontogénicos agudos son condiciones clínicas que requieren tratamiento urgente.

Dependiendo de su origen, los abscesos odontogénicos pueden ser definidos como abscesos endodónticos o periapicales, abscesos periodontales, o abscesos pericoronarios⁶⁹. Los términos absceso dental, periapical o dentoalveolar deben usarse para referirse a abscesos de origen endodóntico, evitando confusiones con la nomenclatura⁷⁰.

Entre los abscesos odontogénicos, los abscesos dentoalveolares son la patología aguda más frecuente, seguidos por las pericoronaritis, y los abscesos periodontales⁷¹.

El absceso dentoalveolar agudo, se asocia con hinchazón y dolor^{72,73}, dolorimiento especialmente con percusión⁷⁴, y, a veces, malestar general, linfadenopatía, y fiebre^{72,73}. La microflora asociada con el absceso dentoalveolar es relativamente sencilla, con hasta 10 especies bacterianas diferentes, incluyendo anaerobios estrictos como *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *Peptostreptococcus micros*⁷⁵. También se han estudiado las susceptibilidades a antibióticos de la microflora del absceso dentoalveolar, tanto con respecto a la muestra de pus en conjunto^{73,76}, como para cepas bacterianas aisladas⁷⁷⁻⁸¹.

Por el contrario, hay una carencia llamativa de información con respecto a la etiología bacteriana y a las susceptibilidades a antimicrobianos del absceso periodontal.

El absceso periodontal ha sido definido como una inflamación localizada purulenta en los tejidos periodontales ⁸², con una clara destrucción periodontal, que ocurre en un periodo limitado de tiempo y con síntomas clínicos fácilmente detectables ⁸³. Esta definición incluye abscesos con diferentes causas: exacerbación de una periodontitis preexistente ^{84,85}; terapia periodontal inapropiada, principalmente profilaxis o raspado, que pueden dejar fragmentos de cálculo en las partes más profundas de la bolsa periodontal ^{84,86}; reaparición de la enfermedad ^{87,88}; aparición de sobre-infecciones tras el uso de ciertos antibióticos sistémicos ⁸⁹⁻⁹¹. O situaciones como la impactación de cuerpos extraños ⁹²⁻¹⁰¹, o factores locales que afectan la integridad o morfología de la raíz ^{86,95,102-106}. Debido a esta heterogeneidad, se necesita una clasificación etiológica de los abscesos periodontales para realizar un tratamiento basado en la etiología.

Respecto a la microflora de estos abscesos, se ha valorado en pocos estudios ^{69,83,91,107-110}, que han mostrado una microflora compleja, pero similar a la de la periodontitis del adulto, con una alta prevalencia de especies negro-pigmentadas.

Prácticamente ningún trabajo se ha ocupado de las susceptibilidades a antimicrobianos de las bacterias aisladas en abscesos periodontales, excepto en dos estudios que presentaron resultados de manera accesoria, en abscesos tras la toma de antibióticos sistémicos ^{89,90}, y en abscesos en casos de periodontitis refractaria, como ayuda para seleccionar el tratamiento ⁸⁵.

También hay carencia de información relativa a la eficacia de los tratamientos propuestos para manejar esta patología. La mayoría de los datos proceden de informes de casos y de opiniones clínicas ^{84,85,93-95,99,100,102-104}, y solo dos estudios han seguido longitudinalmente abscesos periodontales después del tratamiento ^{83,111}.

2.2.2. Periodontitis refractaria.

La periodontitis refractaria se define por la presencia de múltiples localizaciones que continúan perdiendo inserción y hueso alveolar, a pesar de haber recibido el tratamiento adecuado, seguido por medidas de higiene oral de manera regular, y mantenimiento periodontal ^{8,64}.

Los estudios en pacientes con periodontitis refractaria deben ser analizados con cuidado, debido a que los criterios diagnósticos son el factor clave, y es difícil distinguir entre verdaderos casos refractarios, enfermedad recurrente, y tratamiento inapropiado ⁶⁴. La enfermedad recurrente muestra una respuesta inicial al tratamiento adecuada, seguida por la reaparición de la enfermedad. Una estrategia de selección de pacientes consiste en detectar localizaciones activas en pacientes refractarios al tratamiento. Los pacientes son monitorizados durante un periodo de tiempo, hasta que se detecta enfermedad activa (definida

como pérdida significativa de inserción o aparición de un absceso periodontal), momento en el que el paciente entra en el estudio ¹¹²⁻¹¹⁷. Otros estudios seleccionan simplemente pacientes que no han respondido adecuadamente al tratamiento convencional, o incluso a tratamientos antibióticos coadyuvantes ¹¹⁸⁻¹²¹.

Se ha sugerido que la enfermedad refractaria puede estar relacionada con un tratamiento inadecuado, con la presencia y/o persistencia de patógenos virulentos o combinaciones de patógenos, con la escasez de especies beneficiosas, o con una respuesta inadecuada del huésped ¹¹⁶. Fundamentalmente se han empleado tres estrategias para estudiar la microflora de estos pacientes: a) describir las microflora subgingival antes del tratamiento y antes del diagnóstico de periodontitis refractaria ¹¹⁶, b) analizar la microflora cuando se detecta actividad de enfermedad ^{113-115,117,122}, c) y estudiar la microflora después de que el tratamiento haya fracasado ¹¹⁸⁻¹²¹. A partir de estos estudios no se ha detectado un perfil bacteriano homogéneo en las localizaciones refractarias ^{64,116}. Sin embargo, en algunos estudios se han relacionado los pacientes o localizaciones refractarios con la presencia en la flora subgingival de ciertos patógenos como *Porphyromonas gingivalis* ¹¹⁷, *A. actinomycetemcomitans* y *P. intermedia* ¹²³, o *Bacteroides forsythus* ¹²⁴.

La Asociación Americana de Periodoncia recomienda el estudio microbiológico de la microflora subgingival, y el estudio de susceptibilidades antimicrobianas, en pacientes con periodontitis refractaria ¹²⁵. Además, la evidencia más fuerte que apoya el uso de antibióticos en periodoncia aparece para casos de periodontitis refractaria o recurrente ¹²⁶. En estas situaciones, se ha observado un efecto beneficioso adicional después del uso coadyuvante de antibióticos, en comparación con el efecto del raspado. Sin embargo, ninguno de los antibióticos ha demostrado eficacia en el tratamiento de todos los pacientes ⁸. Se han evaluado diferentes regímenes antibióticos: tetraciclinas ¹²⁷, clindamicina ^{8,114,115,128}, amoxicilina/clavulanato ^{8,113}, metronidazol ¹²⁴, metronidazol con amoxicilina ^{129,130} y ornidazol ¹³¹. Y se han observado efectos favorables a corto plazo, pero también una gran variabilidad en la respuesta al tratamiento entre los pacientes. En estos estudios, se consideró que la reaparición de los patógenos en algunos pacientes era la razón más importante para la recurrencia de la enfermedad ¹³².

2.2.3. Periodontitis del adulto.

Se han descrito entre 300-400 especies bacterianas diferentes en la microflora subgingival ¹³³, aunque solo un número limitado de ellas se ha asociado con la progresión de la periodontitis.

Hay una fuerte evidencia etiológica para *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *B. forsythus*; evidencia moderada para *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *F. nucleatum*, *P. intermedia/nigrescens*, *P. micros*, *S. intermedius*, y *Treponema denticola* y espiroquetas en relación con la gingivitis úlcero-necrotizante; mientras que solo hay evidencias iniciales para *Eikenella corrodens*, bacilos entéricos, *Pseudomonas*, *Selenomonas*, *Staphylococcus* y hongos¹³⁴. La detección de alguno de estos patógenos periodontales puede estar claramente relacionada con la respuesta al tratamiento, ya que puede incrementar el riesgo de enfermedad refractaria o recurrente⁶⁵⁻⁶⁷.

Factores que afectan a la prevalencia de los patógenos periodontales.

Estos factores pueden agruparse en dos categorías, los que corresponden a una verdadera diferencia biológica, relacionados con factores que pueden tener influencia sobre la composición de la placa subgingival, y los que son debidos a diferencias en la metodología de estudio.

Diferencia biológica verdadera.

Las diferencias geográficas^{135,136} pueden relacionarse con diferentes factores que influyen sobre la población de un país concreto: la atención médica y dental, y el nivel de educación sanitaria; el tipo de dieta¹³⁷; el uso de aguas para beber o de alimentos contaminados^{138,139}; una higiene personal inadecuada^{138,139}; el uso de antimicrobianos en la población. Por ejemplo, la escasa presencia de microorganismos sobre-infectantes en Suecia, en comparación con EE.UU., puede explicarse por el bajo consumo de antibióticos en Suecia¹⁴⁰. Por el contrario, se ha sugerido que el uso sin regulación de antimicrobianos en Sudán influía en la alta prevalencia de bacilos entéricos¹³⁹.

Además, el nicho subgingival está considerado con inestable, pudiendo influir en la variabilidad en los resultados^{136,141}.

Diferencias metodológicas.

Estas diferencias pueden estar relacionadas con la selección de la población de estudio, con la muestra microbiológica y su toma, y con los procedimientos de cultivo bacteriano¹³⁵.

- Selección de la población de estudio.

Puede haber varias fuentes de variación¹⁴², como el consumo de antibióticos previo a la toma de muestras; sexo; raza^{137,143}; edad^{123,140,142,144,145}; hábito de fumar¹⁴⁶⁻¹⁴⁸; situación periodontal inicial y tratamientos periodontales previos; y el diagnóstico clínico, que afecta a

la homogeneidad de la muestra de estudio, y debe de seguir criterios clínicos bien definidos. Por ejemplo, la presencia de defectos angulares, y de destrucción localizada en pacientes menores de 30 años se ha asociado con una alta prevalencia de *A. actinomycetemcomitans*¹⁴⁹. Otros hallazgos clínicos, como la profundidad de la bolsa y el sangrado al sondaje, se han correlacionado con mayor probabilidad de detección¹⁵⁰, y con cantidades más elevadas¹⁵¹ de ciertos patógenos.

- La muestra microbiológica y su toma.

El número de muestras por paciente^{150.152} y la estrategia de selección de localizaciones^{141.153} pueden influir sobre los resultados microbiológicos. Es necesario estudiar varias localizaciones subgingivales para minimizar las tasas de falsos negativos¹⁵³. La selección de las cuatro bolsas más profundas puede ser una de las estrategias más adecuadas¹⁵³.

También hay que tener en cuenta el número de localizaciones evaluadas en cada muestra, en el caso de muestras agrupadas; la técnica de toma de muestras, curetas frente a puntas de papel¹³⁶ y el tiempo que se mantienen las puntas de papel en el surco; el medio y el tiempo de transporte (desde la toma de la muestra hasta que se siembra). Un tiempo excesivo puede reducir la frecuencia de detección de anaerobios estrictos (*P. gingivalis*, *P. intermedia*, y *F. nucleatum*), y aumentar el nivel de microorganismos facultativos, como *A. actinomycetemcomitans* o bacilos entéricos^{138.139.154.155}.

- Procedimientos de cultivo microbiológico^{141.156}.

Puede influir los medios de cultivo empleados; el tiempo y condiciones de incubación; y los procesos de recuento, aislamiento e identificación¹⁵². Por ejemplo, la mayor prevalencia y menores proporciones de flora de *P. micros* en Holanda¹⁵⁷, en comparación con EE.UU.¹⁵⁸, se achacó a diferencias en el nivel de detección relacionadas con un examen al microscopio más cuidadoso en Holanda¹⁵⁷.

Resultados comparados sobre la prevalencia de los patógenos periodontales.

Diferentes tablas muestran la comparación de los datos sobre metodología (Tabla IV), prevalencia (Tabla V) y proporciones sobre la flora total (Tabla VI) de los patógenos periodontales en periodontitis del adulto. Solo se seleccionaron estudios realizados con técnicas de cultivo, sobre muestras de pacientes no tratados, aunque algunos estudios incluían pacientes tratados con localizaciones enfermas. Entre los 25 estudios seleccionados, 10 fueron realizados EE.UU. (11 en América), 9 en Europa, 3 en África y 3 en Asia.

A. actinomycetemcomitans. La prevalencia de esta especie bacteriana en periodontitis del adulto osciló entre 20-40% en la mayoría de los estudios ^{139.139.140.142.144.149.152.154.155.159-162}. La proporción media sobre la flora total, en localizaciones positivas, es normalmente bajo (<2.5%) ^{139.144.154.155.161}. Los datos muestran que no parecen existir diferencias geográficas en la prevalencia de esta especie bacteriana, aunque las poblaciones asiáticas pueden tener porcentajes más bajos ^{142.163.164}.

P. gingivalis. Mostró mayor variabilidad en los hallazgos. 11 estudios recogieron prevalencias entre 27-51% ^{123.138-140.142.149.161.163-165}. El porcentaje medio de la flora total en localizaciones positivas osciló entre 15-30% ^{123.139.149.154.160.161}. Teniendo en cuenta los estudios revisados, hay una gran variabilidad en la prevalencia de este patógeno, aunque parece representar una menor proporción de la flora en poblaciones africanas ^{139.155} con respecto a pacientes europeos.

B. forsythus. Hay pocos estudios que hayan analizado este patógeno. En ellos se ha observado una prevalencia de 60-67.5% ^{166.167}. Es necesario disponer de más información para poder comparar los resultados, pero parece que la prevalencia puede ser más baja en África ¹²⁰, con respecto a Europa o EE.UU. ^{160.166.167}.

P. intermedia/nigrescens. Hay importantes diferencias entre los resultados de los estudios revisados. En conjunto, 8 estudios recogieron una prevalencia elevada de 75-100% ^{138-140.142.155.160.164.167}, mientras que 9 estudios evaluaron unos porcentajes más bajos de entre 38-63% ^{123.139.144.149.152.159.161.163.165}. Además, la misma variabilidad se observó en relación con las proporciones de la flora total. El rango más común osciló entre 2.4-7.4% ^{123.139.144.149.154.155.161}, pero se calcularon porcentajes más elevados en algunas poblaciones europeas ^{139.160.161}.

P. micros. Se han calculado prevalencias mayores de 87.5% ^{138.157.160}. El porcentaje sobre la flora total en localizaciones positivas varió entre 7.0-7.2% en Europa ^{157.160}.

F. nucleatum. Esta bacteria ha demostrado prevalencias altas, por encima de 80% en la mayoría de los estudios ^{138.139.152.160.167}, aunque se han observado prevalencias más bajas en África ^{139.159}, Asia ¹⁶³, y Rumania ¹⁵⁴. Los porcentajes de la flora evaluados pueden ser calificados como bajos (0.4-3.7%) ^{139.154}.

C. rectus. Se han calculado prevalencias elevadas (más del 70%) en varios países 142.152.160.167.168. Algunas poblaciones en América mostraron porcentajes más bajos 138.165. Las proporciones de la flora total oscilaron entre 5.3-7.5% 160.168.

E. corrodens. Un trabajo de revisión ha señalado que una prevalencia de 40-60% puede ser considerada como habitual en pacientes con periodontitis, y representando alrededor del 1-5% de la flora 169.170. Sin embargo, se han encontrado prevalencias más altas 152.169 y también más bajas 9.163 en otros estudios.

Microorganismos sobreinfectantes (Tabla VII).

Bacilos entéricos. Se han calculado prevalencias menores del 15% en EE.UU. 118.145.171 y en Noruega 139, mientras que se obtuvieron valores más elevados (>60%) en la República Dominicana 138, Sudán 139, y Rumania 154. Sin embargo, estos tres estudios comparten un aspecto metodológico (tiempo de transporte prolongado) que pudo afectar a los resultados. Con respecto a la proporción de la flora, cuanto más alta es la prevalencia, más baja parece ser la proporción de la flora, y viceversa 118.139.145.154.

Hongos. Se han calculado prevalencias entre 13.7%-19.6% en EE.UU. 145.171 y en Suecia 140. Los hongos representan normalmente proporciones muy bajas de la flora 140.145.

Estafilococos. La prevalencia osciló entre 28.3-50.4% en EE.UU. 120.145, mientras que en Suecia 140 el 54.4% de los pacientes tenían *S. epidermidis*, y el 8.2%, *S. aureus*. Este género bacteriano representa proporciones muy bajas de la flora 120.140.145.

Muy pocos estudios han comparado directamente la prevalencia de patógenos periodontales en poblaciones distintas. En uno de ellos, que comparaba pacientes sudaneses y noruegos, el tiempo de transporte de las muestras pudo ser responsable de la mayoría de las diferencias observadas 139. Cuando se comparó una población de chinos que vivían en los EE.UU. con pacientes norteamericanos de similares características 137, no se encontraron diferencias en la flora subgingival, con la excepción de una mayor prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* en el grupo americano. En este estudio, el limitado número de pacientes (10 pacientes por grupo), el criterio de selección de los pacientes (periodontitis de inicial a moderada) y de las localizaciones (superficie mesio-vestibular de los molares superiores), y los patógenos estudiados (*Bacteroides* negro-pigmentados, *Fusobacterium* sp. y *A. actinomycetemcomitans*) pueden limitar la validez de los resultados.

Por tanto, se hacen necesarios estudios con una comparación simultánea de dos poblaciones distintas, con idéntica metodología, para evaluar si existen diferencias significativas en la composición de la flora subgingival entre sujetos de países diferentes.

3. Susceptibilidades a antimicrobianos en la flora subgingival.

3.1. Antibióticos empleados en los tratamientos periodontales.

Los antibióticos se pueden clasificar con respecto a su mecanismo de acción.

- Inhibición de la síntesis de la pared celular de la bacteria: penicilinas o β -lactámicos, incluyendo penicilina, amoxicilina, y amoxicilina/clavulanato.
- Inhibición de la síntesis de proteínas: tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, y minociclina), macrólidos (eritromicina, azitromicina), y clindamicina.
- Interferencia con la síntesis de ácidos nucleicos: quinolonas (ciprofloxacino), y nitroimidazoles (metronidazol). En estos últimos el mecanismo de acción no está claro, aunque parece relacionarse con productos citotóxicos que reaccionan con el ADN y posiblemente con otras macromoléculas.

Estos tres grupos de antibióticos incluyen las drogas antimicrobianas más importantes que se usan en periodoncia ¹⁷².

Cuando se selecciona uno de estos agentes, se deben tener en cuenta dos factores críticos: su concentración en el lugar de acción, que en periodontitis se define como concentración en el fluido gingival (CFG), y la eficacia *in vitro*, representada como la concentración mínima inhibitoria (CMI). EL CFG se refiere al pico de los niveles conseguidos por el agente antimicrobiano en la bolsa periodontal tras dosis habituales. El CMI₉₀ representa la concentración de la droga necesaria para inhibir el crecimiento *in vitro* del 90% de la especie bacteriana evaluada. La relación entre ambas variables da lugar a una variable compuesta, la actividad antimicrobiana, que nos da información de la capacidad antibacteriana de una droga en un lugar diana concreto ¹⁷³.

Otra manera de presentar la eficacia de los antimicrobianos requiere la definición previa de un valor, denominado punto de corte (breakpoint). El punto de corte es la concentración de la droga que representa el umbral de actividad: un CMI por encima de ese punto indica que la droga no es efectiva, mientras que con un CMI por debajo el agente puede ser considerado como efectivo *in vitro*. La definición de los puntos de corte es un tema continuo de discusión, y sus valores se revisan con frecuencia. Los puntos de corte deben de seleccionarse en relación con perfiles

farmacocinéticos, con la distribución de los CMI en la población, y con estudios sobre eficacia clínica ¹⁷⁴.

Cuando los puntos de corte se emplean con respecto a las bacterias subgingivales, pueden ser diferentes, en relación con los sugeridos para los mismos antibióticos en base a concentraciones plasmáticas. Para las bacterias subgingivales, los puntos de corte deben basarse en las concentraciones en fluido crevicular, aunque estos datos no han sido calculados para todas las drogas.

Además, la interpretación de la relación entre los CMI y los puntos de corte es algo confusa, y se han sugerido diferentes posibilidades ^{175,176}. La más reciente ha sido sugerida por el Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS) ¹⁷⁴ para bacterias anaérobias, y se han propuesto tres categorías diferentes de susceptibilidad: susceptible, intermedio y resistente. La categoría intermedia indica que se recomiendan dosis máximas del agente antimicrobiano, y con esa dosis la bacteria diana puede ser inhibida o destruida.

Los puntos de corte (Tabla VIII) pueden también variar en cada estudio, dependiendo sobre todo de la técnica empleada. Por ejemplo, procedimientos que usan un única concentración (dilución en agar limitado para placa entera o para cepas aisladas) tienden a usar puntos de corte más bajos.

Cuando se selecciona un punto de corte para cada agente evaluado y para cada bacteria estudiada, aparecen diferentes problemas:

- Hay un amplio rango de puntos de corte sugeridos en la bibliografía, principalmente dependiendo de la técnica empleada.
- Los puntos de corte deben basarse en concentraciones del antibióticos en el área subgingival, pero todavía faltan datos para muchos antimicrobianos (penicilina, azitromicina).
- Los puntos de corte sugeridos por la NCCLS se basan en concentraciones séricas, y sus directivas no son muy útiles con respecto a los patógenos periodontales.
- La microflora subgingival está influenciada por el fenómeno biofilm, que puede incrementar dramáticamente las CMI ^{177,178}.

3.2. Factores que afectan a la eficacia de los antibióticos sistémicos en la microflora subgingival.

La eficacia de los antibióticos en los tratamientos periodontales está determinada por cuatro grupos de factores:

- Factores ambientales locales ¹²⁵.

- Las características farmacocinéticas de la droga ¹⁷⁹.
- Factores microbianos ¹⁷⁹.
- Y el espectro antimicrobiano del agente.

De entre estos factores, nos vamos a centrar en las resistencias a antimicrobianos.

3.3. Métodos de estudio de las susceptibilidades a antimicrobianos, empleados en el estudio de la microflora subgingival.

Las susceptibilidades ante antimicrobianos de las bacterias subgingivales se han evaluado de dos maneras diferentes: como cepas aisladas; o como placa entera, en cultivos primarios de placa bacteriana, lo que se ha denominado como susceptibilidad de placa entera.

Con respecto a las técnicas de estudio específicas, la técnica de dilución en agar es la más empleada, aunque con medios de cultivo diferentes y distinta cantidad de concentraciones usadas (incluyendo la técnica de dilución en agar limitada). Otras técnicas, entre las recomendadas por la NCCLS, empleadas con frecuencia, son la dilución en microcaldos y la macrodilución en caldos. Entre los procedimientos que no han sido aprobados por la NCCLS (ya sea por ser técnicas comerciales o por que no se les considere como fiables), el E-test y los tests con discos se han usado en varios estudios.

3.3.1. Procedimiento de dilución en agar.

El medio de cultivo para la técnica de referencia de dilución en agar ha cambiado recientemente ¹⁷⁴, y el agar de Brucella suplementado ha ocupado el lugar del agar Wilkins-Chalgren ¹⁸⁰ como el medio recomendado. Los datos de susceptibilidades a antimicrobianos se expresan como valor de CMI, que se define como “la concentración más baja de droga que produce ausencia de crecimiento, un halo, una colonia discreta, o colonias múltiples pequeñas” ^{174,180}

Las cepas aisladas e identificadas se evalúan de manera separada. Los CMI calculados para cada cepa de la misma especie bacteriana se procesan conjuntamente, expresando normalmente los resultados como CMI50 (concentración mínima que inhibe el 50% de las cepas), CMI90 (lo mismo para el 90% de las cepas), CMI100 (para todas las cepas evaluadas), o como rango de CMI.

3.3.2. Procedimiento de dilución en agar limitado.

Es un procedimiento de dilución en agar modificado y simplificado, usando solo un número limitado de concentraciones de la droga (entre una y cuatro). Puede ser empleado para evaluar tanto cepas aisladas como placa subgingival entera.

Las cepas bacterianas, previamente aisladas y purificadas, se inoculan en placas de agar con y sin concentraciones conocidas de diferentes antibióticos. Si se usa una sola concentración de un grupo seleccionado de antibióticos, se obtienen resultados de susceptible/resistente cuando se estudia una importante cantidad de cepas del mismo género o especie bacteriana. Los resultados se expresan como porcentaje de cepas resistentes o susceptibles para cada antibiótico estudiado

118-120.168.181-183

También se pueden evaluar muestras de placa entera mediante la dilución en agar limitada, usando una o más concentraciones de distintas drogas. Los resultados se expresan como el porcentaje de inhibición o de resistencia, en comparación con placas de agar sin el antimicrobiano. Se ha empleado más de una concentración para evaluar cambios en los niveles de resistencia de la flora frente a un agente terapéutico ^{127.184.185}

La técnica de susceptibilidades de placa subgingival entera ha sido recomendada en ciertas situaciones clínicas:

a) Como posible técnica diagnóstica en casos de periodontitis refractaria, siendo una ayuda en la selección del antibiótico sistémico adecuado (para ser seleccionado, el antibiótico tenía que inhibir el crecimiento >95% de la flora a la concentración seleccionada) ^{8.113-115.128}

a) También se ha empleado para evaluar el efecto de diferentes antibióticos sobre los niveles de resistencia bacteriana. Este enfoque se ha empleado para estudiar minociclina local y sistémica ¹⁸⁶, doxiciclina sistémica ^{127.185}, tetraciclina sistémica ¹⁸⁷, y fibras de tetraciclina ¹⁸⁴

– a) Así mismo, se ha usado para seleccionar colonias resistentes, tanto con el propósito de evaluar sus mecanismos de resistencia, por ejemplo la presencia del gen *tet(M)* ⁴⁰ o la producción de β -lactamasas ¹⁸⁸, como para el aislamiento de especies bacterianas específicas resistentes ^{189.190}

3.3.3. Procedimiento de microdilución en caldo (dilución en microcaldo).

Es un método barato y fácil de usar ¹⁹¹. Sin embargo, los anaerobios delicados crecen mal en caldo de cultivo ¹⁰. Es difícil leer los resultados, y no es un método flexible, porque se depende de los paneles de antimicrobianos comercializados ⁵⁰. Los resultados se expresan también en CMI, definido como “la concentración mínima del agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento del microorganismo”.

Esta técnica no solo permite calcular el CMI, sino que también puede determinarse la concentración bactericida mínima (CBM)¹⁹². Puede ser utilizado por sí mismo^{175,177,192,193}, o combinado con dilución en agar¹⁶². Como en esta última técnica, también puede usarse un número reducido de concentraciones seleccionadas, lo que simplifica la técnica¹⁹⁰.

MicroScan, un sistema comercial, es una modificación de esta técnica. Los resultados pueden expresarse como valores en CMI¹⁵⁸ o como cepas susceptibles/resistentes^{118,121}, dependiendo del tipo de paneles empleados.

3.3.4. Procedimiento de macrodilución en caldo.

Se incuban tubos de caldo de Brucella suplementado, con diferentes concentraciones de las drogas, durante 48 horas. El CMI se define como la menor concentración de la droga que muestra ausencia de crecimiento visualmente.

Como la microdilución en caldo, permite calcular los valores CBM, y puede usarse por sí mismo o en combinación con dilución en agar¹⁷⁷.

3.3.5. Test epsilométrico (E-test).

Es una modificación del test de difusión en agar, que fue uno de los primeros métodos empleados para evaluar las susceptibilidades de los anaerobios y que actualmente no está considerado como un método fiable¹⁰. Aunque el E-test no está apoyado por la NCCLS debido a que es una técnica comercial, ha conseguido bastante popularidad^{191,194,195}. Consiste en una tira que incorpora un gradiente de concentraciones antibióticas y que inhibe el crecimiento de las colonias en las placas de agar. Se ha estudiado y confirmado su validez¹⁹⁶. Sin embargo tiene el inconveniente de ser bastante caro.

Los estudios que han utilizado esta técnica con cepas orales trataron principalmente de evaluar su validez, usando el procedimiento de dilución en agar de referencia como el estándar para las comparaciones^{183,197,198}. También se ha empleado como técnica complementaria en la evaluación de susceptibilidades a antibióticos¹⁹⁹⁻²⁰³, y, más recientemente, por sí mismo¹⁷⁸.

3.3.6. Procedimiento del Spiral Gradient Endpoint (gradiente en espiral para puntos de ruptura).

También es una modificación del test de difusión en agar, que está ganando popularidad^{191,194,195}, y que no es apoyado por la NCCLS. Un dispensador en espiral deposita una cantidad determinada del antimicrobiano con un patrón espiral. Tras un periodo de difusión, se extiende el inóculo bacteriano sobre el agar.

No se ha empleado para evaluar susceptibilidades de bacterias subgingivales, aunque se ha confirmado su concordancia con dilución en agar convencional en bacilos gram-negativos

anaerobios^{204,205}. Sin embargo, se han detectado numerosos problemas cuando se ha empleado con anaerobios delicados.

3.3.7. Detección de la producción de β -lactamasas.

La detección de enzimas β -lactamasas puede realizarse siguiendo dos enfoques: mediante el aislamiento de especies bacterianas sospechosas, o mediante el análisis de la placa entera^{206,207}. Con el primer enfoque, se pueden aislar determinadas especies, como *Bacteroides* sp.²⁰⁸ o *Prevotella* sp.³⁶ en un medio no selectivo, y evaluarlas en cuanto a la producción de las enzimas estudiadas. Con el segundo enfoque, es necesario emplear un medio selectivo con penicilinas para placa entera, seleccionando las colonias sospechosas por ser resistentes a penicilina^{188,209}. La mayoría de los estudios emplean una cefalosporina cromogénica para detectar la producción de β -lactamasas, pero también se ha empleado el medio almidón-iodina-penicilina en los 80^{206,209}. Los discos de nitrocefina (DrySlide®), un test comercial rápido y conveniente, han demostrado también su eficacia²⁰⁷.

3.3.8. Otros métodos.

Dilución en caldo de agarosa¹⁶³, puede considerarse con una variedad de dilución en agar.

Rapid resistance screening (RRS). Búsqueda rápida de resistencia¹⁹⁰, en la que colonias de patógenos, sospechosos de ser resistentes por crecer cerca de discos de antibióticos en el medio de agar, son subcultivados para ser evaluados más detenidamente. De esta manera, solo es necesario hacer tests adicionales con las colonias sospechosas, pero la validez de este test, comparado con los resultados obtenidos con microdilución en caldo, no ha sido demostrada apropiadamente.

Técnica de difusión de discos. Discos de papel con concentraciones conocidas de ciertos antibióticos producen un halo de inhibición a su alrededor en el crecimiento bacteriano. Mediante la medición de este halo se obtiene una evaluación indirecta de la susceptibilidad bacteriana. De esta manera se define si la bacteria es susceptible, intermedia o resistente^{129,175}. El método de Stoke es una modificación de este procedimiento^{73,76,210}.

Procedimiento de elución del disco en caldo. Discos con antimicrobianos sirven como fuente de la droga en un caldo que sostiene el crecimiento de anaerobios. La susceptibilidad se define como ausencia de crecimiento en comparación con el tubo control tras 24-48 horas. No se obtienen valores CMI, solo una indicación de susceptibilidad/resistencia. Parece dar elevadas frecuencias de falsos negativos, y por ello no está ya recomendado por la NCCLS¹⁹⁵.

Mediciones de la densidad óptica, mediante instrumentos computerizados, que han sido empleados para evaluar cualitativamente las susceptibilidades de placa bacteriana mixta frente a diferentes antibióticos ²¹¹.

A pesar de que se han empleado todos estos procedimientos, todavía hay problemas a la hora de seleccionar el mejor método, el mejor medio, y obtener una correlación de los resultados con la clínica. Una encuesta entre laboratorios de microbiología en EE.UU. en 1993 ²¹², mostró que la técnica del disco en caldo era la más empleada, por un 56% de los laboratorios, a pesar de no estar aprobada por la NCCLS. La dilución en microcaldo fue la segunda más popular (33%), seguida por la detección de β -lactamasas (25%), macrodilución en tubo (2%) y dilución en agar (2%).

3.4. Susceptibilidades a antimicrobianos de la microflora subgingival.

3.4.1. Resultados expresados como porcentaje de flora resistente.

Cuando se evalúan susceptibilidades de placa entera, se selecciona un punto de corte para cada antibiótico. Varios factores pueden influir en los resultados. La metodología de los estudios revisados aparece en la Tabla IX.

Los porcentajes medios de flora resistente más bajos se han obtenido con β -lactámicos. Amoxicilina, clindamicina, tetraciclina y eritromicina mostraron claras diferencias, en cuanto a los porcentajes medios de flora resistente y en el porcentaje de muestras con >5% de flora resistente, en localizaciones definidas como crónicas, inactivas o moderadas, frente a las calificadas como activas, refractarias o severas, como se ve en la Tablas X y X bis.

Cuando se comparan directamente localizaciones activas e inactivas ¹¹², periodontitis severa con periodontitis de moderada a severa ²¹³, y periodontitis del adulto y refractaria ⁶⁴, los resultados muestran un porcentaje medio más alto de flora resistente, y una mayor proporción de muestras con >5% de flora resistente, en localizaciones activas ¹¹², en periodontitis severa ²¹³, y en periodontitis refractaria ⁶⁴.

La mayor limitación de esta técnica en la selección de los puntos de corte. También es desconocida la influencia que tiene sobre los resultados el hecho de procesar todas las bacterias de forma conjunta, y las similitudes que este procedimiento pueda tener con la presencia del antibiótico en el área subgingival. Uno de los hallazgos sorprendentes es el del metronidazol, que ha demostrado una gran efectividad in vivo ¹⁰, pero que demuestra los peores resultados in vitro.

El significado real de los resultados obtenidos y su utilidad para propósitos clínicos tiene que ser determinada, pero está clara su utilidad para establecer comparaciones entre localizaciones o poblaciones.

3.4.2. Resultados expresados como valores CMI (Dilución en agar).

Aunque la dilución en agar es un procedimiento de referencia y está estandarizado de acuerdo con las pautas de la NCCLS, se pueden encontrar diferencias importantes en la metodología entre los estudios que han evaluado las susceptibilidades de las bacterias periodontales (Tabla XI). Las cepas analizadas pueden proceder de colecciones microbiológicas, o de pacientes con diferentes tipos de periodontitis, con distintas condiciones clínicas. Estos factores, junto con la conocida variabilidad de los laboratorios, pueden explicar algunas de las diferencias en los resultados.

Esta revisión se centra en un grupo seleccionado de patógenos periodontales y los agentes antimicrobianos más relevantes en periodoncia.

Se seleccionaron 18 estudios de diferentes partes del mundo: 9 realizados en Europa, 6 en Norteamérica, 2 en Japón y 1 en Kenia. La mayoría utilizaron cepas clínicas aisladas en muestras subgingivales, normalmente en combinación con cepas de referencia. Los medios de cultivo empleados en los tests de susceptibilidad mostraron una gran variabilidad entre estudios (Tabla XI).

Minociclina ^{155,163,214-216} (Tabla XII). La mayoría de los patógenos evaluados eran susceptibles, con dos excepciones importantes, *E. corrodens* y *P. micros*. No hay resultados disponibles con *B. forsythus*, y se han detectado cepas resistentes entre *Prevotella* sp. negro-pigmentadas.

Tetraciclina ^{155,177,198-200,214,216-218} (Tabla XII). A concentraciones creviculares de 4-8 µg/ml, *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens* y *P. micros* pueden considerarse como resistentes. También se han detectado cepas resistentes en *F. nucleatum* y *Prevotella* sp. negro-pigmentadas. Sin embargo, los datos con *A. actinomycetemcomitans* son controvertidos, con algunos autores que indican valores MIC90 de 2-8 µg/ml ^{219,220}, mientras otros han calculado 1 µg/ml ¹⁷³.

Doxiciclina (Tabla XII). Solo hay tres estudios disponibles ^{114,155,199} por lo que es complicada la interpretación de los resultados. De acuerdo con artículos de revisión, los valores MIC90 para *A. actinomycetemcomitans* y *E. corrodens* serían 6 µg/ml, por lo que estas especies deberían considerarse como resistentes. ^{173,219}

Penicilina ^{114.155.200.214.216-218.221} (Tabla XIII). Con una concentración sérica de 3.8 µg/ml ²¹⁹, *P. intermedia* y *E. corrodens* pueden etiquetarse como resistentes, mientras que también se encontraron cepas resistentes entre *Prevotella* sp. negro-pigmentadas, *P. micros*, *F. nucleatum* y *A. actinomycetemcomitans*.

Amoxicilina ^{114.199.200.214.216.217} (Tabla XIII). *P. intermedia*, *P. micros*, y *E. corrodens* son resistentes, pero debe resaltarse la influencia de la producción de β-lactamasas, puesto que los resultados de *P. intermedia* y *Prevotella* sp. parecen estar claramente afectados por este factor.

Amoxicilina/clavulanato (Tabla XIII). Los únicos datos disponibles se centran en *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *P. gingivalis* ^{214.217}. Las tres especies son susceptibles, considerando los niveles de amoxicilina en fluido crevicular, y además evitando el riesgo que supone la producción de β-lactamasas.

Azitromicina (Tabla XIV). Hay muy poca información disponible ²²²⁻²²⁴. Considerando un punto de corte de 4 µg/ml ²²³, no está claro si *A. actinomycetemcomitans* es susceptible, debido a los dispares resultados ^{222.224}, mientras que *E. corrodens* parece ser resistente. No hay datos disponibles sobre *B. forsythus*, y parece claro que *P. gingivalis* es susceptible ^{223.224}.

Eritromicina ^{114.155.162.200.214.216-218.221.222.224} (Tabla XIV). Solo 4 de las especies bacterianas evaluadas tienen valores MIC90 cercanos a la concentración gingival: *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus* y *C. rectus*. Los otros patógenos pueden considerarse como resistentes.

Metronidazol ^{155.177.198-200.214.216-218} (Tabla XV). *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, *P. micros*, así como algunas cepas de *Prevotella* sp. negro-pigmentadas, son resistentes. Se han obtenido datos dispares con respecto a *A. actinomycetemcomitans* y *P. micros*.

Clindamicina ^{114.155.199.200.216-218.221} (Tabla XV). *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens*, y *P. micros*, se pueden considerar como resistentes.

3.4.3. Porcentaje de cepas resistentes/susceptibles.

Los procedimientos de dilución en agar limitados se han usado para evaluar un gran número de cepas de una especie determinada frente a una concentración de antibiótico concreta, normalmente 1 µg/ml, como se ve en la Tabla XVI.

Después de realizar los procedimientos de dilución en agar convencional, los resultados también pueden expresarse como el porcentaje de cepas evaluadas susceptibles ante un punto de corte definido. Este tipo de estudios analizan normalmente varias cepas distintas de cada especie bacteriana. Los resultados se expresan en valores CMI, como se vio más atrás. Pero también se puede calcular el porcentaje de cepas susceptibles ante un determinado punto de ruptura (aquellas cuyo CMI es menor que ese punto). El mayor problema al comparar este tipo de datos es que se emplean diferentes puntos de ruptura en cada estudio. Al interpretar los resultados, se esperaría que al incrementarse el punto de ruptura, decrecería el porcentaje de cepas susceptibles. Sin embargo los estudios evaluados muestran resultados confusos, difíciles de comprender y de explicar las diferencias entre ellos ^{176.183.216.217.225}.

3.4.4. E-test.

Diferentes estudios han tratado de validar este procedimiento, el E-test, comparando sus resultados con aquellos obtenidos mediante dilución en agar. Cuando se evaluaba su capacidad para discriminar cepas susceptibles/resistentes, con respecto a puntos de corte prefijados, se demostró una sensibilidad y predecibilidad de moderada a alta ¹⁸³. Evaluando metronidazol, y considerando una o dos diluciones dobles, el 100% de los tests concordaban con los resultados de dilución en agar, excepto para *Fusobacterium* sp. ¹⁹⁸. Cuando se estudió *B. forsythus* con diferentes antibióticos, los resultados entre dilución en agar y E-test fueron similares ¹⁹⁹. Además, el uso de E-test con *A. actinomycetemcomitans* parece ser fiable, con dos excepciones, cotrimoxazol y metronidazol ¹⁹⁷.

Se han publicado pocos resultados utilizando esta técnica, principalmente con resultados centrados sobre especies bacterianas específicas y drogas seleccionadas ^{178.198-201.203}. A pesar de que con el E-test se obtienen valores CMI, los resultados pueden también leerse cualitativamente, comparando los valores obtenidos con los puntos de corte propuestos, y definiendo una cepa como susceptible o resistente ^{178.202}.

3.4.5. Prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas.

Los métodos de los estudios revisados aparecen en las Tablas XVII y XVIII, y los resultados más importantes en la Tabla XVIII.

En muestras subgingivales de periodontitis no tratada en EE.UU., Kinder et al. ¹⁸⁸ encontraron un 48% de pacientes positivos en el grupo de pacientes que no había tomado antibióticos en el año previo a la toma de las muestras, y un 76% en pacientes que usaron antibióticos en los 6 meses previos. En el Reino Unido se calculó una prevalencia del 65% ²¹⁰, y del 74% en Holanda ²⁰⁷, en

ambos casos en periodontitis del adulto. En pacientes en mantenimiento en EE.UU., el 64% de los pacientes tenían actividad β -lactamasa en el fluido crevicular²⁰⁶.

Algunos estudios se han centrado en individuos más jóvenes. El 71.3-76.8% de las cepas de *P. melaninogenica* de niños menores de 3.5 años y de sus madres, eran capaces de producir β -lactamasas³⁶. Niños con infecciones orofaciales y del aparato respiratorio que no respondía al tratamiento con penicilinas, mostraron producción de β -lactamasas en un 40.5% de los casos²²⁶. Niños hospitalizados en Egipto tenían bacterias productoras de β -lactamasas en la cavidad oral, hasta en un 37% de las cepas aisladas²²⁷.

También se han evaluado muestras de otras zonas de la boca. En saliva de voluntarios sanos, un 42% tenían *Bacteroides* productores de β -lactamasas²⁰⁸. En muestras de mucosa, saliva, lengua y área subgingival de pacientes con diferente situación periodontal, un 38% de los pacientes tenían bacterias productoras de estas enzimas. En el pus de abscesos de origen dentoalveolar, se calculó un 33-38.4% de prevalencia^{81.202}.

La mayoría de las especies productoras de β -lactamasas en la cavidad bucal pertenecen al género *Prevotella*^{81.188.202.207.209.210.226}, lo que ha inducido a algunos autores a estudiar solo este género bacteriano al analizar la producción de β -lactamasas^{36.208.227}.

La actividad de β -lactamasa de las muestras de fluido gingival puede cuantificarse. Walker et al.²⁰⁶ observaron un rango de actividad enzimática entre 0.001-0.569 unidades enzimáticas/ml. Un 60% de las localizaciones positivas (19% de todas las localizaciones estudiadas) mostraron una actividad ≥ 0.01 , considerada como la actividad mínima para inactivar penicilinas en el fluido gingival a las concentraciones alcanzadas tras dosis normales²⁰⁶. Sin embargo, van Winkelhoff et al.²⁰⁷ evaluaron la actividad mínima en unidades por muestra, en muestras de placa entera, y solo 48% de las muestras tenían actividad, oscilando entre 0.003-0.054. Por el contrario, el 74% de los pacientes tenían al menos una especie bacteriana productora de β -lactamasa. Por lo tanto, no parece haber una buena correlación entre las prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas y la actividad β -lactamasa del fluido gingival crevicular.

La actividad β -lactamasa en la microflora subgingival se ha correlacionado con diferentes factores.

Se ha encontrado una mayor frecuencia de actividad β -lactamasa en el fluido gingival en bolsas >3 mm con destrucción ósea (36%), cuando se comparó con localizaciones con bolsa ≤ 3 mm sin destrucción ósea radiográfica (13%)²⁰⁶. La profundidad de bolsas se ha correlacionado

positivamente con la frecuencia de actividad β -lactamasa en el fluido crevicular, mientras que el sangrado al sondaje no se ha conseguido correlacionar²²⁸.

Heimdahl et al.²⁰⁸ encontraron una diferencia significativa entre pacientes con y sin consumo previo de antibióticos en los 6 meses previos. El 27% de aquellos pacientes con *Bacteroides* productores de β -lactamasa en saliva habían estado en tratamiento con penicilina, mientras que el porcentaje correspondiente para aquellos sin *Bacteroides* productores de β -lactamasa era 8.3%. Kinder et al.¹⁸⁸ compararon 21 pacientes tratados con penicilina en los 6 meses previos, frente a 21 pacientes que no habían tomado antibióticos durante 1 año. Se observó una mayor prevalencia de microorganismos productores de β -lactamasas (76% frente a 48%) y un mayor porcentaje de la flora que esos organismos representaban (1.3% frente a 0.7%) en los pacientes con consumo antibiótico previo. Además, el porcentaje de flora resistente a 2 $\mu\text{g/ml}$ de penicilina fue significativamente más alto en ese grupo (3.8% frente a 1.7%). En infecciones orofaciales o del aparato respiratorio que no respondían al tratamiento, se detectaron *Bacteroides* productores de β -lactamasas en aquellos pacientes previamente tratados con penicilinas, pero no en aquellos tratados con eritromicina²²⁶. Por el contrario, la resistencia a penicilinas en abscesos de pacientes sin consumo previo de antibióticos, era similar a la de aquellos que recibieron un antibiótico (sobre todo penicilinas) en los 6 meses previos²⁰².

3.5. Influencia de los tratamientos antimicrobianos en las resistencias en la microflora subgingival.

3.5.1. Tratamientos antimicrobianos locales.

Wade et al.²²⁹ diseñaron un estudio con 6 grupos de tratamiento, incluido un grupo control no tratado, para evaluar el efecto de diferentes terapias antimicrobianas locales. El estudio no recogía si la distribución de los tratamientos era aleatorizada, ni que tratamiento se daba a las localizaciones no incluidas en el estudio. Las localizaciones experimentales se vigilaban durante 12 semanas, y 3 localizaciones en 4 de los grupos se evaluaron microbiológicamente. Los autores señalaron que la tetraciclina local incrementó la resistencia a tetraciclinas a las 4 semanas del tratamiento. También se observó un aumento de los microorganismos resistentes a metronidazol tras terapia local con este antibiótico.

Goodson & Tanner¹⁸⁴ estudiaron los cambios en la microflora subgingival y salival tras el tratamiento con fibras de tetraciclina. El porcentaje de flora total anaerobia resistente a diferentes concentraciones de tetraciclina se incrementó 1 semana después del tratamiento, pero disminuyó al mes. Los valores CMI de las cepas aisladas mostraron pocos cambios, y la mayoría eran susceptible a 1 $\mu\text{g/ml}$ (la concentración más baja empleada) tanto antes como después del

tratamiento. No se detectaron incrementos en las resistencias frente a 80 µg/ml de penicilina o frente a 8 µg/ml de eritromicina.

Los autores concluyeron que el incremento transitorio en la resistencia subgingival se debió a la colonización de bacterias desde la saliva o la placa subgingival, con resistencia natural a tetraciclina, en vez de un verdadero incremento en la resistencia. No se detectó un aumento en las resistencias de los patógenos periodontales ni en las bacterias anaerobias gram-negativas, por lo que se achacó el incremento en las resistencias al aumento en la proporción de bacilos y cocos gram-positivos.

3.5.2. Terapia antimicrobiana local frente a sistémica.

Preus et al.¹⁸⁶ compararon los cambios en la resistencia de la microflora subgingival en dos grupos de pacientes, uno tratado con raspado y alisado radicular más un ungüento de minociclina de aplicación local en las localizaciones test, y un segundo grupo tratado con raspado y alisado radicular y minociclina sistémica. Los resultados mostraron que en el grupo tratado con el ungüento, se obtuvo tras 2 semanas una importante reducción en los recuentos totales y en el número de especies diferentes, que se mantuvo a lo largo del estudio. Hubo un claro incremento en el porcentaje de flora resistente a las 2 semanas, pero al mes se había reducido hasta los niveles iniciales, mostrando pocas variaciones en las siguientes visitas. En el grupo tratado con la droga sistémica, los recuentos totales y el número de especies mostraron pocos cambios. Se evaluó un incremento limitado en la flora resistente a las 2 semanas, retornado a valores iniciales al mes. Por lo tanto, el ungüento de minociclina indujo un incremento transitorio en la flora resistente, probablemente relacionado con la recolonización por especies de estreptococos, resistentes de manera natural a este antibiótico.

El incremento en la resistencia después de exposición ante minociclina ha sido evaluado *in vitro*²¹⁵. Se expuso a 20 especies bacterianas durante 2 semanas a concentraciones sub-letales del antibiótico, y 6 de las especies aumentaron sus valores CMI, con especial relevancia para *Actinomyces odontolyticus* y *Peptostreptococcus* sp.

3.5.3. Terapia antimicrobiana sistémica: Aumento en las resistencias.

Willians et al.²³⁰ compararon la resistencia a tetraciclina en la microflora subgingival en dos grupos de pacientes: 4 pacientes tratados con tetraciclina sistémica a altas dosis y corto plazo, y 9 pacientes tratados con bajas dosis y a largo plazo. Se empleó la técnica de dilución en agar para evaluar la resistencia a tetraciclina de las cepas aisladas. El grupo de baja dosis mostró una microflora subgingival más compleja y más resistente, incluyendo la presencia de bacilos gram-negativos, mientras que el grupo de alta dosis tenía predominantemente *Streptococcus* sp., y

Actinomyces sp. y algunos bacilos gram-negativos susceptibles. El efecto del antibiótico en cuanto a incremento en las resistencias a tetraciclina no se pudo evaluar, al no haber muestras pre-tratamiento.

Kornman & Karl ¹⁸⁷ procesaron muestras de tres grupos de pacientes: 10 pacientes en tratamiento con tetraciclinas durante 2-7 años; 10 pacientes que habían dejado el tratamiento con tetraciclina entre 6 meses y 2 años antes, después de haberlo recibido durante al menos 2 años; y 14 pacientes con periodontitis no tratada. Se estudió y comparó la microflora subgingival de los dos primeros grupos. La microflora de los pacientes que todavía estaban en tratamiento tenía un 50% de bacilos gram-negativos anaerobios, con un alto porcentaje de *F. nucleatum*, y ausencia de *P. gingivalis* y *P. melaninogenica*. Los pacientes que ya no tomaban antibiótico albergaban un 63% de bacilos gram-negativos anaerobios, incluyendo elevadas proporciones de *F. nucleatum*, y *P. gingivalis*. También se estudió el porcentaje de la flora total resistente a 1 µg/ml de tetraciclina en agar, en los tres grupos. Se consideró resistente el 76.6% de la flora total de los pacientes que tomaban tetraciclina, significativamente superior al 25.9% de los pacientes que habían dejado de usarla, y al 7.1% de los pacientes no tratados. Sin embargo, los autores concluyeron que la tetraciclina a baja dosis y largo plazo se asociaba con una situación clínica de salud y una flora anaerobia gram-negativa resistente a tetraciclina. Si se dejaba de usar el antibiótico, las condiciones clínicas empeoraban, y se detectaban más patógenos, aunque menos resistentes.

McCulloch et al. ¹²⁷ trataron pacientes con enfermedad activa con raspado y alisado radicular más doxiciclina o placebo. La variable microbiológica era la concentración de antibiótico necesaria para inhibir todo crecimiento en muestras en anaerobiosis de las localizaciones activas del grupo test. La concentración resultante fue 25 µg/ml, aunque la mayoría de las muestras precisaban 50 µg/ml para inhibir completamente el crecimiento bacteriano. No se detectaron diferencias entre distintas visitas, pero el método no era quizá el más apropiado para detectar posibles incrementos en los niveles de resistencia.

Fiehn & Westergaard ¹⁸⁵ siguieron a dos grupos, uno de pacientes sanos que permanecían sin tratar durante el periodo de estudio, y otro de pacientes con periodontitis refractaria, tratados con raspado, cirugía y doxiciclina sistémica. Se estudió el porcentaje de flora total resistente en muestras subgingivales y de las amígdalas. Se detectaron cambios inapreciables en el grupo de pacientes sanos, mientras que se observó un claro incremento en la resistencia tanto en las muestras de las amígdalas (10 veces mayor) como subgingival (20 veces), una semana después del tratamiento. A partir de ese momento, se inició un patrón de reducción, alcanzando los niveles pre-tratamiento después de 15 semanas en las amígdalas y de 39 semanas en la flora subgingival. La microflora resistente estaba compuesta por un 86-89% de cocos gram-positivos

durante todo el seguimiento. Los autores discutieron si el incremento en las resistencias podía estar relacionado con el desarrollo de resistencias reales o con una simple selección de especies naturalmente resistentes. Los datos de este estudio apoyaron esta última hipótesis, puesto que se detectaron los mismos morfotipos resistentes en pacientes sanos y refractarios, pre y post-tratamiento, siendo los cocos gram-positivos el morfotipo predominante. Y el nivel de resistencias naturales era mayor en el grupo de pacientes sanos.

Magnusson et al.¹¹⁴ estudiaron los cambios en los valores CMI de diferentes grupos bacterianos, 12 meses después del tratamiento con raspado y clindamicina sistémica en pacientes con periodontitis refractaria activa. CMI90 fue la variable elegida en la comparación. Se detectaron pequeños cambios para las diferentes especies y antibióticos, que únicamente alcanzaba el nivel significativo con eritromicina.

Abu Fanas et al.²³¹ compararon tratamientos de 14 días con tetraciclina o con amoxicilina/clavulanato, como coadyuvantes al raspado y alisado. Se calcularon mediante dilución en agar los valores CMI para *P. intermedia*, *P. gingivalis*, y *F. nucleatum*, antes del tratamiento y 6 y 18 semanas después. No hubo cambios con respecto a amoxicilina/clavulanato, mientras que se detectó un claro incremento con tetraciclina a las 6 semanas, que duraba hasta las 18 semanas, con la excepción de *F. nucleatum*.

Las tetraciclinas se han evaluado frecuentemente con respecto a la emergencia de resistencia tras su uso sistémico. Se han detectado importantes incrementos a corto plazo^{185,231}, pero se ha discutido su impacto y algunos autores consideran que este incremento es una selección de especies naturalmente resistentes¹⁸⁵. Los tratamientos con bajas dosis a largo plazo pueden causar aumentos en las resistencias que duran hasta 2 años¹⁸⁷, y se detectan fácilmente en estos pacientes bacilos gram-negativos resistentes^{187,230}. La aparición de resistencias puede ser insidiosa en vez de dramática: el incremento inicial de resistencia debido a la selección de bacterias, y la posterior competición por el nicho con las bacterias indígenas, puede eliminar o diluir a las poblaciones resistentes antes de que éstas transfieran sus mecanismos de resistencia. Sin embargo, algunas cepas resistentes pueden persistir, y las resistencias incrementarse debido al éxito en la lucha con las bacterias indígenas, o a través de la transferencia de factores de resistencia³⁸. Por tanto, la terapia antimicrobiana previa es una consideración importante cuando se selecciona un antibiótico. Puede ser beneficioso el cultivo y la evaluación de susceptibilidades antes de iniciar la terapia antibiótica, especialmente en pacientes con historia de uso prolongado de tetraciclina³⁸.

El efecto después del uso de otros antibióticos sistémicos no se ha evaluado apropiadamente.

3.5.4. Terapia antimicrobiana sistémica: Sobre-infecciones.

El uso de antibióticos sistémicos puede inducir también la colonización por parte de microorganismos sobre-infectantes ²³². Se trató a 21 pacientes con raspado, instrucciones en higiene oral y clorhexidina subgingival. Dos semanas después, los pacientes empezaron un tratamiento con doxiciclina, y eran reevaluados 4 y 10 semanas después de ese tratamiento. El 52% de los pacientes experimentó un incremento de >10 veces en recuentos totales de estafilococos, del 14% en bacilos entéricos, y del 9.5% en hongos. Los autores concluyeron que la terapia sistémica con doxiciclina puede desencadenar el sobre-crecimiento de los microorganismos mencionados en la microflora subgingival, tanto por el aumento de las cantidades de los organismos subgingivales pre-existentes, como por el establecimiento de estas especies desde otras áreas orales colonizadas, como el dorso de la lengua o la parte anterior del paladar.

Helovu et al. ^{89,90} evaluaron a tres grupos de pacientes con periodontitis no tratada que recibieron antibióticos sistémicos para el tratamiento de infecciones no orales: penicilina (24 pacientes), eritromicina (21), y controles no tratados (27). 10 (42%) de los pacientes en el grupo que tomó penicilina, desarrollaron abscesos periodontales en las siguientes 1-4 semanas, lo que se asoció con un incremento en la detección de *S. aureus*, algunos de ellos resistentes a penicilina según la evaluación con el test de discos. No apareció ningún absceso en los grupos de eritromicina o control, aunque hubo un aumento a nivel subgingival de bacterias entéricas en el grupo de eritromicina. Los autores consideraron que este tipo de absceso podía considerarse como una sobre-infección.

Toppoll et al. ⁹¹ estudiaron 10 pacientes con periodontitis no tratada y abscesos múltiples, relacionados con consumo previo de antibióticos sistémicos (penicilinas o tetraciclina), y confirmaron la hipótesis de los estudios de Heluvo. Se observaron resistencias a antibióticos en la microflora subgingival en 11 de los 20 abscesos examinados, mediante el test de discos.

Por su parte, Fiehn & Westergaard ¹⁸⁵ detectaron la aparición de hongos en las amígdalas en dos pacientes y en la flora subgingival de un paciente, después de un tratamiento periodontal. Este tratamiento incluyó raspado, cirugía, y doxiciclina durante 21 días, en 12 pacientes con periodontitis recurrente. Los autores concluyeron que el riesgo de sobre-infección era bajo.

4. Justificación: Importancia e implicaciones de las susceptibilidades a antimicrobianos en periodoncia.

De acuerdo con las directivas de la NCCLS ^{174,180}, la evaluación de las susceptibilidades a antimicrobianos deben de realizarse para:

- Determinar patrones de susceptibilidad de nuevos agentes.
- Monitorizar patrones de susceptibilidad periódicamente en países, comunidades locales y hospitales.
- Ayudar en el manejo de la infección en pacientes individuales. Las principales indicaciones para el estudio de susceptibilidades en situaciones clínicas incluyen: el fracaso de los regímenes terapéuticos habituales y la persistencia de la infección, un papel fundamental del agente antimicrobiano en la determinación del resultado del tratamiento, y la dificultad para tomar decisiones empíricas basándose en precedentes.

Si seguimos los consejos de estas directivas, hay una importante carencia de información en la literatura periodontal en relación con el diagnóstico, tratamiento, etiología microbiana y susceptibilidades antibióticas en los abscesos periodontales. Debido a que la terapia antibiótica puede ser necesaria como parte del tratamiento de esta condición aguda, se hace necesaria la caracterización clínica y microbiológica del absceso periodontal, estableciendo claramente su diagnóstico (Artículos originales 1 y 2). También es importante tener evidencia de la eficacia del uso de antibióticos sistémicos en el tratamiento de esta patología, así como conocer las susceptibilidades a antimicrobianos in vitro de la microflora del absceso (Artículo original 3).

Basándose también en el manejo del paciente individual, la periodontitis refractaria puede considerarse como “el fracaso de los regímenes terapéuticos habituales y la persistencia de la infección”. De acuerdo con Academia Americana de Periodoncia, los tests de susceptibilidades de las bacterias subgingivales están indicados en periodontitis refractaria. A pesar de que estos tests parecen no ser necesarios en patógenos con perfiles antimicrobianos predecibles, como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *C. rectus*¹²⁵, otras especies bacterianas, como *P. intermedia*, *P. micros*, microorganismos sobre-infectantes, y otros posibles patógenos periodontales, pueden demostrar resistencia ante diferentes antimicrobianos¹⁰.

También se ha apoyado el uso de antibióticos sistémicos en formas no refractarias de periodontitis, principalmente si está basado en la evaluación microbiológica de la microflora subgingival. La selección del agente adecuado ayudará a erradicar los patógenos exógenos putativos detectados. Surgen dos dudas principales: ¿es la composición de la microflora subgingival en periodontitis similar en todo el mundo?, y, ¿son las susceptibilidades a antimicrobianos de esa microflora comparables en países de diferentes? El objetivo final de estas preguntas es saber si los resultados de los estudios sobre susceptibilidades a antimicrobianos, y sobre la respuesta clínica y microbiológica después de tratamientos combinados incluyendo antimicrobianos sistémicos, son útiles fuera de los límites de los

países en los que se llevan a cabo. Para tratar de responder a estas preguntas se hacen necesaria la comparación de poblaciones diferentes con respecto tanto a sus perfiles microbiológicos (Artículo original 4) y a sus patrones de susceptibilidades (Artículos originales 5 y 6):

Sin embargo, la consideración más importante cuando se emplean antibióticos en periodoncia, es el incremento en las resistencias bacterianas. Parece que existe suficiente evidencia para probar que las resistencias a antibióticos han aumentado en la flora subgingival durante los últimos 10-15 años, y es probable que esta tendencia continúe en el futuro ³. Muchos antibióticos se están convirtiendo en virtualmente inútiles, y los clínicos deben evitar el uso inapropiado de los agentes antimicrobianos. Sería beneficioso el uso de los antibióticos guiados por los tests de susceptibilidades antes de iniciar la terapia antimicrobiana, ya que la velocidad con la que se incrementan las resistencias puede disminuir con el uso racional de estos medicamentos ³⁸. El uso indiscriminado de antibióticos debe evitarse en sus aplicaciones en periodoncia. En la última reunión mundial (Workshop) en periodoncia, se aconsejó el manejo de las infecciones solo con desbridamiento, siempre que sea posible, usar cultivos y tests de susceptibilidades previamente al uso de antibióticos, emplear sistemas de liberación local si está indicado, y elegir los antibióticos y regímenes de administración apropiados, vigilando el cumplimiento del paciente ¹²⁶.

Otra importante circunstancia en la microflora subgingival es que la mayoría de los patógenos son anaerobios estrictos. El incremento de resistencias entre las bacterias anaerobias es un problema muy significativo. Importancia adicional tiene el hecho de la falta de acuerdo respecto a la efectividad clínica de ciertos agentes frente a infecciones por anaerobios, de la existencia resultados conflictivos con respecto a su actividad in vitro frente a ciertas especies bacterianas anaerobias, y de la capacidad de los tests de susceptibilidades in vitro para predecir los resultados in vivo ¹⁸⁰. Por lo tanto, los tests de susceptibilidades en anaerobios están justificados, puesto que los anaerobios son patógenos importantes, y sus patrones de susceptibilidad no pueden ser predichos con fiabilidad ^{50,195}, especialmente con respecto a nuevos agentes antimicrobianos recientemente introducidos. De las especies bacterianas anaerobias, *Bacteroides* sp., *Prevotella* sp., y *Porphyromonas* sp. están entre los patógenos clínicos más importantes por dos razones: son los microorganismos aislados con más frecuencia en infecciones purulentas por anaerobios, y son los anaerobios con los espectros más amplios de resistencias reconocidas ante agentes antimicrobianos ^{34,44}.

III. OBJETIVOS.

El objetivo global de esta investigación fue estudiar los perfiles microbiológicos y las susceptibilidades a antibióticos de las bacterias subgingivales, en dos modelos de infección periodontal: el absceso periodontal y la periodontitis crónica del adulto.

Objetivos específicos adicionales relacionados con cada modelo de infección.

Modelo 1. El absceso periodontal, como una infección periodontal aguda.

Identificar las características que definan al absceso periodontal (Artículos originales 1 y 2).

Determinar la eficacia clínica y microbiológica de dos regímenes terapéuticos incluyendo antibióticos sistémicos, en el tratamiento de esta patología (Artículo original 3).

Evaluar las susceptibilidades a antibióticos de cepas aisladas de la microflora subgingival de este tipo de abscesos (Artículo original 3).

Modelo 2. Periodontitis del adulto, como una infección periodontal crónica.

Caracterizar esta periodontitis, respecto a la composición microbiológica de la microflora subgingival (Artículo original 4).

Definir las susceptibilidades de placa entera frente a los antibióticos más habituales en Periodoncia (Artículo original 5).

Describir la frecuencia de detección de patógenos resistentes con la técnica de susceptibilidades de placa entera (Artículo original 5).

Evaluar la presencia de bacterias productoras de β -lactamasas y caracterizarlas (Artículo original 6).

Comparar todos los hallazgos mencionados más arriba entre dos poblaciones seleccionadas, con diferente nivel de exposición a los antibióticos sistémicos: Holanda (exposición baja) y España (exposición alta) (Artículos originales 4, 5 y 6).

IV. RESULTADOS.

Modelo I: El absceso periodontal.

Artículo original 1. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27 (6).

Herrera, D., Roldán, S., Sanz, M.

“Review article: the periodontal abscess”

Artículo original 2. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27 (6).

Herrera, D., Roldán, S., González, I., Sanz, M.

“The periodontal abscess: I. Clinical and microbiological findings.”

Artículo original 3. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27 (6).

Herrera, D., Roldán, S., O'Connor, A., Sanz, M.

“The periodontal abscess: II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotics regimes”.

Modelo II: Periodontitis del adulto.

Artículo original 4. *European Journal of Oral Sciences* (enviado para publicación).

Sanz, M., van Winkelhoff, AJ., **Herrera, D.**, Dellelijn-Kippuw, N., Simón, R., Winkel, EG.

“Prevalence of putative periodontal bacteria in the subgingival microflora of adult periodontitis patients. A comparison between Spain and The Netherlands”.

Artículo original 5. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27 (1).

van Winkelhoff, AJ., **Herrera, D.**, Winkel, EG., Dellelijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, CMJE., Sanz, M.

“Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain.”.

Artículo original 6. *Journal of Clinical Periodontology* 2000; 27 (8).

Herrera, D., van Winkelhoff, AJ., Dellelijn-Kippuw, N., Winkel, EG., Sanz, M.

“ β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands.

V. DISCUSIÓN.

MODELO I. Infección periodontal aguda: el absceso periodontal.

El absceso periodontal representa un episodio de destrucción periodontal activa, localizada y aguda⁸³, causada por bacterias de la microflora subgingival⁹². Como se ha analizado con anterioridad, esta patología aguda no está adecuadamente definida en la literatura, y hay una carencia de información con respecto a su diagnóstico, definición y categorización. Por ello, las recomendaciones habituales en relación con su manejo clínico y tratamiento no están basadas en la evidencia y tienen poca base científica.

El absceso periodontal: definición y categorización.

El absceso periodontal no es una entidad homogénea, desde un punto de vista etiológico. Se han propuesto diferentes clasificaciones con el objeto de categorizarlo (ver Artículo original 1), aunque *sin aportar explicaciones adecuadas con respecto a su etiología y a recomendaciones terapéuticas*. Por ello, basándonos en los datos expuestos en los Artículos originales 1, 2 y 3, proponemos una nueva clasificación basada en la etiología.

Clasificación del absceso periodontal basada en la etiología.

Un absceso periodontal puede ocurrir en una bolsa periodontal pre-existente, o en un surco gingival previamente sano. En el primer caso, proponemos la denominación de absceso periodontal “en periodontitis”, y en el segundo, absceso periodontal “sin-periodontitis”.

Absceso periodontal “en periodontitis”. Son abscesos que aparecen en una bolsa periodontal pre-existente, pudiendo relacionarse su aparición con dos posibilidades.

Absceso periodontal “por exacerbación”. Son abscesos que se desarrollan en bolsas pre-existente, ya sea por un cambio en la virulencia de las bacterias subgingivales, o por una disminución de las defensas sistémicas del huésped⁹². Dependiendo del momento en el que tienen lugar, pueden relacionarse con una periodontitis no tratada^{84.233}, con periodontitis recurrente en pacientes que se encuentran en la fase de mantenimiento del tratamiento periodontal^{87.88}, o con periodontitis refractaria⁸⁵.

Absceso periodontal “post-tratamiento”. Son abscesos que aparecen inmediatamente después de un tratamiento periodontal. En estos casos, los cambios que ocurren en el ambiente de la bolsa debidos al tratamiento puede conducir a la formación del absceso.

- Absceso periodontal “post-raspado”^{84.86}. Después de instrumentación mecánica periodontal se pueden dejar fragmentos de cálculo abandonados, o pueden ser empujados a hacia tejidos periodontales más profundos, causando un absceso.
- Absceso periodontal “post-cirugía”²³⁴. Puede relacionarse tanto con un raspado incompleto del cálculo, o con el uso de cuerpos extraños para los tejidos, como suturas, membranas de regeneración periodontal...
- Absceso periodontal “post-antibiótico”⁸⁹⁻⁹¹. Ocurre en pacientes que toman antibióticos sistémicos, sin una adecuada instrumentación mecánica. En este caso, la microflora del ambiente subgingival puede cambiar, conduciendo a una sobre-infección, que puede desencadenar un absceso.

Absceso periodontal “sin periodontitis”. Este tipo de abscesos se desarrollan en ausencia de bolsas periodontales aunque también pueden aparecer también en bolsas pre-existentes.

Absceso periodontal “por impactación”. Está relacionado con la impactación de cuerpos extraños en el surco gingival⁹²⁻¹⁰¹. Esta condición ha sido denominada también como absceso gingival^{11.86}, o como absceso de higiene oral¹⁰¹, si el cuerpo extraño estaba relacionado con las prácticas de higiene oral (cerdas del cepillo de dientes, estimuladores de encía...). No consideramos muy adecuado el término absceso gingival, porque estos abscesos por impactación pueden afectar estructuras más profundas en el periodonto, localizándose apicalmente a la encía. El nombre absceso de higiene oral es muy restrictivo, y excluye otros posibles objetos que pueden causar la misma condición clínica, como la impactación de un fragmento de una palomita de maíz.

Absceso periodontal “radicular”. En este caso, son factores locales asociados con la morfología externa de la raíz los que están directamente relacionados con la formación del absceso periodontal: diente invaginado¹⁰⁵, diente fisurado¹⁰⁴, reabsorción radicular externa¹⁰⁶, lágrimas de cemento^{95.103}, y perforaciones endodónticas^{86.102}.

Diagnóstico y tratamiento del absceso periodontal.

Absceso periodontal “en periodontitis”. En estos casos es muy importante disponer de registros adecuados y de una detallada historia de terapias periodontales previas.

Absceso periodontal “por exacerbación”. Deben de investigarse las posibles razones de cambios en el equilibrio huésped-bacteria (estrés, embarazo, alteraciones sistémicas...).

Absceso periodontal “post-tratamiento”. Es importante tener información detallada del tipo de tratamiento realizado. Cambios en la virulencia o composición bacteriana pueden estar

relacionados con una ingesta previa de antibióticos, principalmente penicilinas, por razones no orales.

El tratamiento del absceso periodontal “en periodontitis” se discutirá más adelante.

Absceso periodontal “sin periodontitis”.

Absceso periodontal “por impactación”.

La clave en el diagnóstico está normalmente en una historia cuidadosa (hábitos de higiene, hábitos alimenticios...) ^{94,100,101}. Los signos y síntomas típicos son dolor después de procedimientos de higiene oral ⁹⁴ o después de tomar algún alimento ⁹⁶, seguido por inflamación local. Normalmente son de corta duración, aunque en algunos casos se ha observado una duración más larga ⁹³. El diagnóstico se puede confirmar con la detección del objeto durante el desbridamiento, aunque en algunos casos no se llega a encontrar ^{99,100}.

Un tratamiento conservador resuelve la situación aguda ^{94,100}, por medio de la eliminación del cuerpo extraño (si es posible) y un desbridamiento cuidadoso. Después de un periodo de tiempo corto se debe de verificar que el área está sana de nuevo. En casos con un periodo largo de evolución, o asociados con una gran destrucción periodontal, la cirugía puede ser la primera opción de tratamiento ^{93,99}.

Absceso periodontal “radicular”.

La clave para el diagnóstico, en los casos de perforaciones radiculares, será una historia reciente de tratamiento de conductos radiculares ¹⁰². Los dientes fisurados suelen asociarse a grandes restauraciones ¹⁰⁴. El diagnóstico radiográfico nos dará una respuesta definitiva en el caso de anomalías o alteraciones en la raíz.

El grado de afectación de la raíz determinará las posibilidades de tratamiento. Un diente fisurado normalmente tiene un pronóstico imposible, y hay que extraerlo ¹⁰⁴. El tratamiento de una perforación radicular está influenciado por su tamaño y localización ¹⁰². Las lágrimas de cemento requieren normalmente un acceso quirúrgico ⁹⁵, o raspado si somos capaces de eliminar así la lágrima ¹⁰³. En casos de reabsorciones radiculares externas y dientes invaginados, las posibilidades de tratamiento quedan determinadas por su extensión y el grado de afectación de la raíz.

Descripción clínica y microbiológica del absceso periodontal “en periodontitis”.

En nuestro estudio de serie de casos (Artículo original 2), seleccionamos el absceso periodontal “en periodontitis” debido a cuatro razones: su relativamente alta prevalencia dentro de las emergencias en odontología y en los pacientes con periodontitis ^{11,57,71,88,233,235}; su

relación directa con la periodontitis y las bolsas periodontales, que afecta no solo a pacientes no tratados, sino también a pacientes en tratamiento activo o en la fase de mantenimiento⁸⁴⁻⁸⁸; su papel como una de las causas más importante de extracción dentaria y de pérdida de dientes, sobre todo en pacientes en mantenimiento^{87,88,236}; y por la posibilidad de complicaciones, debidas a una posible bacteremia, que puede causar infecciones en otras zonas del cuerpo²³⁷⁻²⁴².

Hemos incluido tanto abscesos periodontales “por exacerbación”, en pacientes con periodontitis no tratada y en pacientes en mantenimiento, y abscesos periodontales “post-tratamiento”, observados después de raspado y alisado radicular. Parece lógico que existan diferencias importantes entre los abscesos periodontales “en periodontitis” y “sin-periodontitis”, pero no hemos detectado diferencias entre los abscesos “por exacerbación” o “post-tratamiento”, tanto respecto a parámetros clínicos como microbiológicos.

Solo otros dos estudios^{83,111} han descrito series importantes de abscesos periodontales, pero ninguno de ellos ha señalado qué tipo de abscesos se incluían ni la situación periodontal de los pacientes.

De los resultados de nuestra serie de casos, hemos definido un grupo de características para este tipo particular de abscesos periodontales. Estas características incluyen aquellas relacionadas con la infección aguda (dolor, hinchazón localizada), y con la destrucción periodontal activa (bolsa periodontal profunda, sangrado al sondaje, supuración, movilidad dentaria). Por otro lado, es raro encontrar trayectos fistulosos, puede detectarse linfadenitis cervical pero no con frecuencia, y el incremento en el número de leucocitos en la sangre puede ocurrir en un tercio de los pacientes. La microflora aislada en los abscesos periodontales “en periodontitis” parece similar a la encontrada en bolsas periodontales en periodontitis del adulto, con altas prevalencias de patógenos periodontales.

Susceptibilidades a antimicrobianos de patógenos aislados en abscesos periodontales “en periodontitis”.

Como se ha revisado previamente, el conocimiento sobre las susceptibilidades a antimicrobianos de las bacterias aisladas en abscesos periodontales es escasa y muy limitada^{85,89,90}.

Hemos tratado de aportar más información, y seleccionamos el prodecimiento Spiral Gradient Endpoint (SGE) por su capacidad para calcular valores CMI discretos, en vez de valores CMI convencionales^{204,205}. Ningún estudio ha evaluado las susceptibilidades de las bacterias periodontales por medio de este sistema.

Con respecto a los antibióticos evaluados, los resultados con azitromicina demostraron discrepancias importantes entre cepas que pertenecían a la misma especie bacteriana. Nuestros resultados mostraron diferencias considerables con los obtenidos en otros estudios ^{223,224}. Sin embargo, los valores para un importante número de cepas concordaba con los de la literatura, mientras que otras presentaban valores mucho más elevados, principalmente respecto a *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, y *P. micros*.

Los resultados con amoxicilina/clavulanato demostraron un patrón más consistente y definido. La mayoría de las cepas de *P. intermedia*, *P. melaninogenica*, *C. rectus*, y *P. micros*, mostraron un patrón homogéneo de valores CMI. Por el contrario, una proporción importante de cepas de *P. gingivalis* y *F. nucleatum* ofrecieron valores más altos de lo normal.

Las diferencias pueden ser atribuidas a diferentes factores: la metodología usada, SGE frente a dilución en agar ^{217,223,224}, las variables comparadas, CMI90 ^{217,224} o CMI modal ²²³; el origen de las cepas estudiadas, ya fueran de abscesos periodontales, aislamientos orales sin definir ²²⁴, o muestras subgingivales ^{217,223}; o incluso, el diferente origen geográfico, España ²¹⁷, el Reino Unido ²²⁴ o Finlandia ²²³.

Están poco claras otras razones no metodológicas para estos hallazgos. La sospechada mayor virulencia de las cepas aisladas en abscesos periodontales ⁹² no debe ser excluida, aunque otros factores parecen tener más influencia. Por ejemplo, la exactitud del procedimiento SGE con anaerobios estrictos no está un bien definida ^{204,205}. Además, algunas de las cepas se aislaron antes de que el paciente iniciara el tratamiento antibiótico, mientras que otras cepas se aislaron durante o después del tratamiento, y no se pudieron estudiar sus resultados por separado debido al bajo número de cepas en ambos grupos.

Por lo tanto, los resultados deben ser interpretados con cuidado, y se hacen necesarios nuevos estudios que confirmen estos hallazgos.

Cuando se comparan los resultados del test in vitro con los de la respuesta in vivo a los antibióticos sistémicos, aparecen algunos hallazgos interesantes. Azitromicina fue muy efectiva in vivo, en cuanto a resultados a corto plazo, frente a *B. forsythus* y especies negro-pigmentadas, incluyendo *P. intermedia* y *P. gingivalis*. Sin embargo, la efectividad fue muy limitada con *F. nucleatum* y *P. micros*. Los resultados de los tests in vitro mostraron, como se ha comentado, una gran variabilidad entre las cepas (ver Tabla 6 en el Artículo original 3). Este antimicrobiano demostró la mayor efectividad tanto in vivo como in vitro con *P. gingivalis*, lo que concuerda con un estudio previo en el que se demostró in vitro la

susceptibilidad de esta especie bacteriana frente a azitromicina ²²³. Se necesitan más estudios para evaluar las susceptibilidades de otros patógenos periodontales.

Amoxicilina/clavulanato demostró una alta capacidad in vivo para erradicar *P. micros* y *P. intermedia*, mientras que se observaron resultados más variables frente a otros patógenos. Los resultados in vitro confirmaron la excelente actividad de este agente frente a las bacterias estudiadas, con la excepción comentada de algunas cepas de *P. gingivalis* y *F. nucleatum*. Por lo tanto, estos resultados no se correlacionan bien con los hallazgos in vivo.

La comparación entre los resultados in vivo y in vitro puede considerarse controvertida. En la mayoría de infecciones serias por anaerobios, parece haber una buena correlación entre los resultados de los tests de susceptibilidad y la respuesta clínica, pero es mucho más difícil correlacionar resultados de susceptibilidad con los resultados clínicos en casos específicos ¹⁷⁴. Muchos factores pueden tener influencia sobre esta correlación: los efectos del drenaje quirúrgico, del desbridamiento y de otras técnicas; la salud general del paciente; la presencia de múltiples microorganismos; otros factores relacionados con la terapéutica antimicrobiana en sí misma (la velocidad de inicio, la farmacología de la droga...); la presencia de enzimas, un bajo pH, o un bajo Eh, en el lugar de la infección; etc. ¹⁷⁴.

Tratamiento del absceso periodontal “en periodontitis”.

La extracción del diente siempre es una opción cuando la destrucción del soporte del diente claramente compromete su pronóstico ^{12,111}. El drenaje y el desbridamiento representan el tratamiento clásico de todos los abscesos, incluidos los periodontales, y debe de ser, por lo menos, parte del tratamiento, ya sea de manera inmediata o diferida ^{11,12,86}. El objetivo más importante cuando se trata un absceso es erradicar la fuente de la infección, lo que normalmente se consigue mediante incisión y drenaje. Además, aunque sean necesarios los antibióticos sistémicos, la incisión y el drenaje pueden ayudar a la acción del antibiótico mediante la eliminación de barreras físicas para su penetración. Por lo tanto, el antibiótico no debe de ser considerado como un sustituto del drenaje ¹⁷⁹. Se ha sugerido también que los colgajos de acceso puedan ser parte del tratamiento inmediato de los abscesos periodontales ^{84,92,243}. Sin embargo, esta alternativa no ha sido evaluada de manera apropiada, ya que su enfoque se basa en informes de casos ⁸⁴, o en experiencia personal ²⁴³. La combinación del drenaje y desbridamiento con antibióticos sistémicos es probablemente el procedimiento más común en el manejo del absceso periodontal agudo. Los únicos tres estudios longitudinales que han evaluado el tratamiento de esta patología (incluyendo el Artículo original 3), han evaluado este enfoque ^{83,111}.

Deberíamos responder a dos preguntas en relación con este tratamiento. ¿Es suficiente el drenaje y desbridamiento para resolver abscesos periodontales? Y si no es así, y el drenaje y desbridamiento se va a emplear en combinación con antibióticos sistémicos, ¿cuáles son las drogas y dosis más efectivas, y cuál es la secuencia adecuada de realizar ambos tratamientos?

La primera pregunta es un tema de discusión continua. Como se ha revisado, algunos autores restringen el uso de antimicrobianos sistémicos, en el tratamiento de abscesos agudos, a situaciones específicas, como la afectación sistémica ^{11,12,73,125,179}, la necesidad de premedicación ¹², la presencia de infección difusa ¹², y las dificultades para establecer un drenaje ⁷³. Estos factores tuvieron muy poca influencia en los abscesos periodontales de nuestra serie. Sin embargo, la prescripción de antibióticos para tratar abscesos periodontales es muy común en la práctica clínica ^{71,244}.

Además, no hay ninguna evidencia que pruebe que el drenaje y desbridamiento consigan un resultado beneficioso en el tratamiento de los abscesos periodontales. De hecho, los estudios longitudinales disponibles han evaluado terapias combinadas: incisión y drenaje con metronidazol sistémico ¹¹¹; drenaje, irrigación, raspado supragingival y tetraciclina ⁸³; y azitromicina o amoxicilina/clavulanato, con desbridamiento diferido (Artículo original 3).

Después de revisar estos trabajos, puede apoyarse científicamente el tratamiento del absceso periodontal con el uso combinado de drenaje y desbridamiento más antibiótico sistémico. Es necesario, por supuesto, realizar estudios paralelos aleatorizados que incluyan un grupo de drenaje y desbridamiento como única terapia.

La segunda cuestión trata de determinar, si los antibióticos son necesarios, qué antibióticos deberían emplearse y a qué dosis, y qué secuencia de tratamientos debería de seguirse.

La Academia Americana de Periodoncia ¹²⁵ recomienda amoxicilina, con una dosis de ataque de 1 g, y dosis de mantenimiento de 500 mg, 3/día, 3 días. En ese momento, la reevaluación del paciente decidirá si se necesita más antibiótico o un reajuste en la dosis. En el caso de alergias a penicilinas, sugieren azitromicina (1 g de dosis de ataque, y 500 mg los siguientes 2 días), o clindamicina (600 mg de dosis de ataque, y luego 300 mg, 4/día, durante 3 días). Se señala además que el uso de estos antibióticos debe de hacerse en combinación con incisión quirúrgica y drenaje, y solo en caso de haber manifestaciones sistémicas.

De los cuatro regímenes antibióticos evaluados en seguimientos longitudinales, metronidazol ¹¹¹ no fue efectivo a largo plazo respecto a la única variable considerada, la supervivencia del diente. El uso de tetraciclina ⁸³ fue capaz de obtener una importante ganancia en el nivel de inserción

clínico. Los regímenes con azitromicina y amoxicilina/clavulanato fueron efectivos en la mejora de los parámetros clínicos durante al menos un mes (Artículo original 3).

Respecto a la dosificación adecuada, el uso de antibióticos sistémicos en infecciones orofaciales debe seguir algunos principios básicos¹⁷⁹: empleo de dosis altas durante un periodo de tiempo corto con el objeto de conseguir niveles sanguíneos de 2-8 veces más altos que los valores CMI; uso de intervalos de dosificación frecuentes; y determinación de la duración de la terapia según la remisión de la enfermedad. Estos principios se oponen a otras reglas terapéuticas clásicas, como el uso prolongado del tratamiento para destruir microorganismos resistentes y evitar infecciones rebote, y que las dosis de antibiótico y su duración pueden extrapolarse de una infección a otra. En abscesos dentoalveolares, se ha demostrado que regímenes antibióticos más cortos eran tan efectivos como los convencionales^{72,73}. Siguiendo los principios y estudios comentados, se puede sugerir una dosificación de corta duración pero de elevada dosis para el tratamiento de abscesos periodontales agudos.

Respecto a la concentración de las drogas en las localizaciones diana, después de dosis habituales, amoxicilina ha demostrado valores efectivos, de 3-4 $\mu\text{g/ml}$, en fluido crevicular^{219,245,246}. Sin embargo, se ha observado una gran variabilidad entre pacientes²⁴⁶ y en el interior de los abscesos periodontales la concentración es mucho más baja²⁴⁷. Las concentraciones de ácido clavulánico son menores (0.40 $\mu\text{g/ml}$), pero consideradas como efectivas, debido a que 0.25 $\mu\text{g/ml}$ de ácido clavulánico son capaces de mantener los CMI para amoxicilina por debajo de 2 $\mu\text{g/ml}$ ²⁴⁶. Los niveles de amoxicilina en sangre bajan rápidamente, precisando tomas frecuentes para mantener los niveles adecuados²⁴⁶. Como se ha revisado, las penicilinas, en particular amoxicilina, son los antibióticos más empleados en el tratamiento de abscesos agudos^{9,70,71}, incluso recomendados por los periodoncistas americanos¹²⁵, a pesar de los bajos niveles que alcanza la droga dentro del absceso. Además, está documentada la presencia de β -lactamasas en el área subgingival y en abscesos periodontales^{202,206,207}, lo que ha conducido a la sugerencia de usar amoxicilina combinada con un inhibidor de β -lactamasas, como el ácido clavulánico^{76,210}. Esta combinación se ha evaluado en el tratamiento de abscesos periodontales “en periodontitis” (Artículo original 3), y los resultados eran satisfactorios desde los puntos de vista clínico y microbiológico. Sin embargo, la frecuencia de efectos adversos leves, y el mal cumplimiento debido a una dosificación exigente, hace que el tratamiento, aunque efectivo, no sea muy conveniente.

Azitromicina es un macrólido que, a pesar de los bajos niveles plasmáticos que alcanza ²⁴⁸, consigue normalmente elevadas concentraciones tisulares en diferentes zonas diana. Las concentraciones tisulares pueden ser hasta 100 veces mayores que las sanguíneas ²⁴⁹, y la de los tejidos gingivales es hasta 20 veces más alta que la sérica ²⁴⁸. Estas altas concentraciones tisulares pueden ser debidas a la capacidad de difusión de la droga en células como los macrófagos ^{249.250.250}, leucocitos polimorfonucleares ²⁴⁹, y fibroblastos ²⁵⁰. Estas propiedades farmacocinéticas permiten una administración de azitromicina con solo tres tomas en tres días consecutivos, puesto que los altos niveles tisulares se mantienen durante muchos días ^{249.251.251}. La azitromicina ha sido recomendada por la Academia Americana de Periodoncia ¹²⁵ en el tratamiento de abscesos periodontales agudos en caso de alergias a β -lactámicos. También se ha evaluado su efecto, combinado con cirugía, en el tratamiento de infecciones agudas orales ²⁵², y los resultados evaluados demostraron que podía ser un tratamiento efectivo, y más adecuado que el uso de espiramicina. Se ha demostrado la eficacia de este antimicrobiano, desde puntos de vista clínicos y microbiológicos, en el tratamiento de abscesos periodontales "en periodontitis" (Artículo original 3), con resultados comparables a los de amoxicilina/clavulanato. Sus propiedades farmacológicas, junto con el sencillo cumplimiento por parte del paciente, puede hacer de azitromicina una buena opción en el tratamiento de las infecciones periodontales.

La tetraciclina puede alcanzar concentraciones mucho más elevadas en fluido crevicular que en suero, después de dosis múltiples ^{128.173.219}. Esta particularidad ha hecho que las tetraciclinas fueran muy populares en periodoncia en los años ochenta. Sin embargo, el desarrollo de resistencias, los resultados variables, y el efecto bacteriostático, han hecho que disminuya su popularidad, especialmente en Europa. Sin embargo, su uso en el tratamiento de abscesos periodontales ha demostrado ser efectivo ⁸³, en combinación con drenaje, irrigación y raspado supragingival. A pesar de que los efectos adversos son raros ¹⁷², los problemas en el cumplimiento son frecuentes, puesto que se necesitan cuatro tomas al día, durante dos semanas.

El metronidazol es un antimicrobiano bactericida, efectivo frente a bacterias anaerobias. Las razones para su uso en periodontitis recaen sobre el hecho de que la mayoría de los patógenos periodontales son anaerobios estrictos. Las concentraciones en fluido crevicular y en plasma tras dosis múltiples alcanzan valores altos ^{173.219}. Sin embargo, se han observado niveles mucho más bajos dos horas después de una dosis única de 250 mg ^{219.253}. Por lo tanto, el mantenimiento de niveles efectivos mediante tomas frecuentes parece crítico para esta droga.

Cuando se utilizó en el tratamiento de abscesos periodontales, en combinación con incisión y drenaje, demostró malos resultados respecto a la supervivencia de los dientes a largo plazo ¹¹¹.

La eficacia in vitro de los antimicrobianos analizados más arriba frente a bacterias aisladas en abscesos periodontales apenas ha sido evaluada. Los resultados con azitromicina y amoxicilina/clavulanato (Artículo original 3) se han discutido con anterioridad, así como la correlación entre los hallazgos in vitro y la respuesta in vivo.

Basándonos en los datos revisados en la literatura sobre el tratamiento de abscesos periodontales ^{83.111.125.179}, en su microbiología ^{69.83.91.107-110}, y en nuestros resultados sobre microbiología (Artículo original 2), sobre respuesta al tratamiento y sobre susceptibilidades a antimicrobianos (Artículo original 3), se pueden hacer una serie de consideraciones sobre este tema. De acuerdo con los resultados in vitro, amoxicilina/clavulanato y metronidazol son muy efectivos frente a la mayoría de los patógenos periodontales. Azitromicina y tetraciclina también son efectivos frente a varios patógenos pero se ha observado una mayor variabilidad en sus resultados (Tablas XII-XV). Por el contrario, la dosificación más sencilla es, sin duda, la de azitromicina, siendo la más exigente la de la tetraciclina. Los efectos adversos son más frecuentes con metronidazol y muy escasos con azitromicina ¹⁷². Con el empleo de tetraciclina se puede esperar un incremento en las resistencias, mientras que los macrólidos y el metronidazol no han desarrollado tantas resistencias como las tetraciclinas y los β -lactámicos, especialmente en España. Por último, hay eficacia documentada en el tratamiento de los abscesos periodontales, con tetraciclina, azitromicina y amoxicilina/clavulanato.

Teniendo en cuenta todos estos factores, es difícil hacer una recomendación, pero sería adecuado realizar nuevos estudios con azitromicina, comparando su efecto con el del drenaje y desbridamiento.

MODELO II: Infección periodontal crónica: Periodontitis crónica del adulto.

Prevalencia y proporciones de la flora total de los patógenos periodontales.

En este estudio se ha comparado la prevalencia de patógenos periodontales entre España y Holanda (Artículo original 4), y esos resultados fueron comparados además con los de otros estudios de prevalencias bacterianas (Tablas IV, V y VI). En conjunto, se ha sugerido un rango más común de prevalencias y proporciones de la flora total para cada especie bacteriana en periodontitis del adulto, con estudios realizados en todo el mundo (Tablas V y VI).

Cuando comparamos los resultados en nuestras dos poblaciones, obtenidos siguiendo idénticas metodologías, los resultados eran similares y dentro de los rangos comunes establecidos, con tres interesantes excepciones: las prevalencias de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *P. micros*.

Con respecto a *A. actinomycetemcomitans*, los pacientes españoles mostraron una prevalencia significativamente más baja que la de los pacientes holandeses, e inferior a la de los valores registrados en los estudios revisados ^{139.140.142.144.149.152.154.155.159-162}. Las razones para estas diferencias no están claras: los factores metodológicos pueden tener influencia sobre la prevalencia de este patógeno, pero también puede que se deba a verdaderas diferencias geográficas. Sin embargo, esta última posibilidad no se puede confirmar con los datos disponibles, ya que éstos también proceden de nuestro laboratorio, y confirman la baja prevalencia ²⁵⁴.

P. gingivalis mostró, por el contrario, una mayor frecuencia de detección en España, cuando se comparaba tanto con las prevalencias recogidas en la literatura, como con los datos de los pacientes holandeses. La prevalencia del presente estudio en los pacientes de Holanda fue algo más baja que las de otros estudios del mismo país ^{123.149}, aunque todos esos porcentajes encajaban dentro del rango recogido en la revisión de la bibliografía ^{123.138-140.142.149.161.163-165}. Por el contrario, los resultados en España fueron comparables al 60% obtenido en un estudio anterior de nuestro laboratorio ²⁵⁴.

P. micros fue más prevalente en Holanda, confirmando resultados previos evaluados en este país ¹⁵⁷, y comparable con estudios en Grecia ¹⁶⁰ y la República Dominicana ¹³⁸. La presencia en los pacientes españoles fue menos frecuente, y similar a la de EE.UU. ¹⁵⁸, y estudios previos de nuestro laboratorio ²⁵⁴. Van Dalen et al. ¹⁵⁷ sugirieron que la mayor prevalencia en su estudio, en comparación con la de Rams et al. ¹⁵⁸, se podía deber a un examen más cuidadoso de las placas, dado que sus pacientes tenían no solo más prevalencia, sino un menor porcentaje de flora total. Sin embargo, esta razón no encaja con los pacientes españoles de nuestro estudio, que tenían no solo prevalencia más baja, sino también una baja proporción de flora. El hábito de fumar pudo tener alguna influencia en los resultados, puesto que los fumadores parecen tener prevalencias más altas de este patógeno ¹⁴⁸, y los pacientes holandeses de nuestro estudio eran más fumadores.

Porcentaje de microflora total resistente en susceptibilidades de placa entera.

Las concentraciones de puntos de corte se seleccionaron siguiendo las recomendaciones de la NCCLS, y las concentraciones pico determinadas en el fluido crevicular (ver Tabla VIII), a pesar de que no existe un consenso en relación los puntos de corte a utilizar con las bacterias subgingivales, como se ha discutido con anterioridad.

Se encontraron diferencias significativas cuando se compararon los resultados entre los grupos de pacientes españoles y holandeses (Artículo original 5). También en la comparación de nuestros resultados con estudios publicados previamente (ver Tablas X y Xbis), se observaron algunas diferencias importantes.

El porcentaje de flora anaerobia resistente a penicilina encontrada en el grupo español fue, de lejos, el más alto encontrado en la literatura ^{188.209.213}, mientras que el porcentaje del grupo holandés se ajustaba dentro del rango común. Además, aunque el porcentaje de muestras con >5% de microflora resistente fue bastante elevado en los pacientes holandeses en comparación con otros estudios ^{64.213}, los resultados españoles fueron más de tres veces más altos.

El porcentaje de flora resistente a amoxicilina también fue más alto en el grupo español, en comparación con el grupo holandés. Los resultados de este grupo estuvieron en línea con estudios previos en periodontitis del adulto ^{64.112.213}, mientras que los resultados españoles estaban más cerca de los valores calculados en localizaciones refractarias o activas ^{64.213}. Lo mismo ocurrió con el porcentaje de muestras con >5% de flora resistente ^{64.213.255}.

Los bajos porcentajes de flora resistente y de muestras con >5% de flora resistente a amoxicilina/clavulanato confirmaron la hipótesis de que los niveles altos de resistencia frente a penicilina y amoxicilina en España podían estar relacionados con la producción de β -lactamasas.

Eritromicina mostró un porcentaje más alto de flora resistente en el grupo holandés que en el español. El porcentaje de este último encajaba mejor en el rango común de la literatura para localizaciones severas, activas o refractarias ^{64.112.213.255}. El porcentaje de muestras resistentes fue similar en ambos grupos, y comparable a valores de estudios previos en pacientes refractarios ^{64.255}, en vez de a los recogidos en pacientes con periodontitis del adulto ^{64.213}.

El porcentaje medio de resistencia a tetraciclina en los pacientes españoles era similar al observado en localizaciones activas, severas o refractarias ^{40.64.112.213.255}. Por el contrario, los resultados en el grupo holandés se situaban incluso por debajo de los rangos normales calculados

en periodontitis del adulto ^{64.112.213}. La misma situación ocurría con respecto al porcentaje de muestras con >5% de flora resistente ^{64.213.255}.

Con respecto a clindamicina, los resultados pueden ser interpretados de la misma manera que los de tetraciclina, teniendo en cuenta que en nuestro estudio empleamos un punto de corte de 4 µg/ml, más alto que el usado con más frecuencia en los estudios revisados (2 µg/ml) ^{64.112.213.255}.

El porcentaje de microflora resistente a metronidazol demostró diferencias importantes entre los pacientes españoles y holandeses, mientras que Walker et al. ²¹³ calcularon un valor intermedio. El porcentaje de muestras con >5% flora resistente osciló entre 76.7-89.2% en las tres poblaciones mencionadas.

El alto nivel de resistencia en las muestras españolas frente a β-lactámicos, tetraciclina y clindamicina merece discusión adicional.

Frecuencia de detección de patógenos resistentes en procedimiento de placa entera.

Se evaluó también la microflora que crecía en placas de medios con diferentes antibióticos a concentraciones predeterminadas, para estudiar la presencia de patógenos periodontales seleccionados. Estas bacterias, cuando se detectaban, podrían ser consideradas como resistentes en esas condiciones. También otros estudios han empleado este enfoque, principalmente con el objetivo de caracterizar la microflora resistente frente a antibióticos seleccionados, o para aislar especies bacterianas específicas ^{40.184.186.256}.

Los resultados aparecen en el Artículo original 5, y de nuevo, el nivel de resistencias en España frente a antibióticos β-lactámicos, tetraciclina y clindamicina, fue claramente más alto que en Holanda.

Frecuencia de detección de bacterias productoras de β-lactamasas.

Hemos evaluado la presencia de bacterias productoras de β-lactamasas en la microflora subgingival. Primero, aislando las colonias sospechosas (las que crecían en placas con amoxicilina, pero no en placas con amoxicilina/clavulanato). Este enfoque también lo han empleado otros estudios ^{188.207-210}. Y segundo, evaluando las colonias seleccionadas mediante discos de nitrocefina, un método que ha demostrado su fiabilidad ²⁰⁷. Los métodos y resultados de estudios previos están recogidos en las Tablas XVII y XVIII.



Cuando se trata de explicar la alta prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas calculada en el grupo español, es probable que el elevado consumo de antibióticos en España pueda ser responsable de este resultado. La relación entre el consumo de antibióticos y el incremento en las resistencias bacterianas está documentado en la literatura ^{2,24}. España tiene, por ejemplo, los niveles más altos en producción de β -lactamasas por *Haemophilus* sp. en Europa ¹³⁻¹⁵. Nuestro estudio confirma estos hechos, y la misma tendencia ocurre en las bacterias subgingivales, responsables de la periodontitis. La prevalencia fue más elevada, tanto en comparación con la población holandesa, como con resultados previos en poblaciones similares ^{188,206,207,210}. Además, en comparación con el grupo holandés, las muestras españolas tenían recuentos significativamente más altos de colonias productoras de β -lactamasas en placas con amoxicilina, y de especies bacterianas diferentes productoras de β -lactamasa (ver Artículo original 6). De manera paralela, se observó un patrón claro de mayor consumo de antibióticos en los pacientes españoles, puesto que el 54.8% de ellos los habían tomado durante los 12 meses previos, frente a 13% de los pacientes holandeses. Entre los pacientes que reconocían consumo previo de antibióticos, un 48% señalaron amoxicilina.

Aunque la prevalencia de las bacterias productoras de β -lactamasas sea elevada, representaron solo un 0.44% de la flora anaerobia total en España, y un 0.18% en Holanda. Este bajo porcentaje respecto a la flora total también ha sido calculado en otros estudios (0.7-1.3%) ^{188,210}. Sin embargo, a pesar de representar una pequeña parte de la microflora total, Walker et al. ²⁰⁶ concluyeron que el 60% de las localizaciones con actividad β -lactamasa tenían suficiente capacidad para inactivar a penicilinas en el fluido crevicular, después de una dosificación sistémica habitual. Por otro lado, la mayoría de las bacterias productoras de β -lactamasas en la flora subgingival pertenecen al género *Prevotella* ^{81,188,202,207,209,210,226}, incluyendo conocidos patógenos como *P. intermedia/nigrescens* y *P. melaninogenica*. Además, Wasfy et al. ²²⁷ describieron *P. gingivalis* productores de β -lactamasas en niños egipcios, y también se ha detectado con frecuencia actividad β -lactamasa en *F. nucleatum* ⁴⁴. Finalmente, se debe de subrayar su importancia clínica, porque se ha considerado que la presencia de *Bacteroides* productores de β -lactamasas era la causa principal de fracaso clínico durante tratamiento con penicilinas en abscesos orofaciales ²⁵⁷, y en infecciones orofaciales o del aparato respiratorio ²²⁶.

La importancia cualitativa, más que cuantitativa, de la producción de β -lactamasas está además apoyada por nuestros resultados, que demostraron el crecimiento de patógenos

periodontales en placas con penicilina y amoxicilina, con prácticamente no crecimiento cuando se añadía un inhibidor de β -lactamasas (clavulanato) a las placas con amoxicilina (Artículo original 5).

Resistencias bacterianas en España en la microflora subgingival frente a penicilinas, tetraciclina y clindamicina.

Respecto a penicilina y amoxicilina, parece claro que la producción de β -lactamasas es el mecanismo responsable de los resultados explicados. Esta afirmación se basa tanto en los resultados obtenidos con amoxicilina/clavulanato, como en la evaluación directa de la producción de estas enzimas (Artículo original 6). El alto nivel de producción de β -lactamasas en la flora subgingival parece a su vez relacionarse con el elevado consumo de antibióticos β -lactámicos en España, especialmente de amoxicilina. Y este consumo excesivo de amoxicilina se ha observado tanto en España^{21,22} como en nuestra población de pacientes con periodontitis.

Para tetraciclina, el alto nivel de resistencia encontrado concuerda con los resultados en bacterias anaerobias no orales, que han mostrado un claro incremento de las resistencias en Europa. Además, los CMI de tetraciclina en el sur de Europa (incluyendo España) son claramente más elevados que los de países nórdicos y del este de Europa¹⁷.

Estos resultados pueden estar relacionados con diferentes factores. Los genes que codifican la resistencia a tetraciclina están ampliamente extendidos en la microflora subgingival⁴⁰, y la observación de los mismos mecanismos de resistencia en diferentes especies sugiere una extensa transmisión horizontal de elementos genéticos^{3,38,39}. Los cambios que ocurren en la microflora subgingival después de tomar tetraciclina muestran un incremento dramático en las resistencias bacterianas, aunque probablemente sea debido a una selección de especies con resistencia natural¹⁸⁵. Sin embargo, se ha descrito también una emergencia insidiosa de resistencias tras toma de antibióticos³⁸, y ciertos patógenos han mostrado incrementos importantes en sus valores CMI in vitro²³¹. La existencia de un sistema de transferencia inducible de resistencia a tetraciclina puede relacionarse con estos factores³⁴, así como la descripción de transmisión horizontal de resistencias frente a penicilinas y tetraciclínicas de manera conjunta³⁷. Todos estos factores hacen que la resistencia a tetraciclinas esté ampliamente extendida, sea fácilmente transmisible entre especies en la microflora subgingival, y que la transferencia se incremente con la toma del antibiótico.

El alto nivel de resistencias a clindamicina en España no supone un hallazgo inesperado, puesto que esta resistencia entre bacterias anaerobias no orales en España es, de lejos, la más elevada de

Europa ¹⁷. Los genes que la codifican se caracterizan por su gran movilidad y capacidad de extenderse rápidamente ³⁴, lo que ha conducido a un rápido aumento en las resistencias en, por ejemplo, el grupo de *B. fragilis*, tanto en España ⁵⁴, como en EE.UU. ⁵⁰, en relación con el elevado uso de este antibiótico ⁵⁴.

Implicaciones.

Se han seleccionado tres factores como las razones más importantes de los elevados niveles de resistencias bacterianas en España: alto consumo de antibióticos, prescripciones innecesarias y erróneas, y uso inapropiado por parte de los pacientes ¹⁸. También se han tratado de explicar las posibles razones del excesivo e injustificado consumo de antibióticos en España en diferentes informes ^{18,258}, concluyendo que el problema afecta a todos los agentes involucrados (pacientes, médicos, farmacias, compañías farmacéuticas, gobiernos...).

Parece necesario pues reducir el uso de los antimicrobianos sistémicos en España, y en nuestro caso particularmente enfocado a una disminución en su uso en odontología ⁴.

En el tratamiento de infecciones agudas orofaciales, el antibiótico, si es necesario, debe usarse con altas dosis de corta duración, y debe discontinuarse tan pronto como se haya resuelto la infección. En el tratamiento de abscesos, en donde las drogas penetran con dificultad, la incisión y el drenaje se hacen obligatorios.

La profilaxis antibiótica frente a infecciones asociadas con bacteremias debería basarse en principios claros, después de una evaluación riesgo/beneficio. Estos principios cambian continuamente, por lo que se hace necesaria información actualizada de manera continua.

El uso de antibióticos profilácticos tras cirugía oral, para prevenir infecciones post-quirúrgicas en pacientes sin riesgos relacionados con bacteremias, no está demostrado de manera convincente ⁴. Un 80% de los periodoncistas en EE.UU. prescribían antibióticos tras cirugía periodontal en 1988 ²¹⁹. Sin embargo, solo cirugías con una alta tasa de infección, y/o la implantación de dispositivos protéticos pueden precisar de antibióticos profilácticos. En odontología, únicamente la colocación de implantes y quizá de membranas regenerativas, cumple esos criterios.

El uso de antimicrobianos sistémicos como terapia coadyuvante en periodontitis es un tema controvertido. Está aceptado que las periodontitis refractarias y los casos avanzados de periodontitis del adulto, así como formas de comienzo temprano, pueden beneficiarse del efecto adicional del antibiótico ^{126,259}. Pero éste debería seleccionarse con un estudio microbiológico de la flora subgingival, evaluando incluso las susceptibilidades a antimicrobianos ¹²⁵. Debe de evitarse el uso indiscriminado de antibióticos sistémicos en el

manejo de pacientes con periodontitis, puesto que el beneficio adicional de las drogas sistémicas parece ser limitado cuando se hace una selección empírica^{260,261}.

La segunda implicación importante es el papel de β -lactámicos, tetraciclina y clindamicina en el tratamiento de infecciones orofaciales por anaerobios, al considerar el alto nivel de resistencia encontrado en la flora subgingival. Por ello, estos antibióticos no deberían ser elegidos para el tratamiento de este tipo de infecciones. Sin embargo, son necesarios estudios in vivo con estos antibióticos, para determinar si el nivel de resistencia detectado se asocia a un mayor fracaso terapéutico.

VI. CONCLUSIONES.

Los abscesos periodontales deberían clasificarse de acuerdo con su etiología en dos grupos principales: aquellos relacionados con una bolsa periodontal pre-existente (absceso periodontal “en periodontitis”), y aquellos relacionados con un surco gingival previamente sano, en el que alteraciones radiculares o la impactación de cuerpos extraños pueden conducir a la formación de un absceso (absceso periodontal “sin-periodontitis”).

El absceso periodontal “en periodontitis” tiene unas características clínicas (asociado con una bolsa periodontal que sangra y supura, en un diente con una importante pérdida de soporte y movilidad) y microbiológicas (alta prevalencia de patógenos periodontales) determinadas. La afectación sistémica es poco frecuente, aunque se puede observar en algunos pacientes la presencia de linfadenitis y de un número elevado de leucocitos en sangre

El absceso periodontal “en periodontitis” puede tratarse de manera eficaz con antibióticos sistémicos (azitromicina o amoxicilina/clavulanato) y desbridamiento diferido, como se ha comprobado evaluando variables clínicas y microbiológicas a corto plazo.

Algunas cepas aisladas en estos abscesos periodontales “en periodontitis” mostraron una resistencia clara frente a los antibióticos evaluados, principalmente azitromicina, como se determinó por medio del procedimiento de Spiral Gradient Endpoint.

La composición de la microflora subgingival en periodontitis del adulto fue similar en dos grupos comparables de pacientes de España y de Holanda. Sin embargo, se observó una mayor prevalencia de *P. gingivalis*, y menor de *A. actinomycetemcomitans* y *P. micros* en el grupo español.

Se encontró un nivel más alto de resistencias bacterianas frente a β -lactámicos, tetraciclina y clindamicina, en la microflora subgingival en España, en comparación con la obtenida en Holanda, y con respecto a las variables porcentaje de microflora resistente, número de especies diferentes que crecían en los medios selectivos, y frecuencia de detección de patógenos periodontales resistentes.

Se observó una mayor prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas en España, tanto en comparación con el grupo holandés, como con otros estudios en diferentes países.

La composición y los perfiles de susceptibilidades a antibióticos de la microflora subgingival en pacientes españoles mostraron un patrón claramente diferenciado en comparación con los resultados obtenidos en los pacientes holandeses. Los resultados de susceptibilidades a antimicrobianos demostraron un nivel mayor de resistencia frente a penicilinas, tetraciclina, y clindamicina, probablemente relacionado con el mayor consumo de estos antibióticos en España.

TABLAS.

Tabla I. Consumo de antibióticos expresado como dosis diaria definida por 1000 habitantes en diferentes países europeos, y en diferentes años ^{18,19}.

	1976	1978	1983	1988	1992	1993
España	31	29	26	21,5	23	19
Francia					26,2	
Alemania					10,6	
Italia					14	
Reino unido					13,3	

Tabla II. Porcentaje de dosis diaria definida para cada grupo terapéutico en 1992 y 1993 en España ^{18,19}.

	1992	1993
Penicilinas	70%	63%
Macrólidos	18%	17%
Tetraciclina	6%	
Cotrimoxazol	6%	
Fluoroquinolonas		6%

Tabla III. Consumo total (en millones de envases) para cada grupo terapéutico, y para los agentes antimicrobianos más vendidos, en 1996 y 1997 en España ²⁰⁻²².

	1996	1997
Penicilinas de amplio-espectro		11,1
Macrólidos	9	8,8
Cefalosporinas	8,9	8,2
Quinolonas+metronidazol	2,6	2,5
Combinación de drogas	11,6	11,9
Amoxicilina	11,4	10,7
Ciprofloxacino	2,6	2,5
Claritromicina	2,3	2,3

Tabla IV. Material y métodos de estudios que describen la prevalencia de patógenos periodontales en diferentes países.

Autores	País	Año	Material		Ab.ex	Status		Toma de muestras				Medios		
			n	edad		Dx	Trat. prev.	Loc.	método	transp	tiempo	general	TSBV	Otros
Ali et al ¹⁵⁹	Camerún	1997	21	20-62	6	PA	No	2	2pp	VGMAIII	36-40h	BA	sí	sí
Dahlén et al ¹⁵⁵	Kenia	1989	20	30-65	na	General	?	1	1pp/cureta	VGMAIII	4/36-48h	BBA	sí	no
Ali et al ¹³⁹	Sudán	1994	25	22-70	6	P	No	1	3pp	VGMAIII	40-48h	BA	sí	sí
Dahlén et al ¹⁴²	China	1995	15	55-69	Na	General	No(peor gr.)	1	1pp	VGMAIII	10h	BBA	sí	sí
Dahlén et al ¹⁴²	China	1995	15	55-69	Na	General	No(mejor gr.)	1	1pp	VGMAIII	10h	BBA	sí	sí
Hagiwara ¹⁶³	Japón	1998	21	43-75	3	PA	No tratada	3?	1pp	PRAS	immed	CDC	sí	sí
Preus et al ¹⁴²	Sri lanka	1995	268	35-55	Na	General	No	1	3pp	PRAS	30h	TSA	sí	sí
Kamma et al ¹⁶⁰	Grecia	1994	10	25-35	?	PRP	No >6m	1	3pp	RTF	10min	ETSA	sí	no
Piccolomini ¹⁶²	Italia	1997	30	na	4	PA	No tratada	?	cureta	RTF	30min	ETSA	sí	no
Ali et al ¹³⁹	Noruega	1994	18	30-61	6	P	No	1	3pp	VGMAIII	24h	BA	sí	sí
Ali et al ¹⁵⁴	Rumania	1996	36	30-68	6	PA	No	1	3pp	VGMAIII	36-40h	BA	sí	sí
Dahlén&Wikström ¹⁴⁰	Suecia	1995	535	na	No	P.	No; varios	1	3pp	VGMAIII	?	BA	sí	sí
Slots et al ¹⁶¹	Suecia	1986	61	19-79	6	P.	no(activa)	1	3pp	VGMAIII	?	BBA	sí	no
Slots et al ¹⁶¹	Suecia	1986	20	30-75	6	P.	no(non-activ)	1	3pp	VGMAIII	?	BBA	sí	no
Papapanou et al ¹⁵²	Suecia	1993	192	30-65	No	General	?	6	1pp	VGMAIII	24h	BBA	sí	sí
McNabb et al ¹⁶⁷	Suiza	1992	30	35-44	12	General	No	1	3pp	RTF	15min	TS-BA	sí	no
van Dalen et al ¹⁵⁷	Holanda	1998	123	24-68	3	PA	No; >3m	4	2pp	RTF	24h	BA	no	no
van der Weijen et al ¹⁴⁹	Holanda	1994	91	19-54	No	P.	50no;41sí	4	2pp	RTF	48h	BA	sí	no
Rodenburg et al ¹²³	Holanda	1990	138	14-70	6	P.severa	No	3-4	2pp	RTF	45min	BA	sí	no
Slots et al ¹³⁸	Rep.Dominicana	1991	24	18-60	6	P	No	3	1pp	VGMAIII	24-48h	BBA	sí	sí
Rams et al ¹⁶⁸	EE.UU	1993	1447	36-89	3	PA-Ref.	Varios	3	1pp	VGMAIII	48h	BA	no	sí
Kornman et al ¹⁶⁵	EE.UU	1991	21	na	No	PA	No	1-2	cureta	VGMAIII	24h	TS-BA	sí	sí
Chen et al ¹⁶⁹	EE.UU	1989	11	35-61	3	PA	No >6m	1	3pp	PRAS	0	TS-BA	no	sí
Slots et al ¹⁴⁵	EE.UU	1990	3075	12-93	2	Ref.	Sí >2m	3	1pp	VGMAIII	16-40h	BA	sí	sí
Slots et al ¹⁴⁴	EE.UU	1990	1624	15-89	3	P.	Sí, varios	3	1pp	VGMAIII	4/24-48h	BBA	sí	no
Lotufo et al ¹⁶⁶	EE.UU	1994	80	na	Na	P.	?	3	1pp	VGMAIII	0-144h	BBA	no	no
Rams et al ¹¹⁸	EE.UU	1992	545	36-82	1	PA	tratados	3	1pp	VGMAIII	4-48h	BBA	no	sí
Slots et al ¹⁷¹	EE.UU	1988	500	na	Na	PA	tratados	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	sí	sí
Rams et al ¹⁵⁸	EE.UU	1992	907	36-89	3	PA	tratados	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	no	no
Rams et al ¹²⁰	EE.UU	1990	506	36-89	Na	PA	tratados	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	no	sí
Sanz et al (Artículo 4)	España	2000	31	26-62	1	PA	No	4	2pp	RTF	2h	BA	sí	sí
Sanz et al (Artículo 4)	Holanda	2000	30	29-63	1	PA	No	4	2pp	RTF	2h	BA	sí	sí

Pp. puntas de papel. P., periodontitis. BA, agar sangre. BBA, Agar de brucella sangre. TS-BA, agar de tripticasa soja y sangre.
 Ab.ex., exclusión por antibiótico en meses. PA., periodontitis del adulto. CDC, agar comercial. TSBV, tripticasa-suero-bacitracina-vancomicina.
 Trat. prev., tratamiento periodontal previo. Ref., periodontitis refractaria. TSA, agar de tripticasa soja. ETSA, agar de tripticasa soja enriquecido.

Tabla V. Prevalencias de patógenos periodontales en distintos continentes y países.

País	Autores	Ref	Año	Prevalencia										
				Aa	Pg	Pi	Bf	Pm	Fn	Cr	Pmela	Ec		
Camerún	Ali et al	159	1997	28,5%	57,1%	38,0%	19,0%			28,5%				
Kenia	Dahlén et al	155	1989	40,0%	70,0%	100,0%								
Sudán	Ali et al	139	1994	28,0%	36,0%	40,0%				68,0%				
China	Dahlén et al	142	1995	20,0%	27,0%	93,0%					87,0%	33,0%		
China	Dahlén et al	142	1995	13,0%	40,0%	100,0%					80,0%	40,0%		
Japón	Hagiwara et al	163	1998	14,3%	38,1%	42,9%				38,1%				9,5%
Sri Lanka*	Preus et al	164	1995	15,2%	39,9%	76,1%								
Grecia	Kamma et al	160	1994	20,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%			
Italia	Piccolomini et al	162	1997	27,0%										
Noruega	Ali et al	139	1994	33,3%	86,6%	77,8%				100,0%				
Rumania	Ali et al	154	1996	41,7%	75,8%	18,3%				52,8%				
Suecia	Dahlén&Wikström	140	1995	38,5%	31,4%	76,1%								
Suecia	Slots et al	161	1986	40-47%	51-41%	59,0%								
Suecia	Slots et al	161	1986	6,1%	0,0%	60,1%								
Suecia	Papapanou et al	152	1993	25,0%	14,0%	58,0%				80,0%	81,0%			66,0%
Suiza**	McNabb et al	167	1992	63,3%	66,7%	96,7%	60,0%			96,7% ^	70% ^	80,0%	80,0%	40,0%
Holanda	van Dalen et al	157	1998						91,0%					
Holanda	van der Weijen et al	149	1994	38,5%	42,9%	53,8%								
Holanda	Rodenburg et al	123	1990	54,0%	48,0%	63,0%								
EE.UU	Rams et al	168	1993								81,1%			
EE.UU	Kornman et al	165	1991	10,0%	33,0%	48,0%					15,0%			10,0%
EE.UU	Slots et al	144	1990	32,1%		45,2%								
EE.UU	Chen et al	169	1989											100%
EE.UU	Lotufo et al	166	1994				67,5%							
EE.UU	Rams et al	158	1992						62,6%					
Rep.Dominicana	Slots et al	138	1991		37,5%	75,0%			87,5%	100,0%	33,3%			
RANGO COMÚN				20-40%	27-51%	75-100%	60-67%	87-100%	80-100%	70-100%				40-60%
España	Sanz et al	AO.4	2000	3,2%	64,5%	74,2%	64,5%	58,1%	100%	16,1%				
Holanda	Sanz et al	AO.4	2000	23,3%	36,7%	90%	73,3%	96,7%	100%	36,7%				

* Resultados con Inmunofluorescencia, apoyados por cultivo. ** Inmigrantes procedentes de otros países. ^ Prevalencia del género.

F. nucleatum presentó también otro rango de prevalencia, 38-63%.

Aa - *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg - *Porphyromonas gingivalis*, Pi - *Prevotella intermedia*, Bf - *B. forsythus*, Pm - *P. micros*, Fn - *F. nucleatum*, Cr - *C. rectus*, Ec - *E. corrodens*, Pmela - *P. melaninogenica*

Tabla VI. Porcentaje de flora total en localizaciones positivas de patógenos periodontales, en distintos continentes y países.

País	Autores	Ref	Año	%flora								
				Aa	Pg	Pi	Bf	Pm	Fn	Cr	Pme a	Ec
Sudán	Ali et al	¹³⁹	1994	0,02%	12,4%	3,2%				0,4%		
Kenia	Dahlén et al	¹⁵⁵	1989	0,2%	9,6%	7,0%						
Grecia	Kamma et al	¹⁶⁰	1994	15,2%	26,7%	15,7%	23,6%	7,0%	13,6%	7,5%		
Noruega	Ali et al	¹³⁹	1994	0,3%	19,9%	12,8%			3,7%			
Rumania	Ali et al	¹⁵⁴	1996	0,3%	16,7%	3,4%			0,5%			
Suecia	Slots et al	¹⁶¹	1986	2,4%	31,6%	12,7%						
Suecia	Slots et al	¹⁶¹	1986	0,5%	nd	2,4%						
Holanda	van Dalen et al	¹⁵⁷	1998					7,2%				
Holanda	van der Weijen et al	¹⁴⁹	1994	6,2-1,8%	25-26%	5,4-5,0%						
Holanda	Rodenburg et al	¹²³	1990	11,0%	29,0%	6,3%						
EE.UU	Rams et al	¹⁶⁸	1993							5,3%		
EE.UU	Chen et al	¹⁶⁹	1989									1,9%
EE.UU	Slots et al	¹⁴⁴	1990	2,2%		7,4%						
EE.UU	Rams et al	¹⁵⁸	1992					14,7%				
RANGO COMUN				<2,5%	15-30%	2,4-7,4%		7-7,2%	0,4-3,7%	5,3-7,5%		1-5%
España	Sanz et al	AO.4	2000	0,45%	21,7%	7,4%	7,3%	4,0%	6,9%	2,2%		
Holanda	Sanz et al	AO.4	2000	3,0%	28,6%	6,3%	7,7%	7,2%	9,3%	4,0%		

Aa – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg – *Porphyromonas gingivalis*, Pi – *Prevotella intermedia*, Bf – *B. forsythus*, Pm – *P. micros*, Fn – *F. nucleatum*, Cr – *C. rectus*, Ec – *E. corrodens*, Pme|a – *P. melaninogenica*

Tabla VII. Prevalencias y proporciones de bacterias superinfectantes * en diferentes países.

País	Autores	Ref	Año	Prevalencia					% flora (localiz. +)			
				Enteric	Hongos	Staph	S.au	S.epid	Enteric	Hongos	Staph	
EE.UU	Rams et al	118	1992	5,1%						43,1%		
EE.UU	Slots et al	171	1988	10,2%	16,8%							
EE.UU	Rams et al	120	1990			50,4%						1%
EE.UU	Chen et al	169	1989									
EE.UU	Slots et al	145	1990	13,6%	13,7%	28,3%				20-23%	1-1,5%	2%
EE.UU	Rams et al	168	1993									
Rep.Dominicana	Slots et al	138	1991	66,7%								
Sudán	Ali et al	139	1994	92,0%						9,5%		
Noruega	Ali et al	139	1994	0,0%						-		
Rumania	Ali et al	154	1996	61,1%						4,8%		
Suecia	Dahlén&Wikström	140	1995	42,6%	19,6%		8,2%	54,4%				

* Enteric, bacilos entéricos.

Staph, estafilococos.

S.au, *S. aureus*.

S.epid, *S. epidermidis*.

Tabla VII. Puntos de corte propuestos en la literatura, en relación con las concentraciones de antibiótico y las categorías de la NCCLS.

Droga	Dosis	Puntos de corte							
		Concentración (µg/ml)		1-cepas	Literatura*			NCCLS**	Artículo 5
		Plasma	Crevicular		1-entera	A-D			
penicilina	800 SD	3,8	na		1-2	2-16	0,5-1-2	0,5	
amoxicilina	500 SD	5,5-7,5	3-4		2-4		4-8-16	3	
tetraciclina	250 QID	1,9-2,5	4-8	1	4	4-8	4-8-16	8	
doxiciclina	100 BID	2-3	1-8		2-4		na	Na	
minociclina	100 BID	3	8-15		4-10		na	Na	
metronidazol	250 TID	14	13,7	1	4-8	8-16	8-16-32	8	
eritromicina	250 QID	0,4-5	0,4-0,8	1	2	2-16	na	2	
clindamicina	300 SD	1,9	1-2		2	2-8	2-4-8	4	
azitromicina	500 SD	0,35	na	na	na	na	na	2	
augmentine	na	na	na	na	na	na	4/2-8/4-16/8	3/0,75	

*Basado en las siguientes referencias. 118-120,168,182,187,213,213,216,217,225

Se incluyen tres tipos de procedimientos:

1-cepas, procedimiento de una concentración para cepas aisladas.

1-entera, procedimiento de una concentración para placa entera.

A-D, dilución en agar convencional.

** CMI por debajo o igual al primer valor, se caracterizan como *Susceptible*;

CMI en el segundo valor en indican categoría *Intermedia*;

y CMI por encima o igual al tercer valor señalan *resistencia*.

SD, dosis única.

BID, dos tomas diarias.

TID, tres tomas diarias.

QID, cuatro tomas diarias.

LD, dosis inicial.

Tabla IX. Material y métodos de estudios que evalúan las susceptibilidades de placa entera en la microflora subgingival.

	año	ref	país	medios	estado	pacientes	antibióticos evaluados
Valdés et al	1982	²⁰⁹	EE.UU	TSBA	varios	26	penG
Walker et al	1983	²⁶²	EE.UU	TBSA	PA/PR	?	ampi, amoxi, tetra, clinda, eritro, metro
Walker et al	1983	²¹³	EE.UU	TBSA	PA severa/PA	10/15	penG, amoxi, eritro, tetra, clinda, metro
Kinder	1986	¹⁸⁸	EE.UU	ETSA	PA- no tratados	42	penG
Walker et al	1987	²⁵⁵	EE.UU	?	PR (activa)	10	amoxi, tetra, doxi, eritro, clinda, cefal
McCulloch et al	1990	¹²⁷	Canadá	W-C	PR	55	doxi
Fiehn-Westergaard	1990	¹⁸⁵	Dinamarca	TSBA	Sanos/PR	12/12	doxi
Magnusson et al	1991	¹¹²	EE.UU	TBSA	activa/crónica	18/10 (local.)	amoxi, tetra, doxi, eritro, clinda, cefal
Goodson-Tanner	1992	¹⁸⁴	EE.UU	TSBA	PA	3 (8 local.)	tetra
Preus et al	1995	¹⁸⁶	Noruega	BA	PA	10+10	mino
Lacroix-Walker	1995	⁴⁰	EE.UU	TSBA	PR	68	tetra
Magnusson-Walker	1996	⁶⁴	EE.UU		PR/PA	28/24	amoxi, eritro, tetra, clinda
Rams et al	1999	¹⁸⁹	EE.UU	EBBA	PA	422	doxi, amoxi, metro
Van Winkelhoff et al	2000		AO.5 España	BA	PA-no tratados	31	penG, amoxi, aug, metro, eritro, clinda, tetra, azitro
Van Winkelhoff et al	2000		AO.5 Holanda	BA	PA-no tratados	30	penG, amoxi, aug, metro, eritro, clinda, tetra, azitro

PA periodontitis del adulto
 PR periodontitis refractaria
 Local. Número de localizaciones

TSBA. Tripticase soy agar sangre
 BA, agar sangre.
 W-C, Wilkins-Chalgren.
 EBBA, agar de brucella sangre enriquecido.
 ETSA, agar de tripticasa soja enriquecido.

Tabla X. % medio de flora resistente para cada antimicrobiano y concentración* en comparación con placas sin antibiótico.

	Modelo	pen0,5-1	pen2	amoxi3-4	metro8	clinda2	clinda4	tetra4	eritro2	mino10	Doxi4-5
Preus 186	PA									0,12-0,09%	
Fiehn 185	PR										0,90%
Magnusson 64	PA			0,20%	?	3%		5%	8%		
Magnusson 64	PR			4%	?	9%		10%	12%		
Lacroix 40	PR							12%			
Magnusson 112	activa			2,00%		11,60%		12,90%	11,50%		7,40%
Magnusson 112	crónica			0,40%		7,70%		4,60%	7,80%		3,40%
Walker 213	PA severa		3,10%			10,70%		18,90%	14,50%		
Walker 213	PA		1,10%	1%	29,10%	4,07%		6,93%	7,50%		6,33%
Walker 255	PR			3,50%		10,60%		9,70%	18,90%		8,50%
Valdés 209	Varios	0,82%	0,47%								
Kinder 188	PA, Ab <6 meses		3,80%								
Kinder 188	PA, Ab >1 año		1,70%								
RANGO COMÚN	Activa, refractaria		1,1-3,8%	2-4%	29,1%	9-11,6%		9,7-18,9%	11,5-18,9%		3,4-8,5%
RANGO COMÚN	Inactiva, crónica			0,2-1%		3-7,7%		4,6-6,9%	7,5-8%		
Van Winkel. AO.5	PA, España	9,94%		1,69%	40,76%		18,26%	12,72%	18,41%		
Van Winkel. AO.5	PA, Holanda	3,02%		0,55%	12,84%		3,2%	1,33%	24,95%		

Tabla VII bis. Porcentaje de muestras resistentes para cada antibiótico y concentración*. Resistencia definida como flora resistente >5%.

	Modelo	pen0,5	pen2	amoxi3-4	metro8	clinda2	clinda4	tetra4	eritro2	Doxi4
Walker 213	PA severa		12,50%			37,50%		37,50%	33,30%	
Walker 213	PA		0%	0%	89,20%	21,40%		0,40%	43,30%	33,30%
Magnusson 64	PA		0%	0%		23%		32%	42%	
Magnusson 64	PR			25%		41%		55%	66%	
Walker 255	PR			36,4%		54,5%		72,7%	90,9%	63,6%
RANGO COMÚN	Activa, refractaria		0-12,5%	25-36,4%	89,2%	37,5-54%		55-73%	66-90,9%	33,3-63,6%
RANGO COMÚN	Inactiva, crónica			0%		21,4-23%		0,4-37,5%	33,3-43,3%	
Van Winkel. AO.5	PA, España	41,9%		6,5%	87,1%		51,6%	48,4%	67,7%	
Van Winkel. AO.5	PA, Holanda	13,3%		0,0%	76,7%		20,0%	6,7%	73,3%	

* Cada antibiótico se nombra de forma abreviada, y la concentración se expresa en µg/ml.

PA, periodontitis del adulto. P., periodontitis. PR, periodontitis refractaria. Ab, toma de antibiótico.

Tabla XI. Material y método de estudios que evalúan susceptibilidades antimicrobianas en la microflora subgingival mediante procedimientos de dilución en agar.

País	Autores	Año	Ref.	Otras téc.	Medios	Su pl.	Cepas			Especies	Antibióticos tested.
							Modelo	Clin	Ref		
Finlandia	Pajukanta et al.	1992	222	no	M-H	?	Oral	79	3	Aa	azithro, eritro
Finlandia	Pajukanta et al.	1993	223	no	BA	?	Oral	79	2	Pg	azithro
Francia	Poulet et al	1999	198	E-t	Colum	sí	Varios P.	53	no	Pi, Pg, Pm, Fn	metro
Italia	Piccolomini et al	1997	162	MacroB	M-H	sí	Varios P.	67	3	Aa	eritro, roxitro
España	Andrés et al	1996	217	no	W-C	sí	P.	50	sí	Pi, Pg	pen, amoxi, eritro, clinda, tetra, metro...
Suecia	Takemoto et al	1997	199	no	TSA	sí	PA	15	4	Bf	amoxi, metro, tetra, doxi, clinda
R.Unido	Willians et al.	1992	224	no	W-C	sí	Varios	275	no	varios	azithro, eritro, espira, clari, RP59500
R.Unido	Abu-Fanas et al	1991	214	no	DST	sí	PRP	61	no	Pg, Pi, Fn	amoxi, aug, metro, mino, tetra, eritro, pen
R.Unido	O'Connor et al	1990	215	no	W-C	sí	P.	16	45	varios; clin	ppB minociclina
Japón	Hagiwara et al	1998	163	dil.agar.B	M-H		PA	73	9	Pg, Pi, Aa, Fn, Ec.	minociclina
Japón	Hamada et al	1990	221	no	Varios	sí	Oral y otros.	104	no	varios	tetra, clinda, eritro, pen...
Kenia	Dahlén et al	1989	155	no	BBA	?	General	35	no	Pg, Pi, Aa	pen, eritro, tetra, doxi, mino, clinda, metro
EE.UU	Walker et al	1990	114	no	?	?	PR-activa	?	no	bpB, Fn	pen, amoxi, tetra, doxi, eritro, clinda
EE.UU	Maiden et al	1994	200	E-t; disc	?		Infección oral	23	sí	Bf	amoxi, clinda, eritro, metro, pen, tetra...
EE.UU	Sutter et al	1983	218	A-D?	BA	sí	Varios.	175	18	bpB, Fuso	pen, clinda, eritro, metro, tetra
EE.UU	Walker et al	1981	263	A-Dlim	?		P.	345	no	varios	tetra
EE.UU	Walker et al	1985	216	no	?		P.	369-996	no	varios	pen, amoxi, eritro, clinda, tetra, metro, mino
Canadá	Wright et al	1997	177	BrothMic	TSA	sí	Solo ref.	0	1	Pg	metro

MacroB, macrodilución en caldo. W-C. Wilkins-Chalgren. Otras téc., otras técnicas utilizadas.
 BrothMic, microdilución en caldo. M-H. Mueller-Hinton. Suppl., medio suplementado.
 A-Dlim, dilución en agar limitado. TSA, agar de tripticasa soja. Clin, cepas de origen clínico.
 E-t., E-test. DST, diagnostic test agar. Ref, cepas procedentes de laboratorios de referencia.
 disc., test con disco. BA, agar sangre. dil.agar.B., dilución en caldo de agarosa.
 BBA, agar de brucella sangre.
 Colum, Columbia.

Tabla XII. TETRACICLINAS. Resultados en CMI mediante técnica de dilución en agar, para diferentes patógenos periodontales.

	Minociclina			Tetraciclina			Doxiciclina	
	CMI50	CMI90	rango	CMI50	CMI90	rango	CMI90	rango
Aa	0,78-<1	1-1,56	<0,06-2	<1	8	<0,06-16		0,5-2
Pg	0,016-0,025	1,56	0,013-3,13	0,063-0,5	<0,5-1	0,031-1		0,1
Pi	0,031-0,39	1,56	0,016-5	0,125-0,75	1	0,031-5		0,1-5
Bf					<0,06	<0,06-2	0,12	<0,06-0,12
Pm	<1 *	>32 *	<0,06->32 *	1 *	8-32 *	<0,06->32 *		
Fn	0,031-0,05 (<1)	0,05-1	<0,013-1	0,25-<1	1*-2	0,031-16*	8	
Pmel			0,5			0,20-0,78		
BpB	<1	1	<0,06-32	<1	2-16	<0,06->32	4	
Ec	0,78-2	3,13-8	0,03->32	2	32	0,5->32		
Cr	<1	1	<0,06-1	<1	2-4	<0,06-4		

	Concentración máxima (µg/ml)		Concentración máxima (µg/ml)		Concentración máxima (µg/ml)	
Plasma	2,6-3,3		1,9-2,5		2,1-2,9	2,1-2,9
Crevicular	8-15,5		4,0-8,0		1,2-8,1	6
Referencias	173,219		173,219,264		173,219,264	219
Dosis (mg)	100 BID		250 QID		100 BID(LD)	100/día
Tiempo (h)	168-192		48		24	48-105

* Se incluyen cepas del mismo género en los resultados.

BID, dos tomas diarias.

QID, cuatro tomas diarias.

LD, dosis inicial.

Aa – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg – *Porphyromonas gingivalis*, Pi – *Prevotella intermedia*, Bf – *B. forsythus*, Pm – *P. micros*, Fn – *F. nucleatum*, Pmel – *P. melaninogenica*, BpB, *Bacteroides negro-pigmentados*, Ec – *E. corrodens*, Cr – *C. rectus*,

Tabla XIII. BETA-LACTÁMICOS. Resultados en CMI mediante técnica de dilución en agar, para diferentes patógenos periodontales.

	Penicilina			Amoxicilina			Amoxicilina/clavulánico		
	CMI50	CMI90	rango	CMI50	CMI90	rango	CMI50	CMI90	rango
Aa	<1	1	<0,25-4	<1,0	1	<0,25-2			
Pg	0,016-0,031	2	0,01-0,1	0,063-0,125	0,5	0,031-0,26	0,031-0,125	0,125	0,031-0,5
Pi	0,063-0,125	8	0,01-5	0,031-0,125	8	0,031-0,63	0,031-0,125	1	0,031-0,063
Bf			<0,5		0,5	<0,06-0,5			
Pm	<1 *	2 *	<0,25-8 *	<1 *	8 *	<0,25-8 *			
Fn	0,031-<1	0,5-2 *	<0,016-8 *	0,063-<1	0,25-2	0,031-2	0,063		0,016-0,25
Pmel			0,05-0,10						
bpB	<1	0,5-4	<0,06-<128	<1,0	1-2	<0,25->32			
Ec	4	8	<0,25->128	2	8	<0,25->32			
Cr	<1	1	<0,25-1	<1	1	<0,25-1			
	Concentración máxima (µg/ml)			Concentración máxima (µg/ml)					
Plasma	3,8			3,5-5	5,5-7,5				
Crevicular	ND			1,5-2,5	3-4				
Referencia	219			173,219,245	219				
Dosis (mg)	800 SD			250 SD	500 SD				
Tiempo (h)	1-4			1-8	1-8				

* Se incluyen cepas del mismo género en los resultados.

SD, dosis única.

ND, no determinado.

Aa – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg – *Porphyromonas gingivalis*, Pi – *Prevotella intermedia*, Bf – *B. forsythius*, Pm – *P. micros*, Fn – *F. nucleatum*, Pmel – *P. melaninogenica*, bpB, *Bacteroides negro-pigmentados*, Ec – *E. corrodens*, Cr – *C. rectus*.

Tabla XIV. MACRÓLIDOS. Resultados en CMI mediante técnica de dilución en agar, para diferentes patógenos periodontales.

	Azitromicina			Eritromicina			
	CMI50	CMI modal	rango	CMI50	CMI modal	CMI90	rango
Aa		4	0,25-2	<1-8	32	1-32	<0,25-64
Pg	0,25	0,5 (CMI90)	0,06-1	0,063-0,25	0,12	1	0,063-1
Pi		0,03		0,063-0,5	0,12	1	0,001-1
Bf							0,125-0,5
Pm		0,5		<1 *	1	2 *	<0,25-8 *
Fn		2		<1-4	32	2-128 *	0,031-128
Pmel		0,5			4		0,20-0,78
bpB				<1		1-4	<0,25->128
Ec		4		4	8	8	<0,25->128
Cr		0,25 *		<1	1 *	1	<0,25-1

	Concentración máxima (µg/ml)	Concentración máxima (µg/ml)
Plasma	0,33-0,35	0,4-4,8
Crevicular	3,30-6,47** 248	0,4-0,8 173,219
Referencia		
Dosis (mg)	500/día	250 QID
Tiempo (h)	12-156	1-54

* Se incluyen cepas del mismo género en los resultados.

**Determinado en tejidos gingivales.

QID, cuatro tomas diarias.

Aa – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg – *Porphyromonas gingivalis*, Pi – *Prevotella intermedia*, Bf – *B. forsythus*, Pm – *P. micros*, Fn – *F. nucleatum*, Pmel – *P. melaninogenica*, bpB, *Bacteroides negro-pigmentados*. Ec – *E. corrodens*, Cr – *C. rectus*,

Tabla XV. OTROS. Resultados en CMI mediante técnica de dilución en agar, para diferentes patógenos periodontales.

	Metronidazol			Clindamicina		
	CMI50	CMI90	rango	CMI50	CMI90	rango
Aa	8	32	0,5-8	8	16	0,20->32
Pg	0,002-0,5	0,004-0,122	0,0078-1	0,016	0,016	<0,006-0,05
Pi	0,002-0,5	0,008-0,98	0,063-2	0,016	0,23	<0,006
Bf		<0,06	<0,06-0,5		<0,06	<0,06-0,5
Pm	<1 *	12,14->32 *	0,125->32	<1 *	4 *	<0,06-8 *
Fn	0,016-<1	0,25*-1	0,016-0,5 *	<1	0,25*-1	<0,06-1*
Pmel						0,012-0,05
bpB	<1,0	1-16	<0,06-32	<1,0	0,13-1	<0,06-1
Ec	>32	>32		>32	>32	4->200
Cr	<1	2		<1	<1	<0,06-1

	Concentración máxima (µg/ml)			Concentración máxima (µg/ml)		
Plasma	6,09	14,3	8,7-13,8	1,9		
Creviceular	3,62	13,7	8,7-13,8	1-2		
Referencia	219,253	173,219	219	173,219		
Dosis (mg)	250 SD	250 TID	750 SD	300 SD		
Tiempo (h)	2	120	4	1-7		

* Se incluyen cepas del mismo género en los resultados

SD, dosis única.

TID, tres tomas diarias.

Aa – *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg – *Porphyromonas gingivalis*, Pi – *Prevotella intermedia*, Bf – *B. forsythus*, Pm – *P. micros*, Fn – *F. nucleatum*, Pmel – *P. melaninogenica*, BpB, *Bacteroides negro-pigmentados*, Ec – *E. corrodens*, Cr – *C. rectus*,

Tabla XVI. Porcentaje de cepas resistentes para cada antibiótico y concentración,* calculado mediante el procedimiento de dilución en agar limitado.

	ref	n cepas	especies	penG(1)	tetra(1)	metro(1)	eritro(1)	cipro(0,5)
Rams	¹¹⁸	29	enterics	93,10%	93,10%	96,60%		
Slots	¹⁸¹	57	ent&pseud.	94,70%	86%		94,70%	
Flynn	¹⁸²	160	<i>M.dentalis</i>	17,50%	7,50%	0,60%		11,30%
Slots	¹⁸¹	90	<i>Candida</i>	100%	100%		100%	
Rams	¹⁶⁸	230	<i>C.rectus</i>	0,40%	0,0%	0,4%		4,30%
Listgarten	¹¹⁹	92	<i>C.rectus</i>	0,0%	0,0%	1,1%		
Listgarten	¹¹⁹	32	<i>A.actinomy.</i>	56,3%	6,3%	3,1%		
Listgarten	¹¹⁹	45	<i>P.intermedia</i>	26,7%	8,9%	2,2%		
Listgarten	¹¹⁹	5	<i>E.corrodens</i>	20,0%	20,0%	20,0%		
Listgarten	¹¹⁹	74	<i>Capno sp.</i>	10,8%	13,5%	52,7%		
Listgarten	¹¹⁹	134	<i>Fuso sp</i>	30,6%	22,4%	1,5%		
Listgarten	¹¹⁹	35	<i>P.micros</i>	0,0%	5,7%	0,0%		
Listgarten	¹¹⁹	3	<i>St.aureus</i>	66,7%	66,7%	100,0%		
Listgarten	¹¹⁹	11	staphylococci	18,2%	81,8%	100,0%		
Rams	¹²⁰	223	staphylococci	4,90%	14,40%	31,90%	12,10%	

* Expresado para cada antibiótico (abreviado), y la concentración para el punto de corte. ent&pseud, bacilos entéricos y pseudomonas.

Tabla XVII. Metodología de estudios seleccionados acerca de bacterias productoras de β -lactamasas en la cavidad oral.

Año	Autor	Ref	Pacientes	Edad	Tipo de pacientes	País	Localiz./Pac	Muestras-toma	Procedencia	Ab.exclusion
1981	Heimdahl	208	104	na	Voluntarios sanos	Alemania	1	Tubos de cristal	Saliva	no registrado
1982	Valdés	209	26	na	Sanos; No tratados PA, PJL.	EE.UU	10	Algodón,pp	Varios	6meses
1984	Brook	226	185	2-16	Niños, infección resistente.	EE.UU	1	Varios	Varios	no registrado
1986	Kinder	188	21	49	PA no tratada. Grupo Sin-Ab	EE.UU	2	3pp	Subgingival	>1año
1986	Kinder	188	21	49	PA no tratada. Grupo Ab	EE.UU	2	3pp	Subgingival	<6meses
1986	Wasfy	227	51	8-15	Niños hospitalizados	Egipto	2 (pooled?)	na	Placa?	No conocido
1987	Walker	206	52	24-78	Periodontitis. Mantenimiento	EE.UU	7-8	Tiras de papel	Subgingival	3meses
1990	Legg	210	20	24-55	PA no tratada	R. Unido	1	Alginato swabs	Subgingival	3meses
1991	Brook	81	32	8-69	Absceso periapical	EE.UU	1	Aspirado/aguja	Pus-absceso	no registrado
1995	Könönen	36	11	na	Niños<3,5 a.	Finlandia	10	Varios	Varios	1mes
1996	Könönen	36	11	na	Sus madres	Finlandia	10	Varios	Varios	1mes
1995	Lewis	202	78	13-76	Infección oral aguda.	R. Unido	1	Aspirado/aguja	Pus-absceso	no registrado
1997	v.Winkelhoff	207	23	na	PA no tratada.	Holanda	4 (pooled)	3pp	Subgingival	6meses
2000	Herrera	A.O. 6	31	26-62	Periodontitis del adulto	España	4 (pooled)	2pp (por localiz.)	Subgingival	1mes
2000	Herrera	A.O. 6	30	29-63	Periodontitis del adulto	Holanda	4 (pooled)	2pp (por localiz.)	Subgingival	1mes

na, no disponible

PA, Periodontitis del adulto

PJL, Periodontitis Juvenil Localizada

Ab, antibiótico

pp, puntas de papel

PEN, penicilina

Beta, β -lactamasa

Suscep, susceptibilidad

CMI, Concentración mínima inhibitoria

P.mela, *P.melaninogenica*.

Tabla XVIII. Metodología de estudios seleccionados acerca de bacterias productoras de β -lactamasas en la cavidad oral.

Año	Autor	Ref	Detección de β -lactamasas	% pacientes+	Otros comentarios	Otros resultados
1981	Heimdahl	208	Nitrocefina; placa iodométrica	42%	Solo se consideraron <i>Bacteroides</i> sp.	Especies; CMI
1982	Valdés	209	Método almidón-iodina-penicilina	38%	Muestras de mucosa, saliva, lengua, subgingival.	Especies
1984	Brook	226	Cefalosporina cromogénica.	40,50%	Relacionado con AB-previo	Especies; CMI
1986	Kinder	188	Discos de cefinasa; PEN-placas	48%	Mismo estudio, dos grupos.	Especies; CMI
1986	Kinder	188	Discos de cefinasa; PEN-placas	76%	Mismo estudio, dos grupos.	Especies; CMI
1986	Wasfy	227	Dos test para Beta; tres para CMIs	37% de cepas	Resistente, si al menos un test era positivo	Especies.
1987	Walker	206	Método almidón-iodina-penicilina	64%	Comparación localizaciones ≤ 3 mm versus > 3 mm.	
1990	Legg	210	Test-stick de cefalosporina cromogénica	65%	na	Especies
1991	Brook	81	Disco de cefalosporina cromogénica.	33%	Sin correlación con AB-previo	Especies
1995	Könönen	36	Disco de cefalosporina cromogénica.	76,8% de cepas	Solo <i>P. mela</i> ; de saliva, mucosa, subgingival.	CMI; ribotipaje
1996	Könönen	36	Disco de cefalosporina cromogénica.	71,3% de cepas	Solo <i>P. mela</i> ; de saliva, mucosa, subgingival.	CMI; ribotipaje
1995	Lewis	202	Beta test; E-test.	38,40%	Sobre todo <i>Prevotella</i> sp.	Especies; suscep.
1997	v.Winkelhoff	207	Discos nitrocefina; test cromogénico	74%	na	Especies.
2000	Herrera	A.O 6	Discos de nitrocefina	87%	Colonias sospechosas en placas de amoxicilina.	Especies.
2000	Herrera	A.O 6	Discos de nitrocefina	73%	Colonias sospechosas en placas de amoxicilina.	Especies.

na, no disponible

PA, Periodontitis del adulto

PJL, Periodontitis Juvenil Localizada

AB, antibiótico

pp, puntas de papel

PEN, penicilina

Beta, β -lactamasa

Suscep, susceptibilidad

CMI, Concentración mínima inhibitoria

P. mela, *P. melaninogenica*.

REFERENCIAS.

REFERENCIAS.

1. O'Brien TF. The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the need to monitor and manage it locally. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s2-s8.
2. Roberts MC. Antibiotic resistance in oral/respiratory bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;**9**:522-540.
3. Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontol 2000* 1996;**10**:79-88.
4. Slots J, Pallasch TJ. Dentist's role in halting antimicrobial resistance. *J Dent Res* 1996;**75**:1338-1341.
5. Zambon JJ. Periodontal diseases: microbial factors. *Annals of Periodontology* 1996;**1**:879-925.
6. Kaldahl WB, Kalwarf KL, Patil KD. A review of longitudinal studies that compared periodontal therapies. *J Periodontol* 1993;**64**:243-253.
7. Badersten, A. Nonsurgical periodontal therapy (Tesis doctoral). 1-47. 1984. Malmö, Sweden.
8. Walker CB, Gordon JM, Magnusson I., Clark WB. A role for antibiotics in the treatment of refractory periodontitis. *J Periodontol* 1993;**64**:772-781.
9. Genco RJ. Using antimicrobials agents to manage periodontal diseases. *JADA* 1991;**122**:31-38.
10. van Winkelhoff AJ, Rams TE, Slots J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontol 2000* 1996;**10**:45-78.
11. Ahl DR, Hilgeman JL, Snyder JD. Urgencias periodontales. *Clin Dent Nort Am* 1986;**3**:475-488.
12. Ammons WFJ. Lesions in the oral mucous membranes. Acute lesions of the periodontium. In: Wilson TG, Korman KS, eds. *Fundamentals of Periodontics*. Singapore: Quintessence, 1996;435-440.
13. Felmingham D, Grüneberg RN, Alexander Project Group. A multicentre collaborative study of the antimicrobial susceptibility of community-acquired, lower respiratory tract pathogens 1992-1993: the Alexander Project. *J Antimicrob Chemother* 1996;**38**:1-57.
14. Doern GV, Alexander Project Group. Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study. *J Antimicrob Chemother* 1996;**38**:59-69.
15. Machka K, Bravery I, Dabernat H, et al. Distribution and resistance patterns of *Haemophilus influenzae*: a European cooperative study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;**7**:14-24.

16. Cullmann W. Comparative evaluation of orally active antibiotics against community-acquired pathogens: results of eight European countries. *Chemotherapy* 1996;**42**:11-20.
17. Tunér K, Nord CE. Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria in Europe. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:S387-S389.
18. Baquero F, Task Force Spain. Antibiotic resistance in Spain: what can be done? *Clin Infect Dis* 1996;**23**:819-823.
19. Pradier C, Dunais B, Carsenti-Etesse H, Dellamonica P. Pneumococcal resistance patterns in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997;**16**:644-647.
20. Sistema Nacional de Salud. Indicadores de la prestación farmacéutica en el Sistema Nacional de Salud. INSALUD. vol.15. 1997. Madrid.
21. Sistema Nacional de Salud. Principios activos de mayor consumo en 1996. *Información Terapéutica* 1997;**21**.
22. Sistema Nacional de Salud. Grupos terapéuticos y principios activos de mayor consumo en Sistema Nacional de Salud durante 1997. *Información Terapéutica* 1998;**22**:123-126.
23. Hughes JM, Tenover FC. Approaches to limiting emergence of antimicrobial resistance in bacteria in human populations. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s131-s135.
24. Sanders CC, Sanders WJr. β -Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Global Trends and Clinical Impact. *Clin Infect Dis* 1992;**15**:824-839.
25. Bax PB. Antibiotic resistance: a view from the pharmaceutical industry. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s151-s153.
26. Couper MR. Strategies for the rational use of antimicrobials. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s154-s156.
27. Acar JF, Kaplan EL, O'Brien TF. Monitoring and management of bacterial resistance to antimicrobial agents: a world health organization symposium: Conclusion. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s176.
28. Danziger LH, Pendland SL. Bacterial resistance to β -Lactam antibiotics. *Am J Health-Syst Pharm* 1995;**52**:3-8.
29. Nord CE. Mechanism of β -lactam resistance in anaerobic bacteria. *Rev Infect Dis* 1986;**8**:S543-S548.
30. Rotschafer JC, Ostergaard BE. Combination β -Lactam and β -Lactamase-inhibitor products: antimicrobial activity and efficiency of enzyme inhibition. *Am J Health-Syst Pharm* 1995;**52**:15-22.
31. Nord CE, Heimdahl A, Tunér K. Beta-lactamase producing anaerobic bacteria in the oropharynx and their clinical relevance. *Scand J Infect Dis* 1988;**57**:50-54.
32. Philippon A, Dusart J, Joris B, Frère J-M. The diversity, structure and regulation of β -lactamases. *Cell Mol Life Sci* 1998;**54**:341-346.

33. Johnson CC. Susceptibility of anaerobic bacteria to β -lactam antibiotics in the United States. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s371-s376.
34. Rasmussen BA, Bush K, Tally FP. Antimicrobial resistance in *Bacteroides*. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s390-s400.
35. Walker CB, Beuno L, Cohen S. Characterization and properties of Beta-Lactamases produced by periodontal bacteria. *J Dent Res* 1986;**65**:226 (Abstract)
36. Könönen E, Saarela M, Kanervo A, Karjalainen J, Asikainen S, Jousimies-Somer H. β -Lactamase production and penicillin susceptibility among different ribotypes of *Prevotella melaninogenica* simultaneously colonizing the oral cavity. *Clin Infect Dis* 1995;**20**:364-366.
37. Walker CB, Bueno L. Antibiotic resistance in an oral isolate of *Prevotella intermedia*. *Clin Infect Dis* 1997;**25**:S281-S283.
38. Greenstein G. Clinical significance of bacterial resistance to tetracyclines in the treatment of periodontal diseases. *J Periodontol* 1995;**66**:925-932.
39. Olsvik B, Tenover FC. Tetracycline resistance in periodontal pathogens. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:310-313.
40. Lacroix J-M, Walker CB. Detection and incidence of the tetracycline resistance determinant *tet(M)* in the microflora associated with adult periodontitis. *J Periodontol* 1995;**66**:102-108.
41. Reysset A, Haggoud A, Trinh S, Sebald M. Genetics and expression of 5-nitroimidazole resistance in anaerobes. In: Anonymous *Medical and Dental Aspects of Anaerobes*. Middlesex: Science Reviews, 1995;269-277.
42. Reysset A, Haggoud A, Sebald M. Genetics of resistance of *Bacteroides* species to 5-nitroimidazole. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s401-s403.
43. Daza RM. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica* 1998;**22**:57-67.
44. Rasmussen BA, Bush K, Tally FP. Antimicrobial resistance in anaerobes. *Clin Infect Dis* 1997;**24**:s110-s120.
45. Miller GH, Sabatelli FJ, Hare RS, et al. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms - changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? *Clin Infect Dis* 1997;**24**:S46-S62.
46. European Study Group on Antibiotic Resistance. In vitro susceptibility to aminoglycoside antibiotics in blood and urine isolates consecutively collected in twenty-nine European laboratories. *European Journal of Clinical Microbiology* 1987;**6**:378-385.
47. Livermore DM, Yuan M. Antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamases amongst *Klebsiella* spp. from intensive care units in Europe. *J Antimicrob Chemother* 1996;**38**:409-424.

48. Baquero F. Trends in antibiotic resistance of respiratory pathogens: an analysis and commentary on a collaborative surveillance study. *J Antimicrob Chemother* 1996;**38**:117-132.
49. Goldstein FW, Alexander Project Group. Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study. *J Antimicrob Chemother* 1996;**38**:71-84.
50. Rosenblatt JE, Brook I. Clinical relevance of susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s446-s448.
51. Appelbaum PC. World-wide development of antibiotic resistance in pneumococci. *European Journal of Clinical Microbiology* 1987;**6**:367-377.
52. Frimodt-Møller N, Espersen F, Jacobsen B, Schlundt J, Meyling A, Wegener H. Problems with antibiotic resistance in Spain and their relation to antibiotic use in humans elsewhere. *Clin Infect Dis* 1997;**25**:939-941.
53. Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C, Rosdahl VT, Braveny I. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994;**13**:50-55.
54. García-Rodríguez JE, García-Sánchez JE. Evolution of antimicrobial susceptibility in isolates of the *Bacteroides fragilis* group in Spain. *Rev Infect Dis* 1990;**12**:s142-s151.
55. Gill Y, Scully C. Orofacial odontogenic infections: Review of microbiology and current treatment. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;**70**:155-158.
56. Socransky SS, Haffajee AD. Effects of therapy on periodontal infections. *J Periodontol* 1993;**64**:754-759.
57. Kaldahl WB, Kalwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol* 1996;**67**:93-102.
58. Ramfjord SP, Knowles JW, Nissle RR, Shick RA, Burgett FG. Longitudinal study of periodontal therapy. *J Periodontol* 1973;**44**:66-77.
59. Knowles JW, Burgett FG, Nissle RR, Shick RA, Morrison EC, Ramfjord SP. Results of periodontal treatment related to pocket depth and attachment level. Eight years. *J Periodontol* 1979;**50**:225-233.
60. Ramfjord SP, Caffesse RG, Morrison EC, et al. 4 modalities of periodontal treatment compared over 5 years. *J Clin Periodontol* 1987;**14**:445-452.
61. Pihlstrom BL, McHugh RB, Oliphant TH, Ortiz-Campos C. Comparison of surgical and non-surgical treatment of periodontal disease. A review of current studies and additional results after 6 1/2 years. *J Clin Periodontol* 1983;**10**:524-541.
62. Lindhe J, Westfelt E, Nyman S, Socransky SS, Haffajee AD. Long-term effect of surgical/non-surgical treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1984;**11**:448-458.

63. Becker W, Becker BE, Ochsenbein C, et al. A longitudinal study comparing scaling, osseous surgery and modified Widman procedures. *J Periodontol* 1988;**59**:351-365.
64. Magnusson I, Walker CB. Refractory periodontitis or recurrence of disease. *J Clin Periodontol* 1996; **23**:289-292.
65. Shiloah J, Patters MR, Dean JW, Bland P, Toledo G. The survival rate of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* following 4 randomized treatment modalities. *J Periodontol* 1997;**68**:720-728.
66. Renvert SN, Wikström MB, Dahlén GG, Slots J, Egelberg J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:345-350.
67. Renvert SN, Wikström MB, Dahlén GG, Slots J, Egelberg J. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:351-355.
68. Listgarten MA, Slots J, Nowotny AH, et al. Incidence of periodontitis recurrence in treated patients with and without cultivable *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* and *Porphyromonas gingivalis*: a prospective study. *J Periodontol* 1991;**62**:377-386.
69. van Winkelhoff AJ, Carlee A, de Graaff J. *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infect Immun* 1985;**49**:494-497.
70. Gill Y, Scully C. The microbiology and management of acute dentoalveolar abscess: views of British oral and maxillofacial surgeons. *Br J Oral Max Surg* 1988;**26**:452-457.
71. Lewis M, Meechan C, MacFarlane TW, Lamey P-J, Kay E. Presentation and antimicrobial treatment of acute orofacial infections in general dental practice. *Br J Oral Max Surg* 1990;**28**:359-366.
72. Martin MV, Longman LP, Hill JB, Hardy P. Acute dentoalveolar infections: an investigation of the duration of antibiotic therapy. *Br Dent J* 1997;**183**:135-137.
73. Lewis MAO, MacFarlane TW. Short-course high-dosage amoxicillin in the treatment of acute dento-alveolar abscess. *Br Dent J* 1986;**161**:299-302.
74. Woods R. Diagnosis and antibiotic treatment of alveolar infections in dentistry. *Int Dent J* 1981;**31**:145-151.
75. Roldán S, Herrera D, Zabalegui I, Zabalegui B. Influencia de la patología pulpo-periapical sobre la curación periodontal: el factor microbiológico. *Periodoncia* 1998;**8**:113-124.
76. Lewis MAO, Carmichael F, MacFarlane TW, Milligan SG. A randomised trial of co-amoxiclav (*Augmentin*^R) versus penicillin V in the treatment of acute dentoalveolar abscess. *Br Dent J* 1993;**175**:169-174.

77. Iwu C, MacFarlane TW, MacKenzie D, Stenhouse D. The microbiology of periapical granulomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;**69**:502-505.
78. Le Goff A, Bunetel L, Mouton C, Bonnaure-Mallet M. Evaluation of root canal bacteria and their antimicrobial susceptibility in teeth with necrotic pulp. *Oral Microbiol Immunol* 1997;**12**:318-322.
79. van Winkelhoff AJ, van Steenberghe TJM, de Graaff J. *Porphyromonas (Bacteroides) endodontalis*: its role in endodontal infections. *J Endodon* 1992;**18**:431-434.
80. Crook DW, Cuchural GJJ, Jacobus NV, Tally FP. Antimicrobial resistance in oral and colonic Bacteroides. *Scand J Infect Dis* 1988;**57**:55-64.
81. Brook I, Frazier E, Gher M. Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscesses. *Oral Microbiol Immunol* 1991;**6**:123-125.
82. AAP. Acute periodontal conditions: periodontal abscess. Periodontal Literature Reviews , 31-32. 1996. Chicago.
83. Hafström CA, Wikström MB, Renvert SN, Dahlén GG. Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses. *J Periodontol* 1994;**65**:1022-1028.
84. Dello Russo MM. The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment. *Int J Perio Rest Dent* 1985;**1**:29-37.
85. Fine DH. Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1994;**21**:98-106.
86. Carranza FJ. *Glickman's Clinical Periodontology*. Philadelphia: WB.Saunders Company, 1990.
87. Chace RJ, Low SB. Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *J Periodontol* 1993;**64**:701-705.
88. McLeod DE, Lainson PA, Spivey JD. Tooth loss due to periodontal abscess: a retrospective study. *J Periodontol* 1997;**68**:963-966.
89. Helovuo H, Hakkarainen K, Paunio K. Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol* 1993;**8**:75-79.
90. Helovuo H, Paunio K. Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *J Periodontol* 1989;**60**:467-472.
91. Topoll HH, Lange DE, Müller RF. Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:268-272.
92. Kareha MJ, Rosenberg ES, DeHaven H. Therapeutic considerations in the management of a periodontal abscess with an intrabony defect. *J Clin Periodontol* 1981;**8**:375-386.
93. Pini Prato GP, Cortellini P, Clauser C. Fibrin and fibronectin system in a guided tissue regeneration procedure. *J Periodontol* 1988;**59**:679-683.

94. Abrams H, Kopczyk RA. Gingival sequela from a retained piece of dental floss. *JADA* 1983;106:57-58.
95. Haney JM, Leknes KN, Lie T, Selvig KA, Wikesjö U. Cemental tear related to rapid periodontal breakdown: a case report. *J Periodontol* 1992;63:220-224.
96. Rada RE, Bronny AT, Hasiakos PS. Sickle cell crisis precipitated by periodontal infection: report of two cases. *JADA* 1987;114:799-801.
97. Ibbott CG, Kovach RJ, Carlson-Mann LD. Acute periodontal abscess associated with an immediate implant site in the maintenance phase. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:699-702.
98. Fuss Z, Bender IB, Rickoff BD. An unusual periodontal abscess. *J Endodon* 1986;12:116-118.
99. Emslie RD. Some considerations on the role of cementum in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1978;5:1-12.
100. Palmer RM. Acute lateral periodontal abscess. *Br Dent J* 1984;157:311-313.
101. Gillette WB, Van House RL. Ill effects of improper oral hygiene procedures. *JADA* 1980;101:476-481.
102. Abrams H, Cunningham CJ, Lee SB. Periodontal changes following coronal/root perforation and formocresol pulpotomy. *J Endodon* 1992;18:399-402.
103. Ishikawa I, Oda S, Hayashi J, Arakawa S. Cervical cemental tears in older patients with adult periodontitis. Case reports. *J Periodontol* 1996;67:15-20.
104. Goose DH. Cracked tooth syndrome. *Br Dent J* 1981;150:224-225.
105. Chen R-J, Yang J-F, Chao T-C. Invaginated tooth associated with periodontal abscess. *Oral-Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69:659
106. Yusof VZ, Ghazali MN. Multiple external root resorption. *JADA* 1989;118:453-455.
107. DeWitt GV, Cobb CM, Killoy WJ. The acute periodontal abscess: microbial penetration of the tissue wall. *Int J Perio Rest Dent* 1985;1:39-51.
108. Newman MG, Sims TN. The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess. *J Periodontol* 1979;50:350-354.
109. Ashimoto A, Tanaka T, Ryoike K, Chen C. PCR detection of periodontal/endodontic pathogens associated with abscess formation. *J Dent Res* 1998;77:854 (Abstract)
110. Trope M, Tronstad L, Rosenberg ES, Listgarten MA. Darkfield microscopy as a diagnostic aid in differentiating exudates from endodontic and periodontal abscesses. *J Endodon* 1988;14:35-38.
111. Smith RG, Davies RM. Acute lateral periodontal abscesses. *Br Dent J* 1986;161:176-178.

112. Magnusson I, Marks RG, Clark WB, Walker CB, Low SB, McArthur WP. Clinical, microbiological and immunological characteristics of subjects with "refractory" periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1991;**18**:291-299.
113. Magnusson I, Clark WB, Low SB, Maruniak J, Marks RG, Walker CB. Effect of non-surgical periodontal therapy combined with adjunctive antibiotics in subjects with "refractory" periodontal disease. (I). Clinical results. *J Clin Periodontol* 1989;**16**:647-653.
114. Walker CB, Gordon JM. The effect of clindamycin on the microbiota associated with refractory periodontitis. *J Periodontol* 1990;**61**:692-698.
115. Gordon JM, Walker CB, Hovliaras C, Socransky SS. Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis: 24-month results. *J Periodontol* 1990;**61**:686-691.
116. Haffajee AD, Socransky SS, Dzink JL, Taubman MA, Ebersole JL. Clinical, microbiological and immunological features of subjects with refractory periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988;**15**:390-398.
117. Choi J-I, Nakagawa T, Yamada S, Takazoe I, Okuda K. Clinical, microbiological and immunological studies on recurrent periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:426-434.
118. Rams TE, Feik D, Young V, Hammond BF, Slots J. Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:249-252.
119. Listgarten MA, Lai C-H, Young V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *J Periodontol* 1993;**64**:155-161.
120. Rams TE, Feik D, Slots J. Staphylococci in human periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol* 1990;**5**:29-32.
121. Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* and *Acinetobacter* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990;**5**:149-154.
122. Parrish LC, Kretschmar DP, Swan RH. Osteomyelitis associated with chronic periodontitis: a report of three cases. *J Periodontol* 1989;**60**:716-722.
123. Rodenburg JP, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goené RJ, Abbas F, de Graaff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol* 1990;**17**:392-399.
124. Winkel EG, van Winkelhoff AJ, Timmerman MF, Vangsted T, van der Velden U. Effects of metronidazole in patients with "refractory" periodontitis associated with *Bacteroides forsythus*. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:573-579.
125. American Academy of Periodontology. Systemic antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 1996;**67**:831-838.

126. Drisko CH. Non-surgical pocket therapy: pharmacotherapeutics. *Annals of Periodontology* 1996;1:491-566.
127. McCulloch C, Birek P, Overall C, Aitken S, Lee W, Kulkarni G. Randomized controlled trial of doxycycline in the prevention of recurrent periodontitis in high-risk patients: antimicrobial activity and collagenase inhibition. *J Clin Periodontol* 1990;17:616-622.
128. Gordon JM, Walker CB, Lai C-H, et al. Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis. 12-months results. *J Periodontol* 1985;56:75-80.
129. van Winkelhoff AJ, Tjihof CJ, de Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *J Periodontol* 1992;63:52-57.
130. Pavicic M, van Winkelhoff AJ. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. A 2-year evaluation. *J Clin Periodontol* 1994;21:107-112.
131. Mombelli A, Gusberti FA, Lang NP. Treatment of recurrent periodontal disease by root planing and ornidazole (Tiberol^R). *J Clin Periodontol* 1989;16:38-45.
132. Mombelli A. Antibiotics in periodontal therapy. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP, eds. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. Copenhagen: Munksgaard, 1997;488-507.
133. Moore WEC. Microbiology of periodontal disease. *J Periodont Res* 1987;22:335-341.
134. Consensus Report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Annals of Periodontology* 1996;1:926-932.
135. Slots J, Listgarten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1988;15:85-93.
136. Aass AM, Preus HR, Zambon JJ, Gjermo P. Microbiologic tests in epidemiological studies: are they reproducible? *Scand J Dent Res* 1994;102:355-360.
137. Cao CF, Aeppli DM, Liljemark WF, Blomquist C, Bandt CL, Wolff LF. Comparison of plaque microflora between Chinese and Caucasian population groups. *J Clin Periodontol* 1990;17:115-118.
138. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie GM. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. *J Periodontol* 1991;62:543-547.
139. Ali RW, Bakken V, Nilsen R, Skaug N. Comparative detection frequency of 6 putative periodontal pathogens in Sudanese and Norwegian adult periodontitis patients. *J Periodontol* 1994;65:1046-1052.
140. Dahlén GG, Wikström MB. Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1995;10:42-46.

141. Dahlén GG, Renvert SN, Wikström MB, Egelberg J. Reproducibility of microbiological samples from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990;17:73-77.
142. Dahlén GG, Luan W-M, Baelum V, Fejerskov O, Chen X. Periodontopathogens in elderly Chinese with different periodontal disease experience. *J Clin Periodontol* 1995;22:188-200.
143. Schenkein HA, Burmeister JA, Koertge TE, et al. The influence of race and gender on periodontal microflora. *J Periodontol* 1993;64:292-296.
144. Slots J, Feik D, Rams TE. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis: age relationship and mutual association. *J Clin Periodontol* 1990;17:659-662.
145. Slots J, Feik D, Rams TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1999;5:305-308.
146. Zambon JJ, Grossi SG, Matchei EE, Ho AW, Dunford RG, Genco RJ. Cigarette smoking increases the risk of subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol* 1996;67:1050-1054.
147. Grossi SG, Skrepinski FB, DeCaro T, Zambon JJ, Cummins D, Genco RJ. Response to periodontal therapy in diabetics and smokers. *J Periodontol* 1996;67:1094-1102.
148. van Winkelhoff AJ, Winkel EG. Differences in periodontal microbiota between smokers and non-smokers. *J Dent Res* 1998;77:1032 (Abstract)
149. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Reijerse E, Wolffe GN, van Winkelhoff AJ, van der Velden U. The prevalence of *A.actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* and *P.intermedia* in selected subjects with periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994;21:583-588.
150. Wolff LF, Aeppli DM, Pihlstrom B, et al. Natural distribution of 5 bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1993;20:699-706.
151. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at sampled site. *J Clin Periodontol* 1991;18:766-775.
152. Papapanou PN, Sellén A, Wennström JL, Dahlén G. An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol Immunol* 1993;8:24-29.
153. Haffajee AD, Socransky SS. Effect of sampling strategy on the false-negative rate for detection of selected subgingival species. *Oral Microbiol Immunol* 1992;7:57-59.
154. Ali RW, Velcescu C, Jivanescu M-C, Lofthus B, Skaug N. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23:133-139.
155. Dahlén GG, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 1989;16:305-310.

156. Wikström MB, Renvert SN, Dahlén GG, Johnson T. Variance in recovery of periodontitis-associated bacteria caused by sampling technique and laboratory processing. *Oral Microbiol Immunol* 1991;**6**:102-106.
157. van Dalen PJ, van Winkelhoff AJ, van Steenberghe T. Prevalence of *Peptostreptococcus micros* morphotypes in patients with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1998;**13**:62-64.
158. Rams TE, Feik D, Listgarten MA, Slots J. *Peptostreptococcus micros* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:1-6.
159. Ali RW, Johannessen AC, Dahlén GG, Socransky SS, Skaug N. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in Northern Cameroon. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:830-835.
160. Kamma JJ, Nakou M, Manti FA. Microbiota of rapidly progressive periodontitis lesions in association with clinical parameters. *J Periodontol* 1994;**65**:1073-1078.
161. Slots J, Bragd L, Wikström MB, Dahlén GG. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1986;**13**:570-577.
162. Piccolomini R, Di Bonaventura G, Catamo G, Picciani C, Paolantonio M. *In vitro* antimicrobial susceptibility of periodontopathic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to roxithromycin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol* 1997;**12**:366-371.
163. Hagiwara S, Takamatsu N, Tominaga Y, Umeda M. Subgingival distribution of periodontopathic bacteria in adult periodontitis and their susceptibility to minocycline-HCl. *J Periodontol* 1998;**69**:92-99.
164. Preus HR, Anerud A, Boysen H, Dunford RG, Zambon JJ, Løe H. The natural history of periodontal disease. The correlation of selected microbiological parameters with disease severity in Sri Lankan tea workers. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:674-678.
165. Kornman KS, Newman MG, Alvarado R, Flemmig TF, Nachnani S, Tumbusch J. Clinical and microbiological patterns of adults with periodontitis. *J Periodontol* 1991;**62**:634-642.
166. Lotufo R, Flynn J, Chen C, Slots J. Molecular detection of *Bacteroides forsythus* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1994;**9**:154-160.
167. McNabb H, Mombelli A, Gmür R, Mathey-Dinç S, Lang NP. Periodontal pathogens in the shallow pockets of immigrants from developing countries. *Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:267-272.
168. Rams TE, Feik D, Slots J. *Campylobacter rectus* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1993;**8**:230-235.
169. Casey Chen C-K, Dunford RG, Reynolds HS, Zambon JJ. *Eikenella corrodens* in the human oral cavity. *J Periodontol* 1989;**60**:611-616.
170. Casey Chen C-K, Wilson MA. *Eikenella corrodens* in human oral and non-oral infections: a review. *J Periodontol* 1992;**63**:941-953.

171. Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* and *Acinetobacter* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990;**5**:149-154.
172. Walker CB. Selected antimicrobial agents: mechanism of action, side effects and drug interactions. *Periodontol 2000* 1996;**10**:12-28.
173. Goodson JM. Antimicrobial strategies for treatment of periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994; **5**:142-168.
174. NCCLS. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria; approved standard-Fourth Edition. NCCLS document (M11-A4). 1997. Wayne, Pennsylvania, USA.
175. Newman MG, Hulem C, Colgate J, Anselmo C. Antibacterial susceptibility of plaque bacteria. *J Dent Res* 1979;**58**:1722-1732.
176. Baker PJ, Evans RT, Slots J, Genco RJ. Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from human oral cavity. *J Dent Res* 1985;**64**:1233-1244.
177. Wright TL, Ellen RP, Lacroix J-M, Sinnadurai S, Mittelman MW. Effects of metronidazole on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. *J Periodont Res* 1997;**32**:473-477.
178. Kleinfelder JW, Müller RF, Lange DE. Antibiotic susceptibility of putative periodontal pathogens in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1999;**26**:347-351.
179. Pallash TJ. Pharmacokinetic principles of antimicrobial therapy. *Periodontol 2000* 1996;**10**:5-11.
180. NCCLS. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria - second edition; Tentative standard. NCCLS document (M11-T2), 661-683. 1989. Vilanova, Pa., USA.
181. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeast, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988;**3**:47-52.
182. Flynn MJ, Li G, Slots J. *Mitsuokella dentalis* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1994;**9**:248-250.
183. Nachnani S, Scuteri A, Newman MG, Avanesian AB, Lomeli SL. E-test: a new technique for antimicrobial susceptibility testing for periodontal microorganisms. *J Periodontol* 1992;**63**:576-583.
184. Goodson JM, Tanner A. Antibiotic resistance of the subgingival microbiota following local tetracycline therapy. *Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:113-117.
185. Fiehn N-E, Westergaard J. Doxycycline-resistant bacteria in periodontally diseased individuals after systemic doxycycline therapy and in healthy individuals. *Oral Microbiol Immunol* 1990;**5**:219-222.

186. Preus HR, Lassen J, Aass AM, Ciancio SG. Bacterial resistance following subgingival and systemic administration of minocycline. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:380-384.
187. Kornman KS, Karl EH. The effect of long-term low-dose tetracycline therapy on the subgingival microflora in refractory adult periodontitis. *J Periodontol* 1982;**53**:604-610.
188. Kinder SA, Holt SC, Kornman KS. Penicillin resistance in the subgingival microbiota associated with adult periodontitis. *J Clin Microbiol* 1986;**23**:1127-1133.
189. Rams TE, Feik D, Hammond BF. Multiple antibiotic resistant strains of *Prevotella*, *Fusobacterium* and Beta-Hemolytic *Streptococcus* species in adult periodontitis subgingival microbiota. *J Periodontol* 1999;**70**:112 (Abstract)
190. Calsina G, Lee Y-S, Newman MG, Kornman KS, Nachnani S, Flemmig TF. Rapid antimicrobial resistance screening method for *Bacteroides intermedius*. *Oral Microbiol Immunol* 1991;**6**:111-114.
191. Zabransky RJ. Review of methods for susceptibility testing of anaerobes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;**11**:1025-1031.
192. Miyake Y, Tsuruda K, Okuda K, Widowati, Iwamoto Y, Suginaka H. *In vitro* activity of tetracyclines, macrolides, quinolones, clindamycin and metronidazole against periodontopathic bacteria. *J Periodont Res* 1995;**30**:290-293.
193. Tsao T-F, Newman MG, Kwok Y-Y, Horikoshi AK. Effect of Chinese and Western antimicrobial agents on selected oral bacteria. *J Dent Res* 1982;**61**:1103-1106.
194. Finegold SM. Clinical relevance of antimicrobial susceptibility testing. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;**11**:1021-1024.
195. Wexler HM. Susceptibility testing of anaerobic bacteria - the state of the art. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s328-s333.
196. Bolmström A. Susceptibility testing of anaerobes with Etest. *Clin Infect Dis* 1993;**16**:s367-s370.
197. Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H. Evaluation of the E test for antimicrobial susceptibility testing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol* 1992;**7**:376-377.
198. Poulet PP, Duffaut D, Lodter J. Metronidazole susceptibility testing of anaerobic bacteria associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1999;**26**:261-263.
199. Takemoto K, Kurihara H, Dahlén G. Characterization of *Bacteroides forsythus* isolates. *J Clin Microbiol* 1997;**35**:1378-1381.
200. Maiden M, Sheehan M, Tanner A. Antibiotic sensitivities and phenotypic characters of *Bacteroides forsythus*. *J Dent Res* 1994;**73**:153 (Abstract)
201. Bernal LA, Guillot E, Paquet C, Mouton C. β -lactamase-producing strains in the species *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. *Oral Microbiol Immunol* 1998;**13**:36-40.

202. Lewis M, Parkhurst CL, Douglas C, et al. Prevalence of penicillin resistant bacteria in acute suppurative oral infection. *J Antimicrob Chemother* 1995;**35**:785-791.
203. Könönen E, Nyfors S, Mättö J, Asikainen S, Jousimies-Somer H. β -lactamase production by oral pigmented *Prevotella* species isolated from young children. *Clin Infect Dis* 1997;**25**:S272-S274.
204. Hill GB, Schalkowsky S. Susceptibility testing of antimicrobial agents. *Reviews of Infectious Diseases* 1990;**12**:200-209.
205. Schalkowsky S. Measures of Susceptibility from a Spiral Gradient of drug concentrations. In: Poupard JA, ed. *Antimicrobial Susceptibility Testing*. New York: Plenum Press, 1994;107-120.
206. Walker CB, Tyler KZ, Low SB, King CJ. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1987;**2**:129-131.
207. van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Barendregt D, Dellelijn-Kippuw N, Stijne A, van der Velden U. β -lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:538-543.
208. Heimdahl A, von Konow L, Nord CE. Beta-lactamase-producing *Bacteroides* species in the oral cavity in relation to penicillin therapy. *J Antimicrob Chemother* 1981;**8**:225-229.
209. Valdés MV, Lobbins PM, Slots J. Beta-lactamase producing bacteria in the human oral cavity. *J Oral Pathol* 1982;**11**:58-63.
210. Legg JA, Wilson M. The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to *Augmentin*. *Br J Oral Max Surg* 1990;**28**:180-184.
211. Pacini N, Zanchi R, Ferrara A, Canzi E, Ferrari A. Antimicrobial susceptibility tests on anaerobic oral mixed cultures in periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:401-409.
212. Goldstein E, Citron DM. Broad spectrum antimicrobials for anaerobic infections. In: Anonymous *Medical and Dental Aspects of Anaerobes*. Middlesex: Science reviews, 1995;249-259.
213. Walker CB, Gordon JM, Socransky SS. Antibiotic susceptibility testing of subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 1983;**10**:422-432.
214. Abu Fanas SH, Drucker DB, Hull SH, Reeder JC, Ganguli LA. Identification and susceptibility to seven antimicrobial agents, of 61 Gram-negative anaerobic rods from periodontal pockets. *J Dent* 1991;**19**:46-50.
215. O'Connor BC, Newman HN, Wilson M. Susceptibility and resistance of plaque bacteria to minocycline. *J Periodontol* 1990;**61**:228-233.
216. Walker CB, Pappas JD, Tyler KZ, Cohen S, Gordon JM. Antibiotic susceptibilities of periodontal bacteria. *In vitro* susceptibilities to eight antimicrobial agents. *J Periodontol* 1985;**56**:63-74.

217. Andrés MT, Valle G, Tejerina JM, Fernando J. Sensibilidad *in vitro* a antibióticos en aislados clínicos de *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*. *Periodoncia* 1996;6:122-129.
218. Sutter VL, Jones MJ, Ghoneim A. Antimicrobial susceptibilities of bacteria associated with periodontal disease. *Antimicrob Agents Chemother* 1983;23:483-486.
219. Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol* 1990;17:479-493.
220. van Winkelhoff AJ, Pavicic M, de Graaff J. Antibiotics in periodontal therapy. In: Lang NP, Karring T, eds. *Proceedings of the 1st European Workshop in Periodontology*. London: Quintessence Books, 1994;258-273.
221. Hamada S, Fujiwara T, Shimauchi H, et al. Antimicrobial activities of thiolactomycin against gram-negative anaerobes associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5:340-345.
222. Pajukanta R, Asikainen S, Saarela M, Alaluusua S, Jousimies-Somer H. In-vitro activity of azithromycin compared with that of erythromycin against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1241-1243.
223. Pajukanta R. In vitro antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* to azithromycin, a novel macrolide. *Oral Microbiol Immunol* 1993;8:325-326.
224. Williams JD, Maskell JP, Shain H, et al. Comparative in-vitro activity of azithromycin, macrolides (erythromycin, clarithromycin and spiramycin) and streptogramin rp 59500 against oral organism. *J Antimicrob Chemother* 1992;30:27-37.
225. Gaetti-Jardim EJ, Zelante F, Avila-Campos MJ. Oral species of *Fusobacterium* from human and environmental samples. *J Dent* 1996;24:345-348.
226. Brook I. β -Lactamase-producing bacteria recovered after clinical failures with various penicillin therapy. *Arch Otolaryngol* 1984;10:228-231.
227. Wasfy MO, Bajuscak RE, Santos AC, Minah GE. B-lactamase resistance of black-pigmented *Bacteroides* in gingival plaques of Egyptian children. *J Periodont Res* 1986;21:450-454.
228. Tyler KT, Walker CB, Low SB, King CJ. Incidence of penicillin degrading enzymes in periodontally diseased sites. *J Dent Res* 1986;65:226 (Abstract)
229. Wade WG, Moran J, Morgan JR, Newcombe R, Addy M. The effects of antimicrobial acrylic strips on the subgingival microflora in chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 1992;19:127-134.
230. Williams BL, Osterberg K-A, Jorgensen J. Subgingival microflora of periodontal patients on tetracycline therapy. *J Clin Periodontol* 1979;6:210-221.
231. Abu Fanas S, Drucker D, Hull S. Amoxycillin with clavulanic acid and tetracycline in periodontal therapy. *J Dent* 1991;19:97-99.
232. Rams TE, Babaola OO, Slots J. Subgingival occurrence of enteric rods, yeasts and staphylococci after systemic doxycycline. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5:166-168.

233. Gray JL, Flanary DB, Newell DH. The prevalence of periodontal abscess. *J Indiana Dent Assoc* 1994;**73**:18-23.
234. Garrett S, Polson AM, Stoller NH, et al. Comparison of a bioabsorbable GTR barrier to a non-absorbable barrier in treating human class II furcation defects. A multi-center parallel design randomized single-blind study. *J Periodontol* 1997;**68**:667-675.
235. Galego-Feal P, García-Quintans A, Gude-Sampedro F, García-García A. Tramadol en el tratamiento del dolor de origen dentario en un servicio de urgencias hospitalario. *Emergencias* 1996;**8**:480-484.
236. Becker W, Berg L, Becker BE. The long term evaluation of periodontal treatment and maintenance in 95 patients. *Int J Perio Rest Dent* 1984;**2**:55-70.
237. Suzuki JB, Delisle AL. Pulmonary actinomycosis of periodontal origin. *J Periodontol* 1984;**55**:581-584.
238. Chan CH, McGurk M. Cervical necrotising fasciitis - a rare complication of periodontal disease. *Br Dent J* 1997;**183**:293-296.
239. Manian FA. Cellulitis associated with an oral source of infection in breast cancer patients: report of two cases. *Scand J Infect Dis* 1997;**29**:421-422.
240. Waldman BJ, Mont MA, Hungerford DS. Total knee arthroplasty infections associated with dental procedures. *Clin Orthop* 1997;**343**:164-172.
241. Pearle MS, Wendel EF. Necrotizing cavernositis secondary to periodontal abscess. *J Urol* 1993;**149**:1137-1138.
242. Gallaguer DM, Erickson K, Hollin SA. Fatal brain abscess following periodontal therapy: a case report. *Mt Sinai J Med* 1981;**48**:158-160.
243. Quteish-Taani DS. Tratamiento efectivo de los abscesos periodontales crónicos. *Quintessence Int* 1996;**27**:697-699.
244. Galego-Feal P, Rivas-Lombardero P, Castro-Díaz P, et al. Urgencias en estomatología. *Medicina Integral* 1995;**26**:331-347.
245. Layton JM, Walker CB, Pappas JD. Gingival fluid levels of amoxicillin and its MICs for periodontal bacteria. *J Dent Res* 1983;**62**:290 (Abstract)
246. Tenenbaum H, Jehl F, Gallion C, Dahan M. Amoxicillin and clavulanic acid concentrations in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1997;**24**:804-807.
247. Akimoto Y, Mochizuki Y, Uda A, et al. Amoxicillin concentration in pus from abscess caused by odontogenic infection. *Gen Pharmacol* 1994;**25**:111-113.
248. Malizia T, Tejada M, Ghelardi E, et al. Periodontal tissue disposition of Azithromycin. *J Periodontol* 1997;**68**:1206-1209.
249. Lode H. The pharmacokinetics of azithromycin and their clinical significance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;**10**:807-812.

250. McDonald P, Pruul H. Phagocyte uptake and transport of azithromycin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;**10**:828-833.
251. Karma P, Pukander J, Penttilä M. Azithromycin concentrations in sinus fluid and mucosa after oral administration. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991;**10**:856 (Abstract)
252. Lo Bue AM, Sammartino R, Chisari G, Gismondo MR, Nicoletti G. Efficacy of azithromycin compared with spiramycin in the treatment of odontogenic infections. *J Antimicrob Chemother* 1993;**31**:119-127.
253. Britt MR, Pohlod DJ. Serum and crevicular fluid concentrations after a single oral dose of metronidazole. *J Periodontol* 1996;**57**:104-107.
254. Bujaldón A, Herrera D, González I, O'Connor A, Sanz M. Periodontal pathogen prevalences among two groups of periodontitis patients, before and after initial therapy. *J Dent Res* 1998;**77**:1256 (Abstract)
255. Walker CB, Clark WB, Magnusson I. Antimicrobial susceptibilities of subgingival plaque samples from patients with refractory periodontitis. *J Dent Res* 1987;**66**:355 (Abstract)
256. Olsvik B, Hansen BF, Tenover FC, Olsen I. Tetracycline-resistant micro-organisms recovered from patients with refractory periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1995;**22**:391-396.
257. Heimdahl A, von Konow L, Nord CE. Isolation of β -Lactamase-producing *Bacteroides* strains associated with clinical failures with penicillin treatment of human orofacial infections. *Archs oral Biol* 1980;**25**:689-692.
258. Levy SB. Editorial response: antibiotic resistance worldwide - a Spanish Task Force responds. *Clin Infect Dis* 1996;**23**:824-826.
259. Consensus Report. Non-surgical pocket therapy: mechanical, pharmacotherapeutics, and dental occlusion. *Annals of Periodontology* 1996;**1**:581-588.
260. Elter JR, Lawrence HP, Offenbacher S, Beck JD. Meta-analyses of the effect of systemic metronidazole as an adjunct to scaling a root planing for adult periodontitis. *J Periodont Res* 1997;**32**:487-496.
261. Bollen C, Quirynen M. Microbiological response to mechanical treatment in combination with adjunctive therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1996;**67**:1143-1158.
262. Walker CB, Gordon JM, Socransky SS. A method for the selection of an antibiotic for adjunctive use in periodontal therapy. *J Dent Res* 1983;**62**:289 (Abstract)
263. Walker CB, Gordon JM, McQuilkin SJ, Niebloom TA, Socransky SS. Tetracycline: levels achievable in gingival crevice fluid and in vitro effect of subgingival organisms. part II. Susceptibilities of periodontal bacteria. *J Periodontol* 1981;**52**:613-616.
264. Pascale D, Gordon J, Lamster I, Mann P, Seiger M, Arndt W. Concentration of doxycycline in human gingival fluid. *J Clin Periodontol* 1986;**13**:841-844

ANEXO: ARTICULOS ORIGINALES.

Herrera, D., Roldán, S., Sanz, M.

“Review article: the periodontal abscess”

Journal of Clinical Periodontology 2000; 27 (6).

Resumen.

Introducción. El absceso periodontal es una patología periodontal frecuente, en la que los tejidos periodontales pueden destruirse rápidamente. Su importancia se basa en la posible necesidad de tratamiento urgente, la influencia sobre el pronóstico del diente, y la posibilidad de diseminación de la infección. Hay una carencia de información en la literatura científica en relación con esta patología, y la mayoría de lo publicado son informes de casos y libros de texto, en los que las conclusiones no están basados en la evidencia, sino en observaciones empíricas realizadas por profesionales de reconocido prestigio.

Objetivo. El objetivo de esta revisión fue analizar de manera crítica toda la información disponible en la literatura médica y dental, sobre este tema, incluyendo información sobre su prevalencia, etiología y patogénesis propuestas, diagnóstico, microbiología y alternativas de tratamiento.

Revisión. El absceso periodontal es la tercera emergencia dental más frecuente, y es especialmente prevalente en pacientes con periodontitis no tratada y en pacientes tratados en mantenimiento. Se han propuesto diferentes etiologías, distinguiéndose dos grupos principales, dependiendo de su relación con las bolsas periodontales. En el caso de abscesos relacionados con bolsas periodontales, esta condición puede aparecer como una exacerbación de una periodontitis no tratada, o durante el tratamiento periodontal. En abscesos no relacionados con periodontitis, la impactación de cuerpos extraños y las anomalías radiculares son las dos causas principales. La microflora del absceso parece ser similar a la encontrada en periodontitis del adulto, y está dominada por bacilos anaerobios gram-negativos, incluyendo patógenos periodontales bien conocidos. Las complicaciones y las consecuencias incluyen la pérdida del diente y la diseminación de la infección a otras zonas del cuerpo. El diagnóstico y el tratamiento están basados principalmente en decisiones empíricas, ya que no hay información basada en la evidencia. El papel de los antibióticos sistémicos en el tratamiento de los abscesos periodontales es especialmente controvertido.

TITLE:

The Periodontal Abscess: a Review.

AUTHORS.

Herrera, David.

Roldán, Silvia.

Sanz, Mariano.

Section of Graduate Periodontology - Faculty of Odontology, University Complutense,
Madrid, Spain.

ADDRESS.

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Computer system: Microsoft Word for Windows

Abstract.

The periodontal abscess is a frequent periodontal condition in which periodontal tissues may be rapidly destroyed. Its importance is based on the possible need of urgent care, the affectation of tooth prognosis, and the possibility of infection spreading. There is scarce information on the scientific literature regarding this condition and most of it has been published as case reports and text books, where conclusions are not evidence-based, but rather empirical observations made by recognised clinicians.

The aim of this review was to critically analyse all available information on this subject in the dental and medical literature, including information on its prevalence, proposed etiologies and pathogenesis, diagnosis, microbiology and treatment alternatives.

The periodontal abscess is the third most frequent dental emergency, and it is specially prevalent among untreated periodontal patients and periodontal patients during maintenance. Different etiologies have been proposed, and two main groups can be distinguished, depending on its relation with periodontal pockets. In the case of a periodontitis-related abscess, the condition may appear as an exacerbation of a non-treated periodontitis or during the course of periodontal therapy. In non-periodontitis related abscesses, impaction of foreign objects, and radicular abnormalities are the two main causes. The abscess microflora seems to be similar to that of adult periodontitis, and it is dominated by gram-negative anaerobic rods, including well-known periodontal pathogens. Complications and consequences include tooth loss and the spread of the infection to other body sites. Diagnosis and treatment is mainly based on empiricism, since evidence-based data are not available. The role of systemic antibiotics, in the treatment of periodontal abscesses, is especially controversial.

Key words: Periodontal abscess, literature review, microbiology, diagnosis, classification, etiology, prevalence, therapy.

Review Article

THE PERIODONTAL ABSCESS: A REVIEW.

The periodontal abscess is a frequent periodontal condition in which periodontal tissues may be rapidly destroyed. This condition is one of the few clinical situations in periodontics where patients may seek immediate care. Its importance lies not only with the prognosis of the periodontitis affected tooth, but also with the possibility of infection spreading. There is scarce information on the scientific literature regarding this condition and most of it has been published as case reports and text books, where conclusions are not evidence-based, but rather empirical observations made by recognised clinicians.

The aim of the present review was to critically evaluate the available literature regarding the periodontal abscess. This condition has clinical implications, not only diagnostic, but also, prognostic and therapeutic in everyday periodontal practice.

Definition.

Odontogenic infections have various possible sources, including pulp necrosis, periodontal infections, pericoronitis, trauma or surgery (Gill & Scully, 1990). Odontogenic or dental abscesses have been defined according to their infection source, as endodontal or periapical abscess, periodontal abscess and pericoronal abscess (van Winkelhoff et al. 1985). This nomenclature, however, is somehow confusing, since abscesses of pulp necrosis origin have been referred both as dental or periapical or dentoalveolar abscesses (Gill & Scully, 1988). Acute dentoalveolar abscesses have been termed as the most frequent infection in dentistry which demand emergency treatment (Lewis et al. 1990). However, in order to render appropriate therapy, it is important to distinguish among abscesses of endodontal and periodontal origin (Trope et al. 1988). The periodontal abscess has been defined as a lesion with an expressed periodontal breakdown, occurring during a limited period of time, and with easily detectable clinical symptoms (Hafström et al. 1994), with a localised accumulation of pus (DeWitt et al. 1985; Carranza, 1990), located within the gingival wall of the periodontal pocket (Carranza, 1990).

Prevalence.

The prevalence of periodontal abscesses has been studied in emergency dental clinics (Galego-Feal et al. 1996; Ahl et al. 1986), in general dental clinics (Lewis et al. 1990), in periodontitis patients before and during periodontal treatment (Gray et al. 1994), and in periodontitis patients during periodontal maintenance (Kaldahl et al. 1996; McLeod et al. 1997).

The periodontal abscess often requires emergency treatment, therefore, its prevalence can be calculated from registrars of emergency dental clinics. Among all emergency dental conditions, periodontal abscesses represent approximately 8% of all dental emergencies in Spain (Galego-Feal et al. 1996), and up to 14% in U.S.A. (Ahl et al. 1986).

Data from a questionnaire of over 600 general practices in United Kingdom reported that periodontal abscesses were diagnosed in 6-7% of all patients treated in 1 month (Lewis et al. 1990). The periodontal abscess was the third most prevalent emergency infection, after acute dento-alveolar abscesses (14-25%) and pericoronitis (10-11%).

Gray et al. (1994) reviewed the records from an army dental clinic studying periodontitis and abscess formation. From 5467 records, 203 patients suffered from periodontitis (3.7%). Amongst these, periodontal abscesses was diagnosed in 57 patients (27.5%). Patients undergoing active periodontal treatment had a prevalence of a periodontal abscess of 13.5%, while untreated patients showed a higher figure, 59.7%.

McLeod et al. (1997) studied retrospectively 114 periodontal patients in maintenance therapy, treated for moderate to severe periodontitis, between 5-29 years before (mean 12.5 years). 42 patients (37%) had suffered from a periodontal abscess. From 2899 treated teeth, 109 (3.7%) developed periodontal abscesses.

In the Nebraska prospective longitudinal study (Kaldahl et al. 1996) the occurrence of periodontal abscesses during 7 years of periodontal maintenance was also studied. From the 51 patients seeking treatment during this period, 27 presented with an abscess. 23 of them affected teeth in quadrants treated only by coronal scaling, 3 in areas treated by root planing, and only 1 in areas treated with modified Widman flap surgery. No abscess was detected in areas treated by osseous flap surgery. 16 out of 27 abscess sites had initial probing pocket depths deeper than 6 mm, while in 8 sites the probing depth was 5-6 mm.

Consequently, the periodontal abscess is important, due to its relatively high prevalence, mostly in periodontitis patients. In these patients, a periodontal abscess is more likely to occur in a pre-existing periodontal pocket (Carranza, 1990), and its importance lies not only on its occurrence, but also how this abscess affects the prognosis of the tooth. Teeth with an abscess are usually considered hopeless (Becker et al. 1984), and therefore the occurrence of an abscess may be one of the main reasons for tooth extraction during periodontal maintenance (Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997).

Etiology.

Periodontal abscesses have been either directly associated to periodontitis or to sites without the prior existence of a periodontal pocket.

a) Periodontal abscesses in periodontitis.

In periodontitis, a periodontal abscess represents a period of active bone destruction (exacerbation), although such events also occur without abscess formation. The existence of tortuous pockets, with cul-de-sac, which eventually become isolated, may favour the formation of abscesses (Carranza, 1990). The marginal closure of a periodontal pocket, may lead to an extension of the infection into the surrounding periodontal tissues due to the pressure of the suppuration inside the closed pocket (Kareha et al. 1981; Newman & Sims, 1979; DeWitt et al. 1985). Fibrin secretions, leading to the local accumulation of pus may favour the closure of the gingival margin to the tooth surface (Galego-Feal et al. 1995). Changes in the composition of the microflora, bacterial virulence, or in host defences (Kareha et al. 1981) could also make the *pocket lumen inefficient to drain the increased suppuration.*

The development of a periodontal abscess in periodontitis may occur at different stages during the course of the infection: as an acute exacerbation of an untreated periodontitis (Dello Russo, 1985); during periodontal therapy (Dello Russo, 1985; Carranza, 1990); in refractory periodontitis (Fine, 1994); or during periodontal maintenance (Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997).

There are various reasons why an abscess occurs in relation to therapy. Smith & Davies (1986), studying the treatment of 62 periodontal abscesses, reported that 20 out of the 55 patients were undergoing periodontal treatment at the time of abscess development. When the periodontal abscess occurs immediately after scaling or after a routine prophylaxis, it has been related to the dislodging of calculus fragments, which can be pushed into the tissues (Dello Russo, 1985). It may also be due to inadequate scaling which will allow calculus to remain in the deepest pocket area, while the resolution of the inflammation at the coronal pocket area will occlude the normal drainage and then cause the abscess formation. (Dello Russo, 1985; Carranza, 1990). Periodontal abscesses occurring immediately after periodontal surgery have also been reported in the literature. Recently, a clinical study on guided tissue regeneration (Garrett et al. 1997) reported that 10 out of 80 controls (non-resorbable barrier) and 4 out of 82 tests (bio-absorbable barrier) showed abscess formation or suppuration at the treated sites.

Treatment with systemic antibiotics without subgingival debridement in patients with advanced periodontitis may also cause abscess formation (Helovuo & Paunio, 1989; Helovuo et al. 1993; Topoll et al. 1990). Topoll et al. (1990) reported on the development of multiple abscesses (from 4 to 12) in 10 untreated periodontal patients, who received systemic antibiotic therapy (penicillin, tetracycline or megacillin) for non-oral infections. It has been attributed to a likely change in the composition of the subgingival microbiota, leading to a superinfection (Helovuo et al. 1993). This condition was evaluated by Helovuo and co-workers (Helovuo & Paunio, 1989; Helovuo et al. 1993), studying 72 patients with untreated periodontitis, who were followed for 12 weeks, after intake of systemic antibiotics for non-oral reasons. Patients were divided into 3 groups according to the antibiotic used: penicillin, erythromycin and control (no antibiotic). 10 out of 24 patients (42%) in the penicillin group developed abscesses within the next 4 weeks. In 4 patients, almost every tooth was involved, while in the other 6 patients, the number of abscesses ranged between 1-10. No abscesses were detected in the erythromycin or the control groups.

Another systemic therapy that has been related to the development of multiple abscesses is nifedipine. A case report (Koller-Benz et al. 1992) showed that after initiation of this therapy, 8 abscesses appeared in 5 days. The acute condition was treated with drainage, the nifedipine therapy was discontinued, and the abscesses resolved. 3 weeks later the treatment was resumed, and after 2 weeks another abscess was detected, and the nifedipine treatment was definitely terminated. The authors did not give any plausible explanation for this findings, and it was not clear whether the patient suffered from periodontitis.

b) Periodontal abscesses in the absence of periodontitis.

Periodontal abscesses can also develop in the absence of periodontitis, due to the following causes: a) Impactation of foreign bodies (Kareha et al. 1981), such as an orthodontic elastic (Pini Prato et al. 1988), a piece of dental floss (Abrams & Kopczyk, 1983), a popcorn kernel (Rada et al. 1987), a dislodged cemental tear (Haney et al. 1992), a piece of a toothpick (not confirmed) (Fuss et al. 1986), a corn husk in peri-implant tissues (Ibbott et al. 1993), or an unknown object (Emslie, 1978; Palmer, 1984). Periodontal abscesses caused by foreign bodies, related with oral hygiene aids, have been named "oral hygiene abscesses" (Gillette & Van House, 1980). b) Perforation of the tooth wall by an endodontic instrument (Carranza, 1990; Abrams et al. 1992). c) Infection of lateral cysts (Kareha et al. 1981). d) Local factors affecting the morphology of the root may predispose to periodontal abscess formation. The presence of cervical cemental tears has been related to rapid progression of periodontitis and the development of abscesses (Haney et al. 1992; Ishikawa et al. 1996). The presence of external root resorption (Yusof & Ghazali,

1989), an invaginated tooth (Chen et al. 1990), or a cracked tooth (Goose, 1981), have been also suggested as predisposing factors for periodontal abscess formation.

Pathogenesis and Histopathology.

The entry of bacteria into the soft tissue pocket wall could be the first event to initiate the periodontal abscess. Inflammatory cells are then attracted by chemotactic factors released by the bacteria, and the concomitant inflammatory reaction leads to destruction of the connective tissues (DeWitt et al. 1985), the encapsulation of the bacterial infection and the production of pus (Carranza, 1990).

Histologically, intact neutrophils are found surrounding a central area of soft tissue debris and destroyed leukocytes. At a later stage, a pyogenic membrane, composed of macrophages and neutrophils, is organised. The rate of destruction in the abscess will depend on the growth of bacteria inside the foci and its virulence as well as on the local pH, since an acidic environment will favour the activity of lysosomal enzymes (DeWitt et al. 1985).

De Witt et al. (1985) studied biopsy punches taken from 12 abscesses. The biopsies were taken just apical to the area of major fluctuance. They observed, from the outside to the inside: a) a normal oral epithelium and lamina propria; b) an acute inflammatory infiltrate; c) an intense foci of inflammation (neutrophil-lymphocyte) with the surrounding connective tissue destroyed and necrotic; d) a destroyed and ulcerated pocket epithelium; e) a central region, as a mass of granular, acidophilic, and amorphous debris. In 7 out of 9 specimens evaluated by electron-microscopy, gram-negative bacteria were seen invading the pocket epithelium and altered connective tissue. Bacteria inside the abscesses were immersed in tissue exudate and surrounded by necrotic tissues. The presence of fungi inside the abscess was also discussed.

Microbiology.

Review articles have pointed out that purulent oral infections are poly-microbial, and caused by endogenous bacteria (Tabaqhali, 1988). However, very few studies have investigated the specific microbiota of periodontal abscesses (Table 1). Hafström et al. (1994) reported a microflora harbouring more than 10^6 total viable counts per sample. Topoll et al. (1990) and Newman & Sims (1979) reported that around 60% of cultured bacteria were strict anaerobes. Newman & Sims (1979) further described that the most frequent type of bacteria were gram-negative anaerobic rods and gram-positive facultative cocci. In general, gram-negatives predominated over gram-positives, and rods over cocci (Newman & Sims, 1979), with percentages ranging between 40% and 60% for a each group.

Trope et al. (1988), only studying microbial morphotypes, by means of dark-field microscopy, found high proportions of spirochetes (40.6%) and a low percentage of cocci (19.7%) and motile rods (7.5%). However, van Winkelhoff et al. (1985) could not find spirochetes in 3 samples from periodontal abscesses.

Culture studies of periodontal abscesses (Figure 1) have revealed high prevalences of *Porphyromonas gingivalis* (55-100%), *Prevotella intermedia* (25-100%), and *Fusobacterium nucleatum* (44-65%) (Topoll et al. 1990; van Winkelhoff et al. 1985; Hafström et al. 1994; Newman & Sims, 1979). However, other pathogens have also been reported: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (25%) and *Campylobacter rectus* (80%) (Hafström et al. 1994); *Prevotella melaninogenica* (22%) (Newman & Sims, 1979). Using PCR, high prevalences of *P. gingivalis* (100%) and *Treponema denticola* (71.4%) were also found in a sample of 7 periodontal abscesses (Ashimoto et al. 1998).

The periodontal abscess microbiota is usually indistinguishable from the microflora found in the subgingival plaque in adult periodontitis (Newman & Sims, 1979). In one study (Hafström et al. 1994), the microflora of abscesses was compared to that from periodontitis and healthy sites. The microflora from abscesses and deep pockets was similar and harboured higher proportions of pathogens when compared to the microflora of shallow pockets.

When comparing the microbiota from the exudate of the abscess versus samples from the apical part of the same lesion (Newman & Sims, 1979), more different bacterial species were found in the apical samples, but differences were small.

Bacterial species with capacity of producing proteinases, such as *P. intermedia*, are important, since they may increase the availability of nutrients, and thereby, increasing the number of bacteria inside the abscess (Jansen & van der Hoeven, 1997; Jansen et al. 1996).

Although it is not clearly mentioned, most studies report on the microbiology of abscesses in patients with periodontitis. There is scarce information available on the microflora of gingival abscesses, or other type of abscesses with other distinct etiology. The exception may be the studies of the microflora of abscesses related with systemic antibiotic intake in periodontitis patients, without mechanical treatment (Helovuo & Paunio, 1989; Helovuo et al. 1993; Topoll et al. 1990). In this type of periodontal abscesses, besides an occurrence of periodontal pathogens similar to other abscesses in periodontitis (Topoll et al. 1990), opportunistic bacteria were

detected, and *Staphylococcus aureus* was found in abscesses of patients with previous penicillin intake. Penicillin resistance was also found in some of the strains of *S. aureus* isolated (Helovuuo et al. 1993). The authors suggested that this type of abscess could be considered a superinfection.

Diagnosis.

Diagnosis of a periodontal abscess is based on the symptoms revealed by the patient, and the signs found during the oral examination. Additional information can be obtained through a careful medical and dental history, and radiographic examination.

The current sign on examination is an ovoid elevation of the gingiva along the lateral part of the root (Carranza, 1990), *as shown in Figure 2*. However, abscesses located deep in the periodontium may be less evident.

Symptoms range from light discomfort to severe pain, tenderness of the gingiva, swelling, tooth mobility, tooth elevation, sensitivity of the tooth to palpation (Ibbott et al. 1993; Ahl et al. 1986; Carranza, 1990). Halitosis can also be reported (Galego-Feal et al. 1995).

Another common finding is suppuration, either spontaneous or after pressure on the abscess (Carranza, 1990), combined with rapid tissue destruction and deep pocket formation (Ibbott et al. 1993).

The radiographic examination may reveal a normal appearance, or some degree of bone loss, ranging from a widening of the periodontal space to a dramatic radiographic bone loss.

Systemic involvement has been reported in some severe cases, including fever, malaise, leukocytosis and regional lymphadenopathy (Ibbott et al. 1993; Carranza, 1990).

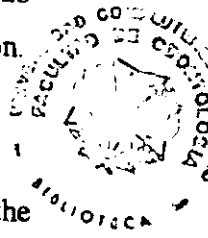
The dental history can provide information about previous periodontal treatments, root canal therapy and previous abscesses. Diagnosis of abscesses caused by foreign objects (gingival abscess, oral hygiene abscesses) is based on a careful anamnesis (Gillette & Van House, 1980).

Van Winkelhoff et al. (1985) established as diagnostic criteria for the definition of a periodontal abscess: association with pockets of 6 mm or more, presence of bleeding on probing, evidence of radiographic alveolar bone loss, and absence of a periapical lesion.

In specific situations some authors have recommended additional diagnostic tools:

Trope et al. (1988) recommended the use of dark-field microscopical exam of the abscess microflora in order to exclude an endodontic origin, due to the higher percentage of spirochetes in periodontal abscesses.

Liu et al. (1996) recommended the use of positron emission tomography and a flurine-18-fluoromisonidazole marker for detection of periodontal abscesses and other anaerobic infections in the mouth. Results from their clinical study showed that 100% of periodontal abscesses were found with this procedure. The main application of this technique is for patients who are going to



receive radiotherapy for cancer treatment, where the detection of anaerobic infection is important to prevent osteoradionecrosis.

Periodontal abscesses have been classified in different ways depending on the main criteria of classification:

a) Depending on the location of the abscess, they have been divided into periodontal and gingival abscesses (Gillette & Van House, 1980; Ahl et al. 1986; Carranza, 1990). The gingival abscess is described as localised painful swelling, affecting only the marginal and interdental gingiva. The main etiological factor in its development is the impactation of foreign objects. Therefore, they may be present on a previously healthy gingiva (Ahl et al. 1986; Carranza, 1990). Periodontal abscesses share similar symptoms, but usually affect deeper periodontal structures, including deep pockets, furcations and vertical osseous defects. They are usually located beyond the mucogingival line. Histologically the lesions are identical, but the periodontal abscess occurs in a periodontal pocket related to destruction by periodontitis (DeWitt et al. 1985), and the gingival abscess affects only the marginal soft tissues of usually previously healthy sites (DeWitt et al. 1985; Carranza, 1990).

b) Depending on the course of the lesion, they have been divided into acute and chronic periodontal abscesses (Galego-Feal et al. 1995; Carranza, 1990). The acute periodontal abscess usually demonstrates symptoms like pain, tenderness, sensitivity to palpation, and suppuration upon gentle pressure. The chronic abscess is normally associated with a sinus tract, and it is usually asymptomatic, although the patient can refer mild symptoms (Carranza, 1990). An example of a chronic abscess, with a duration of 6 years, was described by Pini Prato et al. (1988) and this abscess was related to the presence of a foreign body.

A localised acute abscess may become a chronic abscess when drainage is naturally established through a sinus or through the sulcus (Carranza, 1990). Also the opposite may occur, a chronic abscess may have acute exacerbation (Carranza, 1990). For example, Hodges (1978) reported a case of a chronic periodontal abscess, which changed to acute due to a change of atmospheric pressure. These authors included the periodontal abscesses among the oral conditions that may cause barodontalgia.

c) Depending on the number, they have been divided into single versus multiple periodontal abscesses (Topoll et al. 1990). Single periodontal abscesses are usually related to local factors which contribute to the closure of the drainage of a periodontal pocket. Multiple periodontal abscesses need more than a local explanation to be understood. They have been reported in uncontrolled diabetes mellitus, medically compromised patients, and in patients with untreated periodontitis after systemic antibiotic therapy for non-oral reasons (Helovuo & Paunio, 1989;

Helovuo et al. 1993; Topoll et al. 1990). Multiple abscesses have also been described in a patient with multiple external root resorptions (Yusof & Ghazali, 1989), where this local factor was found in several teeth.

The differential diagnosis of periodontal abscesses should always be made with other abscesses in the mouth. They may have a similar appearance and symptomatology, although their etiologies are different: periapical abscess, lateral periapical cyst, vertical root fracture, endo-periodontal abscess, postoperative infection (Ahl et al. 1986; Barletta & García, 1988; Tejerina et al. 1991). Differential diagnosis will be made using different signs and symptoms, such as pulp vitality, the presence of dental caries versus periodontal pockets, the location of the abscess, and a careful radiographic examination (Carranza, 1990).

There are other diseases that may appear in the oral cavity with a similar appearance as a periodontal abscess. Parrish et al. (1989) described 3 cases of osteomyelitis in periodontitis patients. The 3 patients were initially diagnosed as suffering from a periodontal abscess, and the treatment was scaling. The pain was not controlled by analgesics. The final diagnosis was made after raising flaps, and the infection was controlled concomitantly with systemic antibiotic. Deeper pain, not controllable by analgesics, could be the main factor to distinguish osteomyelitis from periodontal abscesses.

Different tumoral processes can have the appearance of a periodontal abscess. Some of them have been described in the literature: a gingival squamous cell carcinoma (Torabinejad & Rick, 1980; Kirkham et al. 1985) was diagnosed by the irregularity of its shape and its fast growth (Torabinejad & Rick, 1980); a metastatic carcinoma, from pancreatic origin, was diagnosed by the occurrence of paresthesia and rapid growth (Selden et al. 1998); an eosinophilic granuloma was diagnosed by the rapid bone destruction after standard periodontal therapy. The tooth was extracted and the surrounding tissues analysed. A histopathological diagnosis of eosinophilic granuloma was made. Biopsy may be advisable in cases of non-responding abscesses (Girdler, 1991).

Differential diagnosis should also be made with self-inflicted gingival injuries. Some lesions caused by patient's habits can mimic periodontal abscesses, such as trauma of the gingiva with a pencil (Rodd, 1995) or with a safety pin (Beckett et al. 1995). A careful anamnesis is the main factor to solve these cases, since conventional treatments usually fail unless the habit is discontinued.

Treatment.

The treatment of a periodontal abscess has been a challenge for many years. For example, in the XVII century, Louis XIV of France, was treated for his periodontal abscesses with masses of mixed bread and milk, in order to soften the swelling, and to allow drainage of the abscess (González-Iglesias, 1990).

The treatment of the acute periodontal abscess usually includes two stages: the management of the acute lesion; and the appropriate treatment of the original and/or residual lesion, once the acute situation has been controlled (Ammons, 1996). An example is shown in Figure 3.

If the tooth is severely damaged, and its prognosis is bad, one of the most effective treatments could be tooth extraction (Smith & Davies, 1986; Ammons, 1996).

For the treatment of gingival abscesses, the treatment should include the following: elimination of the foreign object, through careful debridement (Abrams & Kopczyk, 1983), drainage through the sulcus with a probe or light scaling, rinsing with warm saline and follow-up after 24-48 hours (Gillette & Van House, 1980; Ahl et al. 1986).

For the treatment of periodontal abscesses, a similar protocol has been recommended: drainage through the pocket, scaling of the tooth surface, compression and debridement of the soft tissue wall and irrigation with sterile saline. After therapy, the patient should rinse with warm saline and be examined for the abscess resolution after 24-48 hours. One week later, the definitive treatment should be carried out (Ammons, 1996; Ahl et al. 1986). Alternatively, drainage could need an external incision or a flap, and topical antiseptics may be applied after the drainage (Carranza, 1990; Ammons, 1996).

The addition of systemic antibiotics to the treatment regime of the periodontal abscess is not a well defined issue. Some authors exclude systemic antibiotics, unless a clear systemic involvement is present (Lewis & MacFarlane, 1986; Ammons, 1996; Ahl et al. 1986), there is a need of pre-medication (Ammons, 1996), or when the infection is not well localised (Ammons, 1996). Other authors, however, recommend the use of systemic antibiotics as the only initial treatment, in cases when adequate drainage can not be established. For example, in cases of large abscesses with diffuse swelling, or extreme pain (Lewis & MacFarlane, 1986). The duration and the type of the antibiotic therapy is also a matter of discussion. Some authors have recommended shorter antibiotic regimes, claiming that they are as effective as conventional regimes (Lewis & MacFarlane, 1986; Martin et al. 1997), at least in the case of dento-alveolar abscesses.

Some authors recommend the combination of basic treatments (incision, drainage, debridement) and antibiotic therapies (Galego-Feal et al. 1995). The combination of incision and drainage with the systemic administration of penicillins has been considered as "often successful" (Genco, 1991). Penicillins are the first drug of choice in the treatment of periodontal abscesses in the United Kingdom, being used by 57% of surveyed dentists, followed by amoxicillin (21%) and metronidazole (14%) (Lewis et al. 1990).

Hafström et al. (1994) proposed a conservative treatment, aiming to get as much attachment gain as possible. Drainage was established through the periodontal pocket, and irrigation with sterile saline was performed. Only supragingival scaling was done, and tetracycline was prescribed for 2 weeks (1 g per day). The protocol was tested clinically and microbiologically in a group of 20 abscesses, 13 followed for 180 days, and 7 for 42 days. The results were considered satisfactory, with a mean reduction of probing pocket depth of 4.3 mm, and a mean gain of attachment of 3.8 mm. Two conclusions were suggested: firstly, the importance of the drainage (the first 4 abscesses were treated with antibiotic but without drainage, and 2 of them reappeared within 40 days); and, secondly, the potential of regeneration demonstrated by the abscesses, which was supposed to be enhanced by avoiding subgingival scaling.

Smith & Davies (1986) also studied the behaviour of abscesses after therapy. They studied 62 periodontal abscesses. In 22 of them, the acute phase was treated surgically by incision and drainage, along with the administration of systemic metronidazole (200 mg, tid, 5 days). At a later stage, periodontal therapy was carried out, including oral hygiene plus chlorhexidine, scaling and root planing, and, if necessary, periodontal surgery. Out of the 22 treated teeth, 14 were extracted for periodontal reasons within the 3 years of follow-up, while only 8 teeth were still in place.

Abscesses in patients with refractory periodontitis, may be frequent. Fine (1994) reported 3 patients who suffered from 3 to 6 abscesses per year. The proposed therapy was to treat the patient with full-mouth scaling and a systemic antibiotic selected after microbiological analyses of the subgingival microflora and antimicrobial susceptibility testing. Both 3 cases were treated successfully.

Palmer (1984) reported a case of an acute lateral periodontal abscess treated successfully with a course of oral penicillin, with complete regeneration of the destruction. In this case a foreign object impactation was suspected, and its elimination, with the help of the antibiotic, led to the complete resolution.

In the treatment of chronic periodontal abscesses, surgical therapy, either *gingivectomy* or flap procedures, has also been advocated (Carranza, 1990), mainly in abscesses associated with deep

vertical defects, where the resolution of the abscess may only be achieved by a surgical operation (Kareha et al. 1981).

Surgical flaps have also been proposed in cases of post-prophylaxis periodontal abscesses, in which calculus is left subgingivally after the treatment. The main objective of the therapy is to eliminate the remaining calculus and obtain drainage at the same time. These authors justified their treatment with the report of 2 cases (Dello Russo, 1985).

A therapy, with a combination of an access flap with deep scaling and irrigation with doxycycline, has also been proposed. The author reported good results with more than 50 patients, but scientific data was not provided (Quteish-Taani, 1996).

Complications.

Tooth loss.

Periodontal abscesses are associated with tooth loss in cases of moderate to advanced periodontitis and during the maintenance phase (Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997). Periodontal abscesses have been suggested as the main cause for extraction in the maintenance phase (Chace & Low, 1993). A tooth with a history of repeated abscess formation is considered, together with other findings, a tooth with a "hopeless" prognosis (Becker et al. 1984). In a retrospective study, 45% of teeth with periodontal abscesses in a maintenance population were extracted (McLeod et al. 1997). Another retrospective study on 455 of teeth with a questionable prognosis, showed that 55 (12%) were lost after a mean of 8.8 years, and the main reason for tooth extraction was a periodontal abscess (Chace & Low, 1993). In the treatment of periodontal abscesses, tooth extraction is a common option. Smith & Davies (1986) evaluated 62 abscesses: 14 (22.6%) were extracted as initial therapy, and 9 (14.5%) after the acute phase was controlled. Out of the 22 treated and followed abscessed teeth, 14 had to be extracted during the following 3 years. However, some clinicians report a rapid and spectacular healing after the treatment of a periodontal abscess (Ammons, 1996).

Dissemination of the infection.

A number of publications, mainly case reports, have described different systemic infections in different parts of the body, in which the suspected source of infection was a periodontal abscess. Two possibilities have been described: the dissemination of the bacteria during therapy (bacteraemia); or bacteraemia related with an untreated abscess.

Bacteraemia following the treatment of an abscess.

Suzuki & Delisle (1984) related a case of pulmonary actinomycosis due to a periodontal abscesses, which was ultrasonically scaled one month previously. The authors suggested that during treatment, *Actinomyces* sp. from the subgingival microflora had passed to the lungs. Gallaguer et al. (1981) described a healthy patient with a periodontal abscess who was treated with drainage and curettage, but without systemic antibiotic. 2 weeks later a brain abscess was diagnosed, and after approximately 1 month the patient expired. Microbiology of the lesions demonstrated, among other bacteria, *Bacteroides melaninogenicus* and other *Bacteroides* sp. The authors hypothesised that bacteraemia associated with the curettage of the abscess was the etiology of the fatal brain abscess. A retrospective study on total knee arthroplasty infections (Waldman et al. 1997) discovered that 9 out of 74 infections had been previously treated for an oral infection (the treatment was performed within the 2 weeks before the onset of the infection, and microbiological samples confirmed the oral origin of the infection). 1 of the 9 cases was the drainage of a periodontal abscess, and the development of the knee infection was not prevented although the patient was under systemic antibiotic therapy. The prophylactic use of antibiotics was discussed for these patients. However, the risk of the bacteraemia during the drainage of an abscess, may be reduced if, before the incision, a needle aspiration of the content of the abscess is performed (Roberts & Sherriff, 1990; Flood et al. 1990).

Bacteraemia in relation to an untreated abscess.

Cellulitis in breast cancer patients has been claimed to follow gingivitis or an abscess (Manian, 1997), due to transient bacteraemia and reduced host defences (radiation therapy and axillary dissection). The breast and the upper extremities are particularly susceptible to infections of oral origin (Manian, 1997). A periodontal abscess was associated with the development of a cervical necrotising fasciitis (Chan & McGurk, 1997), which is a rare entity, but it is frequently associated with oropharyngeal or odontogenic infections. A necrotising cavernositis, which was treated with surgery and systemic penicillin, was thought to be related to a severe periodontal infection, including 3 periodontal abscesses. Cultures from the corpora cavernosa showed *Peptostreptococcus* sp. and *Fusobacterium* sp. The patient developed impotency (Pearle & Wendel, 1993). A periodontal abscess may also cause a sickle cell crisis, in patients with sickle cell anaemia (Rada et al. 1987). During the crisis, the abscess must be treated with antibiotics, aiming to avoid pain and to prevent dissemination of the infection. Definitive treatment should be delayed until resolution of the crisis.

Summary.

The periodontal abscess is the third most frequent dental emergency, representing 7-14% of all

dental emergencies, and affecting 6-7% of all patients seen in a dental clinic. In periodontal patients, higher prevalences have been calculated in retrospective studies on selected groups: 59.7% in untreated patients; 13.5% during the active treatment; and 37% during the maintenance phase.

Two main etiologies should be distinguished: those related to a pre-existing periodontal pocket; and those which do not necessarily need a deepened pocket, although they can coincide with a periodontal pocket. In the first group, different etiological explanations are possible: exacerbations of the existing disease, post-therapy abscesses, re-emergence of a cured disease, and super-infections. In the second, two main causes should be considered: impaction of foreign objects; and factors altering root morphology or root integrity. This etiological classification of periodontal abscesses may be more useful than the other classifications reviewed.

The diagnosis of a periodontal abscess should take into account the differential diagnostic possibilities described in the dental literature. Clear signs and symptoms, associated with each type of abscess should be analysed in detail.

The microflora related with periodontal abscesses is complex, dominated by gram-negative, strict anaerobe, rods. It does not seem to be specific, but known periodontal pathogens such as *P.gingivalis*, *P.intermedia*, and *F.nucleatum*, are the most prevalent bacterial species. The periodontal abscess, as an infection, has the possibility to spread micro-organisms to other body sites, with the possibility of causing serious infections which can eventually be fatal.

A tooth suffering from a periodontal abscess has a worse prognosis and is at a higher risk of being lost. In periodontal maintenance, the periodontal abscess is the main reason for tooth extraction.

There is not enough scientific evidence in the literature to provide an unique treatment regime for periodontal abscesses. Three therapeutic approaches have been discussed, including: drainage and debridement; systemic antibiotics with or without other treatments; and periodontal surgery procedures.

Acknowledgements.

We wish to thank Prof. Denis Kinane for his critical appraisal of this manuscript.

References.

Abrams, H., Cunningham, C. J. & Lee, S. B. (1992) Periodontal changes following coronal/root perforation and formocresol pulpotomy. *Journal of Endodontics* **18**, 399-402.

Abrams, H. & Kopczyk, R. A. (1983) Gingival sequela from a retained piece of dental floss. *Journal of the American Dental Association* **106**, 57-58.

Ahl, D. R., Hilgeman, J. L. & Snyder, J. D. (1986) Periodontal emergencies. *Dental Clinics of North America* **30**, 459-472.

Ammons, W.J. (1996) Lesions in the oral mucous membranes. Acute lesions of the periodontium. In *Fundamentals of Periodontics*, eds. Wilson, T. & Korman, K., pp. 435-440. Singapore: Quintessence.

Ashimoto, A., Tanaka, T., Ryoke, K. & Chen, C. (1998) PCR detection of periodontal/endodontic pathogens associated with abscess formation. *Journal of Dental Research* **77**, 854. (abstract 1779).

Barletta, L. & García, J. (1988) Diagnóstico diferencial en las alteraciones pulpoperiodontales. *Avances en Odontostomatología* **8**, 403-405.

Becker, W., Berg, L. & Becker, B. E. (1984) The long term evaluation of periodontal treatment and maintenance in 95 patients. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **2**, 55-70.

Beckett, H., Buxey-Softley, G. & Gilmour, A. G. (1995) Self-inflicted gingival injury. *British Dental Journal* **178**, 246. (letter).

Carranza, F. J. (1990) *Glickman's Clinical Periodontology*. 7th edition. Philadelphia: WB.Saunders Company.

Chace, R. Jr. & Low, S. (1993) Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *Journal of Periodontology* **64**, 701-705.

- Chan, C. H. & McGurk, M. (1997) Cervical necrotising fasciitis - a rare complication of periodontal disease. *British Dental Journal* **183**, 293-296.
- Chen, R-J., Yang, J-F. & Chao, T-C. (1990) Invaginated tooth associated with periodontal abscess. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* **69**, 659.
- Dello Russo, M. M. (1985) The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **1**, 29-37.
- DeWitt, G. V., Cobb, C. M. & Killoy, W. J. (1985) The acute periodontal abscess: microbial penetration of the tissue wall. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **1**, 39-51.
- Emslie, R. D. (1978) Some considerations on the role of cementum in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **5**, 1-12.
- Fine, D. H. (1994) Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **21**, 98-106.
- Flood, T. R., Samaranayake, L. P., MacFarlane, T. W., McLennan, A., MacKenzie, D. & Carmichael, F. (1990) Bacteraemia following incision and drainage of dento-alveolar abscesses. *British Dental Journal* **169**, 51-53.
- Fuss, Z., Bender, I. B. & Rickoff, B. D. (1986) An unusual periodontal abscess. *Journal of Endodontics* **12**, 116-118.
- Galego-Feal, P., García-Quintans, A., Gude-Sampedro, F. & García-García, A. (1996) Tramadol en el tratamiento del dolor de origen dentario en un servicio de urgencias hospitalario. *Emergencias* **8**, 480-484.
- Galego-Feal, P., Rivas-Lombardero, P., Castro-Díaz, P., Paz-Pumpido, F., Liñares-Sixto, J., Varela-Patiño, M., García-García, A., García-Bahillo, J. & García-Quintans, A. (1995) Urgencias en estomatología. *Medicina Integral* **26**, 331-347.

- Gallagher, D. M., Erickson, K. & Hollin, S. A. (1981) Fatal brain abscess following periodontal therapy: a case report. *Mount Sinai Journal of Medicine* **48**, 158-160.
- Garrett, S., Polson, A. M., Stoller, N. H., Drisko, C. L., Caton, J. G., Harrold, C. Q., Bogle, G., Greenwell, H., Lowenguth, R. A, Duke, S. P. & DeRouen, T. A. (1997) Comparison of a bioabsorbable GTR barrier to a non-absorbable barrier in treating human class II furcation defects. A multi-center parallel design randomized single-blind study. *Journal of Periodontology* **68**, 667-675.
- Genco, R. J. (1991) Using antimicrobials agents to manage periodontal diseases. *Journal of the American Dental Association* **122**, 31-38.
- Gill, Y. & Scully, C. (1988) The microbiology and management of acute dentoalveolar abscess: views of British oral and maxillofacial surgeons. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **26**, 452-457.
- Gill, Y. & Scully, C. (1990) Orofacial odontogenic infections: Review of microbiology and current treatment. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* **26**, 452-457.
- Gillette, W. B. & Van House, R. L. (1980) Ill effects of improper oral hygiene procedures. *Journal of the American Dental Association* **101**, 476-481.
- Girdler, N. M. (1991) Eosinophilic granuloma presenting as a chronic lateral periodontal abscess: a lesson in diagnosis? *British Dental Journal* **170**, 250. (letter).
- González-Iglesias, J. (1990) Las enfermedades bucodentarias de Luis XIV. *Revista de Actualidad Odontológica Española* **50**, 71-76.
- Goose, D. H. (1981) Cracked tooth syndrome. *British Dental Journal* **150**, 224-225.
- Gray, J. L., Flanary, D. B. & Newell, D. H. (1994) The prevalence of periodontal abscess. *Journal of Indiana Dental Association* **73**, 18-23.



Hafström, C. A., Wikström, M. B., Renvert, S. N. & Dahlén, G. G. (1994) Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses. *Journal of Periodontology* **65**, 1022-1028.

Haney, J. M., Leknes, K. N., Lie, T., Selvig, K. A. & Wikesjö, U. M. E. (1992) Cemental tear related to rapid periodontal breakdown: a case report. *Journal of Periodontology* **63**, 220-224.

Helovuo, H., Hakkarainen, K. & Paunio, K. (1993) Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiology and Immunology* **8**, 75-79.

Helovuo, H. & Paunio, K. (1989) Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *Journal of Periodontology* **60**, 467-472.

Hodges, F. R. (1978) Barodontalgia at 12000 feet. *Journal of the American Dental Association* **97**, 66-68.

Ibbott, C. G., Kovach, R. J. & Carlson-Mann, L. D. (1993) Acute periodontal abscess associated with an immediate implant site in the maintenance phase. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **8**, 699-702.

Ishikawa, I., Oda, S., Hayashi, J. & Arakawa, S. (1996) Cervical cemental tears in older patients with adult periodontitis. Case reports. *Journal of Periodontology* **67**, 15-20.

Jansen, H. J. & van der Hoeven, J. S. (1997) Protein degradation by *Prevotella intermedia* and *Actinomyces meyeri* supports the growth of non-protein-cleaving oral bacteria in serum. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 346-353.

Jansen, H. J., van der Hoeven, J. S., Walji, S., Göertz, J. H. C. & Bakkeren, J. A. J. M. (1996) The importance of immunoglobulin-breakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 717-723.

Kaldahl, W. B., Kalwarf, K. L., Patil, K. D., Molvar, M. P. & Dyer, J. K. (1996) Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *Journal of Periodontology* **67**, 93-102.

Kareha, M. J., Rosenberg, E. S. & DeHaven, H. (1981) Therapeutic considerations in the management of a periodontal abscess with an intrabony defect. *Journal of Clinical Periodontology* **8**, 375-386.

Kirkham, D. B., Hoge, H. W. & Sadegui, E. M. (1985) Gingival squamous cell carcinoma appearing as a benign lesion: report of a case. *Journal of the American Dental Association* **111**, 767-768.

Koller-Benz, G., Fritzsche, A. & Krapf, R. (1992) Nifedipine induced gingival abscesses. *British Medical Journal* **304**, 1225

Lewis, M. A. O. & MacFarlane, T. W. (1986) Short-course high-dosage amoxycillin in the treatment of acute dento-alveolar abscess. *British Dental Journal* **161**, 299-302.

Lewis, M. A. O., Meehan, C., MacFarlane, T. W., Lamey, P-J. & Kay, E. (1990) Presentation and antimicrobial treatment of acute orofacial infections in general dental practice. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **28**, 359-366.

Liu, R-S., Chu, L-S., Yen, S-H., Chang, C-P., Chou, K-L., Wu, L-C., Chang, C-W., Lui, M-T., Chen, K-Y. & Yeh, S-H. (1996) Detection of anaerobic odontogenic infections by fluorine-18 fluoromisonidazole. *European Journal of Nuclear Medicine* **23**, 1384-1387.

Manian, F. A. (1997) Cellulitis associated with an oral source of infection in breast cancer patients: report of two cases. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **29**, 421-422.

Martin, M. V., Longman, L. P., Hill, J. B. & Hardy, P. (1997) Acute dentoalveolar infections: an investigation of the duration of antibiotic therapy. *British Dental Journal* **183**, 135-137.

McLeod, D. E., Lainson, P. A. & Spivey, J. D. (1997) Tooth loss due to periodontal abscess: a retrospective study. *Journal of Periodontology* **68**, 963-966.

Newman, M. G. & Sims, T. N. (1979) The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess. *Journal of Periodontology* **50**, 350-354.

- Palmer, R. M. (1984) Acute lateral periodontal abscess. *British Dental Journal* **157**, 311-313.
- Parrish, L. C., Kretzschmar, D. P. & Swan, R. H. (1989) Osteomyelitis associated with chronic periodontitis: a report of three cases. *Journal of Periodontology* **60**, 716-722.
- Pearle, M. S. & Wendel, E. F. (1993) Necrotizing cavernositis secondary to periodontal abscess. *Journal of Urology* **149**, 1137-1138.
- Pini Prato, G. P., Cortellini, P. & Clauser, C. (1988) Fibrin and fibronectin system in a guided tissue regeneration procedure. *Journal of Periodontology* **59**, 679-683.
- Quteish-Taani, D. S. (1996) Tratamiento efectivo de los abscesos periodontales crónicos. *Quintessence International* **27**, 697-699.
- Rada, R. E., Bronny, A. T. & Hasiakos, P. S. (1987) Sickle cell crisis precipitated by periodontal infection: report of two cases. *Journal of the American Dental Association* **114**, 799-801.
- Roberts, G. J. & Sherriff, M. (1990) Bacteraemia following incision and drainage of dento-alveolar abscesses. *British Dental Journal* **169**, 149. (Letter).
- Rodd, H. D. (1995) Self-inflicted gingival injury in a young girl. *British Dental Journal* **178**, 28-30.
- Selden, H. S., Manhoff, D. T., Hatges, N. A. & Michel, R. C. (1998) Metastatic carcinoma to the mandible that mimicked pulpal/periodontal disease. *Journal of Endodontics* **24**, 267-270.
- Smith, R. G. & Davies, R. M. (1986) Acute lateral periodontal abscesses. *British Dental Journal* **161**, 176-178.
- Suzuki, J. B. & Delisle, A. L. (1984) Pulmonary actinomycosis of periodontal origin. *Journal of Periodontology* **55**, 581-584.
- Tabaqhali, S. (1988) Anaerobic infections in the head and neck region. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **57**, 24-34.

Tejerina, J. M., Alvarez, A., Villa-Vigil, M. A., Del Nero, G. & González, R. (1991) Diagnóstico diferencial entre lesiones inflamatorias agudas endodónticas y periodontales. *Revista Europea de Odontología y Estomatología* 3, 301-310.

Topoll, H. H., Lange, D. E. & Müller, R. F. (1990) Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 17, 268-272.

Torabinejad, M. & Rick, G. M. (1980) Squamous cell carcinoma of the gingiva. *Journal of the American Dental Association*, 870-872.

Trope, M., Tronstad, L., Rosenberg, E. S. & Listgarten, M. A. (1988) Darkfield microscopy as a diagnostic aid in differentiating exudates from endodontic and periodontal abscesses. *Journal of Endodontics* 14, 35-38.

van Winkelhoff, A. J., Carlee, A. & de Graaff, J. (1985) *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infection and Immunity* 49, 494-497.

Waldman, B. J., Mont, M. A. & Hungerford, D. S. (1997) Total knee arthroplasty infections associated with dental procedures. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 343, 164-172.

Yusof, V. Z. & Ghazali, M. N. (1989) Multiple external root resorption. *Journal of the American Dental Association* 118, 453-455.

Address:

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Table 1. Microbiological findings in periodontal abscesses: methodology and prevalence of selected pathogens.

	Patients	Samples	Sampling	Technique	Ab-ex.	Notes	n	Aa	Pg	Pi	Bf	Cr	Fn	Pmel	Other
Newman & Sims, 1979	9	22	Barbed broach	Culture	4 m.	Control	4		25%	0%			0%	25%	
						Exudate	7		71.4%	14.3%		71.4%	14.3%		
						Apical	9		77.8%	55.6%		44.4%	22.2%		
Hafström et al, 1994	20	20	3 pp	Culture	6 m.		20	25%	55%	65%		80%	55%		
Ashimoto et al, 1998	7	7	Punction	PCR	n.a.		7		100%		14.3%				
Topoll et al, 1990	10	20	1 pp	Culture	No	Previous ab.	20		95%	25%			65%		
van Winkelhoff et al, 1985	3	3	Swab-pus	Culture	n.a.		3		100%	100%					10% spiros
DeWitt et al, 1985	12	12	Biopsy punch	M-E	n.a.		9								17/9 G-neg
Trope et al, 1988	9	9	Curette	Dark-field	n.a.	%morphotypes	9								40.6% spiros

n.a., not available.

pp, paper points.

PCR, polimerase chain reaction.

M-E., electronic microscope.

ab.ex., antibiotic intake exclusion.

m., months.

spiros, spirochaetas.

G-neg, gram-negatives.

Aa., *A. actinomycetemcomitans*

Pg., *P. gingivalis*

Pi., *P. intermedia*

Bf., *B. forsythus*

Cr., *C. rectus*

Fn., *F. nucleatum*

Pmel., *P. melaninogenica*

LEGENDS.

TITLE:

The Periodontal Abscess: a Review.

FIGURES:

Figure 1. Periodontal pathogens usually isolated from periodontal abscesses.

Figure 2a. Resolution of a periodontal abscess after successful treatment: before treatment.

Figure 2b. Resolution of a periodontal abscess after successful treatment: after treatment.

Figure 1. Periodontal pathogens usually isolated from periodontal abscesses.

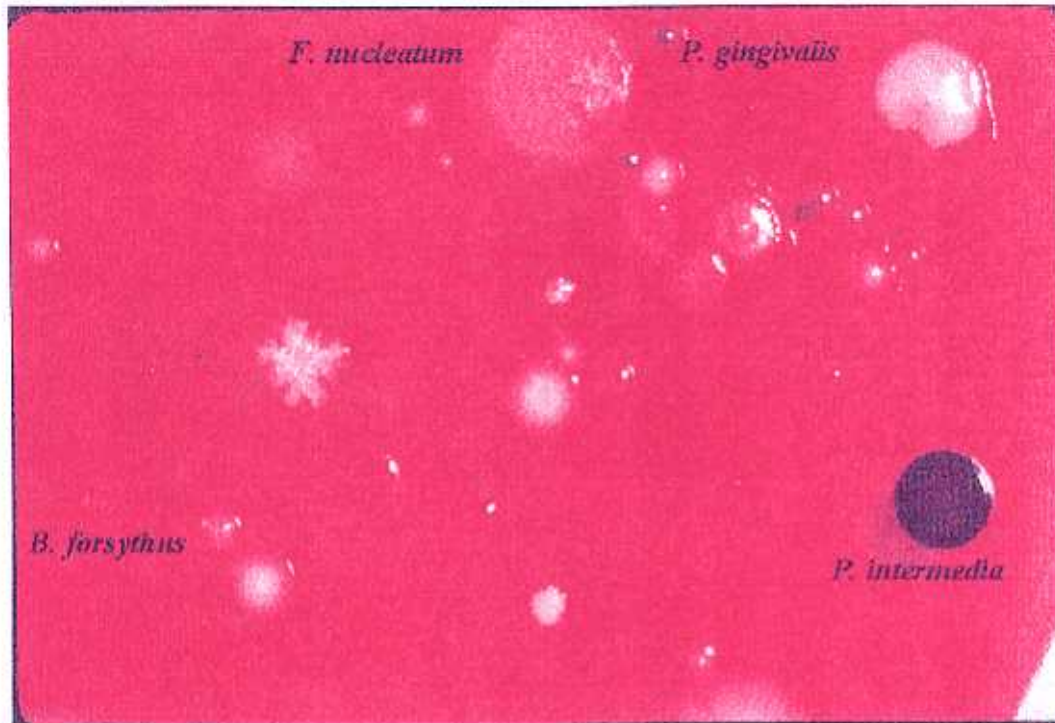
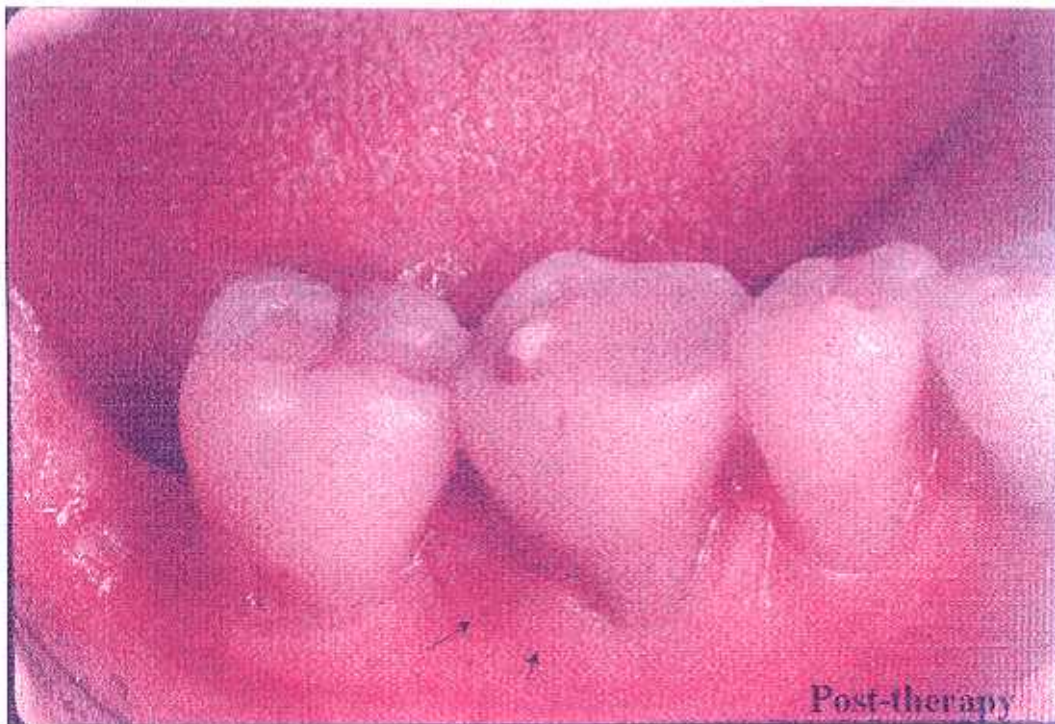


Figure 2a. Resolution of a periodontal abscess after successful treatment: before treatment.



Figure 2b. Resolution of a periodontal abscess after successful treatment: after treatment.



Herrera, D., Roldán, S., González, I., Sanz, M.

“The periodontal abscess: I. Clinical and microbiological findings.”

Journal of Clinical Periodontology 2000; 27 (6).

Resumen.

Objetivo. Hay poca información disponible en relación con el diagnóstico y la microbiología del absceso periodontal. El objetivo de este estudio descriptivo clínico y microbiológico fue aportar información para ayudar en la caracterización del absceso periodontal asociado con periodontitis.

Material y Métodos. Se estudiaron 29 pacientes consecutivos con la evaluación de variables clínicas, tanto subjetivas (dolor, edema, enrojecimiento, e hinchazón), como objetivas (sangrado al sondaje, supuración, profundidad de bolsa, movilidad dentaria, y linfadenopatía cervical). Se tomaron muestras microbiológicas para estudio de anaerobios, que se procesaron por medio de cultivo. También se evaluó la afectación sistémica, mediante el análisis de muestras sanguíneas y de orina con técnicas convencionales de laboratorio.

Resultados. El 62% de los abscesos afectaron a pacientes con periodontitis no tratada, y en 69% de los casos se asociaron con un molar. Más del 75% de los abscesos obtuvieron valores moderados-severos de edema, enrojecimiento e hinchazón, y el 90% de los pacientes sufrían dolor. Se detectó sangrado en todos los abscesos, mientras que la supuración aparecía al tomar la muestra en el 66%. La bolsa asociada medía 7.28 mm de media, y el 79% de los dientes presentaban algún grado de movilidad. Se valoró adenopatía cervical en el 10% de los pacientes, mientras que aparecían recuentos elevados de leucocitos en el 31.6%. El número absoluto de neutrófilos estaba elevado en el 42% de los pacientes. Se detectaron prevalencias altas de patógenos periodontales, incluyendo *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Bacteroides forsythus*.

Conclusiones. El absceso periodontal tiene características clínicas claras, y está normalmente asociado a destrucción periodontal severa. Esta condición puede causar afectación sistémica, y la lesión tiene habitualmente una gran carga bacteriana, con una prevalencia alta de patógenos periodontales bien reconocidos.

TITLE:

The Periodontal Abscess. I. Clinical and Microbiological Findings.

AUTHORS.

Herrera, David. ^{1,2}

Roldán, Silvia. ¹

González, Iciar. ²

Sanz, Mariano. ^{1,2}

¹ Section of Graduate Periodontology, Faculty of Odontology - University Complutense, Madrid, Spain.

² Laboratory of Microbiology, Faculty of Odontology, University Complutense, Madrid, Spain.

ADDRESS.

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Computer system: Microsoft Word for Windows

Abstract.

Little information is available regarding the diagnosis and microbiology of periodontal abscesses. The aim of this descriptive clinical and microbiological study was to provide more information in order to help in the characterisation of the periodontal abscess associated to periodontitis. 29 consecutive patients with a periodontal abscess were studied by the assessment of clinical variables, including both subjective (pain, edema, redness and swelling) and objective (bleeding on probing, suppuration, probing pocket depth, tooth mobility and cervical lymphadenopathy) parameters. Microbiological samples were taken for anaerobic microbiology and processed by means of culture. Systemic involvement was also studied through the analysis of blood and urine samples using conventional laboratory standards.

62% of the abscesses affected untreated periodontitis patients, and 69% were associated with a molar tooth. More than 75% of the abscesses had moderate-severe scores related to edema, redness and swelling, and 90% of the patients reported pain. Bleeding occurred in all abscesses, while suppuration on sampling was detected in 66%. Mean associated pocket depth was 7.28 mm, and 79% of teeth presented some degree of mobility. Cervical lymphadenopathy was seen in 10% of patients, while elevated leucocyte counts were observed in 31.6%. The absolute number of neutrophils was elevated in 42% of the patients. High prevalences of putative periodontal pathogens were found, including *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Bacteroides forsythus*.

The periodontal abscess has clear clinical characteristics and is usually associated with severe periodontal destruction. This condition may cause systemic involvement and the lesion generally has a large bacterial mass with a high prevalence of well-recognised periodontal pathogens.

Key Words.

Periodontal abscess, periodontitis, microbiology, diagnosis, laboratory parameters.

THE PERIODONTAL ABSCESS:

I CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL FINDINGS.

The periodontal abscess is an acute lesion, resulting in rapid destruction of tooth support structures (Hafström et al. 1994). Its importance in clinical periodontal practice can be summarised by: a) Its high prevalence amongst dental emergencies, and its high prevalence in periodontitis patients (Gray et al. 1994; Kaldahl et al. 1996; Lewis et al. 1990; McLeod et al. 1997; Galego-Feal et al. 1996; Ahl et al. 1986). b) It is usually closely related with periodontitis and periodontal pockets, affecting not only untreated patients, but also patients during active treatment or during maintenance (Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997; Fine, 1994; Dello Russo, 1985; Carranza, 1990). c) Periodontal abscesses are one of the main causes of tooth extraction and tooth loss, mainly in maintenance patients (Becker et al. 1984; Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997). d) Periodontal abscesses may result in complications, due to bacteraemia, that may cause infections in distant locations (Gallagher et al. 1981; Pearle & Wendel, 1993; Waldman et al. 1997; Manian, 1997; Chan & McGurk, 1997; Suzuki & Delisle, 1984).

However, in spite of its importance, very little scientific information is available on this condition. Most of the knowledge is based on empirical observations and case reports. Areas of special relevance in which more information is needed include: a) Etiology and categorisation, since a better understanding of the different causes could lead to a more precise way of classifying the periodontal abscesses, which may assist in treatment and prognostic decision making. b) Knowledge on the microflora specifically related to the periodontal abscess and the bacterial mechanisms leading to the formation of the pus collection. c) Evidence-based therapeutic approaches.

An evaluation of available literature reveals two clinical types of periodontal abscesses: a) those related to pre-existing periodontal pockets; and b) those not necessarily associated with periodontal pockets, in which the impactation of foreign objects, or alterations in root integrity or morphology, could explain the formation of the abscess. Moreover, periodontal abscesses occurring in periodontal pockets have been explained by different etiological theories: exacerbation of a pre-existing periodontitis (Fine, 1994; Dello Russo, 1985); inappropriate periodontal therapy, mainly prophylaxis or scaling, which can leave calculus in the deeper parts of the pockets (Dello Russo, 1985; Carranza, 1990); re-occurrence of the

disease (Chace & Low, 1993; McLeod et al. 1997); or the occurrence of superinfections, after systemic antibiotic therapy (Helovuo & Paunio, 1989; Helovuo et al. 1993; Topoll et al. 1990).

Although all these etiological possibilities may exist, no effort has been made to study each one separately, leading to a confusion in clinical diagnosis, etiology and choice of therapeutic options. The aim of this study was to clinically and microbiologically characterise a well-defined cohort of acute periodontal abscesses.

Material and Methods.

Patient population.

Consecutive patients with a presumptive diagnosis of an acute periodontal abscess, were identified during the period from February-1996 to December-1997 in the Postgraduate Clinic of Periodontology at the Faculty of Odontology (Universidad Complutense of Madrid) and selected on the basis of the following criteria: a) Localised pain, swelling and tenderness related to a periodontal area. b) Edema, redness and swelling. Usually, a deep periodontal pocket, showing bleeding and suppuration on probing, was associated. c) Endodontal abscesses were excluded based on radiographic examination and vitality tests. Non-vital teeth were only included if a clear primary periodontal lesion was detected.

Patients were excluded if they have used antibiotic drugs in the previous 4 weeks.

Once selected according to the above mentioned criteria, patients were scheduled the following morning for blood and urine sampling. Moreover, clinical variables were recorded and microbial samples from the abscesses were taken.

Haematological and urine laboratory analysis.

Blood and urine samples were collected for evaluation of routine biochemical tests. Laboratory parameters included the number of leucocytes, and the differential white blood cell count.

Microbiological Study.

Prior to the clinical evaluation, microbiological samples for anaerobic culture analyses were taken. Two consecutive paper points (number 30, cellpacked, Maillefer, Switzerland) were inserted in the periodontal pocket until they reached the abscess, and were kept in place for

10 seconds. The paper points were transferred in 1.5 ml RTF (reduced transport fluid), and transported to the laboratory within two hours, where the samples were dispersed (30 seconds of Vortex), serially diluted and plated on two different media: a) Blood agar medium (Oxoid no 2; Oxoid Ltd., Basingstoke, England), with 5% horse blood, and with haemin (5 mg/L) and menadione (1 mg/L). b) Trypticase soy-serum bacitracin-vancomycin (TSBV) medium (Slots, 1980).

Blood agar plates were studied after 7 and 14 days of anaerobic incubation (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ at 37°C); and TSBV plates after 3-5 days of incubation at 37°C in air with 5% CO₂.

Total microbial counts were evaluated on blood agar plates. On these plates, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum* and *Prevotella melaninogenica* were identified, primarily based on colony morphology, and the use of different tests to confirm the initial identification. Colonies were counted and the percentage respective of the total flora for each pathogen was calculated.

Actinobacillus actinomycetemcomitans was identified on TSBV plates, based on colony morphology and positive catalase reaction.

Every colony, identified as being one of the studied periodontal pathogens, was isolated on blood-agar plates (or TSBV) in order to preserve the strains for additional tests.

In addition, in the first ten patients, aerotolerance, gram-staining and morphotype study (cocci or rod) were performed on every distinct colony, in order to add information regarding total flora composition.

Clinical Evaluation.

Two types of clinical variables were assessed:

a) Subjective clinical variables included evaluation of pain, edema, redness and swelling. They were assessed using a semi-quantitative scale ranging from values 1 (none), 2 (mild), 3 (moderate), and 4 (severe). The same clinical evaluator assessed all the subjective clinical variables, except for pain that was self-assessed by the patient, using the same semiquantitative scale described above.

b) Objective clinical variables included dichotomous variables such as bleeding on probing, suppuration, cervical lymphadenopathy, and tooth mobility. Probing depth associated with the abscess site was also recorded using a manual periodontal probe (Hu Friedy) to the closest millimetre.

Data Analysis.

Haematological and urine results, as well as the microbiological and clinical data were analysed using descriptive statistics.

Data from subjective clinical variables are expressed as percentage of abscesses/patients in each category. Quantitative clinical variables, as probing pocket depth, is expressed as mean (SD) and range. Qualitative clinical variables (bleeding, suppuration, lymphadenopathy and tooth mobility) are presented as percentage of abscess positive for each variable. For microbiological variables, for each bacterial species, both the frequency of occurrence and the mean proportion of flora in positive sites were calculated. Laboratory parameters were averaged, and the value of each patient was compared with the normal ranges; when the value was over the maximum of the normal range, the patient was considered up-ranged; the percentage of patients up-ranged for each variable was obtained.

Results.

Study population.

29 patients suffering from acute periodontal abscesses were included in the study. 17 patients (59%) were females and 12 males (41%). The mean age was 48 ranging from 26-65.

Clinical results.

Patients were asked to report the approximate date of the onset of the swelling: 40% reported that the swelling had occurred 1-4 days before; 25% between 5-10 days; 20% between 15-30 days; and 15% did not know.

When the abscess condition was linked to the patient's periodontal condition, 18 (62%) abscesses occurred in untreated periodontitis patients; 4 (14%) immediately after basic periodontal treatment (mostly scaling and root planing); 7 (24%) abscesses developed in patients in the periodontal maintenance phase. 27 abscesses (93%) were diagnosed in patients suffering from moderate to severe periodontitis; and 2 (7%) were observed in patients with initial periodontitis.

In relation to the location of the abscess in the oral cavity, 20 (69%) abscesses were associated with molar teeth, equally distributed in the upper and the lower jaw. Among abscesses in molar teeth, 12 (41% of the total sample) were associated with first molars (as in

Figure 1), 7 (24%) with second molars, and 1 (3.5%) with an upper third molar. Other affected teeth were: 5 (17%) upper premolars, 2 (7%) lower premolars, and other 2 (7%) incisors.

Regarding the distribution in the jaws, 16 (55%) were found in the upper jaw, and 13 (45%) in the mandible. 14 (48%) abscesses were located in the buccal side, compared to 4 (13.8%) in the lingual or palatal side; 7 (24%) involved a distal aspect (as in Figure 2), and 4 (13.8%) the mesial aspect.

62% of the patients complained of moderate to severe pain, however in 10% of the patients, the abscesses were painless. Swelling, edema, and redness were observed in all cases, with scores of moderate-severe in 93%, 84% and 75% of the abscesses, respectively. The distribution of the abscesses in each category is shown in Figure 3.

Bleeding on probing was observed in 100% of the abscesses, while suppuration was detected in 66%. The affected tooth showed mobility in 79% of the cases. An associated cervical lymphadenopathy could be detected in 10% of the patients (See Figure 4).

Mean probing pocket depth was 7.28 mm (2.1), ranging from 3 to 13 mm. In 62.1% of the abscesses, the associated pocket was deeper than 6 mm, while in 34.4% the pocket ranged between 4-6 mm.

Microbiological results.

Cultivable samples were obtained from 24 out of 29 abscesses. 5 samples were lost due to technical problems. The mean total count was 1.06×10^6 colony forming units, ranging from 1.35×10^4 to 4.30×10^6 .

Regarding the frequency of detection of periodontal pathogens (See Figure 5), *F. nucleatum* was the most prevalent bacterial species (70.8%), followed by *P. micros* (70.6%), *P. gingivalis* (62.5%), *P. intermedia* (50.0%) and *B. forsythus* (47.1%). Lower prevalences were observed for: *P. melaninogenica* (16.7%), *C. rectus* (4.2%), and *A. actinomycetemcomitans* (0%). *P. melaninogenica* (15.6%) and *P. gingivalis* (13.6%) were the most important species regarding the percentage of total flora in positive sites. *P. micros* (9.3%) and *P. intermedia* (8.5%) also showed high values (See Figure 6). The mean number of different pathogens per sample was 2.9, being 3 different species the most frequent number

(in 7 out of 24 samples), and 3 or more pathogens were detected in 62.5% of the samples. Only 1 sample showed absence of target pathogens.

Morphotypes and aerotolerance were studied in the first ten patients. Similar proportions of facultatives (54.9%) and strict anaerobes (45.1%) were found. Cocci (55.3%) were slightly more abundant than rods (44.7%). Gram-positives represented 55.3% of the flora, while gram-negatives accounted for 44.7%. The group with a higher proportion was gram-positive facultative cocci (29.2%), closely followed by gram-negative anaerobic rods, with 26.1% of the flora (See Figure 7).

Laboratory parameters.

Blood and urine samples were analysed for a number of parameters, and results for each studied laboratory value are shown in Table 1. The number of leucocytes was higher than normal in 31.6% of the patients, and the mean value (8368 cells/mm³) was closer to the upper limit of the normal range (4800-9000). Increases over normal values in the percentage and absolute counts of neutrophils, the percentage of lymphocytes, and the number of monocytes, were also observed in 20-42.1% of the patients. The rest of the biochemical profile showed values within the normal range.

Discussion.

The periodontal abscess is not an homogeneous clinical entity. Different causes may lead to the development of a periodontal abscess. Hence, when studying this clinical condition, it is important to characterise properly the type of abscess studied. Our study investigates 27 periodontal abscess from patients with moderate to severe periodontitis, and 2 patients with initial periodontitis. Most affected patients suffered from untreated periodontitis (62%), while abscesses during maintenance phase (24%) or post-scaling abscesses (14%) were less frequent.

An evaluation of the available literature only provides 2 similar studies. The study of Smith & Davies (1986) included 62 periodontal abscesses in 55 patients, and the study of Hafström et al. (1994) followed 20 periodontal abscesses, both clinically and microbiologically. No data on diagnostic criteria or on the type of abscess selected was provided by these 2 studies, although Smith & Davies (1986) reported that 20 of the patients were undergoing active periodontal therapy at the time of abscess formation.

In the clinical diagnosis of a periodontal abscess, according to Smith & Davies (1986), swelling and/or pain were the most frequent complaints. In their study, they found that most of the abscesses (69.9%) were diagnosed in a clear acute stage. The rest presented as diffuse swelling or just redness, but never related with a sinus tract. Our study agrees with these findings, since we only found 1 abscess with a sinus tract, and most were diagnosed immediately after onset of the symptoms (65% of the patients stated that the onset started 1 to 10 days before).

We detected bleeding on probing in all abscesses, which is in agreement with the study of Hafström et al. (1994). The same was found with the level of suppuration, which was 66% in our study, and 68% in the mentioned study.

Most of the associated pockets in the present study were deeper than 6 mm (62.1%), while 34.4% ranged between 4-6 mm. Smith & Davies (1986) reported similar proportions (55% and 35.5%, respectively). The mean probing depth in our study (7.28 mm) was also similar to the 8.1 mm from Hafström et al. (1994).

Regarding tooth mobility, Smith & Davies (1986) reported 56.5%, while we found 79% of teeth showing some degree of mobility, probably due to a more severe periodontal destruction, since we only included periodontal patients.

In our series, molars were the most commonly involved teeth in abscesses, representing 69% of the cases. A similar percentage was found by Gray et al. (1994), and slightly lower (53.8%) by Smith & Davies (1986). In a retrospective study on abscesses developing during the maintenance phase, McLeod et al. (1997) showed that 65% of affected teeth were multi-rooted. One reason for this high prevalence in molars could be the furcation involvement, 89% of multirooted teeth in McLeod's study had furcation involvement.

In the present study, 10% of the patients demonstrated regional lymphadenitis, which was lower than the 40% in the Smith & Davies (1986) study. They also reported facial swelling in 2 patients (3.5%).

Our study is the first in the literature providing laboratory data from blood and urine, although some prior reports mention leucocytosis as a sign associated with periodontal abscesses (Ibbott et al. 1993; Carranza, 1990). The data from blood samples demonstrates this systemic involvement. This was evidenced by the elevated number of leucocytes in 31.6% of the patients, and by the elevated mean value. Other parameters, such as the percentages of



neutrophils and lymphocytes, and absolute numbers of neutrophils and monocytes were also altered in 20–42.1% of the patients.

Few studies have analysed the microbiology of periodontal abscesses. Newman & Sims (1979) studied 9 abscesses and found that 63.1% of the flora were strict anaerobes. Topoll et al. (1990) analysed 20 abscesses in 10 patients who had taken antibiotics prior to the study, and reported 59.5% of strict anaerobes, whereas we calculated 45.1%. Percentages of gram-negatives (59.6% versus 44.7%), and rods (72.2% versus 44.7%) were also higher in the study of Newman & Sims (1979), as compared with ours, but differences could be explained by the sampling techniques.

When evaluating total counts, in the study of Hafström et al. (1994), over 20 abscesses, the mean total bacterial counts per sample were 1.35×10^6 , very similar to 1.02×10^6 obtained in our study.

In all these studies, the microflora of periodontal abscesses is characterised by the presence of periodontal pathogens. Amongst them, black-pigmented bacteria were found as the most prevalent group of bacteria: *P. gingivalis* ranging between 55–100% in prevalence (Topoll et al. 1990; Ashimoto et al. 1998; Hafström et al. 1994; Newman & Sims, 1979; Van Winkelhoff et al. 1985). *P. intermedia* between 25–100% (Topoll et al. 1990; Hafström et al. 1994; Newman and Sims, 1979; Van Winkelhoff et al. 1985) and *P. melaninogenica* (and other black-pigmented *Prevotella*) between 0–22% (Newman & Sims, 1979; Van Winkelhoff et al. 1985). Our data of prevalence for these species were 50%, 62.5% and 16.7%, respectively, demonstrating similar presence of these pathogenic bacteria.

F. nucleatum has shown high prevalences in periodontal pockets (van Winkelhoff et al. 1996). We found this pathogen in 70.8% of the abscesses. Other authors also found this bacteria very frequently, 44.4%–65% (Topoll et al. 1990; Hafström et al. 1994; Newman & Sims, 1979). Other periodontal pathogens have been reported less frequently. We could not find *A. actinomycetemcomitans* in our samples, while Hafström et al. (1994) reported a prevalence of 25%. We have also detected *B. forsythus* in 47.1% of the patients, while Ashimoto et al. (1998) only found it in a 14.3% of abscesses, using Polymerase Chain Reaction. Differences in sampling could account for these differences, since they took samples by means of puncture. The prevalence of *P. micros* in our sample was 70.6%. No other study on periodontal abscesses has reported on the involvement of *P. micros*. This bacterial species is frequently isolated in periodontal pockets from adult periodontitis patients

(Rams et al. 1992). We found a low prevalence (4.2%) of *C. rectus*, comparing with the 80% in Hafström et al. (1994) study.

Concerning the relative proportions of the microflora, *P. gingivalis* represented the highest percentage, when present. We reported a mean of 13.6% of total flora in positive sites, while mean percentages ranging from 10.4% to 22% have been reported in the literature (Topoll et al. 1990; Hafström et al. 1994; Newman & Sims, 1979). Lower proportions are reported for *P. intermedia* with 8.5% in our study, and a mean percentage of 4.4%-7.0% in the studies of Hafström et al. (1994) and Newman & Sims (1979). Similarly regarding *F. nucleatum* with a mean proportion of 2.6% in our samples, versus 1.9%-9.2% in other studies (Topoll et al. 1990; Hafström et al. 1994; Newman & Sims, 1979). The role of proteinase producing bacteria, such as *P. intermedia*, could be important in the nutritional chain relation (Jansen & van der Hoeven, 1997; Jansen et al. 1996).

We aimed to characterise periodontal abscesses in periodontitis patients. The periodontal abscess is a moderately painful clinical condition, which demands emergency treatment in over 60% of the patients. Molar teeth are the most frequently affected, probably due to the influence of their multi-radicular anatomy. Most abscesses were diagnosed in untreated periodontitis. On examination, a localised area of redness, swelling, tenderness and edema is detected. The abscesses involve teeth with severe periodontal destruction, associated with deep probing depths, mobility, and severe inflammation as evidenced by the presence of bleeding and suppuration. Regional lymphadenitis is possible but not common, while an associated increase of leucocytes can be detected in approximately one third of the patients. The periodontal abscess microflora is composed mainly of periodontal pathogens, specially *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *P. micros* and *B. forsythus*.

In conclusion, this study shows that the periodontal abscess in periodontitis patients has clear clinical and microbiological characteristics. More studies are needed in order to characterise other types of abscesses and to define efficient treatment modalities.

Acknowledgements.

The authors would like to thank clinicians and laboratory researchers who have collaborate in this study. At the Laboratory of Microbiology: Ana O'Connor and Rosa Simón. At the Graduate Periodontal Clinic: Isabel Santa Cruz, Antonio Bujaldón, Francisco Rodríguez, Eva Rosa, Bibiana Mateos, Juan Angel Martínez, David Alfredo González, Gustavo Cabello,

Cristina Jerez, Marta Muñoz, Andrés García, and Agustín Casas. We would also like to thank the invaluable advice and instruction in the microbiological part of this study from Arie Jan van Winkelhoff and collaborators in Amsterdam, and Prof. Denis Kinane for his assistance in the critical appraisal of this manuscript.

References.

Ahl, D. R., Hilgeman, J. L. & Snyder, J. D. (1986) Periodontal emergencies. *Dental Clinics of North America* **30**, 459-472.

Ashimoto, A., Tanaka, T., Ryoke, K. & Chen, C. (1998) PCR detection of periodontal/endodontic pathogens associated with abscess formation. *Journal of Dental Research* **77**, 854. (abstract 1779).

Becker, W., Berg, L. & Becker, B. E. (1984) The long term evaluation of periodontal treatment and maintenance in 95 patients. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **2**, 55-70.

Carranza, F. J. (1990) *Glickman's Clinical Periodontology*. 7th edition. Philadelphia: WB.Saunders Company.

Chace, R. Jr. & Low, S. B. (1993) Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *Journal of Periodontology* **64**, 701-705.

Chan, C. H. & McGurk, M. (1997) Cervical necrotising fasciitis - a rare complication of periodontal disease. *British Dental Journal* **183**, 293-296.

Dello Russo, M. M. (1985) The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **1**, 29-37.

Fine, D. H. (1994) Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **21**, 98-106.

Galego-Feal, P., García-Quintans, A., Gude-Sampedro, F. & García-García, A. (1996) Tramadol en el tratamiento del dolor de origen dentario en un servicio de urgencias hospitalario. *Emergencias* **8**, 480-484.

Gallagher, D. M., Erickson, K. & Hollin, S. A. (1981) Fatal brain abscess following periodontal therapy: a case report. *Mount Sinai Journal of Medicine* **48**, 158-160.

Gray, J. L., Flanary, D. B. & Newell, D. H. (1994) The prevalence of periodontal abscess. *Journal of the Indiana Dental Association* **73**, 18-23.

Hafström, C. A., Wikström, M. B., Renvert, S. N. & Dahlén, G. G. (1994) Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses. *Journal of Periodontology* **65**, 1022-1028.

Helovuo, H., Hakkarainen, K. & Paunio, K. (1993) Changes in the prevalence of subgingival enteric rods, staphylococci and yeasts after treatment with penicillin and erythromycin. *Oral Microbiology and Immunology* **8**, 75-79.

Helovuo, H. & Paunio, K. (1989) Effects of penicillin and erythromycin on the clinical parameters of the periodontium. *Journal of Periodontology* **60**, 467-472.

Ibbott, C. G., Kovach, R. J. & Carlson-Mann, L. D. (1993) Acute periodontal abscess associated with an immediate implant site in the maintenance phase. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **8**, 699-702.

Jansen, H. J. & van der Hoeven, J. S. (1997) Protein degradation by *Prevotella intermedia* and *Actinomyces meyeri* supports the growth of non-protein-cleaving oral bacteria in serum. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 346-353.

Jansen, H. J., van der Hoeven, J. S., Walji, S., Göertz, J. H. C. & Bakkeren, J. A. J. M. (1996) The importance of immunoglobulin-breakdown supporting the growth of bacteria in oral abscesses. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 717-723.

Kaldahl, W. B., Kalwarf, K. L., Patil, K. D., Molvar, M. P. & Dyer, J. K. (1996) Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *Journal of Periodontology* **67**, 93-102.

Lewis, M. A. O., Meechan, C., MacFarlane, T. W., Lamey, P-J. & Kay, E. (1990) Presentation and antimicrobial treatment of acute orofacial infections in general dental practice. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **28**, 359-366.

Manian, F. A. (1997) Cellulitis associated with an oral source of infection in breast cancer patients: report of two cases. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* **29**, 421-422.

McLeod, D. E., Lainson, P. A. & Spivey, J. D. (1997) Tooth loss due to periodontal abscess: a retrospective study. *Journal of Periodontology* **68**, 963-966.

Newman, M. G. & Sims, T. N. (1979) The predominant cultivable microbiota of the periodontal abscess. *Journal of Periodontology* **50**, 350-354.

Pearle, M. S. & Wendel, E. F. (1993) Necrotizing cavernositis secondary to periodontal abscess. *Journal of Urology* **149**, 1137-1138.

Rams, T. E., Feik, D., Listgarten, M. A. & Slots, J. (1992) *Peptostreptococcus micros* in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* **7**, 1-6.

Smith, R. G. & Davies, R. M. (1986) Acute lateral periodontal abscesses. *British Dental Journal* **161**, 176-178.

Suzuki, J. B. & Delisle, A. L. (1984) Pulmonary actinomycosis of periodontal origin. *Journal of Periodontology* **55**, 581-584.

Topoll, H. H., Lange, D. E. & Müller, R. F. (1990) Multiple periodontal abscesses after systemic antibiotic therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **17**, 268-272.

van Winkelhoff, A. J., Carlee, A. & de Graaff, J. (1985) *Bacteroides endodontalis* and other black-pigmented *Bacteroides* species in odontogenic abscesses. *Infection and Immunity* **49**, 494-497.

van Winkelhoff, A. J., Rams, T. E. & Slots, J. (1996) Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontology 2000* **10**, 45-78.

Waldman, B., Mont, M. & Hungerford, D. (1997) Total knee arthroplasty infections associated with dental procedures. *Clinical Orthopaedics and Related Research* **343**, 164-172.

Address:

Mariano Sanz (att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Table 1. Laboratory values in blood and urine samples.

Blood samples	N	Mean values		Normal range		Out of normal range	
		Male	Female	Male	Female	Higher ^{a)}	Frequency
Erythrocytes($10^6/\text{mm}^3$)	20	5.05	4.73	4.5-6.3	4.2-5.4	1	5.0%
Leucocytes ($/\text{mm}^3$)	19	8368		4800-9000		6	31.6%
Hematocrit (%)	20	45.88	42.12	38-52	36-46	1	5.0%
Hemoglobin (g/dl)	20	15.96	14.37	14-18	12-16	2	10.0%
Mean Corpuscular Volume	20	91.08		80-94		5	25.0%
Mean Corpuscular Hemoglobin	19	30.47		26-32		2	10.5%
M.C.H. Concentration	19	33.96		32-36		1	5.3%
Platelets ($10^3/\text{mm}^3$)	18	274		140-440		0	0.0%
Neutrophils (%)	20	61.79		40-70		4	20.0%
Lymphocytes (%)	20	30.04		20-35		5	25.0%
Eosinophils (%)	20	1.75		0-3		0	0.0%
Monocytes (%)	20	5.96		2-8		2	10.0%
Basophils (%)	20	0.75		<9		0	0.0%
Sickles (%)	20	1.00		0-1		0	0.0%
Neutrophils (n)	19	5294		2500-5300		8	42.1%
Lymphocytes (n)	19	2417		1000-3000		2	10.5%
Eosinophils (n)	19	129		0-300		0	0.0%
Monocytes (n)	19	483		50-650		4	21.1%
Glucose (mg/dl)	20	101.40		60-110		2	10.0%
Urea (mg/dl)	19	31.13	33.82	18-50	18-40	2	10.5%
Uric acid (mg/dl)	18	6.64	4.72	3.4-7	2.4-5.7	3	16.7%
Creatinine(mg/dl)	20	1.36	1.01	0.7-1.4	0.7-1.2	1	5.0%
Triglycerides (mg/dl)	10	127.40		45-150		2	20.0%
Cholesterol (mg/dl)	19	225.42		140-250		2	10.5%
Cholesterol HDL (mg/dl)	9	53.78		>36		0	0.0%
Bilirubin-total (mg/dl)	19	0.58		max.1.1		0	0.0%
Aspartate Aminotransferase (U/L)	19	23.26		5-45		1	5.3%
Alanine Aminotranferase (U/L)	18	22.22		5-45		0	0.0%
Gamma-G.T. (U/L)	17	36.76		max.50		2	11.8%
Alkaline phosphatase(U/L)	17	71.88		35-125		1	5.9%
Urine samples							
Urine density	20	1.02		1000-1030		0	0.0%
Urine pH	20	5.48		5-8.5		0	0.0%

^{a)} Number of patients with a value higher than the maximum of the normal range.

LEGENDS.**TITLE:**

The Periodontal Abscess. I. Clinical and Microbiological Findings.

FIGURES:

Figure 1. Clinical aspect of a periodontal abscess in a first molar.

Figure 2. Clinical aspect of a periodontal abscess in the distal side of a lower first molar.

Figure 3. Percentage of abscesses in each category for each subjective clinical variable.

Figure 4. Percentage of abscesses positive for each clinical variable.

Figure 5. Prevalence of each studied pathogen in periodontal abscesses.

Figure 6. Proportions of total flora in positive sites for each studied pathogen.

Figure 7. Percentage of microbial groups characterised by morphotype, gram-staining, and aerotolerance, in periodontal abscesses.

Figure 1. Clinical aspect of a periodontal abscess in a first molar.



Figure 2. Clinical aspect of a periodontal abscess in the distal side of a lower first molar.



Figure 3. Percentage of abscesses in each category for each subjective clinical variable.

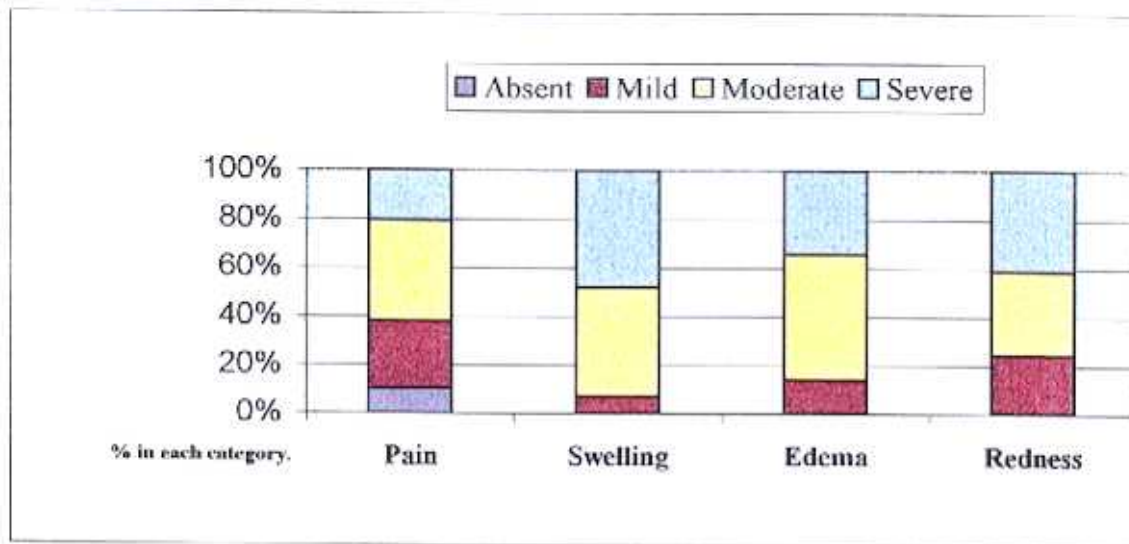


Figure 4. Percentage of abscesses positive for each clinical variable.

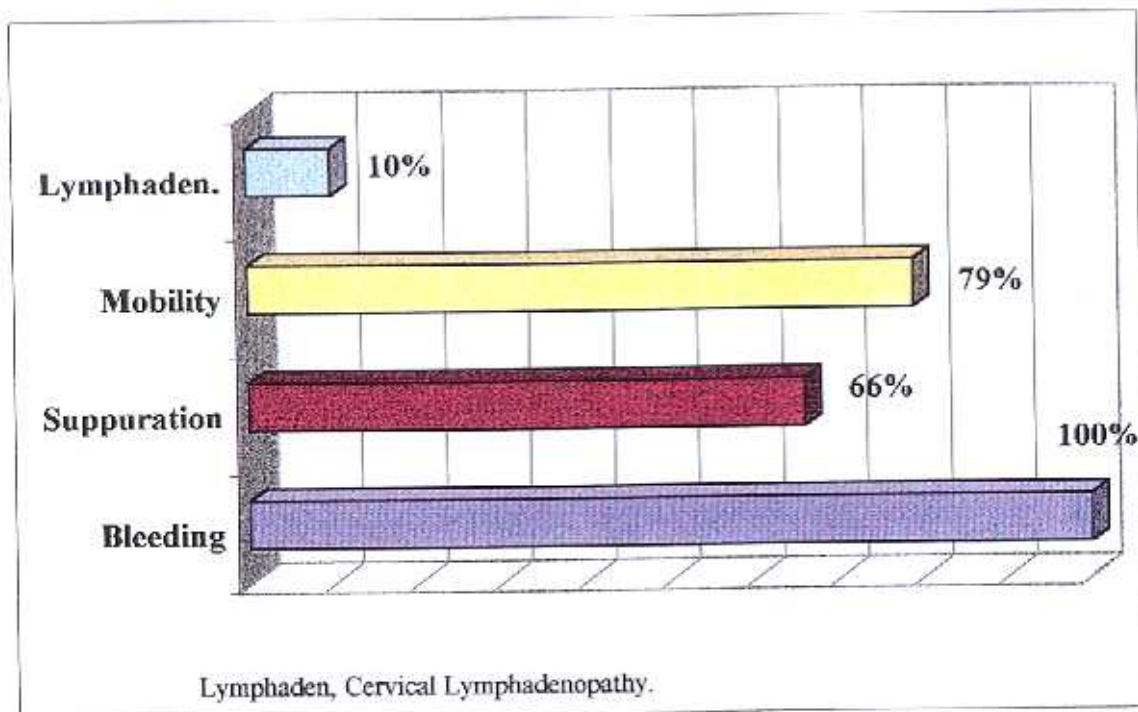


Figure 5. Prevalence of each studied pathogen in periodontal abscesses.

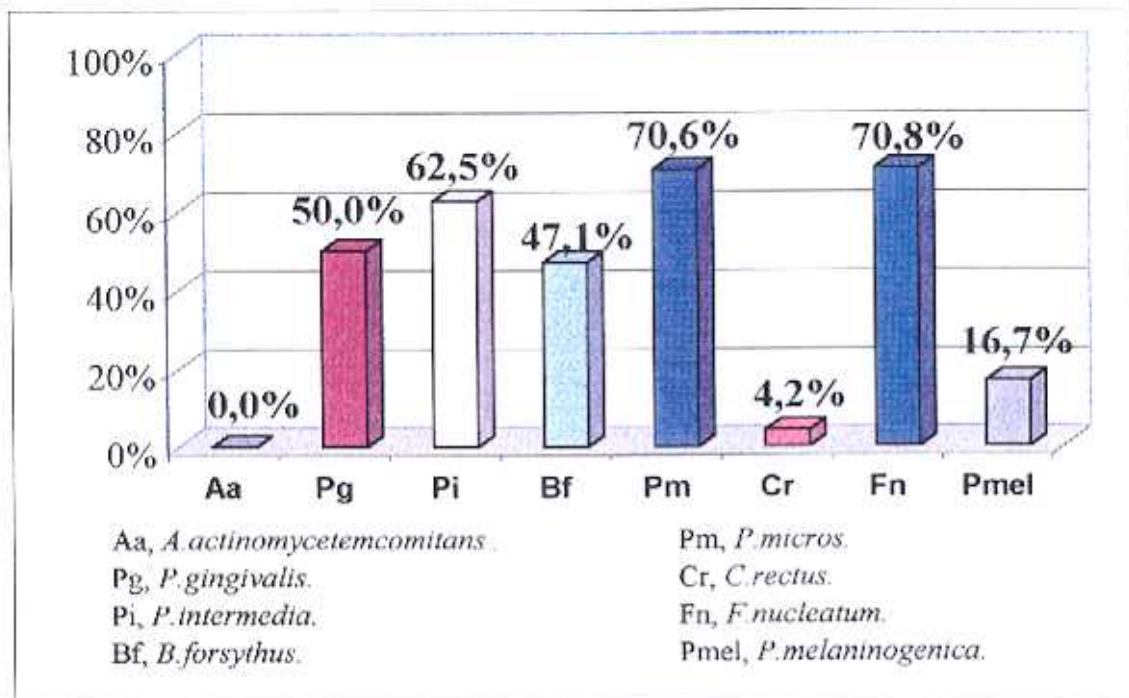


Figure 6. Proportions of total flora in positive sites for each studied pathogen.

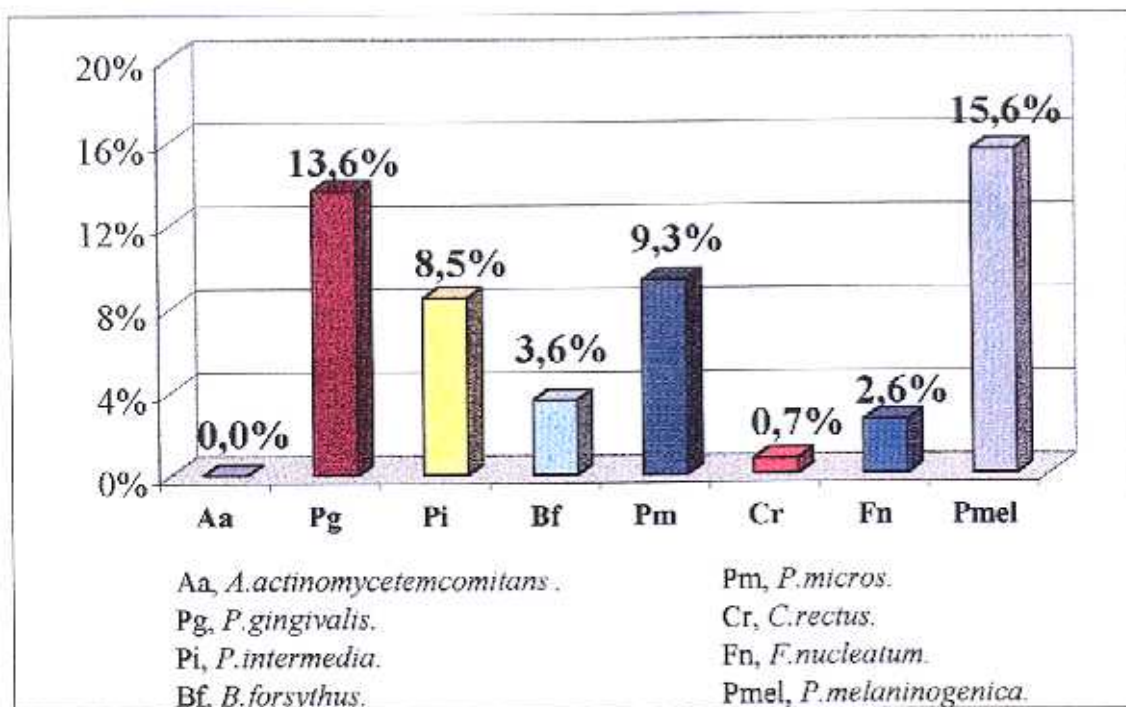
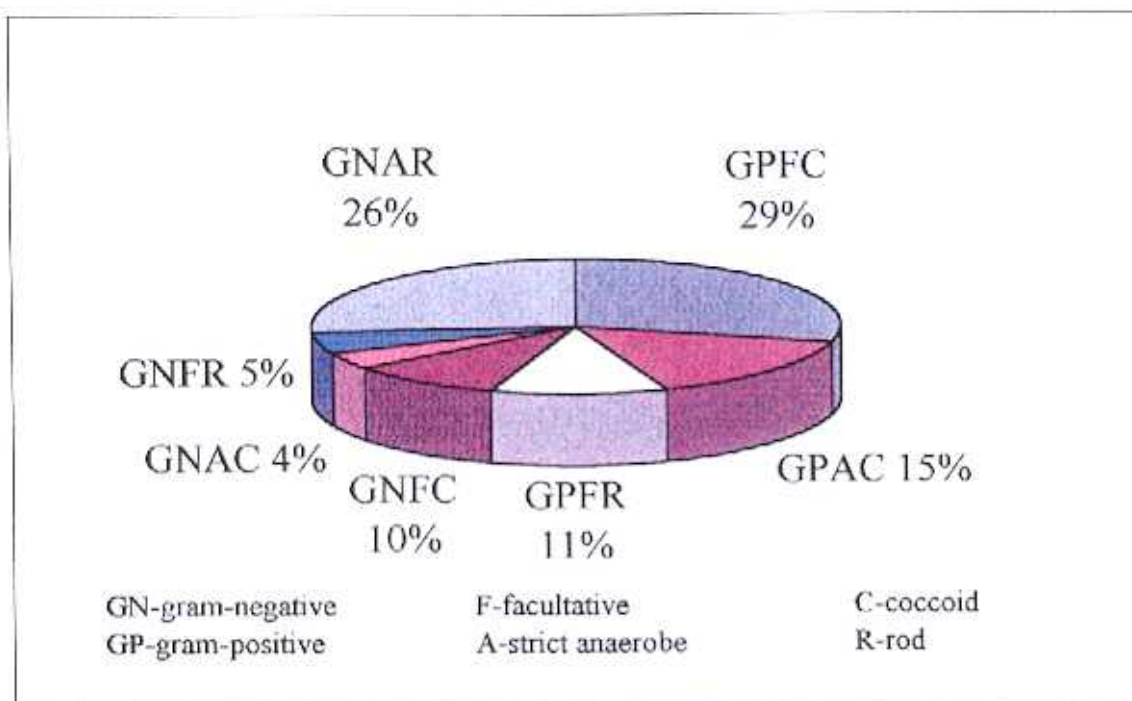


Figure 7. Percentage of microbial groups characterised by morphotype, gram-staining, and aerotolerance, in periodontal abscesses.



Herrera, D., Roldán, S., O'Connor, A., Sanz, M.

“The periodontal abscess: II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotics regimes”.

Journal of Clinical Periodontology 2000; 27 (6).

Resumen.

Objetivo. El objetivo de este estudio clínico longitudinal, paralelo, abierto, a corto plazo, fue comparar la eficacia clínica y microbiológica de dos regímenes de antibióticos en el tratamiento de abscesos periodontales agudos.

Material y Métodos. Después de la selección de los pacientes, se llevó a cabo un examen clínico, evaluando las siguientes variables: dolor, edema, enrojecimiento, e hinchazón, sangrado al sondaje, supuración, profundidad de bolsa, movilidad dentaria, y linfadenopatía cervical. Se tomaron muestras microbiológicas de la lesión, y se asignó aleatoriamente a cada paciente a uno de los dos regímenes de antibiótico: azitromicina o amoxicilina/clavulanato. Se revaluaron las variables clínicas, y se tomaron de nuevo las muestras microbiológicas, a los 3-5 días, 10-12 días y 30 días. Las muestras de orina y de sangre se recogieron en la visita inicial y después de 10-12 días. Las muestras microbiológicas se procesaron mediante cultivo anaerobio, y los patógenos periodontales aislados fueron evaluados en cuanto a sus susceptibilidades a antibióticos por medio del método Spiral Gradient Endpoint.

Resultados. 15 pacientes tomaron azitromicina y 14 amoxicilina/clavulanato. Las variables clínicas subjetivas demostraron mejoras estadísticamente significativas con ambos regímenes antibióticos, que duraron por los menos 1 mes ($p < 0.01$). Las variables clínicas objetivas mostraron también mejoras claras, siendo estadísticamente significativo, a los 30 días, el cambio de la profundidad de sondaje en el grupo de azitromicina ($p < 0.01$). Microbiológicamente, se detectaron reducciones a corto plazo con ambos antibióticos, aunque hubo una rápida recolonización tras la tercera visita. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento. Las susceptibilidades antibióticas demostraron ausencia de resistencias frente a amoxicilina/clavulanato, mientras que 2-3 cepas de cada patógeno estudiado eran resistentes a azitromicina.

Conclusiones. Ambos regímenes antibióticos fueron efectivos en el tratamiento a corto plazo de abscesos periodontales en pacientes con periodontitis.

TITLE:

The Periodontal Abscess:

II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotics regimes. *

AUTHORS.

Herrera, David. ^{1,2}

Roldán, Silvia. ¹

O'Connor, Ana. ²

Sanz, Mariano. ^{1,2}

¹ Section of Graduate Periodontology, Faculty of Odontology - University Complutense, Madrid, Spain.

² Laboratory of Microbiology, Faculty of Odontology, University Complutense, Madrid, Spain.

* Supported by Pfizer, S.A.

ADDRESS.

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Computer system: Microsoft Word for Windows

Abstract.

The aim of this short-term open parallel longitudinal clinical study was to compare the clinical and microbiological efficacy of two different antibiotic regimes in the treatment of acute periodontal abscesses. After patient selection, a clinical examination was carried out recording the following variables: pain, edema, redness, swelling, bleeding on probing, suppuration, tooth mobility, lymphadenopathy, and probing pocket depth. Microbiological samples were taken from the lesion and the patient was randomly assigned to one of two antibiotic regimes: azithromycin or amoxicillin/clavulanate. Clinical variables were recorded, and microbiological samples were taken, at 3-5 days, 10-12 days and 30 days. Additional mechanical treatment (debridement and scaling) was performed in the third visit (10-12 days). Blood and urine samples were collected at baseline and after 10-12 days. Microbiological samples were processed by anaerobic culturing, and isolated periodontal pathogens were tested for antibiotic susceptibility by means of the Spiral Gradient Endpoint methodology. 15 patients took azithromycin, and 14 amoxicillin/clavulanate. Subjective clinical variables demonstrated statistically significant improvements with both antibiotic regimes, which lasted for at least 1 month ($p < 0.01$). Objective clinical variables also showed clear improvements, being statistically significant after 30 days with probing pocket depth in the azithromycin group ($p < 0.01$). Microbiologically, short-term reductions were detected with both antibiotics, however fast recolonization occurred after the third visit. No significant differences were found between both treatment regimes. Antibiotic susceptibilities demonstrated no resistances for amoxicillin/clavulanate, while 2-3 strains of each studied pathogen were resistant to azithromycin. However, both antibiotic regimes were effective in the short term treatment of periodontal abscesses in periodontitis patients.

Key Words.

Periodontal abscess, periodontitis, azithromycin, amoxicillin/clavulanate, systemic antibiotic, therapy, microbiology.

Short-title.

Periodontal abscess: systemic antibiotic therapy.

The Periodontal Abscess:

II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotic regimes.

Treatment of a periodontal abscess is one of the few emergency situations in dental practice. This treatment usually includes two stages: the management of the acute situation, and the appropriate therapy for the original and residual lesion (Ahl et al. 1986; Ammons, 1996).

In the treatment of the acute phase, different approaches have been proposed: tooth extraction (Ammons, 1996; Smith & Davies, 1986); drainage and debridement (Ahl et al. 1986; Ammons, 1996; Carranza, 1990); drainage and debridement plus systemic antibiotics (Fine, 1994; Hafström et al. 1994; Smith & Davies, 1986); and surgery with access flaps (Dello Russo, 1985; Kareha et al. 1981; Quteish-Taani, 1996). However, there is little scientific data to justify the mentioned modes of therapy. Some are based only on case reports (Dello Russo, 1985), or on personal experience (Quteish-Taani, 1996). Only 2 studies have provided evidence for the efficacy of the proposed treatment (Smith & Davies, 1986; Hafström et al. 1994). The use of systemic antibiotics in the treatment of the periodontal abscess is a contentious matter, and some authors restrict the use of antibiotics to specific situations, such as systemic involvement (Ahl et al. 1986; Ammons, 1996; Lewis & MacFarlane, 1986), need of pre-medication (Ammons, 1996), diffuse infection (Ammons, 1996), and difficulties to achieve drainage (Lewis & MacFarlane, 1986). However, in clinical practice the prescription of antibiotics is very common (Galego-Feal et al. 1995; Lewis et al. 1990), and often considered as successful (Genco, 1991).

Among the systemic antibiotics employed in the treatment of acute abscesses, penicillin is by far the most common (Genco, 1991; Gill & Scully, 1988; Lewis et al. 1990). Reports showing that a high percentage of periodontal pockets and abscesses harbour β -lactamase producing bacteria (Lewis et al. 1995; van Winkelhoff et al. 1997; Walker et al. 1987), have lead to the use of amoxicillin plus clavulanic acid (Legg & Wilson, 1990; Lewis et al. 1993).

Newly developed macrolides have shown better antimicrobial activity against gram-negative bacteria, than erythromycin (Kitzis et al. 1990; Willians et al. 1992). Among this new generation of macrolides, azithromycin has attracted a lot of attention due to its pharmacokinetic properties (Lode, 1991), and its high concentration in infection sites, that may be related to the phagocytic uptake and transport of the drug (McDonald & Pruul, 1991). In the oral cavity, a favourable disposition of azithromycin into saliva and periodontal tissues has been found (Malizia et al. 1997). Moreover, due to its antimicrobial efficacy in vitro against periodontal pathogens (Pajukanta, 1993; Pajukanta et al. 1992), it has been recommended in oral (Lo Bue et al. 1993) and periodontal infections (Sefton et al. 1996a).

Azithromycin could be an alternative antibiotic regime to amoxicillin/clavulanate therapy, due to a likely improvement in compliance (azithromycin requires only 1 dose a day during 3 days, while amoxicillin/clavulanate is used 3 times per day during 7-8 days), a good tolerance, and a potential efficacy against periodontal pathogens.

The aim of this short-term, open parallel longitudinal clinical study was to compare the clinical and microbiological efficacy of azithromycin and amoxicillin/clavulanate in the treatment of acute periodontal abscesses. This study assessed the efficacy of both antibiotic regimes as the only mode of therapy in the first phase of the study, and the added benefit of mechanical debridement in the second phase.

Material and Methods.

Patient population.

Consecutive patients with a diagnosis of acute periodontal abscesses, were selected in the Postgraduate Clinic of Periodontology at the Faculty of Odontology (Universidad Complutense of Madrid).

This presumptive diagnosis of acute periodontal abscess was based on the following findings: a) patient complaining of localised pain and swelling of the gingiva; b) affected area showing edema, redness and swelling; c) on periodontal examination the swelling was associated with a periodontal pocket that bled and suppurated; d) radiological examination and vitality tests were used to exclude abscesses of endodontic origin. Non vital teeth were included when a clear primary periodontal lesion was detected (a deepened periodontal pocket was present).

Criteria to exclude patients from the study were: a) age under 18; b) antibiotic use 4 weeks prior to the study; c) known allergies to penicillin, macrolides or lactose; d) pregnancy or women during lactation; e) gastrointestinal pathologies, which could interfere with the absorption of the drugs; f) other systemic infections which could need additional medication; g) systemic medication with ergotamine, carbamazepine, or glucosilade digitalics; h) systemic diseases (tumour, AIDS, kidney or liver diseases); i) psychological or emotional problems.

Study design.

This was a short-term, open parallel longitudinal clinical study.

Screening visit.

Patients that met with the inclusion criteria were informed about the design and the objectives of the study, and were asked to sign an informed consent before entering the study (the study protocol was approved by the Clinical Trial and Ethics Committee of the University Complutense of Madrid). On acceptance, the patient was scheduled for the first visit on the following day.

Baseline visit.

At baseline, the following procedures were carried out: a) blood and urine sampling; b) photographs of the abscess area; c) microbiological sampling; d) clinical examination.

During this visit patients were randomly assigned to one of the two antibiotic regimes: azithromycin (Zitromax®) 500 mg, once per day, during 3 days; or amoxicillin/clavulanate (Augmentine500®) 500+125 mg, once every 8 hours, during 8 days.

Detailed instructions were given to patients regarding timing, dosages and possible adverse effects. In order to assess drug compliance, patients were asked to bring back the empty blisters at the second and third visits.

Second visit (3-5 days after baseline).

At this visit the same clinical and microbiological variables were assessed again. A detailed history of any adverse reaction or compliance problems related to the assigned medication were recorded. In addition, any incident such as the occurrence of other health problems or intake of other medications were also recorded.

Third visit (10-12 days after baseline).

The same variables as the baseline visit were recorded again, including blood and urine samples. Any adverse reaction or compliance problems related with the assigned medication were recorded. During this visit mechanical therapy was rendered. The abscess area was debrided, and the associated teeth scaled and root planned, under local anaesthesia.

Fourth visit (30 days after baseline).

Clinical and microbiological variables were assessed again. After this last visit the patient was allowed to continue his/her periodontal treatment, or otherwise continue with maintenance therapy.

Clinical outcome variables.

Two types of clinical variables were assessed: a) subjective clinical variables included pain, edema, redness and swelling, which were evaluated using a semi-quantitative scale including scores 1 (none), 2 (mild), 3 (moderate), and 4 (severe); b) objective clinical variables included dichotomous

variables such as bleeding on probing, suppuration, cervical lymphadenopathy, and tooth mobility, and continuous variables such as the probing pocket depth associated with the abscess.

The same researcher evaluated these variables at every visit, except for pain, which was assessed by the patient.

Microbiological procedures.

Prior to the clinical evaluation, microbiological samples were taken. 2 consecutive paper points (number 30, cellpacked, Maillefer, Switzerland) were inserted into the periodontal pocket reaching the abscess and kept in place for 10 seconds. Paper points were then transferred to a 1.5 ml RTF (reduced transport fluid) vial, and transported to the laboratory within 2 hours. In the laboratory samples were dispersed (30 seconds of vortexing), serially diluted and plated on: blood agar medium (Oxoid no 2; Oxoid Ltd., Basingstoke, England), supplemented with 5% horse blood, haemin (5 mg/L) and menadione (1 mg/L); and on Trypticase soy-serum bacitracin-vancomycin (TSBV) medium for the selective isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Slots, 1980).

Blood agar plates were examined after 7 and 14 days of anaerobic incubation (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ at 37°); and TSBV plates after 3-5 days of incubation at 37° in air with 5% CO₂.

Total anaerobic microbial counts were evaluated on blood agar plates. On these plates, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus*, and *Fusobacterium nucleatum* were identified, based primarily on colony morphology, and then confirmed using different standard biochemical tests. Colonies were counted and the percentage of the total flora for each pathogen was calculated. *A. actinomycetemcomitans* was identified on TSBV plates, based on typical colony morphology and positive catalase reaction. Each identified strain preserved for further antimicrobial susceptibility tests.

Hematologic and urine laboratory analysis.

Blood and urine samples were analysed for the evaluation of routine variables (main parameters are summarised in Table 5) using a reference clinical laboratory. Variables related to bacterial infections and bacteraemia were carefully assessed, mainly the number of leucocytes and the differential white blood cell count. The rest of the variables were studied in order to check the safety of the drugs used.

Antimicrobial susceptibility tests.

Colonies of isolated periodontal pathogens were subcultured until pure cultures were obtained. These strains were kept frozen for later use. The Spiral Gradient Endpoint technique was used for the evaluation of their antimicrobial susceptibility.

The two tested antimicrobials were assessed, azithromycin and amoxicillin/clavulanate. Petri plates 15 cm in diameter were prepared with Wilkins-Chalgren agar, and kept anaerobically for 24 hours in order to detect any contamination. Antibiotics were plated on the agar by means of the Spiral Gradient device. Known concentrations of the drug were plated drawing a spiral line, with a gradient of concentration, decreasing from the centre to the periphery. Different plates with different ranges of concentration were prepared for each antibiotic, according to the expected Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) for each bacterial species.

McFarland 0.5 ml. suspensions were prepared with 48 hours-old strains; the inoculum was spread on to the agar by means of a cotton swab, drawing a straight line from the outside to the centre of the plates. Then the plates were incubated anaerobically for 48 hours. Different measurements were done from the centre of the spiral to the bacterial colonies, and processed using the software of the system, providing both conventional and discrete MIC values. Control strains were used on each plate, including *Bacteroides fragilis* and previously tested clinical strains, in order to validate each experiment.

Data Analysis.

Comparisons of the clinical and microbiological data were carried out at 2 levels: a) within each group (intra-group comparison), differences between visits were assessed, comparing baseline values with the values of each one of the other 3 visits; inter-group comparisons evaluated differences between the experimental and control groups, at baseline and in the changes between baseline and each follow-up visit.

Probing pocket depth, total flora colony forming units and logarithm of colony forming units for each pathogen, and the percentage of total flora in positive sites, were analysed by means of Wilcoxon Signed Ranks Test (within groups) and Mann-Whitney Test (between groups).

Bleeding, suppuration, mobility and lymphadenopathy, and presence or absence of pathogens were studied with McNemar Test (within groups) and Pearson Chi-square or Fisher's Exact Test (between groups).

Levels of pain, edema, redness and swelling, and the number of different pathogens in each sample, were analysed with Wilcoxon Signed Ranks Test (within groups) and Fisher's Exact Test in cross-tables (between groups).

Differences in laboratory values before and after antibiotic intake were computed by means of a paired Student t-test.

A difference was considered statistically significant when the p value was lower than 0.05, with the exception of multiple comparisons, in which the Bonferroni correction reduced the threshold p value to 0.01. For microbiological variables a $p < 0.05$ was considered significant even in multiple comparisons.

Results.

Study population.

15 patients received azithromycin and 14 patients amoxicillin/clavulanate. The demographic distribution of this patient population is shown in Table 1.

In the azithromycin group (Azi-group), 11 patients had untreated periodontitis, and 4 were currently under periodontal maintenance therapy.

In the amoxicillin/clavulanate group (Aug-group), 7 abscesses were present in untreated periodontitis patients, 4 in patients after scaling and root planing, and 3 in maintenance patients.

Adverse effects and compliance.

3 patients (10%) complained of mild adverse effects related to the medication after 3-5 days. One patient belonged to Aug-group while the other 2 belonged to the Azi-group. These adverse effects were described as mild intestinal problems of short duration. No adverse effects were reported at the third or fourth visit.

All patients in the Azi-group stated that they took the medication as directed, indicating good compliance. However, 5 patients (36%) in the Aug-group recognised some mistakes, either forgetting one or two doses (3 patients), stopping the medication due to the improvement of the symptoms (1 patient), or taking extra doses (1 patient).

Clinical results.

Subjective clinical variables. (Table 2)

The baseline levels of pain and edema were statistically different between both groups ($p < 0.01$). After 3-5 days, all subjective clinical variables improved significantly, as compared to baseline, both in the Aug-group ($p < 0.01$) and in the Azi-group ($p < 0.001$).

After 10-12 days, additional improvements were found in all variables, being statistically significant when compared with baseline values in the Aug-group ($p < 0.01$) and in the Azi-group ($p < 0.001$).

In the fourth visit (after 30 days), 10 patients were evaluated in the Aug-group, while 9 were studied in the Azi-group. In the Aug-group, improvements with baseline were still significant regarding

pain, swelling and redness ($p<0.01$), and in the Azi-group regarding pain, swelling and edema ($p<0.01$).

Objective clinical variables. (Table 3)

No statistically significant differences between the groups were found at baseline regarding objective clinical variables.

After 3-5 days, in the Aug-group, bleeding decreased significantly ($p<0.01$), while no significant reductions were calculated for suppuration and probing pocket depth. Mobility and lymphadenopathy showed no changes. In the Azi-group, the reduction in pocket depth was significant ($p<0.01$), but improvements in bleeding and suppuration were not significant. Lymphadenopathy was no longer detected and mobility did not show any change. No differences in the improvements were found between treatment groups.

No additional changes in Aug-group were found in the percentage of bleeding or suppuration, between the second and the third visit (10-12 days). However, the additional reduction in probing depth demonstrated statistical significance ($p<0.01$) when compared to baseline. In the Azi-group, suppuration was reduced significantly with baseline ($p<0.001$), and bleeding increased when compared to the second visit. There was an additional reduction in probing pocket depth. Again, no significant differences were found between treatment groups in this visit.

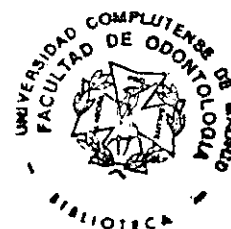
At the fourth visit (30 days), after mechanical therapy, in the Aug-group additional no significant improvements were found in probing depth, bleeding and suppuration. In the Azi-group, probing depth demonstrated a significant improvement when compared with baseline ($p<0.01$). At this visit, again differences between groups were not significant, but a tendency ($p=0.01$) towards a higher reduction in probing pocket depth was calculated for the Azi-group.

An example of the healing of an abscess, in the Azi-group, is shown in Figure 1.

Microbiological results.

Total counts. (Table 4)

In the Azi-group, the mean total counts were reduced by five times at 3-5 days ($p<0.01$). At the third visit a slight rebound occurred, and only showed minor changes after the third visit. In the Aug-group, at baseline, the mean total counts were lower than in the Azi-group (NS) and no change was detected at the second visit. However, a continuous decrease occurred, being statistically significant with baseline at the fourth visit ($p=0.01$). No differences were found between groups, although the reductions between baseline and the fourth visit showed a tendency towards a better response in the Aug-group ($p=0.05$).



Mean number of detected periodontal pathogens. (Table 4)

In the Azi-group the mean number of periodontal pathogens was reduced after 3-5 days ($p<0.01$). A further reduction was found at the third visit ($p<0.01$). However, there was a clear rebound between the third and the fourth visit.

In the Aug-group the mean number of periodontal pathogens at baseline was smaller than in the Azi-group. The number of pathogens was reduced at the second and third visit. Then a rebound occurred, but none of the changes reached the level of significance.

Prevalences and proportions of studied pathogens. (Table 4)

The Azi-group showed high initial prevalence for *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *P. micros*, and *F. nucleatum*, with the first two bacterial species representing more than 10% of the total flora in positives sites (together with *P. melaninogenica*).

After 3-5 days of treatment, prevalences and proportions of total flora were drastically reduced, especially for *P. intermedia* ($p<0.01$) and *B. forsythus* ($p<0.05$). However, *F. nucleatum* kept a similar prevalence and *P. gingivalis* increased its proportion of total flora in positive sites. The numbers of colony forming units were clearly reduced for all studied microbial pathogens ($p<0.05$).

At the third visit, *P. intermedia* was still clearly reduced when compared to baseline prevalence ($p<0.05$), while *F. nucleatum* showed no decrease in prevalence. Reductions in the proportion of total flora were evaluated for *P. gingivalis*, *P. intermedia*, and *B. forsythus* ($p<0.05$). Regarding the number of bacteria (c.f.u.), *P. gingivalis*, *P. micros*, *F. nucleatum*, and *B. forsythus* were still significantly reduced at this visit when compared with baseline ($p<0.05$).

At the fourth visit, prevalences of the studied pathogens increased, particularly *P. micros* and *F. nucleatum*, while *P. gingivalis* kept a low frequency of detection. The proportions of total flora and the number of c.f.u. for each pathogen also demonstrated a rebound.

The Aug-group showed high initial prevalence values for *F. nucleatum* (83%) and *P. micros* (62.5%). The mean percentage of flora in positive sites was also high (>10%) for *P. gingivalis*, *P. micros*, and *P. melaninogenica*.

With 3-5 days of antibiotic treatment, the prevalences, proportions of total flora, and c.f.u., showed reductions for most studied pathogens, specially for *P. intermedia* ($p<0.05$, except for reduction in prevalence).

After 10-12 days, additional reductions in prevalences were observed for *P. micros* and *F. nucleatum*. At this visit, the highest prevalence was for *F. nucleatum* (33%). The mean proportion of *P. micros* showed an important decreased ($p<0.05$).

In this group, all pathogen prevalences increased between the third and fourth visit, but reached lower levels than baseline. The highest prevalence was for *F.nucleatum* (55.5%).

Statistically significant differences between groups were rarely found. Changes in the proportions of flora for *B. forsythus*, between baseline and the third visit, were significantly better in the Azi-group ($p<0.05$) due to a large increase in the Aug-group. Improvements in c.f.u. of *P. intermedia* between baseline and the second visit, were also significantly better for the Azi-group ($p<0.05$).

Clinical laboratory results.

Blood and urine samples were processed, and results for each studied laboratory parameter in each visit (before and after antibiotic consumption) are shown in Table 5. A decrease (NS) in the absolute number of leukocytes was seen, with a concomitant increase in the mean number (NS) and proportion ($p<0.001$) of lymphocytes, and a significant decrease in the number (NS) and percentage ($p<0.05$) of neutrophils. Minor changes were noted for other variables, but these remained within normal ranges.

Antibiotic susceptibilities.

Different bacterial strains, isolated from periodontal abscesses, were tested for antibiotic susceptibility by means of the Spiral Gradient Endpoint system (see Table 6). MIC values for amoxicillin/clavulanate were relatively consistent, and always below the threshold of the proposed breakpoint (8 $\mu\text{g/ml}$). However, some strains of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* showed high MIC values, i.e. values higher than 2 $\mu\text{g/ml}$ were detected for 3 strains of *F. nucleatum* and for 13 strains of *P. gingivalis*.

Azithromycin demonstrated more variability. Most MIC values for *P. micros*, *P. gingivalis*, and *P. intermedia* showed susceptibility, however 2-3 strains in each group demonstrated resistance. *F. nucleatum* gave intermediate results, with 9 strains showing MIC values lower than 2 $\mu\text{g/ml}$, and the other 7 strains higher values. *P. melaninogenica* and *C. rectus* can be considered resistant.

Discussion.

Different therapeutic alternatives have been proposed for the treatment of the periodontal abscess. Among these, incision and drainage, scaling and root planing, and different antibiotics, have been proposed as sole therapies or in different combinations. However, none of these have enough scientific support to be recommended as an evidence-based therapy. In the present study, we have used systemic antibiotics as the only initial therapy, in order to avoid the confounding effect of mechanical therapy (either drainage or scaling); but the need of debridement should not be

underestimated, so we have included a delayed debridement of the abscess area as part of our treatment protocol.

In the selection of the antibiotic, the American Academy of Periodontology included amoxicillin and azithromycin as recommended antibiotics in the treatment of acute periodontal abscesses (American Academy of Periodontology, 1996).

The drug chosen as control was amoxicillin/clavulanate. Although β -lactam drugs are by far the most popular in the treatment of oral infections, including the treatment of abscesses (Genco, 1991; Lewis et al. 1990), a 38.4% of prevalence of β -lactamase producing bacteria has been reported in abscesses in the oral cavity, including periodontal abscesses (Lewis et al. 1995). Amoxicillin/clavulanate has been studied as an adjunct to mechanical periodontal therapy in the treatment of refractory periodontitis (Magnusson et al. 1994), and in the treatment of progressive adult periodontitis (Abu Fanas et al. 1991; Haffajee et al. 1995; Vallcorba et al. 1989), demonstrating an improved outcome in the patients using this antibiotic, although definitive conclusions could not be drawn (van Winkelhoff et al. 1996). In the treatment of acute dental conditions (dentoalveolar abscesses), Augmentin® has also been studied (Lewis et al. 1993). In all the studies where antimicrobial susceptibilities were assessed, almost no resistance was reported (Lewis et al. 1993; Vallcorba et al. 1989) and the use of the drug did not increase the MIC values (Abu Fanas et al. 1991).

The antibiotic chosen as experimental was a macrolide, azithromycin. This antibiotic, due to its unique pharmacological properties, offers clear advantages, particularly its very high tissue concentrations with low plasma levels. In fact, tissue concentrations can exceed serum concentrations by as much as 100-fold (Lode, 1991). Concentration in gingival tissues 12 hours after the last dose are 6.47 mg/kg; while in plasma are 0.33 mg/l, representing a 20-fold increase in these tissues (Malizia et al. 1997). This high tissue concentration of antibiotic is due to diffusion of the drug in cells such as macrophages (Lode, 1991; McDonald & Pruul, 1991), polymorphonuclear leucocytes (Lode, 1991), and fibroblasts (McDonald & Pruul, 1991). This pharmacynetic properties permits the administration of azithromycin with only 3 intakes in 3 consecutive days, explained by the maintenance of high tissue levels for several days (Karma et al. 1991; Lode, 1991).

However, the use of azithromycin in oral infections has been scarcely studied. Lo Bue et al. (1993) compared the effect of azithromycin versus spiramycin in the treatment of acute oral infections in conjunction with surgery. Azithromycin showed a more rapid resolution of the symptoms (pain, swelling) and a better activity *in vivo* against anaerobic bacteria. Azithromycin has also been tested as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of adult periodontitis, in a double-blind,

placebo-controlled study (Sefton et al. 1996a; Sefton et al. 1996b). In this study, the azithromycin group showed better clinical (Sefton et al. 1996b) and microbiological (Sefton et al. 1996a) results than the placebo. However, these statistically significant differences disappeared after 22 weeks.

The present study has demonstrated that the infectious process in an acute periodontal abscess can be controlled by means of systemic antibiotics without prior debridement. The short-term clinical outcome with the use of both antibiotics regimes was successful. We attained a rapid control of the pain levels; significant reductions in edema, redness, and swelling; suppuration was almost eradicated, bleeding significantly reduced; and reductions in probing pocket depth ranged from 1.72 mm (Aug-group) to 1.93 mm (Azi-group).

Short-term microbiological results were also clearly significant. The total flora was reduced, as well as the number of selected pathogens. The presence of these pathogens decreased significantly in both groups, as well as their number (c.f.u.) and relative proportions (% of the total flora). In both the clinical and microbiological outcome variables studied, the efficacy of both antibiotic regimes was very similar. Although slightly better outcomes were obtained with azithromycin (probing depth reduction, total flora reduction), they can be considered as clinically irrelevant and probably due to differences in baseline.

The results obtained in this study are difficult to compare with similar studies, since scientific information regarding the treatment of the periodontal abscess is scarce. Most of the data available come from case reports and clinical opinion (Abrams et al. 1992; Abrams & Kopczyk, 1983; Dello Russo, 1985; Emslie, 1978; Fine, 1994; Goose, 1981; Haney et al. 1992; Ishikawa et al. 1996; Palmer, 1984; Pini Prato et al. 1988). There are only 3 studies where outcome measurements after a proposed therapy have been evaluated. Quteish-Taani (1996) proposed a combination of access flap and irrigation with doxycycline, and reported that it was successful in more than 50 patients, although no data was provided in the article. Smith & Davies (1986) studied 62 abscesses in 55 patients. Their proposed treatment included incision, drainage and metronidazole (200 mg, tid, five days) and after the acute phase, regular periodontal treatment. Fourteen of the 22 teeth with abscesses had to be extracted during the following three years, and tooth survival was the only studied parameter. There is only one study that has evaluated the clinical and microbiological response of periodontal abscesses after treatment (Hafström et al. 1994). The treatment was drainage, irrigation, and supragingival debridement, together with systemic tetracycline therapy for two weeks. Patients were evaluated clinically after 7, 42 and 180 days, and microbiologically after 42 and 180 days. After 7 days, suppuration was reduced from 68% to 26% and bleeding improved from 100% to 79%. This results are very similar to what we have reported in our study, although we

found a faster healing, based on the lower percentages of suppuration and bleeding obtained in the second and third visits. Regarding probing pocket depth reductions, Hafström reported a reduction from 8.1 mm to 6.6 mm, which is less than that achieved in our study. However, comparison of the 1 month results shows that the improvements in suppuration and probing pocket depth are similar, although a better healing has been reported in our study regarding bleeding on probing (the initial 100% in both studies was reduced to 44-30% in the present study, versus 68% in Hafström's). Microbiologically, the results of both studies are also similar. Changes in the presence of periodontal pathogens were small for *F.nucleatum* and *C.rectus*, in both works, while *P. gingivalis* and *P. intermedia* were clearly reduced.

This study agrees with Hafström's work that a periodontal abscess can be successfully treated, at least in a short-term basis, with limited or delayed debridement. However, the importance of the a through debridement in the treatment of periodontal abscesses should not be forgotten, since this will entail the treatment of the source of infection. More studies are needed to compare different treatments for periodontal abscesses, including debridement as one of the therapies.

Within the limitations of this short-term, open parallel longitudinal clinical study, it can be concluded that both antibiotic regimes were effective in the acute treatment of periodontal abscesses in periodontitis patients. Azithromycin has shown similar clinical and microbiological effectiveness than amoxicillin/clavulanate, however due to its easier administration, it shows an improvement in compliance. This study demonstrates that this therapeutic approach is effective in the treatment of acute periodontal abscesses.

Acknowledgements.

The authors will like to thank all the clinicians and laboratory researchers involved in this study. To Conchita Martín, for her invaluable help with the statistic study. We wish to thank Prof. Denis Kinane for his assistance in the critical appraisal of this manuscript.

References.

- Abrams, H., Cunningham, C. J. & Lee, S. B. (1992) Periodontal changes following coronal/root perforation and formocresol pulpotomy. *Journal of Endodontics* 18, 399-402.
- Abrams, H. & Kopczyk, R. A. (1983) Gingival sequela from a retained piece of dental floss. *Journal of the American Dental Association* 106, 57-58.

- Abu Fanas, S., Drucker, D. & Hull, S. (1991) Amoxicillin with clavulanic acid and tetracycline in periodontal therapy. *Journal of Dentistry* **19**, 97-99.
- Ahl, D. R., Hilgeman, J. L. & Snyder, J. D. (1986) Periodontal emergencies. *Dental Clinics of North America* **30**, 459-472.
- American Academy of Periodontology. (1996) Systemic antibiotics in periodontics. Position Paper. *Journal of Periodontology* **67**, 831-838.
- Ammons, W. F. J. (1996) Lesions in the oral mucous membranes. Acute lesions of the periodontium. In: Wilson, TG. & Korman, KS., (Eds.) *Fundamentals of Periodontics.*, 67 edn. pp. 435-440. Singapore: Quintessence]
- Carranza, F. J. (1990) *Glickman's Clinical Periodontology.*, 7th edn. Philadelphia: WB.Saunders Company.
- Dello Russo, M. M. (1985) The post-prophylaxis periodontal abscess: etiology and treatment. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **1**, 29-37.
- Emslie, R. D. (1978) Some considerations on the role of cementum in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **5**, 1-12.
- Fine, D. H. (1994) Microbial identification and antibiotic sensitivity testing, an aid for patients refractory to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **21**, 98-106.
- Galego-Feal, P., Rivas-Lombardero, P., Castro-Díaz, P., Paz-Pumpido, F., Liñares-Sixto, JM., Varela-Patiño, MP., García-García, A., García-Bahillo, J. & García-Quintás, A. (1995) Urgencias en estomatología. *Medicina Integral* **26**, 331-347.
- Genco, R. J. (1991) Using antimicrobials agents to manage periodontal diseases. *Journal of the American Dental Association* **122**, 31-38.
- Gill, Y. & Scully, C. (1988) The microbiology and management of acute dentoalveolar abscess: views of British oral and maxillofacial surgeons. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **26**, 452-457.
- Goose, D. H. (1981) Cracked tooth syndrome. *British Dental Journal* **150**, 224-225.

- Haffajee, A. D., Dibart, S., Kent, R. L. J. & Socransky, S. S. (1995) Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. *Journal of Clinical Periodontology* **22**, 618-627.
- Hafström, C. A., Wikström, M. B., Renvert, S. N. & Dahlén, G. G. (1994) Effect of treatment on some periodontopathogens and their antibody levels in periodontal abscesses. *Journal of Periodontology* **65**, 1022-1028.
- Haney, J. M., Leknes, K. N., Lie, T., Selvig, K. A. & Wikesjö, U. M. E. (1992) Cemental tear related to rapid periodontal breakdown: a case report. *Journal of Periodontology* **63**, 220-224.
- Ishikawa, I., Oda, S., Hayashi, J. & Arakawa, S. (1996) Cervical cemental tears in older patients with adult periodontitis. Case reports. *Journal of Periodontology* **67**, 15-20.
- Kareha, M. J., Rosenberg, E. S. & DeHaven, H. (1981) Therapeutic considerations in the management of a periodontal abscess with an intrabony defect. *Journal of Clinical Periodontology* **8**, 375-386.
- Karma, P., Pukander, J. & Penttilä, M. (1991) Azithromycin concentrations in sinus fluid and mucosa after oral administration. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **10**, 856-856.(Abstract)
- Kitzis, M. D., Goldstein, F. W., Miégi, M. & Acar, J. F. (1990) In vitro activity of azithromycin against various Gram-negative bacilli and anaerobic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **25**, 15-18.
- Legg, J. & Wilson, M. (1990) The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to *Augmentin*. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **28**, 180-184.
- Lewis, M. A. O., Carmichael, F., MacFarlane, T. W. & Milligan, S. G. (1993) A randomised trial of co-amoxiclav (*Augmentin*^R) versus penicillin V in the treatment of acute dentoalveolar abscess. *British Dental Journal* **175**, 169-174.
- Lewis, M. A. O. & MacFarlane, T. W. (1986) Short-course high-dosage amoxycillin in the treatment of acute dento-alveolar abscess. *British Dental Journal* **161**, 299-302.

- Lewis, M. A. O., Meechan, C., MacFarlane, T. W., Lamey, P.-J. & Kay, E. (1990) Presentation and antimicrobial treatment of acute orofacial infections in general dental practice. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **28**, 359-366.
- Lewis, M. A. O., Parkhurst, C. L., Douglas, C. W. I., Martin, M. V., Absi, E. G., Bishop, P. A. & Jones, S. A. (1995) Prevalence of penicillin resistant bacteria in acute suppurative oral infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **35**, 785-791.
- Lo Bue, A. M., Sammartino, R., Chisari, G., Gismondo, M. R. & Nicoletti, G. (1993) Efficacy of azithromycin compared with spiramycin in the treatment of odontogenic infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **31**, 119-127.
- Lode, H. (1991) The pharmacokinetics of azithromycin and their clinical significance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **10**, 807-812.
- Magnusson, I., Low, S. B., McArthur, W. P., Marks, R. G., Walker, C. B., Maruniak, J., Taylor, M., Padgett, P., Jung, J. & Clark, W. B. (1994) Treatment of subjects with refractory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **21**, 628-637.
- Malizia, T., Tejada, M., Ghelardi, E., Senesi, S., Gabriele, M., Giuca, M., Blandizzi, C., Danesi, R., Campa, M. & Del Tacca, M. (1997) Periodontal tissue disposition of Azithromycin. *Journal of Periodontology* **68**, 1206-1209.
- McDonald, P. & Pruul, H. (1991) Phagocyte uptake and transport of azithromycin. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **10**, 828-833.
- Pajukanta, R. (1993) In vitro antimicrobial susceptibility of *Porphyromonas gingivalis* to azithromycin, a novel macrolide. *Oral Microbiology and Immunology* **8**, 325-326.
- Pajukanta, R., Asikainen, S., Saarela, M., Alaluusua, S. & Jousimies-Somer, H. (1992) In-vitro activity of azithromycin compared with that of erythromycin against *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **36**, 1241-1243.
- Palmer, R. M. (1984) Acute lateral periodontal abscess. *British Dental Journal* **157**, 311-313.
- Pini Prato, G. P., Cortellini, P. & Clauser, C. (1988) Fibrin and fibronectin system in a guided tissue regeneration procedure. *Journal of Periodontology* **59**, 679-683.
- Quteish-Taani, D. S. (1996) Tratamiento efectivo de los abscesos periodontales crónicos. *Quintessence International* **27**, 697-699.

- Sefton, A., Maskell, J. P., Beighton, D., Whiley, A., Shain, H., Foyle, D., Smith, S., Smales, F. & Willians, J. D. (1996a) Azithromycin in the treatment of periodontal disease. Effect on microbial flora. *Journal of Clinical Periodontology* **23**, 998-1003.
- Sefton, A., Willians, J. D., Smith, S., Foyle, D., Daniels, J., Joyston-Bechal, S. & Smales, F. (1996b) Estudio doble ciego y controlado con placebo sobre azitromicina como coadyuvante del tratamiento no quirúrgico de la periodontitis del adulto. Madrid: Pfizer.
- Smith, R. G. & Davies, R. M. (1986) Acute lateral periodontal abscesses. *British Dental Journal* **161**, 176-178.
- Vallcorba, N., Redondo, M., Prieto, J., Bascones, A., Cabronero, M., Gómez, M. & Sanz, M. (1989) Cambios microbiológicos en la flora subgingival después del tratamiento. *Avances en Periodoncia* **1**, 87-92.
- van Winkelhoff, A. J., Rams, T. E. & Slots, J. (1996) Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontology 2000* **10**, 45-78.
- van Winkelhoff, A. J., Winkel, E. G., Barendregt, D., Dellelijm-Kippuw, N., Stijne, A. & van der Velden, U. (1997) β -lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 538-543.
- Walker, C., Tyler, K., Low, S. & King, C. (1987) Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* **2**, 129-131.
- Willians, J. D., Maskell, J. P., Shain, H., Chrysos, G., Sefton, A. M., Fraser, H. Y. & Hardie, J. M. (1992) Comparative in-vitro activity of azithromycin, macrolides (erythromycin, clarithromycin and spiramycin) and streptogramin rp 59500 against oral organism. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **30**, 27-37.

Address:

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

Table 1. Age and sex distribution,
and periodontal status in treatment groups.

	AZI-group	AUG-group	Total
<i>Number of patients</i>	15	14	29
<i>Mean age</i>	48	48	48
<i>Range age</i>	26-65	36-64	26-65
<i>% females</i>	53%	64%	59%
Periodontal status			
<i>Untreated</i>	11	7	18
<i>Post-scaling</i>	0	4	4
<i>In Maintenance</i>	4	3	7



Table 2. Comparative clinical outcome in both treatment groups regarding subjective clinical variables: pain, swelling, edema, and redness ^{a)}.

	AUG-group					AZI-group			
	Baseline	3-5 days	10-12days	30 days		Baseline	3-5 days	10-12days	30 days
PAIN	43 ^{b)}	0 ^{d)}	0 ^{d)c)}	0 ^{d)}	%severe	0 ^{b)}	0 ^{e)}	0 ^{c)e)}	0 ^{d)}
	21	7	0	10	%moderate	60	0	0	0
	14	21	0	0	%mild	40	20	7	11
	21	71	100	90	%absent	0	80	93	89
SWELLING	50	0 ^{d)}	0 ^{e)}	0 ^{d)}	%severe	47	0 ^{e)}	0 ^{e)}	0 ^{e)}
	43	36	7	0	%moderate	47	20	0	0
	7	14	21	10	%mild	7	53	33	11
	0	50	71	90	%absent	0	27	67	89
EDEMA	50 ^{b)}	0 ^{d)}	0 ^{d)}	0	%severe	20 ^{b)}	0 ^{e)}	0 ^{e)}	0 ^{d)}
	21	21	0	0	%moderate	80	20	0	0
	29	50	29	20	%mild	0	67	47	22
	0	29	71	80	%absent	0	13	53	78
REDNESS	50	0 ^{d)}	0 ^{d)}	0 ^{d)}	%severe	33	0 ^{e)}	0 ^{e)}	0
	14	21	0	10	%moderate	53	13	0	0
	36	57	57	10	%mild	13	53	47	33
	0	21	43	80	%absent	0	33	53	67

^{a)} Statistic tests.

Fisher's Exact Test, for intergroup comparison:

^{b)} $p < 0.01$, between groups in the baseline distribution.

^{c)} $p < 0.01$, between groups in the changes of each visit as compared with baseline.

Wilcoxon Signed Ranks Test, for intra-group comparison:

^{d)} $p < 0.01$, with baseline, in each group.

^{e)} $p < 0.001$, with baseline, in each group.

Table 3. Comparative clinical outcome in both treatment groups regarding mean probing pocket depth, and prevalence of bleeding and suppuration on probing, lymphadenopathy and tooth mobility, in each visit.

		Baseline	3-5 days	10-12 days	30 days
Mean Probing Pocket Depth (SD)	AUG-group	6.93 (2.2)	6.43 (2.9)	5.21 (1.8) ^{a)}	4.78 (1.6)
	AZI-group	7.6 (2.0)	6.4 (2.6) ^{a)}	5.67 (2.0)	4.89 (1.8) ^{a)}
%Bleeding on Probing	AUG-group	100%	43% ^{a)}	43%	30%
	AZI-group	100%	60%	73%	44%
%Suppuration on Probing	AUG-group	57%	7% ^{a)}	7%	0%
	AZI-group	73%	27% ^{a)}	0% ^{b)}	0%
%Lymphadenopathy	AUG-group	0%	0%	0%	0%
	AZI-group	20%	0%	0%	0%
%Tooth mobility	AUG-group	86%	85%	78%	60%
	AZI-group	73%	73%	53%	77%

Statistic tests.

For probing pocket depth:

Wilcoxon Signed Ranks Test, for intra and inter-group comparison.

For bleeding, suppuration, lymphadenopathy and tooth mobility:

McNemar test, for intra-group comparison of the changes with baseline.

Pearsson and Fisher's Exact Test, for inter-group comparison.

^{a)} $p < 0.01$

^{b)} $p < 0.001$

Table 4. Comparative microbiological outcome in both treatment groups regarding Prevalence, proportions of total flora and log of ufc for each selected pathogen.

	AUG-group				Mean	AZI-group			
	Baseline	3-5 days	10-12days	30 days		Baseline	3-5 days	10-12days	30 days
Total cfu	6.4x10 ⁵	6.9x10 ⁵	2.8x10 ⁵	1.6x10 ⁵ ^{b)}	Mean	1.4x10 ⁶	2.9x10 ⁵ ^{a)}	4.8x10 ⁵	6.9x10 ⁵
n. pathogens	2.3	1.5	1.1	1.9	Mean	3.4	1.4 ^{b)}	1.0 ^{b)}	1.8
<i>P.gingivalis</i>	33.3%	15.4%	8.3%	22.2%	Prevalence ^{d)}	66.7%	28.6%	15.4%	12.5%
	18.9%	1.9%	1.7%	3.1%	Proportion ^{e)}	11.0%	18.7%	0.2% ^{a)}	4.5%
	1.64	0.57	0.32	0.99	mean log-cfu	2.99	1.16 ^{a)}	0.43 ^{a)}	0.47
<i>P.intermedia</i>	50.0%	7.7%	16.7%	44.4%	Prevalence	75.0%	0.0% ^{b)}	7.7% ^{a)}	25.0%
	4.6%	1.9% ^{a)}	2.9%	1.6%	Proportion	11.0%	0.0% ^{b)}	0.3% ^{a)}	6.2%
	1.94	0.35 ^{a)c)}	0.75	1.15	mean log-cfu	3.21	0.00 ^{b)c)}	0.18	1.24
<i>P.melaninogenica</i>	8.3%	15.4%	16.7%	22.2%	Prevalence	25.0%	14.3%	0.0%	0.0%
	17.9%	3.3%	0.8%	0.5%	Proportion	14.8%	0.8%	0.0%	0.0%
	0.18	0.03	0.01	0.01	mean log-cfu	0.15	0.01	0.00	0.00
<i>B.forsythus</i>	25.0%	12.5%	12.5%	40.0%	Prevalence	66.7%	0.0% ^{a)}	0.0%	20.0%
	3.3%	0.4%	13.7% ^{c)}	1.1%	Proportion	3.7%	0.0% ^{a)}	0.0% ^{c) a)}	2.0%
	1.00	0.47	0.77	1.61	mean log-cfu	2.85	0.00 ^{a)}	0.00 ^{a)}	0.88
<i>P.micros</i>	62.5%	62.5%	25.0%	20.0%	Prevalence	77.8%	40.0%	22.2%	80.0%
	13.3%	2.8%	2.8% ^{a)}	0.1%	Proportion	6.5%	6.4%	31.7%	10.3%
	2.57	2.40	0.79	0.47	mean log-cfu	3.41	1.29 ^{a)}	0.85 ^{a)}	3.62
<i>C.rectus</i>	0.0%	15.4%	8.3%	11.1%	Prevalence	8.3%	7.1%	7.7%	0.0%
	0.0%	0.8%	15.3%	5.5%	Proportion	0.7%	4.7%	0.3%	0.0%
	0	0.3	0.45	0.3	mean log-cfu	0.2	0.3	0.25	0
<i>F.nucleatum</i>	83.3%	53.8%	33.3%	55.6%	Prevalence	58.3%	57.1%	53.8%	75.0%
	3.3%	4.3%	3.0%	2.7%	Proportion	1.5%	0.7%	1.2%	5.4%
	2.85	1.74	0.82	1.20	mean log-cfu	2.05	1.56 ^{a)}	1.66 ^{a)}	2.94

Statistic tests (see Data analyses).

a) p<0.05 with baseline, in each group.

b) p<0.01 with baseline, in each group.

c) p<0.05 between groups in the changes with baseline.

d) Percentage of samples positive for each pathogen.

e) Mean proportion of total flora, in positive samples for each pathogen.

Table 5. Laboratory values: comparison before and after antibiotic intake.

Blood samples	Normal range		Mean 1st visit		Mean 3rd visit		%out of range ^{a)}		t test ^{b)}
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Visit 1	Visit 3	p-value
Erythrocytes ($10^6/\text{mm}^3$)	4.5-6.3	4.2-5.4	5.05	4.73	4.91	4.62	5.0%	0.0%	0.0046
Hematocrit (%)	38-52	36-46	45.88	42.12	44.29	40.64	5.0%	5.3%	0.049
Hemoglobin(g/dl)	14-18	12-16	15.96	14.37	15.47	14.14	10.0%	5.3%	0.011

Blood samples	Normal range	Mean 1st visit	Mean 3rd visit	%out of range ^{a)}		t test ^{b)}
				Visit 1	Visit 3	p-value
Leucocytes (/mm ³)	4800-9000	8368.00	7856.67	31.6%	27.8%	N.S.
Mean Corpuscular Volume	80-94	91.08	90.94	25.0%	26.3%	N.S.
Mean Corpuscular Hemoglobin	26-32	30.47	30.59	10.5%	15.8%	N.S.
M.C.H. Concentration	32-36	33.96	33.78	5.3%	0.0%	N.S.
Platelets ($10^3/\text{mm}^3$)	140-440	274333	267733	0.0%	0.0%	N.S.

Neutrophils (%)	40-70	61.79	55.65	20.0%	5.3%	0.003
Lymphocytes (%)	20-35	30.04	36.55	25.0%	57.9%	0.0006
Eosinophils (%)	0-3	1.75	1.84	0.0%	0.0%	N.S.
Monocytes (%)	2-8	5.96	5.85	10.0%	5.3%	N.S.
Basophils (%)	<9	0.75	0.70	0.0%	0.0%	N.S.
Sickles (%)	0-1	1.00	1.25	0.0%	5.3%	N.S.

Neutrophils (n)	2500-5300	5294	4481	42.1%	22.2%	N.S.
Lymphocytes (n)	1000-3000	2417	2755	10.5%	33.3%	N.S.
Eosinophils (n)	0-300	129	119	0.0%	0.0%	N.S.
Monocytes (n)	50-650	483	464	21.1%	16.7%	N.S.

Urine samples	Normal range	Mean 1st visit	Mean 3rd visit	%out of range ^{a)}		t test ^{b)}
				Visit 1	Visit 3	p-value
Urine density	1000-1030	1.02	1.02	0.0%	0.0%	N.S.
Urine pH	5-8.5	5.48	5.68	0.0%	0.0%	N.S.

^{a)} % of patients with values over the maximum of the normal range.

^{b)} paired t test.

Table 6. Antibiotic susceptibility results for studied pathogens.

AMOXICILLIN/CLAVULANATE: breakpoint 8 µg/ml.

Species	Number of strains		MIC50	MIC90	Range (DMIC)		Range (GMIC)	
	Tested	Resistant ^{a)}			min	max	min	max
<i>P.melaninogenica</i>	6	0	0.3827	0.5586	0.2675	0.6246	0.25	1
<i>P.gingivalis</i>	27	0	1.647	3.403	0.0952	4.705	0.125	4
<i>P.intermedia</i>	11	0	0.2613	0.3123	0.136	0.4374	0.125	0.5
<i>F.nucleatum</i>	11	0	1.224	3.496	0.0781	5.298	0.125	8
<i>C.rectus</i>	5	0	0.7612	1.0584	0.3123	1.224	0.5	2
<i>P.micros</i>	12	0	0.3607	0.5282	0.2187	0.6443	0.125	0.5

AZITHROMYCIN: breakpoint 4 µg/ml.

Species	Number of strains		MIC50	MIC90	Range (DMIC)		Range (GMIC)	
	Tested	Resistant ^{a)}			min	Max	Min	max
<i>P.melaninogenica</i>	5	3	7	10.198	2.095	12.33	2	16
<i>P.gingivalis</i>	20	2	0.5545	4.0301	0.021	6.57	0.0156	8
<i>P.intermedia</i>	12	3	0.1756	9.0736	0.0309	12.38	0.0313	16
<i>F.nucleatum</i>	16	3	1.588	3.6014	0.1567	10.23	0.25	16
<i>C.rectus</i>	6	3	6.259	12.17	0.2292	12.42	0.25	4
<i>P.micros</i>	10	3	0.5563	8.9992	0.22	21.88	0.0313	32

^{a)} MIC value higher than the proposed breakpoint.

DMIC, discrete minimum inhibitory concentration.

GMIC, gradient minimum inhibitory concentration (conventional).

LEGENDS.**TITLE:**

The Periodontal Abscess.

II. Short-term clinical and microbiological efficacy of two systemic antibiotics regimes.

FIGURES:

Figure 1a. Response to systemic antibiotic therapy: baseline.

Figure 1b. Response to systemic antibiotic therapy: 3-5 days.

Figure 1c. Response to systemic antibiotic therapy: 10-12 days.

Figure 1a. Response to systemic antibiotic therapy: baseline.



Figure 1b. Response to systemic antibiotic therapy: 3-5 days.



Figure 1c. Response to systemic antibiotic therapy: 10-12 days.



Sanz, M., Herrera, D., van Winkelhoff, AJ., DelleMijn-Kippuw, N., Simón, R., Winkel, EG.

“Prevalence of putative periodontal bacteria in the subgingival microflora of adult periodontitis patients. A comparison between Spain and The Netherlands”.

European Journal of Oral Sciences (enviado para publicación).

Resumen.

Objetivo. El objetivo de este estudio fue comparar la microflora subgingival de dos poblaciones diferentes de pacientes, siguiendo métodos clínicos y bacteriológicos idénticos.

Material y Métodos. Se seleccionaron consecutivamente pacientes con diagnóstico de periodontitis del adulto, y se recopiló información sobre sus enfermedades sistémicas, medicaciones, historia del uso de antibióticos y hábito de fumar. Se tomaron muestras microbiológicas de las cuatro localizaciones más profundas con sangrado, una por cuadrante, y se evaluaron variables clínicas en esas localizaciones. Las muestras se inocularon en placas de agar-sangre, para la determinación de los recuentos anaerobios totales y la identificación de patógenos bacterianos específicos, y sobre TSBV y McConkey para el aislamiento de *A. actinomycetemcomitans* y bacilos entéricos, respectivamente. Se realizó un estudio de calibración de manera previa al estudio.

Resultados. El estudio incluyó a 31 pacientes en España y a 30 en Holanda. Ambos grupos mostraron características similares, con edades y sexos comparables, mientras que el hábito de fumar mostraba diferencias significativas ($p < 0.05$). Las variables clínicas periodontales también indicaron características similares en ambos grupos. *A. actinomycetemcomitans* fue significativamente más prevalente (23.3% frente a 3.2%) en el grupo holandés ($p = 0.002$), mientras *P. gingivalis* era significativamente más prevalente (64.5% frente a 36.7%) en el grupo español ($p = 0.029$). *B. forsythus* y la mayoría de patógenos periodontales comensales demostraron prevalencias similares, excepto *P. micros* que fue significativamente más frecuente en el grupo holandés (96.7% frente a 74.2%).

Conclusiones. La flora del grupo español se caracterizó por una alta prevalencia de *P. gingivalis* y baja de *A. actinomycetemcomitans*, mientras que la flora del grupo holandés estaba caracterizada por una alta prevalencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. micros*.

**PREVALENCE OF PUTATIVE PERIODONTAL PATHOGENS IN THE
SUBGINGIVAL MICROFLORA OF ADULT PATIENTS WITH PERIODONTITIS.
A COMPARISON BETWEEN SPAIN AND THE NETHERLANDS.**

Mariano Sanz (1,2), Arie Jan van Winkelhoff (3), David Herrera (1,2), Nancy Delleemijn-Kippuw (3), Rosa Simón (2), & Edwin Winkel (4).

(1)- Section of Graduate Periodontology, Faculty of Odontology, Universidad Complutense de Madrid, Spain.

(2)- Laboratory of Microbiology, Faculty of Odontology, Universidad Complutense de Madrid, Spain.

(3)- Department of Oral Biology, Section Clinical Oral Microbiology, Academic Centre for Dentistry Amsterdam, The Netherlands.

(4)- Clinic of Periodontology Amsterdam, The Netherlands

Running title:

Prevalence of periodontal pathogens in periodontitis.

Corresponding author:

Mariano Sanz

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: marsan@eucmax.sim.ucm.es

fax: 34-91-394-19-10

Sanz, M. (1,2), van Winkelhoff, AJ. (3), Herrera, D. (1,2), DelleMijn-Kippuw, N. (3), Simón, R. (2), & Winkel, EG. (4).

Eur J Oral Sci

Prevalence of putative periodontal pathogens in the subgingival microflora of adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands.

Abstract.

The purpose of this study was to compare the subgingival microflora of two distinct patient populations, using identical clinical and bacteriological methods. Patients with a diagnosis of adult periodontitis were consecutively selected and information on current systemic disorders, current medications, history of use of antibiotics and smoking habits were recorded. Microbiological samples were taken from the deepest four sites with bleeding, one per quadrant, and clinical variables from these sites were recorded. The samples were plated on blood agar plates, for the determination of the total anaerobic counts and identification of specific bacterial pathogens, and on TSBV and McConkey for isolation of *A. actinomycetemcomitans* and enteric rods, respectively. A calibration test prior to the study was also performed. 31 patients in Spain and 30 patients in The Netherlands were involved. Both patient groups showed similar characteristics with comparable mean age and gender, while the smoking habits were different between both patient samples ($p < 0.05$). The periodontal clinical variables showed similar characteristics between both groups. *A. actinomycetemcomitans* was significantly more prevalent (23.3% vs. 3.2%) in the Ned group ($p = 0.002$), while *P. gingivalis* was significantly more prevalent (64.5% vs. 36.7%) in the Spa group ($p = 0.029$). *B. forsythus* and most commensal periodontal pathogens showed similar prevalences, except *P. micros* that was significantly more frequent in the Ned group (96.7% vs. 74.2%). As conclusions, the flora from the Spanish group was characterised by a high prevalence of *P. gingivalis* and low of *A. actinomycetemcomitans*, while the flora from the Dutch group is characterised by a high prevalence of *A. actinomycetemcomitans* and *P. micros*.

Key words:

Adult periodontitis, periodontal pathogens, anaerobic bacteria, Spain, The Netherlands.

Corresponding author:

Mariano Sanz

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid SPAIN

e-mail: marsan@eucmax.sim.ucm.es

fax: 34-91-394-19-10

Prevalence of putative periodontal pathogens in the subgingival microflora of adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands.

Introduction

Bacteria inhabit the oral cavity from birth to death. They colonise the soft tissues, including the gingiva, cheeks and tongue. Bacteria also colonise teeth both above and below the gingival margin. It is estimated that over 400 different species are capable of colonising the mouth and any individual may harbour 150 or more different species at a given time (1). Counts in subgingival sites range from about 10^3 in healthy shallow sulci to more than 10^8 in deep periodontal pockets (1). However only a limited number of these bacteria have been associated etiologically to periodontitis. Evidence for aetiology has been based on the fulfilment of several criteria defined by SOCRANSKY et al. (2) and include: association, elimination, host response, virulence factors, animal studies and risk assessment. Strong evidence for an etiological role in progression has been demonstrated with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides forsythus*. However, for *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Peptostreptococcus micros*, *Streptococcus intermedius*, and *Treponema denticola* only moderate evidence is available. Initial evidence is available for *Eikenella corrodens*, enteric rods, *Pseudomonas* sp., *Selenomonas* sp., *Staphylococcus* sp. and yeasts (3). Once this evidence for aetiology is confirmed, the detection of these periodontal pathogens would aid in the selection of a more targeted therapy for the treatment of periodontitis. This will be particularly useful in patients for whom the outcome of the standard mechanical therapy is not predictable (early onset periodontitis) or in whom this conventional periodontal mode of therapy fails (refractory periodontitis) (4-6).

If microbial diagnosis is used for targeting the therapy and for evaluation of treatment outcomes, clinicians should have a clear idea of the prevalence of these putative pathogens in both health and disease. For more than 20 years multiple studies, mainly using cultural analysis, have tried to associate the presence of different putative pathogens with disease status, showing a wide variety of results in different populations and in different environments. Table 1 shows the prevalence of selected putative bacterial pathogens in the subgingival microflora of periodontitis patients from different populations and countries. Only studies were selected where the microbial analysis was done by means of anaerobic culturing and where the population sampled was untreated or in non-responding sites. Table 2

describes the differences in the population sampled, disease status and sampling methodology. From these studies we can summarise that the prevalence of specific putative periodontal pathogens varies between individuals from the same environment and between different countries.

Regarding true periodontal pathogens, the prevalence of *A. actinomycetemcomitans* in adult periodontitis varies between 20-40% in most studies (7-11, 11-18), although both higher and lower prevalence has been reported (19-23). The mean proportion of this bacteria in the total subgingival flora in positive sites is usually low (<2.5%) (10-12, 14, 17). These studies show that the presence of *A. actinomycetemcomitans* in periodontitis patients does not follow a geographical pattern, although Asian populations seem to demonstrate a lower prevalence. The prevalence of *P. gingivalis* even shows more variability. 11 studies have reported prevalences ranging between 27-51% (8, 11, 13, 14, 16, 19, 21-24), but both higher (7, 9-12, 20) and lower prevalence have been reported (14, 15). The mean percentage of the total flora in positive sites usually ranges between 15-30% in most studies (9, 11, 12, 14, 16, 19). Again these studies show that the presence of these bacteria demonstrate a great variability, but without showing a clear geographical pattern. *B. forsythus* has not been studied so extensively. Prevalence between 60-67.5% has been reported in USA (25) and in Europe (20). Although both higher (9) and lower (7) percentages have been reported.

The rest of the putative periodontal pathogens with a less strong etiological association to periodontitis have demonstrated even more variability. Some of these bacteria are almost always present, such as *F. nucleatum*, *P. micros*, *C. recta* and *P. intermedia*, although their relative percentage in the subgingival microflora is usually low. The high prevalence of these species have made some authors to consider them as true commensal bacteria, which will only cause disease when their relative number increases.

Enteric rods, *Staphylococci* and yeast are not usually found in the subgingival microflora or in very low numbers, except in specific populations, such as in studies in The Dominican Republic (24), Sudan (11), and Rumania (12) where their prevalence has been found very high (>60%). These bacteria are considered superinfecting organisms, which will only grow in specific environmental conditions or patient populations (immunodeficient, undernourished, previous antibiotic medications, etc.)

As can be seen in Table 2, most of these studies are cross-sectional and different populations and different bacteriological methods have been used. Therefore, direct associations and comparisons are difficult. It is still not clear if geographical differences condition for different subgingival microflora in periodontitis or if the high variability reported is the consequence of using different sample populations and different bacteriological methods and growing conditions. Very few studies have compared directly the prevalence of periodontal pathogens in two distinct populations, using the same microbiological methods and conditions. In one study, comparing Sudanese with Norwegian periodontitis patients, differences in transportation time could account for most of the differences reported (11). When comparing Chinese patients living in the USA, with matched American patients (26), no differences were found in their subgingival microflora, with the exception of a higher prevalence of *A. actinomycetemcomitans* in the American group. However, in this study, the limited number of patients and pathogens evaluated (black-pigmented *Bacteroides*, *Fusobacterium* sp. and *A. actinomycetemcomitans*) may limit the value of these results.

Therefore, studies with simultaneous comparison of two distinct populations using identical methodology are needed in order to find out if there are differences in the subgingival microflora composition between subjects from different geographical locations and environments. One possible consequence of true geographical differences in the prevalence of periodontal pathogens would be a different therapy approach, especially in relation to antibiotic therapy.

The purpose of this investigation was to study the subgingival microflora of two distinct patient populations, both demonstrating moderate to severe periodontitis, one in the Netherlands and one Spain, using identical clinical and bacteriological methods.

Material and Methods

Patients

Patients with a diagnosis of adult periodontitis were consecutively selected to participate in this study from those attending the graduate periodontal clinics in the Faculty of Odontology, University Complutense of Madrid (Spanish population) and in the Clinic of

Periodontology – Amsterdam (Dutch population). Both patient populations met with the following entrance criteria: a) age > 25 years; b) 3 or more teeth in each quadrant of the dentition with at least one site per quadrant with a probing pocket depth \geq 5 mm and with bleeding on probing; c) radiographic evidence of alveolar bone loss in each quadrant of the dentition. Patients were excluded from the study if they: a) had a history of previous periodontal treatment; b) had used systemic or topical antimicrobial therapy 4 weeks prior to the study and c) were pregnant.

At baseline, information on current systemic disorders, current medications, history of use of antibiotics and smoking habits were recorded. The habit of tobacco smoking was recorded as: never smoked (0), former smoker > 1 year ago (1), former smoker < 1 year ago (2), current smoker 1-10 cigarettes/day (3) and current smoker > 10 cigarettes/day (4).

Microbiological sampling

On the basis of a full mouth periodontal examination and on radiographs of the dentition, the deepest bleeding pocket (mm) with the maximum amount of clinical attachment loss (mm) in each quadrant of the dentition was selected and was used as experimental site. At these sites, supragingival plaque accumulation (PI0, PI1), bleeding on probing (BI0, BI1) and suppuration (SI0, SI1) were determined. After careful removal of supragingival plaque deposits and isolation of the sampling sites cotton rolls and gentle air-drying, two sterile paper points (Fine, West Palm Beach, and U.S.A.) were inserted consecutively into the depth of the pocket and left in place for 10 seconds. Paper points from all four selected periodontal sites were pooled in 2.0 ml of reduced transport fluid (RTF) (27). Samples were stored at 4° C and processed within 2 hours after sampling.

Microbiological methodology

Paper point samples were vortexed for 30 seconds and 10-fold serially diluted in RTF. A 100 μ L of each dilution was plated on non-selective blood agar medium (Oxoid no 2; Oxoid Ltd., Basingstoke, England), supplemented with 5% horse blood, haemin (5 μ g/L) and menadione (1 μ g/L) for the determination of the total anaerobic counts and identification of specific bacterial pathogens. Samples were also plated on trypticase soy serum-bacitracin-vancomycin plates (TSBV) (28) for the selective isolation and counting of *A. actinomycetemcomitans*, and on McConkey agar plates for the isolation of enteric rods and pseudomonads.

Blood agar plates were examined after 7 and 14 days of anaerobic incubation (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂ at 37°C); TSBV plates after 3-5 days of incubation at 37°C in air with 5% CO₂; and McConkey plates after 2-3 days of aerobic incubation at 37°C.

Total anaerobic microbial counts were evaluated on blood agar plates. Presence and numbers of the putative periodontal pathogens *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *P. micros*, *C. rectus*, and *F. nucleatum* were determined on the anaerobic non-selective blood agar plates. Identification of the selected bacterial species was based on Gram stain and cell morphology, aerotolerance, production of catalase and then confirmed using different standard biochemical tests (Rapid ID 32A, BioMerieux, SA France) (29, 30). Colonies were counted and the percentage of the total flora for each pathogen was calculated. Total counts of *A. actinomycetemcomitans* were performed on TSBV plates. Identification of this bacterial species was based on its typical colony morphology (star-like inner structure), a positive catalase reaction and a set of specific enzymes (APIZYM, BioMerieux, France) (31). Colonies from McConkey plates were identified based on the reaction profile of the API 20 E.

Microbiological control procedures

Laboratories in Spain and The Netherlands used identical microbiological protocols, such as preparing the transport fluid and isolation media. A calibration test prior to the study was performed. Four pooled samples from four deepened periodontal pockets from four untreated adult periodontitis patients were taken in the Department of Periodontology, Faculty of Odontology of Madrid, Spain. The samples, taken with four paper points per site, were split in two in RTF, and the cooled samples (< 10° C) were send to The Netherlands within 24 hours. During this time, the samples in Madrid were kept at 4° C. Upon arrival in The Netherlands; the samples were processed in both countries as described previously. The percentages of microflora for each tested pathogen obtained in each laboratory were compared, representing a total of 32 pairs. The analysis of these comparisons showed that no significant differences in both the frequency of detection (Chi-square p-value=0.80) and the proportions of total microflora (paired t-test p-value=0.10) were found between the 32 pairs for every tested pathogen.

Data analyses

Clinical variables: local clinical variables of the sampling sites values were averaged (probing pocket depth and clinical attachment level), or expressed as percentage of positive sites (plaque, bleeding on probing, suppuration), within each patient. Continuous data from both patient groups were compared using a Student t test for 2 independent samples.

Microbiological variables: the mean number of bacteria (expressed in total CFU/sample) and the standard deviation were calculated for each species, and data between both patient populations was compared using the Student t test for 2 independent samples.

The Chi-square test was used to assess if differences in the prevalence of the various periodontal pathogens, between both patient groups were significant. The level of confidence was established in 95%, and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

31 patients in Spain (Spa-group) and 30 patients in The Netherlands (Ned-group) were involved. Both patient groups showed similar characteristics with comparable mean age (43.1 versus 43 years) and gender (55% of females versus 57%). However, smoking habits were different between both patient samples ($p < 0.05$). The proportion of heavy smokers (> 10 cig/day) was close to 50% in both groups. The percentage of individuals smoking 1-10 cig/day was higher in the Ned-group, and the percentage non-smoking patients was higher in the Spa-group (22,6% versus 6.7%).

The periodontal clinical variables also showed similar characteristics between both groups. The mean probing pocket depth was 7.0 mm in the Ned-group versus 6.2 mm in the Spa-group. The mean clinical attachment level was 8.0 mm versus 7.0 mm, the percentage of sites bleeding on probing was 98.3% versus 98.4% the percentage of sites with suppuration was 27.4% versus 25.8%. The Ned-group demonstrated a better level of oral hygiene when compared with the Spa-group (45.8% of sites free of plaque versus 21.8%).

With this similar clinical conditions and identical bacteriological methods, the prevalence of specific periodontal pathogens demonstrated significant differences between both population samples. Table 3 shows the percentage of sites positive for the different specific microorganisms. In the group of true periodontal pathogens *A. actinomycetemcomitans* was significantly more prevalent (23.3% vs. 3.2%) in the Ned group ($p=0.002$), while *P. gingivalis* was significantly more prevalent (64.5% vs. 36.7%) in the Spa group ($p=0.029$). *B. forsythus* showed similar percentages in both patient groups. In the group of commensal periodontal pathogens, most of the species showed similar prevalences except

P. micros that was significantly more frequent in the Ned group (96.7% vs. 74.2%). No superinfecting organisms, including enterics, pseudomonae and *Candida* were detected in both patient samples. Table 4 shows the proportion of the different pathogens in the subgingival microflora in both samples. No significant differences were found for *A. actinomycetemcomitans* representing less than 5% of the flora, the mean percentage of *P. gingivalis* ranged between 20-30% and *B. forsythus* amounted 7%. Regarding the total number of bacteria per sample, both populations showed similar number of bacteria (Table 5).

Discussion.

The results from this study demonstrate that two sample populations from different geographical locations with similar periodontal clinical characteristics harboured a microflora with significant qualitative different proportion of bacteria, especially those that are etiologically relevant to the disease process. *A. actinomycetemcomitans* was found in 23.3% of the samples from Dutch patients, which is well within the range of prevalence (between 20-40%) reported in the literature, (7-18). However, Spanish patients very seldomly harboured this bacterial species (3.2% of the samples). The reasons for this discrepancy can not be explained by the use of different methodologies, since a controlled standardised procedure was carried out between both laboratories, and therefore must be ecological. A similar prevalence of *A. actinomycetemcomitans* in Spain has been reported by our research group (32) which indicates that the low prevalence of this bacterial species in adult periodontitis patients may be a true geographical trend in Spain. However, when present the proportions of *A. actinomycetemcomitans* in respect to the total flora were similar between both patient populations (< 5%) which also agree with previous published results (16, 19).

In contrast, *P. gingivalis* showed a higher prevalence in Spain, as compared both with the range of prevalence reported in the literature and with the data obtained from the Dutch patients. The presence of *P. gingivalis* in 36.7% of the samples from the Dutch group is in accordance with the range (27-51%) reported in the literature (8, 11, 13, 14, 16, 19, 21-24). On the contrary, the 64.5% shown in the Spanish samples is higher than the prevalence reported by most of the studies, although is in accordance with results obtained from a different sample in Spain (32). Similar to the results obtained with *A. actinomycetemcomitans*, the proportions of this pathogen in the total flora in positive sites were similar, showing in both samples percentages over 20%, in accordance to what has been reported in other studies (9, 11, 12, 14, 16, 19).



B. forsythus was found with similar frequency in both populations, and comparable with results from other studies in the literature (20, 25). More studies are necessary to confirm the real prevalence of this bacterial species in adult periodontitis patients.

In regards to commensal periodontal pathogens, both patient samples showed similar proportions, except for the percentage of *P. micros* that was significantly higher in the Dutch group. *P. intermedia/nigrescens* showed comparable results between both groups with percentages within the range (75-100%) of "high occurrence" studies described in the literature (8-11, 13, 20, 21, 24). Also similar mean percentages of flora were calculated in both populations, around 7%, which agrees with the range (2.4-7.4%) found in the reviewed studies (10-12, 14, 16, 17, 19). *F. nucleatum* was detected in all samples in both populations, which agrees with the range of prevalence described in the literature, 80-100% (9, 11, 15, 20, 24). The percentages of total flora were higher than those showed in the reviewed studies (0.4-3.7%) (11, 12), and closer to the 13.6% reported in Greece studying rapidly progressive periodontitis patients (9). *C. rectus* showed a similar presence in both patient groups, however this prevalence is much lower than the 70-100% reported in some studies (8, 9, 15, 20, 33). However, a comparable prevalence has been reported in the USA (23), and in The Dominican Republic (24). The reasons for these discrepancies and the relative importance of this bacterial species in the aetiology of periodontitis are still unclear.

P. micros was significantly more prevalent in The Netherlands, confirming data from previous studies in this country (34), and also similar to prevalence reported in Greece (9) and The Dominican Republic (24). The percentage shown in the Spanish population is also similar to results reported in USA (35) and in another study in Spain (32). *P. micros* levels have been associated with smoking (41) and may explain in part the higher prevalence of this bacterial species in the Dutch population.

When comparing the data from both periodontitis populations studied we can identify two distinct patterns in their subgingival microflora. The flora from the Spanish patient group is characterised by a high prevalence of *P. gingivalis* and a low prevalence of *A. actinomycetemcomitans*, while the flora from the Dutch group is characterised by a high prevalence of *A. actinomycetemcomitans* and *P. micros*. These differences may have therapeutic consequences mainly in what regards to the prescription of systemic antibiotics. It further emphasises that this mode of therapy should be based on the results of local microbial

testing for presence of target microorganisms, rather than in clinical criteria only. From this study we can not elucidate if these differences have any pathogenic or therapeutic implications, but a different geographical pattern independent from methodological aspects has been demonstrated. Longitudinal studies with sequential microbiological monitoring are needed in order to corroborate these differences and find out if they are clinically meaningful.

Table 1. Results on the prevalence of periodontal pathogens reported in studies from different countries and environments.

Country	Authors	Year	Ref	Prevalence									
				Aa	Pg	Pi	Bf	Pm	Fn	Cr	Pmela	Ec	
Cameroon	Ali et al	1997	(7)	28,5%	57,1%	38,0%	19,0%			28,5%			
Kenya	Dahlén et al	1989	(10)	40,0%	70,0%	100,0%							
Sudan	Ali et al	1994	(11)	28,0%	36,0%	40,0%				68,0%			
China	Dahlén et al	1995	(8)	20,0%	27,0%	93,0%					87,0%	33,0%	
China	Dahlén et al	1995	(8)	13,0%	40,0%	100,0%					80,0%	40,0%	
Japan	Hagiwara et al	1998	(22)	14,3%	38,1%	42,9%				38,1%			9,5%
Greece	Kamma et al	1994	(9)	20,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%		
Italy	Piccolomini et al	1997	(18)	27,0%									
Norway	Ali et al	1994	(11)	33,3%	86,6%	77,8%				100,0%			
Rumania	Ali et al	1996	(12)	41,7%	75,8%	18,3%				52,8%			
Sweden	Dahlén&Wikström	1995	(13)	38,5%	31,4%	76,1%							
Sweden	Slots et al	1986	(14)	40-47%	51-41%	59,0%							
Sweden	Slots et al	1986	(14)	6,1%	0,0%	60,1%							
Sweden	Papapanou et al	1993	(15)	25,0%	14,0%	58,0%				80,0%	81,0%		66,0%
Switzerland**	McNabb et al	1992	(20)	63,3%	66,7%	96,7%	60,0%			96,7% *	70% *	80,0%	40,0%
The Netherlands	van Dalen et al	1998	(34)						91,0%				
The Netherlands	van der Weijen et al	1994	(16)	38,5%	42,9%	53,8%							
The Netherlands	Rodenburg et al	1990	(19)	54,0%	48,0%	63,0%							
USA	Rams et al	1993	(33)								81,1%		
USA	Kornman et al	1991	(23)	10,0%	33,0%	48,0%					15,0%		10,0%
USA	Slots et al	1990	(36)	32,1%		45,2%							
USA	Chen et al	1989	(37)										100%
USA	Lotufo et al	1994	(25)				67,5%						
USA	Rams et al	1992	(38)						62,6%				
Dominican Rep.	Slots et al	1991	(24)		37,5%	75,0%			87,5%	100,0%	33,3%		

* Prevalence of the genus. ** Immigrants from different countries.

Aa - *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg - *Porphyromonas gingivalis*, Pi - *Prevotella intermedia*, Bf - *B. forsythus*, Pm - *P. micros*, Fn - *F. nucleatum*, Cr - *C. rectus*, Ec - *E. corrodens*, Pmela - *P. melaninogenica*

Table 2. Methodology used in studies describing the prevalence of periodontal pathogens in different countries.

Authors	Country	Year Ref	Material		Disease Status		Sampling				Media		
			n	age	Dx	Prev.treat.	sites	method	transp	within	general	TSBV	Other
Ali et al	Cameroon	1997 (7)	21	20-62	AP	No	2	2pp	VGMAIII	36-40h	BA	yes	yes
Dahlén et al	Kenya	1989 (10)	20	30-65	General	?	1	1pp/curet	VGMAIII	4/36-48h	BBA	yes	no
Ali et al	Sudan	1994 (11)	25	22-70	P	No	1	3pp	VGMAIII	40-48h	BA	yes	yes
Dahlén et al	China	1995 (8)	15	55-69	General	No (worst group)	1	1pp	VGMAIII	10h	BBA	yes	yes
Dahlén et al	China	1995 (8)	15	55-69	General	No (best group)	1	1pp	VGMAIII	10h	BBA	yes	yes
Hagiwara	Japan	1998 (22)	21	43-75	AP	Untreated	3?	1pp	PRAS	irred	CDC	yes	yes
Kamma et al	Greece	1994 (9)	10	25-35	RPP	No >6m	1	3pp	RTF	10min	ETSA	yes	no
Piccolomini	Italy	1997 (18)	30	na	AP	Untreated	?	curet	RTF	30min	ETSA	yes	no
Ali et al	Norway	1994 (11)	18	30-61	P	No	1	3pp	VGMAIII	24h	BA	yes	yes
Ali et al	Rumania	1996 (12)	36	30-68	AP	No	1	3pp	VGMAIII	36-40h	BA	yes	yes
Dahlén&Wikström	Sweden	1995 (13)	535	na	P.	No; various	1	3pp	VGMAIII	?	BA	yes	yes
Slots et al	Sweden	1986 (14)	61	19-79	P.	No (active)	1	3pp	VGMAIII	?	BBA	yes	no
Slots et al	Sweden	1986 (14)	20	30-75	P.	No (non-active)	1	3pp	VGMAIII	?	BBA	yes	no
Papapanou et al	Sweden	1993 (15)	192	30-65	General	?	6	1pp	VGMAIII	24h	BBA	yes	yes
McNabb et al	Switzerland	1992 (20)	30	35-44	General	No	1	3pp	RTF	15min	TS-BA	yes	no
van Dalen et al	The Netherlands	1998 (34)	123	24-68	AP	No; >3m	4	2pp	RTF	24h	BA	no	no
van der Weijen et al	The Netherlands	1994 (16)	91	19-54	P.	50no;41yes	4	2pp	RTF	48h	BA	yes	no
Rodenburg et al	The Netherlands	1990 (19)	138	14-70	P.severe	No	3-4	2pp	RTF	45min	BA	yes	no
Slots et al	Dominican Rep.	1991 (24)	24	18-60	P	No	3	1pp	VGMAIII	24-48h	BBA	yes	yes
Rams et al	USA	1993 (33)	1447	36-89	AP-Ref.	Various	3	1pp	VGMAIII	48h	BA	no	yes
Kornman et al	USA	1991 (23)	21	na	AP	No	1-2	curet	VGMAIII	24h	TS-BA	yes	yes
Chen et al	USA	1989 (37)	11	35-61	AP	No >6m	1	3pp	PRAS	0	TS-BA	no	yes
Slots et al	USA	1990 (36)	3075	12-93	Ref.	Yes >2m	3	1pp	VGMAIII	16-40h	BA	yes	yes
Slots et al	USA	1990 (17)	1624	15-89	P.	Yes, various	3	1pp	VGMAIII	4/24-48h	BBA	yes	no
Lotufo et al	USA	1994 (25)	80	na	P.	?	3	1pp	VGMAIII	0-144h	BBA	no	no
Rams et al	USA	1992 (38)	545	36-82	AP	Most treated	3	1pp	VGMAIII	4-48h	BBA	no	yes
Slots et al	USA	1988 (39)	500	na	AP	Most treated	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	yes	yes
Rams et al	USA	1992 (35)	907	36-89	AP	Most treated	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	no	no
Rams et al	USA	1990 (40)	506	36-89	AP	Most treated	3	1pp	VGMAIII	24-48h	EBBA	no	yes

pp, paper points.

General. General population

Prev.treat., previous periodontal treatment.

P., periodontitis.

AP., adult periodontitis.

Ref., refractory periodontitis.

BA, blood agar.

CDC, commercial agar.

TSA, tripticase soy agar.

BBA, Brucella blood agar. TS-BA, tripticase soy blood agar

TSBV, tripticase-serum-bacitracin-vancomycin.

ETSA, enriched tripticase soy agar.

Table 3. Prevalence of putative periodontal pathogens in the subgingival microflora of adult patients with periodontitis.

	<i>A. actinomyces</i> <i>temcomitans</i>	<i>P. gingivalis</i>	<i>P. intermedia</i>	<i>B. forsythus</i>	<i>P. micros</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>C. rectus</i>	<i>P. melaninogeni</i> <i>ca</i>
Spain	3,2%	64,5%	74,2%	64,5%	58,1%	100,0%	16,1%	19,4%
The Netherlands	23,3%	36,7%	90,0%	73,3%	96,7%	100,0%	36,7%	16,7%
Chi-sq. p-value	0,02	0,0296	0,1084	0,4572	0,0003	1	0,0683	0,7848

Table 4. Comparative mean proportions of total subgingival microflora of different periodontal pathogens in periodontitis patients Spain and in The Netherlands.

	<i>A. actinomycetemcomitans</i>			<i>P. gingivalis</i>			<i>P. intermedia</i>			<i>B. forsythus</i>		
	% *	SD	Max	%	SD	Max	%	SD	Max	%	SD	Max
Spain	0,5%	0,1%	0,5%	21,6%	16,1%	58,0%	7,4%	6,9%	31,8%	7,3%	7,1%	32,2%
The Netherlands	3,0%	2,4%	11,2%	28,6%	18,5%	71,3%	6,3%	6,9%	25,8%	7,7%	6,8%	31,0%

	<i>P. micros</i>			<i>F. nucleatum</i>			<i>C. rectus</i>			<i>P. melaninogenica</i>		
	%	SD	Max	%	SD	Max	%	SD	Max	%	SD	Max
Spain	4,0%	3,2%	12,4%	6,9%	9,7%	43,0%	2,2%	1,5%	8,1%	4,0%	2,0%	7,9%
The Netherlands	7,2%	7,1%	26,8%	9,3%	12,0%	56,6%	4,1%	2,7%	8,7%	6,7%	3,2%	13,6%

* Mean percentage of total flora in positive sites.

SD, standard deviation.

Max, maximum.

Table 5. Comparative mean number of total anaerobic colony forming units in subgingival plaque samples of patients with periodontitis in Spain and in The Netherlands.

	mean	maximum	minimum	SD	median
Spain	$1,57 \times 10^7$	$1,09 \times 10^8$	$5,73 \times 10^5$	$2,47 \times 10^7$	$7,60 \times 10^6$
The Netherlands	$1,34 \times 10^7$	$4,60 \times 10^7$	$1,10 \times 10^6$	$1,15 \times 10^7$	$9,30 \times 10^6$

References

1. MOORE WEC. Microbiology of periodontal disease. *J Periodont Res* 1987; **22**: 335-341.
2. SOCRANSKY SS, HAFFAJEE AD. Effects of therapy on periodontal infections. *J Periodontol* 1993; **64**: 754-759.
3. CONSENSUS REPORT. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Annals of Periodontology* 1996; **1**: 926-932.
4. SHILOAH J, PATTERS MR, DEAN JW, BLAND P, TOLEDO G. The survival rate of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* following 4 randomized treatment modalities. *J Periodontol* 1997; **68**: 720-728.
5. RENVERT SN, WIKSTRÖM MB, DAHLÉN GG, SLOTS J, EGELBERG J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990; **17**: 345-350.
6. RENVERT SN, WIKSTRÖM MB, DAHLÉN GG, SLOTS J, EGELBERG-J. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1990; **17**: 351-355.
7. ALI RW, JOHANNESSEN AC, DAHLÉN GG, SOCRANSKY SS, SKAUG N. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in Northern Cameroon. *J Clin Periodontol* 1997; **24**: 830-835.
8. DAHLÉN GG, LUAN W-M, BAELUM V, FEJERSKOV O, CHEN X. Periodontopathogens in elderly Chinese with different periodontal disease experience. *J Clin Periodontol* 1995; **22**: 188-200.
9. KAMMA JJ, NAKOU M, MANTI FA. Microbiota of rapidly progressive periodontitis lesions in association with clinical parameters. *J Periodontol* 1994; **65**: 1073-1078.
10. DAHLÉN GG, MANJI F, BAELUM V, FEJERSKOV O. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 1989; **16**: 305-310.
11. ALI RW, BAKKEN V, NILSEN R, SKAUG N. Comparative detection frequency of 6 putative periodontal pathogens in Sudanese and Norwegian adult periodontitis patients. *J Periodontol* 1994; **65**: 1046-1052.
12. ALI RW, VELCESCU C, JIVANESCU M-C, LOFTHUS B, SKAUG N. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996; **23**: 133-139.

13. DAHLÉN GG, WIKSTRÖM MB. Occurrence of enteric rods, staphylococci and *Candida* in subgingival samples. *Oral Microbiol Immunol* 1995; 10: 42-46.
14. SLOTS J, BRAGD L, WIKSTRÖM MB, DAHLÉN GG. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1986; 13: 570-577.
15. PAPAPANOU PN, SELÉN A, WENNSTRÖM JL, DAHLÉN GG. An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 24-29.
16. VAN DER WEIJDEN GA, TIMMERMAN MF, REIJERSE E, WOLFFE GN, VAN WINKELHOFF AJ, VAN DER VELDEN U. The prevalence of *A.actinomycetemcomitans*, *P.gingivalis* and *P.intermedia* in selected subjects with periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 583-588.
17. SLOTS J, FEIK D, RAMS TE. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis: age relationship and mutual association. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 659-662.
18. PICCOLOMINI R, DI BONAVENTURA G, CATAMO G, PICCIANI C, PAOLANTONIO M. *In vitro* antimicrobial susceptibility of periodontopathic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* to roxithromycin and erythromycin. *Oral Microbiol Immunol* 1997; 12: 366-371.
19. RODENBURG JP, VAN WINKELHOFF AJ, WINKEL EG, GOENÉ RJ, ABBAS F, DE GRAAFF J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 392-399.
20. MCNABB H, MOMBELLI A, GMÜR R, MATHEY-DINÇ S, LANG NP. Periodontal pathogens in the shallow pockets of immigrants from developing countries. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 267-272.
21. PREUS HR, ANERUD A, BOYSEN H, DUNFORD RG, ZAMBON JJ, LÖE H. The natural history of periodontal disease. The correlation of selected microbiological parameters with disease severity in Sri Lankan tea workers. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 674-678.
22. HAGIWARA S, TAKAMATSU N, TOMINAGA Y, UMEDA M. Subgingival distribution of periodontopathic bacteria in adult periodontitis and their susceptibility to minocycline-HCl. *J Periodontol* 1998; 69: 92-99.
23. KORNMAN KS, NEWMAN MG, ALVARADO R, FLEMMIG TF, NACHNANI S, TUMBUSCH J. Clinical and microbiological patterns of adults with periodontitis. *J Periodontol* 1991; 62: 634-642.
24. SLOTS J, RAMS TE, FEIK D, TAVERAS HD, GILLESPIE GM. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. *J Periodontol* 1991; 62: 543-547.

25. LOTUFO R, FLYNN J, CHEN C, SLOTS J. Molecular detection of *Bacteroides forsythus* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1994; 9:154-160.
26. CAO CF, AEPPLI DM, LILJEMARK WF, BLOMQUIST C, BANDT CL, WOLFF LF. Comparison of plaque microflora between Chinese and Caucasian population groups. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 115-118.
27. SYED SA, LOESCHE WJ. Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Applied Microbiology* 1972; 24: 638-644.
28. SLOTS J: Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1982; 15: 606-609.
29. VAN WINKELHOFF AJ, CLEMENT M, DE GRAAFF J. Rapid characterization of oral and nonoral pigmented *Bacteroides* species with the ATB Anaerobes ID system. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1063-1065.
30. WINKEL EG, VAN WINKELHOFF AJ, TIMMERMAN MF, VANGSTED T, VAN DER VELDEN U. Effects of metronidazole in patients with "refractory" periodontitis associated with *Bacteroides forsythus*. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 573-579.
31. SLOTS J. Enzymatic characterization of some oral and nonoral Gram-negative bacteria with the API-ZYM system. *J Clin Microbiol* 1981; 14: 288-294.
32. BUJALDÓN A, HERRERA D, GONZÁLEZ I, O'CONNOR A, SANZ M. Periodontal pathogen prevalences among two groups of periodontitis patients, before and after initial therapy. *J Dent Res* 1998; 77: 1256 (abstr)
33. RAMS TE, FEIK D, SLOTS J. *Campylobacter rectus* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1993; 8: 230-235.
34. VAN DALEN PJ, VAN WINKELHOFF AJ, VAN STEENBERGEN TJM. Prevalence of *Peptostreptococcus micros* morphotypes in patients with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1998; 13: 62-64.
35. RAMS TE, FEIK D, LISTGARTEN MA, SLOTS J. *Peptostreptococcus micros* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 1-6.
36. SLOTS J, FEIK D, RAMS TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1999; 5: 305-308.
37. CASEY CHEN C-K, DUNFORD RG, REYNOLDS HS, ZAMBON JJ. *Eikenella corrodens* in the human oral cavity. *J Periodontol* 1989; 60: 611-616.
38. RAMS TE, FEIK D, YOUNG V, HAMMOND BF, SLOTS J. Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1992; 7: 249-252.
39. SLOTS J, FEIK D, RAMS TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* and *Acinetobacter* in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 149-154.

40. RAMS TE, FEIK D, SLOTS J. Staphylococci in human periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5: 29-32.
41. VAN WINKELHOFF AJ, WINKEL EG. Differences in periodontal microbiota between smokers and non-smokers. *J Dent Res* 1998; 77: 1032 (abstr)

van Winkelhoff, AJ., Herrera, D., Winkel, EG., Delleemijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, CMJE., Sanz, M.

“Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain.”

Journal of Clinical Periodontology 2000; 27 (1).

Resumen.

Objetivo. El uso muy extendido de antibióticos para profilaxis y para el tratamiento de infecciones bacterianas ha conducido a la emergencia de patógenos resistentes en humanos. Se han documentado grandes diferencias en las resistencias entre países europeos, tanto en el uso como en el cumplimiento de la toma de antibióticos. Paralelamente, se han identificado diferencias significativas en los niveles de resistencia de los patógenos. Para evaluar si las diferencias en el uso de antibióticos influyen en el nivel de resistencias bacterianas en la microflora subgingival, se comparó la placa subgingival de pacientes con periodontitis del adulto no tratada en Holanda (n=30) y en España (n=31).

Material y Métodos. Se emplearon placas de agar sangre con concentraciones en el punto de corte de penicilina, amoxicilina, amoxicilina y clavulanato, metronidazol, eritromicina, azitromicina, clindamicina y tetraciclina, para determinar la proporción relativa de placa subgingival resistente a los citados antibióticos. Como variables adicionales, se calcularon el número total de especies bacterianas resistentes y el porcentaje de cepas resistentes de patógenos periodontales putativos.

Resultados. En los pacientes españoles, se encontraron niveles medios de resistencia significativamente más altos para penicilina, amoxicilina, metronidazol, clindamicina y tetraciclina. La media del número de especies bacterianas que crecían en los medios selectivos fue mayor en los pacientes españoles, al igual que el porcentaje de cepas resistentes de la mayoría de los patógenos periodontales. Una diferencia llamativa fue la observada en la frecuencia de detección de patógenos periodontales resistentes a tetraciclina. En España, 5 pacientes tenían ≥ 3 patógenos periodontales resistentes a tetraciclina, mientras que este hecho no se observaba en ninguno de los pacientes holandeses.

Conclusiones. Se concluye que el uso extendido de antibióticos en España se refleja en el nivel de resistencia de la microflora subgingival en pacientes adultos con periodontitis.

TITLE:

Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis.
A comparison between The Netherlands and Spain.

AUTHORS:

A.J. van Winkelhoff, (1) .
D. Herrera González (2).
E.G. Winkel (3).
N. Delleijn-Kippuw (1).
C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls (4)
M. Sanz (2)

- 1) section Clinical Oral Microbiology, Department of Oral Biology
Academic Centre for Dentistry Amsterdam, The Netherlands
- 2) Section of Graduate Periodontology and Laboratory of Microbiology,
Faculty of Odontology, University Complutense Madrid, Spain
- 3) Clinic of Periodontology Amsterdam, The Netherlands
- 4) Department of Medical Microbiology and Infection Prevention,
Vrije Universiteit Amsterdam, The Netherlands

corresponding author:

Dr. A.J. van Winkelhoff
Laboratory for Clinical Oral Microbiology
Department of Oral Biology
Academic Centre for Dentistry Amsterdam
Van der Boechorststraat 7
1081 BT Amsterdam
telephone: +31 20 4448678
telefax: +31 20 4448318

Abstract

The widespread use of antibiotics for prophylaxis and for treatment of bacterial infections has lead to the emergence of resistant human pathogens. Great differences have been documented between European countries in the use and compliance of antibiotics. In parallel, significant differences in levels of resistant pathogens have been documented. In order to investigate whether differences in antibiotic use influences the level of antimicrobial resistance of the subgingival microbiota, the subgingival plaque of untreated adult periodontitis patients in The Netherlands (N=30) and Spain (N=31) were compared. Blood agar plates with breakpoint concentrations of penicillin, amoxicillin, amoxicillin and clavunilate, metronidazole, erythromycin, azithromycin, clindamycin and tetracycline were used to determine the relative proportion of the subgingival plaque that was resistant to the given antibiotics. Additional variables, were the total number of resistant bacterial species and the percent of resistant strains of putative periodontal pathogens. In the Spanish patients, statistically significant higher mean levels of resistance were found for penicillin, amoxicillin, metronidazole, clindamycin and tetracycline. The mean number of bacterial species growing on the selective plates was higher in the Spanish patients, as was the percent of resistant strains of most periodontal pathogens. A striking difference was observed in the frequency of occurrence of tetracycline-resistant periodontal pathogens. In Spain, 5 patients had ≥ 3 tetracycline resistant periodontal pathogens, whereas this was not observed in any of the Dutch patients. It is concluded that the widespread use of antibiotics in Spain is reflected in the level of resistance of the subgingival microbiota in adult periodontitis patients.

The widespread use of antibiotics for prophylaxis and treatment of bacterial infections has led to the emergence of resistant human pathogens. Great differences have been documented between European countries in the use of systemic antibiotics. In parallel, significant differences in levels of resistant pathogens have been documented. In order to investigate whether differences in antibiotic use influence the level of antimicrobial resistance of the subgingival microflora, microorganisms from the subgingival plaque of untreated patients with adult periodontitis in The Netherlands (N=30) and Spain (N=31) were compared. Blood agar plates containing breakpoint concentrations of penicillin, amoxicillin, amoxicillin and clavunilate, metronidazole, erythromycin, azithromycin, clindamycin and tetracycline were used to determine the proportion of bacteria from the subgingival plaque that was resistant to these antibiotics. In the Spanish patients, statistically significant higher mean levels of resistance were found for penicillin, amoxicillin, metronidazole, clindamycin and tetracycline. The mean number of different bacterial species growing on the selective plates was higher in the Spanish patients, as was the percentage of resistant strains of most periodontal pathogens. A striking difference was observed in the frequency of occurrence of tetracycline-resistant periodontal pathogens. In Spain, 5 patients had ≥ 3 tetracycline resistant periodontal pathogens, whereas this was not observed in any of the Dutch patients. It is concluded that the widespread use of antibiotics in Spain is reflected in the level of resistance of the subgingival microflora of adult patients with periodontitis.

The overuse, misuse and widespread prophylactic application of antimicrobial drugs are some of the factors that have led to the emergence of drug resistant microorganisms. Microbial resistance has become a worldwide medical, economical and public health problem although microbial resistance rates are not equally distributed around the world. Also in Europe, there are great differences between countries in antimicrobial drug resistance among human pathogens. The use of antimicrobial drugs is much higher in some Mediterranean countries in comparison to central and northern countries (Baquero, 1996). Pradier et al. (1997) showed that antibiotic use (defined as daily doses per 1000 individuals) was 26.2 and 23.0 in France and Spain respectively, and 14.0 and 10.6 in Italy and Germany resp. The noncompliance rates for antibiotics were found high in Spain (42%) and Italy (34%) and France (16%) and amounted to 9% in the United Kingdom.

As a consequence, antimicrobial drug resistance in southern European countries is significantly higher than it is in other countries of the European community. Penicillin-resistance among *Streptococcus pneumoniae* has been reported to be 25% in France and 45% in Spain whereas The United Kingdom and Germany showed significantly lower prevalence rates (3 and 8%

resp.) (Baquero et al. 1991). The high level of resistance to penicillin of *S. pneumoniae* in Spain was confirmed in a study by Cullmann (1996) who found 50% of the strains tested to be resistant, whereas the percentage of resistant strains was only 3% in The Netherlands.

The prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been investigated among 7,333 strains, isolated in 43 laboratories from ten European countries. Of these strains, 936 (12.8%) appeared methicillin resistant. The proportion of MRSA in the various European countries ranged from 0.1% in Denmark and 1.5% in The Netherlands to 30.3% in Spain, 33.6% in France and 34.4% in Italy (Voss et al. 1994). Higher proportions of resistant MRSA strains towards antibiotics other than methicillin were also observed in Spain in comparison to The Netherlands and amounted to 84.7% vs 55.5% for ciprofloxacin, 96.8 vs 44.4% for clindamycin, and 96.8 vs 55.5% for erythromycin (Voss et al. 1994).

Beta-lactamase production is one mechanism that is responsible for bacterial resistance towards beta-lactam antibiotics. The prevalence of beta-lactamase producing *Haemophilus influenzae* serotype b in Spain was found to be 58%-63.6% which was significantly higher than it was in The Netherlands (9%-12%) (Cullmann 1996, Machka et al. 1988). Multi-drug resistance and resistance towards all beta-lactam antibiotics has been reported among clinical pneumococci isolates in Spain (Appelbaum et al. 1987). Increasing resistance in strains of *Bacteroides fragilis* and other strict anaerobic bacterial species has also been reported (Appelbaum et al. 1992).

The development of antibiotic resistance in the periodontal microflora in adult patients with periodontitis has been investigated to a very limited extent. Walker (1996) investigated antibiotic resistance in adult periodontitis patients in the United States of America. The mean percentage of tetracycline resistant isolates detected between 1980 and 1985 was less than 20%, whereas it amounted to 20-30% in the period from 1990 to 1995. He also observed a significant increase in the percentage of periodontal bacterial strains resistant to amoxicillin, but not to clindamycin, erythromycin and penicillin G. Other studies on the subgingival microflora in periodontitis have indicated that bacterial resistance towards penicillins exist. Kinder et al. (1986) found a higher prevalence of beta-lactamase producing subgingival *Prevotella* (former *Bacteroides*) species after recent penicillin exposure. Van Winkelhoff et al (1997) found 74% of the adult periodontitis patient positive for subgingival beta-lactamase producing bacteria.

The overuse of systemic antimicrobial therapies may not only alter the composition of the periodontal microflora but may also select for periodontal pathogens with a low susceptibility for a number of antimicrobial agents. Moreover, the misuse of broad-spectrum antibiotics in

the treatment of periodontitis may enhance the development of bacterial resistance, which will diminish their therapeutic potential and may cause health problems in the treatment of serious infectious diseases.

The aim of the present study was to compare the level of resistance of the subgingival microflora of untreated adult patients with periodontitis from Spain and The Netherlands. In addition, the number of patients with one or more antibiotic resistant periodontal pathogens was compared between both countries.

Material and Methods

Patients.

Patients with a diagnosis of adult periodontitis were consecutively selected to participate in this study from those attending the graduate periodontal clinics in the Faculty of Odontology, University of Madrid (Spanish population) and in the Clinic of Periodontology Amsterdam (Dutch population). Both patient populations met with the following entrance criteria: 1) age > 25 years, 2) ≥ 3 teeth in each quadrant of the dentition, 3) ≥ 1 site/quadrant with a probing pocket depth ≥ 5 mm showing bleeding upon probing and 4) radiographic evidence of alveolar bone loss in each quadrant of the dentition, 5) no periodontal treatment history. Exclusion criteria were systemic or topical antimicrobial therapy 6 weeks prior to the study and pregnancy.

At intake the information on current systemic disorders, use of antibiotics in the past, current medications and smoking habit were recorded. Tobacco smoking was categorized as: never smoked (0), former smoker > 1 year ago (1), former smoker < 1 year ago (2), current smoker 1-10 cigarettes/day (3) and current smoker > 10 cigarettes/day (4).

Clinical periodontal parameters

On the basis of a full mouth periodontal examination and radiographs of the dentition, the deepest bleeding pocket (mm) with the maximum amount of clinical attachment loss (mm) in each quadrant of the dentition was selected. Supragingival plaque accumulation (PI0, PI1), bleeding on probing (BI0, BI1) and suppuration (SI0, SI1) were determined at the four selected experimental sites.

Sampling procedure.

After careful removal of supragingival plaque deposits, isolation of the sampling sites with cotton rolls and gentle air-drying, two sterile paper points (Fine, West Palm Beach, U.S.A.)

were inserted consecutively into the depth of the pockets and left in place for 10 secs. Paper points from all four experimental sites were pooled in 2.0 ml reduced transport fluid (Syed & Loesche 1972). Samples were stored at 4 °C and processed within 2 hours after sampling.

Microbiological procedures.

Laboratories in Spain and the Netherlands used identical microbiological protocols. Samples were vortexed for 30 secs. and 10-fold serially diluted in RTF; 100 ul of each dilution was plated on two series of non-selective 5% horse blood agar plates (Oxoid no. 2, Oxoid Ltd., Basingstoke, England) supplemented with haemin (5 mg/L) and menadione (1 mg/L) for determination of the total aerobic and anaerobic bacterial counts and determination of specific periodontal pathogens (see below). Samples were also plated on trypticase soy serum-bacitracin-vancomycin plates (TSBV, Slots 1982) for isolation and counting of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*.

In order to quantitate the proportion of the microflora resistant to antimicrobial agents, blood agar plates supplemented with the following antimicrobial agents were used:

penicillin G (0.5 µg/ml, ICN), amoxicillin (3.0 µg/ml, Smithkline Beecham), amoxicillin and clavulanic acid (3 and 0.75 µg/ml resp., Smithkline Beecham), metronidazole (8 µg/ml, ICN), erythromycin (2 µg/ml, ICN), azithromycin (2 µg/ml, IDC), clindamycin (4 µg/ml, ICN) and tetracycline (8 µg/ml, ICN). Selective and non-selective blood agar plates were inoculated with 0.1 ml of appropriate dilutions of the subgingival plaque samples.

TSBV plates were incubated in air with 5% CO₂ at 37 °C for 5 days, blood agar plates were incubated for 14 days at 37 °C in 80% N₂, 10% CO₂ and 10% H₂. For determination of the resistant aerobic part of the subgingival microflora, a second set of selective blood agar plates were inoculated and incubated in air with 5% CO₂ for 7 days.

Total aerobic and anaerobic counts were assessed on non-selective blood agar plates. Presence and numbers of the putative periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros* and *Campylobacter rectus* were determined on the anaerobic non-selective blood agar plates. Identification of the selected bacterial species was based on Gram stain and cell morphology, aerotolerance, production of catalase and on a number of biochemical reactions (Rapid ID 32A, BioMerieux, SA, France, van Winkelhoff et al. 1988, Winkel et al. 1997). Total counts of *A. actinomycetemcomitans* were performed on TSBV plates. *A. actinomycetemcomitans* was identified on the basis of its characteristic colony morphology

(star-like inner structure), a positive catalase reaction with 3% hydrogen peroxide and a set of specific enzymes (APIZYM, BioMerieux. France SA, Slots 1981). For determination of the percentage of resistant bacteria, the total number of colony forming units (cfu) was determined and expressed as a percentage relative to the total cfu on the non-selective blood agar plates. The number of morphologically different colony types as well as numbers of putative periodontal pathogens was determined on the various selective blood agar plates.

Microbiological control procedures

In both laboratories, transport and isolation media were prepared according to identical protocols. The antibiotics used for the selective isolation of resistant bacteria were purchased from the same companies. In order to control for similar laboratory procedures, four pooled subgingival samples from four untreated adult patients were obtained in the Department of Periodontology, Dental School of Madrid, Spain. The samples were split in two in RTF and the cooled samples (< 10 °C) were sent to The Netherlands within 24 hours. During this period, the samples in Madrid were kept at 4 °C. The number of comparisons included 64 resistance levels established in both laboratories.

Statistical analysis.

The percentage of resistant bacteria, present in the subgingival plaque of each patient, was calculated by dividing the number of cfu obtained on the antibiotic-containing media by the number of cfu obtained from the corresponding antibiotic-free agar plates. For the Dutch and the Spanish patient groups, mean resistance levels for each antibiotic were calculated.

An unpaired T test was used to test for differences in levels of antibiotic resistance between the two study populations. A Chi-square test was used to test for differences in prevalence of the various periodontal pathogens in both patient groups.

Results.

Control samples

Levels of resistance of the four control samples showed no statistically significant differences in the mean levels of resistance for the aerobic bacteria for any of the antibiotics tested. Levels of resistance of the anaerobic bacteria were not statistically significantly different for seven of the eight antibiotics ($P > 0.1$). However, for amoxicillin and clavulanic acid, the difference in the mean level of resistance reached the level of significance ($P < 0.05$). On the amoxicillin and clavulanic acid blood agar plates, proportions of the resistant microflora were very low and ranged from 0.09% to 0.41% of the microflora in the Dutch analysis, whereas they were 0% in all four of the Spanish analyses.

Patient groups

The number of patients participating in the study was 31 in Spain and 30 in The Netherlands. Patient demographics are summarized in Table 1. The mean age of the Spanish and Dutch patients was 43.1 and 43 years resp. The percentage of current smokers (grade 3+4) was higher in the Dutch population but the difference did not reach the level of significance. The percentage of patients that had used antibiotics in the 12 months prior to the study was significantly higher in the Spanish patient group ($P < 0.001$). The use of amoxicillin and the percentage of patients that currently used systemic drugs other than antibiotics were significantly higher in the Spanish study population ($P < 0.001$).

Table 2 summarizes clinical data of both study populations. The mean probing pocket depth and the mean clinical attachment level at the sampled sites were slightly higher in the Dutch population ($P < 0.01$ and $P = 0.057$ resp.). The percentage of patients with a mean plaque level of PI1 at the sampled sites was statistically higher in the Spanish patients ($P < 0.001$). The percentage of patients with a BI1 score was similar in both groups.

Figure 1. shows the mean levels of resistant anaerobic bacteria in the Spanish and the Dutch patient groups. Statistically significant differences were noted for penicillin, amoxicillin, metronidazole, clindamycin and tetracycline. In the aerobic subgingival microflora, significantly higher mean levels of resistant bacteria were found in the Spanish patients for erythromycin, azithromycin and tetracycline (Figure 2).

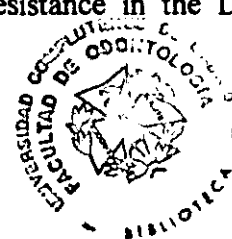
Table 3 summarizes the prevalence of selected periodontal pathogens in both study groups. A lower prevalence of *A. actinomycetemcomitans* ($P < 0.03$) and *P. micros* ($P < 0.001$) was noted in the Spanish group whereas *P. gingivalis* showed a higher prevalence in the Spanish study

group ($P < 0.05$). Figs. 3 and Figure 4 present the number of patients with one or more putative periodontal pathogens resistant to tetracycline and penicillin respectively. In the Spanish study group, five patients had ≥ 3 tetracycline-resistant pathogens versus 0 in the Dutch patient group. Differences in the prevalence of penicillin-resistant periodontal pathogens were rather small. There was a relationship between the presence of > 0 tetracycline-resistant periodontal pathogen and the country of isolation ($p = 0.0046$). The odds ratio and relative risk of having one or more tetracycline-resistant periodontal pathogens were 5 and 2.42 respectively for Spanish individuals.

Table 4 shows the mean number of colony morphotypes observed on the aerobically and anaerobically incubated selective antibiotic plates of the Spanish and the Dutch plaque samples. Without exception, the Spanish plaque samples showed a larger number of colony morphotypes resistant to the tested antimicrobial agents. The percentages of strains of selected periodontal pathogens growing on the selective plates are summarized in Table 5. The percentages of resistant strains was higher in the Spanish patients for most of the antibiotics tested with the exception of *F. nucleatum* isolates for erythromycin and azithromycin in the Dutch subjects. For penicillin and amoxicillin, the percentages of resistant strains of *P. intermedia*, *B. forsythus* and *F. nucleatum* were higher in the Spanish patients. The vast majority of periodontal pathogens were susceptible to amoxicillin and clavulanic acid with the exception of some strains of *B. forsythus* and *F. nucleatum* in the Spanish patients. These observations suggest that beta-lactamase production may be one mechanism of bacterial resistance towards unprotected penicillins. With the exception of a small number of strains in the Dutch patients, metronidazole appeared inhibitory to all putative periodontal pathogens. The susceptibility of periodontal pathogens to erythromycin and azithromycin was comparable between the two populations with the exception of *B. forsythus*, which showed a higher percentage of resistant strains in the Spanish population. Resistance of periodontal pathogens to clindamycin was observed in four species in the Spanish patient group. Tetracycline resistance was observed for all periodontal pathogens isolated from the Spanish patients and ranged from 10 to 100% of the strains. In contrast, tetracycline resistance in the Dutch population was only observed in two species and at low percentages.

Discussion

In this study we investigated the susceptibility of the subgingival microflora from patients with untreated adult periodontitis living in Spain or the Netherlands. Little information is available



in the scientific literature concerning the level of resistance of the periodontal microflora in adult periodontitis patients in relation to the use of systemic antimicrobial drugs. The rationale for comparing patient populations from Spain and The Netherlands is the large body of evidence showing a much higher use of antibiotics in Spain (Cullman 1996, Baquero 1996, Voss et al. 1994) in comparison to other countries. This has resulted in high antibiotic resistance levels of a number of medically relevant pathogens in Spain (Cullmann 1996, Baquero 1996, Voss et al. 1996). Information from the present study may have therapeutic implications for the treatment of non-oral infections caused by oral pathogens. Dissemination of periodontal pathogens to other body sites frequently occurs and may cause serious diseases such as brain abscesses, lung infections, endocarditis and soft tissue infections (van Winkelhoff & Slots 1999).

The two study populations consisted of untreated adult periodontitis patients with pocket depth > 6 mm and generalized disease. The mean probing pocket depth and the mean plaque index were significantly worse in the Dutch patient group. However, there is no reason to assume that the differences in these clinical parameters had any bearing on the microbiological parameters and outcomes of the present study.

We used whole subgingival plaque samples to test for resistance levels because this method was proven effective and informative (Walker et al. 1983). In addition, we determined the percentage of individual resistant periodontal bacterial strains among a number of putative periodontal pathogens. We showed that the anaerobic periodontal bacteria in adult periodontitis patients in Spain displayed a significant higher level of resistance towards a number of antibiotics, such as penicillin, amoxicillin, metronidazole, clindamycin and tetracycline. A striking finding was the observation that eleven Spanish patients harbored ≥ 2 tetracycline-resistant putative periodontal pathogens versus 0 in the Dutch population (Fig. 3). Penicillin resistance may, in part, be explained by the presence of beta-lactamase producing bacteria since the level of resistance to the amoxicillin plus clavulanic acid was considerably lower. Beta-lactamase activity in the subgingival plaque has been detected in the majority of adult periodontitis patients (Walker et al. 1987, van Winkelhoff et al. 1997). The level of resistance to metronidazole was relatively high in both the Spanish and Dutch patients. This may be due to the presence of relatively high proportions of non pathogenic-microorganisms, e.g. facultative anaerobic streptococci that are not susceptible to metronidazole. As shown in Table 5, no metronidazole-resistant pathogens could be detected in any of the Spanish samples and only very few resistant pathogens were found in the Dutch samples. Recently, Winkel et al. (1997) showed significant clinical and microbiological improvements in patients with refractory

periodontitis associated with high levels of *B. forsythus*, *P. gingivalis* and *P. intermedia* that were treated with mechanical periodontal therapy and systemic metronidazole.

We observed a higher prevalence of *A. actinomycetemcomitans* and a lower prevalence of *P. gingivalis* in the Dutch patients. The number of patients investigated in this study is too small to allow any conclusion on differences in prevalence of both pathogens between The Netherlands and Spain.

The results of the present investigation show that the widespread use of antibiotics has an impact on the periodontal microflora in untreated adult patients with periodontitis. This observation may have consequences for the treatment of this chronic periodontal infection (Greenstein, 1995). First, it should encourage dentists to be restrictive in the prescription of antibiotics for oral infections *in casu*, chronic periodontitis (Slots & Pallasch, 1996). A large body of evidence is available in the periodontal literature to show that proper mechanical supra- and subgingival debridement and optimal home care can control periodontitis and can halt further progression of alveolar bone loss for a long period of time in the majority of cases (Badersten et al. 1984, Lindhe & Nyman 1975). In daily practice, dentists however, are confronted with patients that respond poorly to conventional periodontal treatment. These patients may benefit from an adjunctive systemic antimicrobial therapy (Winkel et al. 1997, van Winkelhoff et al. 1992, 1997). Recent data indicate that a regime of metronidazole and amoxicillin as an adjunct to mechanical debridement in adult patients with periodontitis with undetermined disease activity can significantly improve clinical and microbiological treatment outcome (Pavicic et al. 1994, Berglundh et al. 1998, Winkel et al. 1998). Second, selection of the type and the regime of antimicrobial therapy should be based on microbiological information of the subgingival microflora since different periodontal pathogens may be involved in refractory periodontitis (van Winkelhoff et al. 1991, American Association of Periodontology 1997). Third, given the high level of resistance of the periodontal bacteria towards a number of antibiotics, susceptibility testing for a number of relevant antibiotics should be considered, although *in vitro* susceptibility does not necessarily indicate *in vivo* clinical efficacy. This discrepancy has recently been shown for amoxicillin and clavulanic acid in the treatment of adult periodontitis (van Winkelhoff et al. 1997, Winkel et al. 1999). In summary, the results of the present study show that systemic antibiotics, used in the treatment of human infections, probably have an impact on the antibiotic susceptibility of subgingival bacteria.

References

- American Association of Periodontology (1996). Position paper. Systemic antibiotics in periodontics. *Journal of Periodontology* **67**, 831-838.
- Appelbaum, P.C. (1987) World-wide development of antibiotic resistance in pneumococci. *European Journal of Clinical Microbiology* **6**, 367-377.
- Appelbaum, P.C., Spangler, S.K., Shiman, R. & Jacobs, M.R. (1992) Susceptibilities of 540 anaerobic gram-negative bacilli to amoxicillin, amoxicillin-BRL 42715, amoxicillin-clavunilate, temafloxacin and clindamycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **36**, 1140-1143.
- Baderstein, A., Nilveus, R. & Egelberg J. (1984) Effect of nonsurgical periodontal therapy. II. Severly advanced periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* **11**, 63-76.
- Baquero F. (1996) Antibiotic resistance in Spain: what can be done? *Clinical Infectious Diseases* **23**, 819-823.
- Baquero, F., Matinez-Beltran, J. & Loza E. (1991) A review of antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* in Europe. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **28**, (Suppl): C: 31-38.
- Berglundh, T., Krok, L., Liljenberg, B., Westfelt, E., Serino, G. & Lindhe, J. (1998) The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 354-362.
- Cullmann W. (1996) Comparative evaluation of orally active antibiotics against community-acquired pathogens: results of eight European countries. *Chemotherapy* **42**, 11-20.
- Greenstein, G. (1995) Clinical significance of bacterial resistance to tetracyclines in the treatment of periodontal disease. *Journal of Periodontology* **66**, 925-932.
- Kinder, S.A., Holt, S.C. & Kornman K.S. (1986) penicillin resistance in the subgingival microflora associated with adult periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology* **23**: 1127-1133.
- Lindhe, J. & Nyman, S. (1975) The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. A longitudinal study of periodontal therapy in cases of advanced disease. *Journal of Clinical Periodontology* **2**, 67-79.

- Machka, K., Braveny, I., Dabernat, H., Dornbusch, K., Van Dyck, E., Kayser, F.H., Van Klingeren, B., Mitternayer, H., Perea, E. & Powell, M. (1988) Distribution and resistance patterns of *Haemophilus influenzae*: A European cooperative study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 7, 14-24.
- Pavicic, M.J.A.M.P., van Winkelhoff, A.J., Douqué, N., Steures, R.W.R. & de Graaff, J. (1994) Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 21, 107-112.
- Pradier, C., Dunais, B., Carsenti-Etesse, H. & Dellamonica, P. (1997) Pneumococcal resistance patterns in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 16, 644-647.
- Slots, J. (1981) Enzymatic characterization of some oral and nonoral Gram-negative bacteria with the API-ZYM system. *Journal of Clinical Microbiology* 14, 288-294.
- Slots, J. (1982) Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Clinical Microbiology* 15, 606-609.
- Slots, J. & Pallasch, T.J. (1995) Dentist's role in halting antimicrobial resistance. *Journal of Dental Research* 75, 1338-1341.
- Syed, S.A. & Loesche, W.J. (1972) Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Applied Microbiology* 24, 638-644.
- Van Winkelhoff, A.J., Clement, M. & de Graaff, J. (1988) Rapid characterization of oral and nonoral pigmented *Bacteroides* species with the ATB Anaerobes ID system. *Journal of Clinical Microbiology* 26: 1063-1065.
- Van Winkelhoff, A.J. & de Graaff, J. (1991) Microbiology in the management of destructive periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 18, 406-410.
- Van Winkelhoff, A.J., Winkel, E.G., Barendregt, D.S., Dellelijn-Kippuw, N., Stijne, A. & van der Velden, U. (1997) Beta-lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 24: 538-543.
- Van Winkelhoff, A.J. & Slots (1999) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in nonoral infections. *Periodontology 2000*: in press.

- Voss, A., Milatovic, D., Wallrauch-Schwarz, C., Rosdahl, V.T. & Braveny, I. (1994) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **13**, 50-55.
- Walker, C.B. (1996) The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontology 2000* **10**, 79-88.
- Walker, C.B. (1983) Antibiotic susceptibility testing of subgingival plaque samples. *Journal of Clinical Periodontology* **10**, 422-432
- Walker, C.B., Tyler, K.T., Low, S.B. & King, C.J. (1987) Penicillin-degrading enzyme in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* **2**, 129-131.
- Winkel, E.G., van Winkelhoff, A.J., Barendregt, D.S., van der Weijden, G.A., Timmerman, M.F., van der Velden, U. (1999) Clinical and microbiological effects of initial periodontal therapy in conjunction with amoxicillin and clavulanic acid in patients with adult periodontitis. A randomised double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Clinical Periodontology*: in press
- Winkel, E.G., van Winkelhoff, A.J., Timmerman, M.F., Vangsted, T. & van der Velden U. (1997) Effects of metronidazole in the patients with refractory periodontitis associated with *Bacteroides forsythus*. *Journal of Clinical Periodontology* **24**, 573-579.
- Winkel, E.G., van Winkelhoff, A.J. & van der Velden, U. (1998) Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **25**, 857-864.

Table 1. Characteristics of the Spanish and Dutch study groups.

Parameter	Spain N=31	The Netherlands N=30
Age		
Mean age	43.1	43.0
Age range	26-62	29-63
% female	55	57
Cigarette smoking#		
4	48.4%	46.7%
3	3.2%	26.7%
2	3.2%	10%
1	22.6%	10%
0	22.6%	6.7%
Last antibiotic use		
1-12 months	54.8%	10% *
13-48 months	25.8%	10%
> 60 months	0%	43.3%
never	19.4%	36.7
Type of used antibiotics		
Amoxicillin	48%	5.3% *
Metronidazole	12%	0%
+spiramycin		
Metronidazole	0%	10.5%
% of current users of systemic drugs	32.3	3.2 *

#: 4= current smoker > 10 cig./day; 3=current smoker 1-10 cig/day; 2= former smoker < 1 year ago; 1=former smoker > 1 year ago; 0=never smoked. *, P< 0.001.

Table 2. Clinical data of the Spanish (N=31) and Dutch (N=30) patient groups.

Parameter	Spain (N=31)	The Netherlands (N=31)
Plaque index		
% sites PI0	21.8	45.8
% sites PI1	78.2	54.2*
Probing pocket depth		
Mean	6.2	7.0**
SD	0.8	1.2
Maximum	8.2	9.8
Minimum	4.5	5.8
Clinical Attachment level		
Mean	7.0	8.0
SD	1.4	2.5
Maximum	10.5	11.3
Minimum	5.0	0.0
Bleeding Index		
% sites BI0	1.6	1.7
% sites BI1	98.4	98.3
Suppuration		
% patients with SII	51.6	56.7
mean number of sites with SII/patients	1.03	1.13

*, P<0.001; **, P <0.01

Table 3. Prevalence and proportions of selected periodontal pathogens in the Spanish and Dutch patient groups.

Species		N	Prevalence %	Mean %	SD	Range
Aa	Spain	1	3.2	0.45	0.08	0-0.45
	Netherlands	7	23.3	3.0	2.3	0-11.2
Pg	Spain	20	64.5	21.7	16.1	0-60
	Netherlands	11	36.7	28.6	18.1	0-71.3
Pi	Spain	23	74.2	7.4	6.9	0-31.8
	Netherlands	27	90	6.3	6.8	0-25.8
Bf	Spain	20	64.5	7.3	7.2	0-32.2
	Netherlands	22	73.3	7.7	6.7	0-31.0
Pm	Spain	18	58.1	4.0	3.2	0-12.4
	Netherlands	29	96.7	7.2	7.0	0-26.8
Fn	Spain	31	100	6.9	9.7	0-43.0
	Netherlands	30	100	9.3	11.8	0-56.6
Cr	Spain	5	16.1	2.2	1.5	0-8.1
	Netherlands	11	36.7	4.0	2.6	0-8.7
BPAR	Spain	5	16.1	3.7	1.8	0-8.0
	Netherlands	5	16.7	6.7	3.2	0-13.6

Aa, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, Pg, *Porphyromonas gingivalis*, Pi, *Prevotella intermedia*, Bf, *Bacteroides forsythus*, Pm, *Peptostreptococcus micros*, Fn, *Fusobacterium nucleatum*, Cr, *Campylobacter rectus*, BPAR, black-pigmented anaerobic rods

Table 4. Mean number of colony morphotypes on selective antibiotic blood agar plates after inoculation of subgingival plaques from untreated adult periodontitis patients from Spain (N=31) and The Netherlands (N=30).

	Peni- Cillin	Amoxi- cillin	Amoxi- cillin+ clavunala te.	Metro- nidazole	Erythro- mycin	Azithro- mycin	Clinda- mycin	Tetracy- cline
Spain								
Anaerobically	6.2	6.6	3.5	7.5	6.5	5.3	5.2	7.2
Aerobically	2.5	1.7	1.2	6.9	4.4	3.2	4.9	4.1
The Netherlands								
Anaerobically	3.5	2.8	1.4	4.1	3.6	3.4	2.1	3.1
Aerobically	1.7	0.4	0.3	3.7	1.8	2.3	2.2	2.5



Table 5. Percent of bacterial strains from Spanish and Dutch untreated adult periodontitis patient growing on antibiotic-selective blood agar plates.

	Penicillin		Amoxicillin		Augmentin		Metronidazole	
	ESP	NL	ESP	NL	ESP	NL	ESP	NL
Aa	0	42.9	0	0	0	0	0	14.3
Pg	15	0	20.0	9.1	0	0	0	0
Pi	82.6	37.0	65.2	29.6	0	0	0	0
Bf	35.0	4.5	25.0	0	10	0	0	0
Fn	54.8	13.3	32.3	16.7	6.5	0	0	3.3
Pm	10.5	6.9	15.8	6.9	0	0	0	0

	Erythromycin		Azithromycin		Clindamycin		Tetracycline	
	ESP	NL	ESP	NL	ESP	NL	ESP	NL
Aa	0	14.3	0	42.9	0	0	100	0
Pg	5.0	9.1	20.0	0	5.0	0	10.0	0
Pi	4.3	3.7	17.4	3.7	17.4	3.7	52.2	7.4
Bf	20.0	4.5	25.0	4.5	5.0	0	15.0	0
Fn	77.4	93.3	6.5	96.7	3.2	0	29.0	10.0
Pm	26.3	24.1	10.5	3.4	0	0	21.1	0

Aa, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; Pg, *Porphyromonas gingivalis*; Pi, *Prevotella intermedia*; Bf, *Bacteroides forsythus*; Fn, *Fusobacterium nucleatum*; Pm, *Peptostreptococcus micros*.

LEGENDS.**TITLE:**

Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain.

FIGURES:

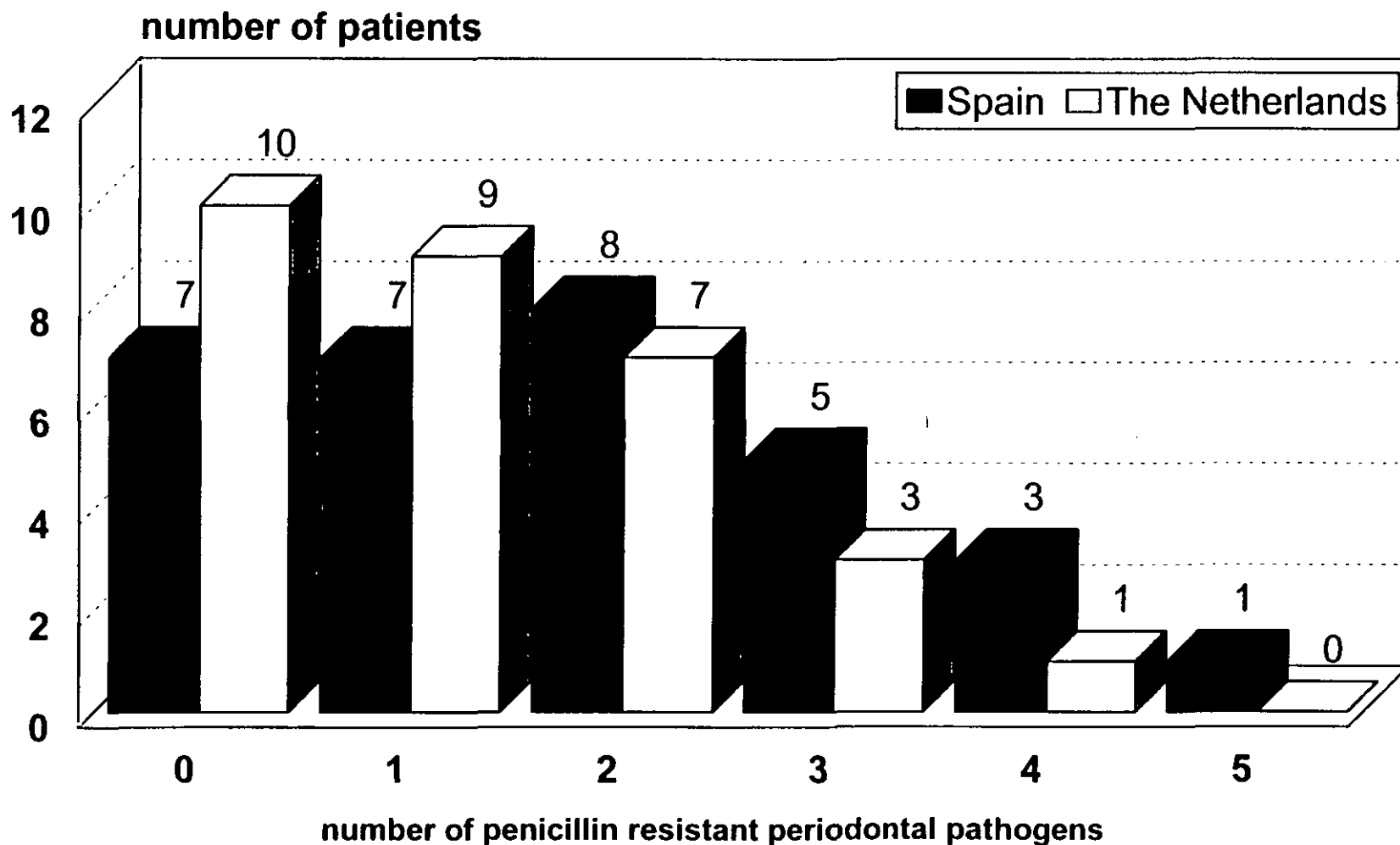
Figure 1. Resistance levels of selected antimicrobial agents of anaerobic bacteria from the subgingival microflora of Dutch and Spanish patients.

Figure 2. Resistance levels of selected antimicrobial agents of aerobic bacteria from the subgingival microflora of Dutch and Spanish patients.

Figure 3. Number of patients with a given number of tetracycline resistant species.

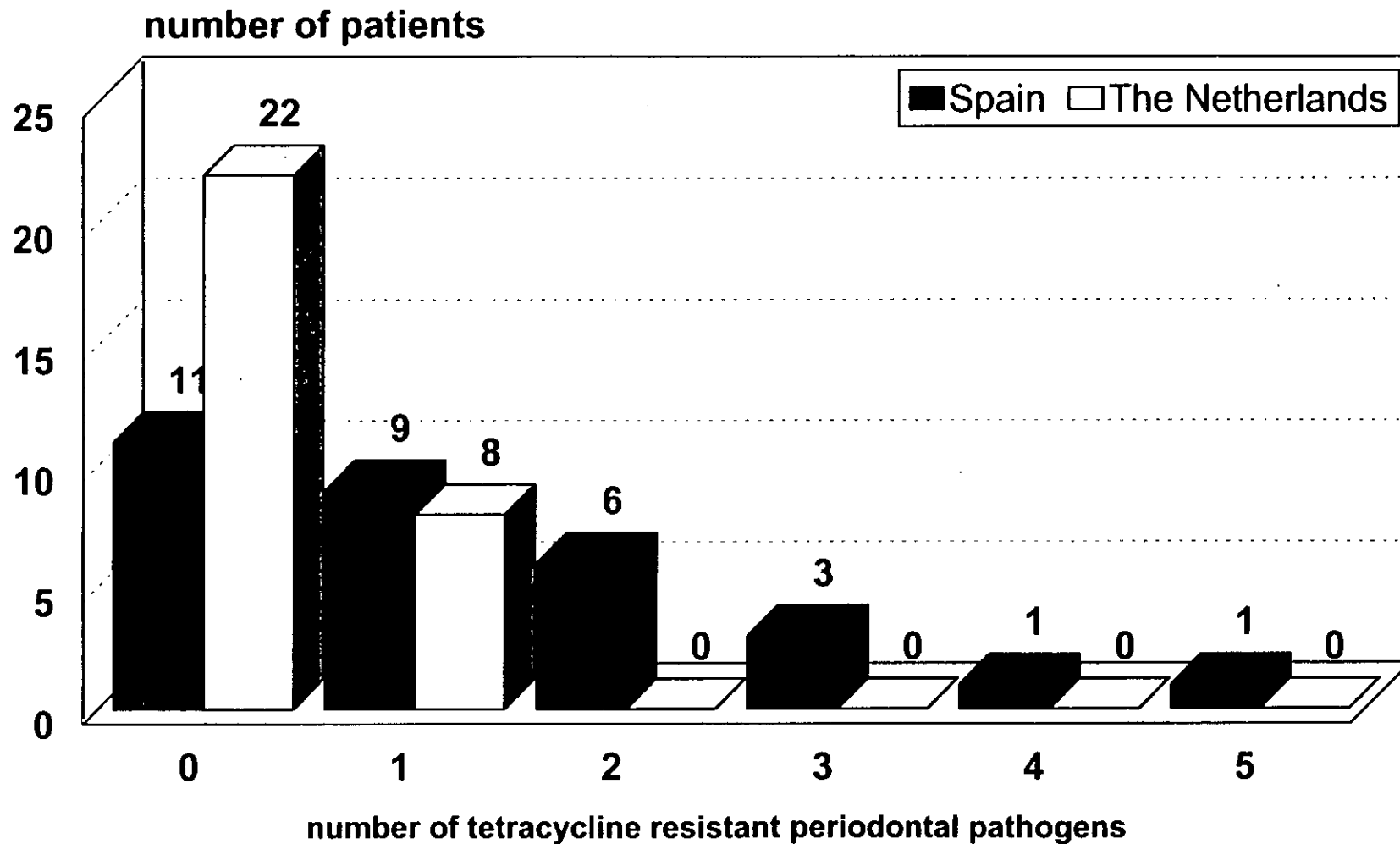
Figure 4. Number of patients with a given number of penicillin resistant species.

Figure 4. Number of patients with a given number of penicillin resistant species



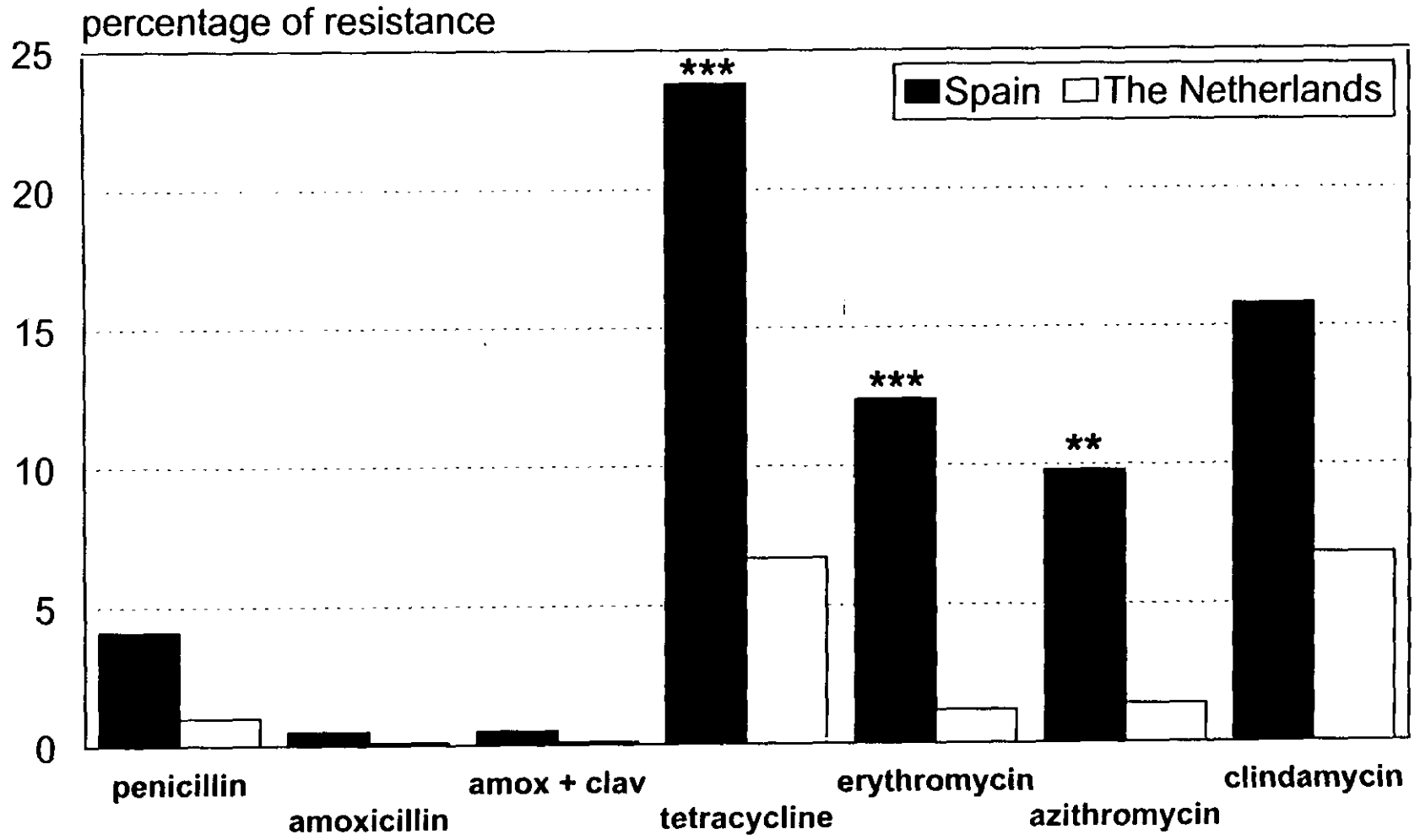
see footnote Figure 3

Figure 3. Number of patients with a given number of tetracycline resistant species



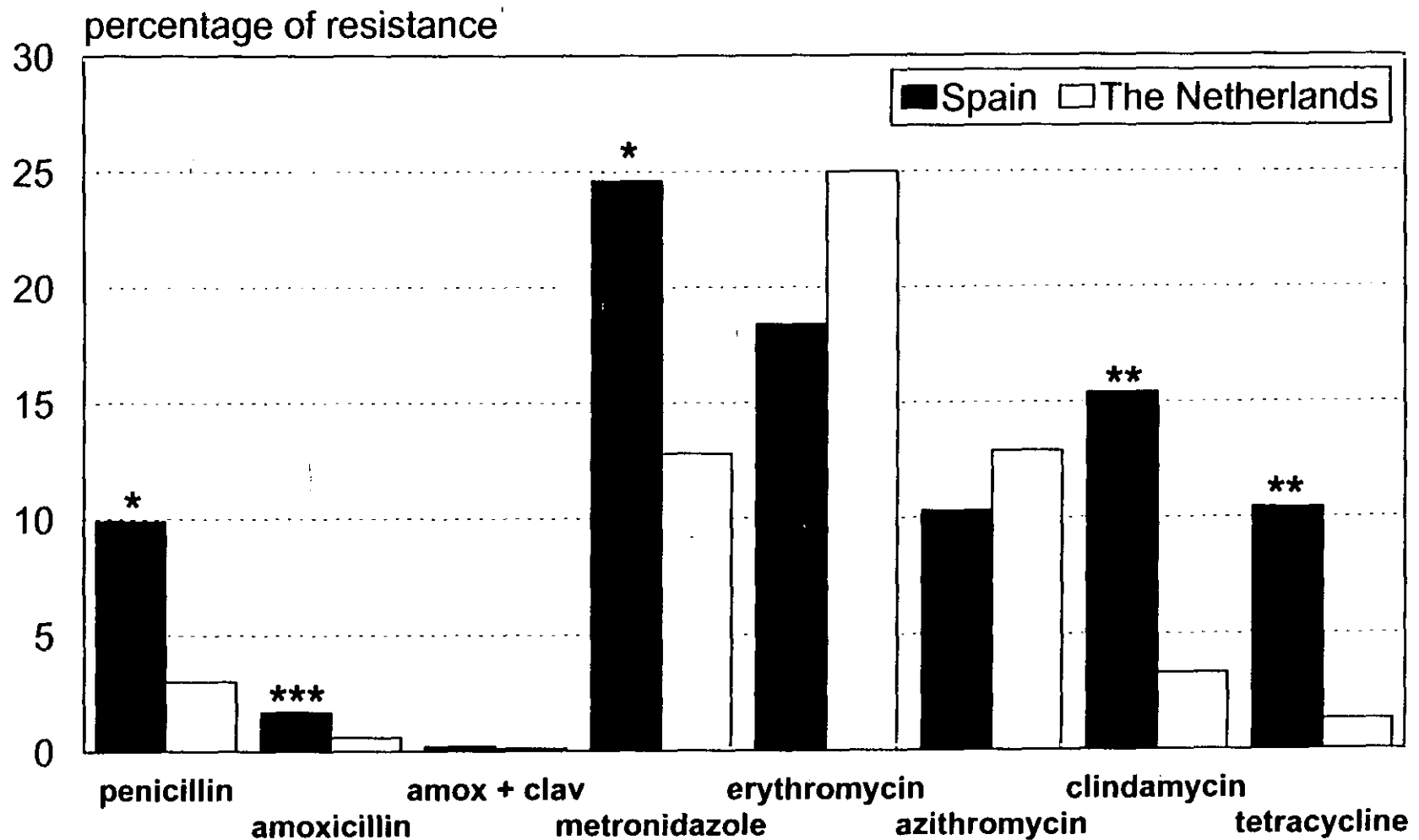
periodontal pathogens included: *A. actinomycetemcomitans*; *P. gingivalis*; *P. intermedia*; *B. forsythus*; *F. nucleatum*; *P. micros* & *C. rectus*

Figure 2. Resistance levels of selected antimicrobial agents of the aerobic bacteria from the subgingival microflora of Dutch and Spanish patients with adult periodontitis.



*, P < 0.05; **, P < 0.02; ***, P < 0.01

Figure 1. Resistance levels of selected antimicrobial agents of anaerobic bacteria from the subgingival microflora of Dutch and Spanish patients with adult periodontitis



*, $P < 0.05$; **, $P < 0.02$; ***, $P < 0.01$

Herrera, D., van Winkelhoff, A.J., Dellelijn-Kippuw, N., Winkel, E.G., Sanz, M.

“ β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands.”

Journal of Clinical Periodontology 2000; 27 (8).

Resumen.

Objetivo. Los países con un alto consumo per capita de antibióticos, demuestran con frecuencia un alto nivel de resistencias a antimicrobianos. El objetivo de este estudio fue el de comparar la prevalencia y niveles de bacterias productoras de β -lactamasas en pacientes adultos con periodontitis en España y Holanda, y caracterizar las bacterias productoras de β -lactamasas en ambos grupos.

Material y Métodos. Se seleccionaron consecutivamente pacientes con periodontitis moderada-severa, que respondieron a preguntas sobre sus enfermedades sistémicas y medicación actual, historia de uso de antibióticos, y hábito de fumar. Las variables clínicas incluyeron profundidad de bolsa, nivel de inserción clínico, sangrado al sondaje y supuración. Las muestras subgingivales conjuntas de 4 localizaciones seleccionadas se cultivaron en placas con agar sangre y con o sin amoxicilina y amoxicilina/clavulanato. Las colonias bacterianas que crecían en las placas de amoxicilinas pero no en las de amoxicilina/clavulanato, se evaluaron en cuanto a la producción de β -lactamasas. Las bacterias productoras de β -lactamasas se aislaron e identificaron.

Resultados. Este estudio analizó a 31 pacientes en el grupo español y a 30 en el holandés. Los grupos tenían media de edad y distribución de sexo similares. La evaluación del uso previo de antibióticos, reveló que el 54.8% de los pacientes en el grupo español y el 10% del grupo holandés habían consumido antimicrobianos en los 12 meses previos ($p < 0.001$). La prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas fue de 87.1% en el grupo español y de 73.3% en el grupo holandés. Los recuentos totales de bacterias productoras de β -lactamasas en placas de amoxicilina ($p < 0.01$), el número medio por paciente de colonias diferentes productoras de β -lactamasa ($p < 0.001$), y el número de colonias resistentes a amoxicilina ($p < 0.001$) fueron significativamente más altos en el grupo español. Se aislaron para su identificación 74 cepas productoras β -lactamasa en el grupo español y 33 en el grupo holandés. 23 de las 35 cepas identificadas en el grupo español, y 32 de las 33 en el grupo holandés, pertenecían al género *Prevotella*.

Conclusiones. Se ha evaluado una elevada prevalencia de bacterias productoras de β -lactamasas en dos poblaciones diferentes, pertenecientes a dos países europeos con claras diferencias en la política de uso de antibióticos. En el grupo español se evaluó una mayor prevalencia y complejidad de la microflora productora de β -lactamasas, asociado con un mayor consumo de antibióticos. Este estudio demuestra que el elevado uso de antibióticos β -lactámicos se refleja en el porcentaje de bacterias productoras de β -lactamasas en la microflora subgingival de pacientes con periodontitis. Esta información puede ser importante en el tratamiento de la periodontitis severa.

**β-LACTAMASE PRODUCING BACTERIA IN THE SUBGINGIVAL MICROFLORA OF
ADULT PATIENTS WITH PERIODONTITIS.
A COMPARISON BETWEEN SPAIN AND THE NETHERLANDS.**

D. Herrera (1), A.J. van Winkelhoff (2), N. Dellelijn-Kippuw (2), E.G. Winkel (3), M. Sanz (1).

(1)- Section of Graduate Periodontology and Laboratory of Microbiology, Faculty of Odontology,
Universidad Complutense de Madrid, Spain.

(2)- Department of Oral Biology, Section Clinical Oral Microbiology, Academic Centre for
Dentistry Amsterdam, The Netherlands.

(3)- Clinic of Periodontology Amsterdam, The Netherlands

key words:

Adult periodontitis, β-lactamase, bacterial resistance, Spain, The Netherlands, amoxicillin.

short title:

β-lactamase producing bacteria in periodontitis.

address:

Mariano Sanz (Att. David Herrera)

Department of Periodontics

Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria

Avda. Ramón y Cajal, s/n

28040 Madrid

SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Computer system: Windows.

Word processor: Word97.

Abstract

Countries with a high per capita antibiotic use frequently demonstrate a high level of drug resistance. The aim of this study was to compare the prevalence and levels of β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in adult patients with periodontitis in Spain and The Netherlands, and to characterise β -lactamase producing bacteria in both patient samples.

Patients with moderate to severe periodontitis were consecutively selected and asked to report on: current systemic disorders and medications, history of use of antibiotics, and smoking habits. Clinical variables included probing pocket depth, clinical attachment level, plaque, bleeding on probing, and suppuration. Pooled subgingival samples of 4 selected sites were anaerobically cultured in blood agar plates with and without amoxicillin, and amoxicillin/clavulanate. Bacterial colonies growing in amoxicillin plates but not on amoxicillin/clavulanate plates were tested for β -lactamase production. β -lactamase producing bacteria were isolated and identified. 31 patients were studied in the Spanish group and 30 in the Dutch group. Comparable mean gender and ages were found. Evaluation of previous antibiotic use revealed that, in the previous 12 months, 54.8% of patients in the Spanish group and 10% in the Dutch group reported antibiotic use ($p<0.001$). The prevalence of β -lactamase producing bacteria was 87.1% in the Spanish group and 73.3% in the Dutch group. Total counts of β -lactamase producing bacteria on amoxicillin plates ($p<0.01$), the mean number of different β -lactamase producing colonies per patient ($p<0.001$), and the number of amoxicillin resistant colonies ($p<0.001$) were significantly higher in the Spanish group. 74 β -lactamase producing strains in the Spanish group and 33 in the Dutch group were isolated for identification. 23 out of 35 identified strains in the Spanish group, and 32 out of 33 in the Dutch group belonged to *Prevotella* genus.

A high prevalence of β -lactamase producing bacteria has been evaluated in two distinct populations, belonging to two European countries with clear differences in antibiotic usage policy. A higher prevalence and a more complex β -lactamase producing microflora, were found in the Spanish group, associated with a higher antibiotic consumption. This study shows that a higher use of β -lactam antibiotics is reflected in the % of β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora of patients with periodontitis. This information may be important in the treatment of severe periodontitis.

β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora of adult patients with periodontitis. A comparison between Spain and The Netherlands.

Antibiotic resistance has become a serious problem in today's medical and dental practice (Walker, 1996). Bacterial resistance towards antimicrobial agents can be related to three mechanisms: alteration of the antimicrobial agent target site in the bacterium; prevention of its access to the target site, and inactivation of the antimicrobial agent (Danziger & Pendland, 1995). A group of enzymes, known as β -lactamases, are able to open the β -lactam ring of β -lactam antibiotics, resulting in inactivation of the drug (Rotschafer & Ostergaard, 1995).

Antimicrobial resistance is related to the use of antimicrobial agents in a given environment (Sanders & Sanders, 1992). Countries with a high per capita antibiotic use demonstrate a high level of drug resistance (Baquero, 1996a).

The use of antibiotics (defined as daily doses/1000 inhabitants) in Spain and France amounts 23 and 26.2 respectively, whereas this rates only between 10-14 in Italy, The United Kingdom and Germany (Pradier et al. 1997). In addition, the non-compliance rates of antibiotic use are higher in Spain (42%), in comparison to France (16%) and the United Kingdom (9%) (Baquero & Task Force Spain, 1996b). Higher levels of antibiotic resistance to different human bacterial pathogens have also been documented in Spain when compared to other European countries. (Baquero, 1996a; Felmingham et al. 1996; Doern & Alexander Project Group, 1996; Machka et al. 1988; Tunér & Nord, 1993; Cullmann, 1996).

In Spain, 70% of the daily used antibiotics are penicillins and cephalosporins (Pradier et al. 1997). Since β -lactamase production is the most important mechanism of resistance to β -lactam drugs (Danziger & Pendland, 1995), it is not surprising that the prevalence of β -lactamase producing bacteria is higher in Spain in comparison to neighbouring countries. β -lactamase producing bacteria can protect non-producing bacteria from β -lactam antibiotics which may lead to therapeutic failure or disease recurrence (Danzinger & Pendland, 1995). β -lactamase producing *Haemophilus influenzae* strains were detected in 31% of Spanish and in 6.8% in Dutch isolates (Machka et al. 1988). Another study reported on 30-33.3% β -lactamase positive *H. influenzae* isolates in Spain, which was significantly higher than other European countries including Italy, France, Germany and United Kingdom (3.5-19.5%). The level of resistance in Spain is comparable to that reported from the U.S.A. (19.7-37.9%) (Doern & Alexander Project Group, 1996).

Reports from different countries have shown an increasing prevalence of patients with oral and subgingival β -lactamase producing bacteria (Walker et al. 1987; Heimdahl et al. 1981; Kinder et al. 1986; Brook, 1984; Valdés et al. 1982; Könönen et al. 1995; Legg & Wilson, 1990; Wasfy et al. 1986; Lewis et al. 1995; van Winkelhoff et al. 1997).

Our hypothesis is that the level of β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora will be higher in countries with higher β -lactam antibiotic consumption. The aim of this study was to compare the prevalence and levels of β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in adult patients with periodontitis in Spain and The Netherlands. A second objective was to characterise the β -lactamase producing microflora in both patient samples.

Material and Methods.

Patients.

Patients, diagnosed with moderate to severe periodontitis, were consecutively selected according to the following entrance criteria: a) age > 25 years; b) 3 or more teeth in each quadrant of the dentition with at least one site per quadrant with a probing pocket depth \geq 5 mm and with bleeding on probing; c) radiographic evidence of alveolar bone loss in each quadrant of the dentition.

Patients were excluded from the study if they: a) had a history of previous periodontal treatment; b) had used systemic or topical antimicrobial therapy 4 weeks prior to the study; c) were pregnant.

At baseline, information on current systemic disorders, current medications, history of use of antibiotics and smoking habits were recorded.

Microbiological sampling.

In each quadrant of the dentition, the deepest periodontal pocket showing bleeding on probing was selected for microbiological sampling. After careful removal of supragingival plaque deposits, isolation of the sampling sites with cotton rolls and gentle air-drying, 2 sterile paper points (Fine, West Palm Beach, U.S.A.) were consecutively inserted into the depth of the pocket and left in place for at least 10 seconds. Paper points from all 4 selected periodontal sites were pooled in 2.0 ml of reduced transport fluid (RTF) (Syed and Loesche, 1972). Samples were stored at 4° C and processed within 2 hours after sampling.

Microbiological procedures.

Laboratories in Spain and The Netherlands used identical microbiological protocols. After vortexing for 30 seconds, samples were tenfold serially diluted in PBS and 100 µl of appropriate dilutions were plated on non-selective 5% horse blood agar plates (Oxoid no. 2, Oxoid Ltd., Basingstoke, England) supplemented with haemin (5 mg/L) and menadione (1 mg/L) for enumeration of total anaerobic bacterial count.

In order to determine the proportions of the subgingival microflora relatively resistant to antimicrobial agents, blood agar plates were supplemented with amoxicillin (3.0 µg/ml, Smithkline Beecham), and amoxicillin and clavulanic acid (3 and 0.75 µg/ml respectively, Smithkline Beecham). These selective blood agar plates were inoculated with 0.1 ml of appropriate dilutions of the subgingival plaque samples. Blood agar plates were incubated for 14 days at 37°C in 80% N₂, 10% CO₂ and 10% H₂.

Detection of β-lactamase producing bacteria.

Colonies growing on amoxicillin plates but not on amoxicillin-clavulanate plates were considered suspected β-lactamase producing bacteria (van Winkelhoff et al. 1997). These colonies were evaluated for β-lactamase production by means of nitrocefin disks (Dryslide, Difco Laboratories, Detroit, U.S.A.) (van Winkelhoff et al. 1997). Colonies showing a positive test were purified and kept frozen for additional testing.

Identification of strict anaerobic bacterial species was made by means of the API 32-A system (Biomerieux, La Balme Les Grottes, France). If a definitive identification was not possible, isolates were characterised by gram-staining, cell morphology, and aerotolerance.

Microbiological parameters.

The following microbiological variables were assessed: a) Total colony forming units (cfu) of β-lactamase producing bacteria on amoxicillin plates; b) Number of distinct amoxicillin-resistant bacterial colonies; c) Number of distinct β-lactamase producing bacterial colonies; d) Percentage of β-lactamase producing bacteria relative to the total subgingival microflora and relative to the total amoxicillin-resistant microflora.

Clinical periodontal parameters.

The following parameters were recorded at the sampled sites: a) Plaque index: recorded as visible plaque (2), plaque detectable with a periodontal probe (1), absent (0); b) Suppuration: recorded as

present (1) or absent (0); c) Bleeding on probing: recorded as overt bleeding after gentle probing (2), mild bleeding (1) and no bleeding (0); d) Probing pocket depth; e) Clinical attachment loss.

Statistical analyses.

Clinical variables: sampled sites values were averaged (probing pocket depth and clinical attachment level), or expressed as percentage of positive sites (plaque, bleeding on probing, suppuration), within each patient. Data from both groups were subjected to a Student t test for 2 independent samples.

Microbiological variables: the mean and the standard deviation were calculated for each group, and compared by a Student t test for 2 independent samples.

Chi-square test was used to compare qualitative data (last antibiotic consumption and smoking habits) between both groups.

The level of confidence was established in 95%, and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results.

Demographic data and patient-related variables.

31 patients in Spain (Spa-group) and 30 patients in The Netherlands (Ned-group) participated in the study. The demographic characteristics of both patient groups are shown in Table 1. Comparable mean gender and ages were found.

Antibiotic consumption habits.

Information on antibiotic usage in both patient groups is summarised in Table 2. Important differences were found in previous antibiotic use, both in relation to the time of last usage, and to the type of antibiotic. In the Spa-group, 55% of the patients had used antibiotic in the previous 12 months, while the corresponding figure for the Ned-group was 13% ($p < 0.001$).

From the Spanish patients reporting on previous use of antibiotics, 48% mentioned amoxicillin as the used drug; 12% reported on the use of a macrolide, and 12% had used the combination of metronidazole and spiramycin (Rhodogyl®) whereas 28% of the patients did not recall the name of the antibiotic. In the Ned-group, 68.5% did not remember the name of the antibiotic, metronidazole was used by 10%, and 5% (one patient) reported on the use tetracycline, amoxicillin, amoxicillin-metronidazole, or a macrolide. Differences in amoxicillin use were statistically significantly different ($p < 0.001$).

Reasons for antibiotic intake included upper respiratory tract infections in 36% of Spanish patients, however other 36% did not recall the reason. In the Ned-group, 26% had used antibiotics for oral infections and 21% for respiratory infections, while 21% did not remember the indication.

Periodontal clinical variables.

The clinical description of the two patients populations has been presented earlier (van Winkelhoff et al. 2000). In short, both patient groups showed similar characteristics, although the Ned-group showed a slightly higher mean probing pocket depth (7.0 mm versus 6.2 mm) and a higher mean clinical attachment level (8.0 mm versus 7.0 mm). The proportion of sites with bleeding on probing were 98.3% in the Spa-group versus 98.4% in the Ned-group while suppuration was noted in 27.4% and 25.8% of the sites, respectively. The Ned-group demonstrated a higher percentage of sites free of plaque (45.8%), when compared with the Spa-group (21.8%).

Prevalence of β -lactamase producing bacteria.

Table 3 summarises comparative data of the different microbiological variables.

Mean total counts on control plates amounted to 1.57×10^7 cfu in the Spa-group and 1.34×10^7 cfu in the Ned-group. Total counts on amoxicillin-plates and on amoxicillin/clavulanate plates were statistically significantly lower in the Ned-group ($p < 0.05$). The counts of β -lactamase producing species on the amoxicillin plates was significantly higher in the Spa-group, 3.9×10^4 cfu versus 8.0×10^3 cfu ($p < 0.05$).

The prevalence of β -lactamase producing bacteria was 87.1% in the Spa-group versus 73.3% in the Ned-group.

β -lactamase producing species accounted for 30.5% of the total counts on amoxicillin-plates in the Spa-group, versus 16.4% in the Ned-group ($p = 0.05$). The percentage of β -lactamase producing species with respect to the total counts (in control media), was 0.44% in the Spa-group, versus 0.18% in the Ned-group.

Overall, 74 β -lactamase positive strains were isolated in the Spa-group and 33 in the Ned-group. The mean number of positive strains per patient was 2.4 and 1.1, respectively ($p < 0.001$). The mean number of amoxicillin-resistant species was 6.6 in the Spa-group and 2.8 in the Ned-group ($p < 0.001$). The proportion of β -lactamase producing colonies, related to the number of different colonies on amoxicillin plates, was 35.8% in Spa-group and 37.8% in Ned-group.

Description of β -lactamase producing bacteria.

Identified β -lactamase positive species in both patient groups are summarised in Table 4.

In the Spa-group, 74 β -lactamase producing strains were initially isolated, but 15 were lost during subculturing. 24 strains could not be completely identified with the API 32-A system, being 13 of them facultative anaerobic bacteria. 35 species were identified to genus level. *Prevotella* species represented 23 of the 35 identified strains. Additional identified species are shown in Table 4.

In the Ned-group, 33 β -lactamase producing strains were isolated of which 32 could be identified to species level. All 32 strains were identified as *Prevotella* species.

Discussion.

In this study a high higher prevalence of β -lactamase producing bacteria was found in the subgingival microflora of Spanish adult periodontitis patients in comparison to Dutch patients. This confirms our hypothesis that a high use of systemic β -lactam antibiotics leads to higher levels of bacterial resistance. This association has also been demonstrated in clinical environments where penicillins are the most employed type of antibiotic and production of β -lactamase enzymes is the most important mechanism of resistance for that particular type of antibiotic.

87% of Spanish patients had detectable β -lactamase positive bacteria in the subgingival microflora and this finding represents the highest prevalence reported in the literature. Legg & Wilson, (1990) found a prevalence of 65% in adult periodontitis in the United Kingdom, while in the U.S.A. a prevalence of 64% was found in maintenance patients (Walker et al. 1987) and 76% in untreated patients who had taken antibiotics in the previous six months (Kinder et al. 1986). In The Netherlands, the prevalence seems to be close to 75%, as shown in this study and in a previous study using similar methodology (van Winkelhoff et al. 1997).

Lower prevalences have been reported studying samples from different sites in the mouth, ranging from 37 to 42% (Heimdahl et al. 1981; Brook, 1984; Valdés et al. 1982; Wasfy et al. 1986; Lewis et al. 1995).

In the present study, β -lactamase producing species represented 0.44% of the total subgingival microflora in the Spa-group and 0.18% in the Ned-group. Higher percentages were reported by Kinder et al. (1986) which found 0.7% in patients with previous antibiotic use in the past year, and 1.3% when antibiotics were used in the previous 6 months. Legg & Wilson (1990) reported a percentage of 0.69%. However, when considering the total amoxicillin-resistant microflora, β -lactamase producing species represented 30.5% (Spa-group) and 16.4% (Ned-group), which is comparable to the results of Kinder et al. (1986) who stated that one third of the penicillin-resistant

microflora were β -lactamase producing species, of which the majority belonged to *Bacteroides* genus (presently *Prevotella* spp.).

The importance of *Prevotella* species as β -lactamase producers has been confirmed with in this study. Most investigations assessing β -lactamase producing species in the oral cavity have found *Prevotella* sp. as the most frequently involved species (Kinder et al. 1986; Brook, 1984; Valdés et al. 1982; Legg & Wilson, 1990; van Winkelhoff et al. 1997).

In this study we have found a significantly higher use of antibiotic in the Spanish group of patients. During the year prior to the sampling, 55% of the Spanish patients had used antibiotic, versus 13% in the Dutch patients. Most Spanish patients remembered the brand name of the employed antibiotic (72%), versus only 31.5% of the Dutch patients. One explanation could be the time lapsed after antibiotic use, which was much longer for the Dutch patients. Conversely, patients in The Netherlands remembered better the reason for using antibiotic (only 21% could not answer the question, versus 36% in the Spa-group).

Most Spanish patients (48%) stated that they have used amoxicillin, mostly for the treatment of respiratory infections (36%) and oral infections (20%). Less homogeneity was found in the Ned-group patients, however oral infections were the most common cause for antibiotic prescription (26%).

Different authors (Heimdahl et al. 1981; Kinder et al. 1986; Brook, 1984; Lewis et al. 1995). (Kinder et al. 1986) evaluated the influence of previous antibiotic consumption on antibiotic resistance, comparing patients with previous antibiotic usage during the last 6 months, versus patients with no antibiotic intake during at least 1 year. The prevalence of β -lactamase producing species in the subgingival microflora was much higher (76%) in the first group, as compared with second group (48%). Heimdahl et al. (1981) examined penicillin-resistant *Bacteroides* in saliva from healthy volunteers, calculating a 42% of prevalence of β -lactamase producing species. 12 out of the 44 positive patients (27%) had been on penicillin therapy during the previous 6 months, while the corresponding figure for negative patients was 5 out of 60 (8%). However, Lewis et al. (1995) found the same prevalence in oral abscesses, for patients with past history of antibiotic intake (6 months) as compared with those with no antimicrobial use.

In summary, we have evaluated the prevalence of β -lactamase producing bacteria in two distinct populations, belonging to two European countries with clear differences in antibiotic usage policy. A higher prevalence of β -lactamase producing bacteria was found in the Spanish group and this was

associated with a higher antibiotic consumption, especially that of amoxicillin. In this Spanish patient group, β -lactamase producing bacteria represented a higher percentage of the total microflora and a higher proportion of amoxicillin-resistant microflora. Although these species represented a low percentage of the total subgingival microflora, its importance should not be underestimated, since this can cause therapeutic failure or disease recurrence when systemic antibiotics are used to treat periodontal infections. In order to avoid widespread antibiotic resistance better controlled antibiotic policies are advised, including clear guidelines for a rationale usage of systemic drugs in the treatment of oral infections.

References.

- Baquero, F. (1996a) Trends in antibiotic resistance of respiratory pathogens: an analysis and commentary on a collaborative surveillance study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **38**, 117-132.
- Baquero, F. & Task Force Spain (1996b) Antibiotic resistance in Spain: what can be done? *Clinical and Infectious Diseases* **23**, 819-823.
- Brook, I. (1984) β -Lactamase-producing bacteria recovered after clinical failures with various penicillin therapy. *Archives of Otolaryngology* **10**, 228-231.
- Cullmann, W. (1996) Comparative evaluation of orally active antibiotics against community-acquired pathogens: results of eight European countries. *Chemotherapy* **42**, 11-20.
- Danziger, LH. & Pendland, SL. (1995) Bacterial resistance to β -Lactam antibiotics. *American Journal of Health-System Pharmacists* **52**, 3-8.
- Doern, GV. & Alexander Project Group (1996) Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **38**, 59-69.
- Felmingham, D., Grüneberg, RN. & Alexander Project Group (1996) A multicentre collaborative study of the antimicrobial susceptibility of community-acquired, lower respiratory tract pathogens 1992-1993: the Alexander Project. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **38**, 1-57.
- Heimdahl, A., von Konow, L. & Nord, CE. (1981) Beta-lactamase-producing *Bacteroides* species in the oral cavity in relation to penicillin therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **8**, 225-229.
- Kinder, SA., Holt, SC. and Korman, KS. (1986) Penicillin Resistance in the Subgingival Microbiota Associated with Adult Periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology* **23**, 1127-1133.
- Könönen, E., Saarela, M., Kanervo, A., Karjalainen, J., Asikainen, S. & Jousimies-Somer, H. (1995) β -Lactamase production and penicillin susceptibility among different ribotypes of *Prevotella melaninogenica* simultaneously colonizing the oral cavity. *Clinical and Infectious Diseases* **20**, 364-366.

- Legg, JA. & Wilson, M. (1990) The prevalence of beta-lactamase producing bacteria in subgingival plaque and their sensitivity to *Augmentin*. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **28**, 180-184.
- Levy, SB. (1996) Editorial response: antibiotic resistance worldwide - a Spanish Task Force responds. *Clinical and Infectious Diseases* **23**, 824-826.
- Lewis, M., Parkhurst, CL., Douglas, C., Martin, MV., Absi, EG., Bishop, PA. & Jones, SA. (1995) Prevalence of penicillin resistant bacteria in acute suppurative oral infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **35**, 785-791.
- Machka, K., Bravery, I., Dabernat, H., Dornbush, K., van Dyck, E., Kayser, FH., van Klingeren, B., Mittermayer, H., Perea, E. & Powell, M. (1988) Distribution and resistance patterns of *Haemophilus influenzae*: a European cooperative study. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **7**, 14-24.
- Pradier, C., Dunais, B., Carsenti-Etesse, H. & Dellamonica, P. (1997) Pneumococcal resistance patterns in Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **16**, 644-647.
- Rotschafer, JC. & Ostergaard, BE. (1995) Combination β -Lactam and β -Lactamase-inhibitor products: antimicrobial activity and efficiency of enzyme inhibition. *American Journal of Health-System Pharmacists* **52**, 15-22.
- Sanders, CC. & Sanders, W.Jr. (1992) β -Lactam Resistance in Gram-Negative Bacteria: Global Trends and Clinical Impact. *Clinical and Infectious Diseases* **15**, 824-839.
- Syed, SA. & Loesche, WJ. (1972) Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Applied Microbiology* **24**, 638-644.
- Tunér, K. & Nord, CE. (1993) Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria in Europe. *Clinical and Infectious Diseases* **16**, S387-S389.
- Valdés, MV., Lobbins, PM. & Slots, J. (1982) Beta-lactamase producing bacteria in the human oral cavity. *Journal of Oral Pathology* **11**, 58-63.
- van Winkelhoff, AJ., Herrera, D., Winkel, EG., Dellelijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, CMJE., Sanz, M. (2000) Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult

periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *Journal of Clinical Periodontology* 1, (accepted for publication).

van Winkelhoff, AJ., Winkel, EG., Barendregt, D., Dellelijn-Kippuw, N., Stijne, A. & van der Velden, U. (1997) β -lactamase producing bacteria in adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 24, 538-543.

Walker, CB. (1996) The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal microflora. *Periodontology 2000* 10, 79-88.

Walker, CB., Tyler, KT., Low, SB. & King, CJ. (1987) Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology* 2, 129-131.

Wasfy, MO., Bajuscak, RE., Santos, AC. & Minah, GE. (1986) β -lactamase resistance of black-pigmented *Bacteroides* in gingival plaques of Egyptian children. *Journal of Periodontal Research* 21, 450-454.

ADDRESS.

Mariano Sanz (Att. David Herrera)
Department of Periodontics
Faculty of Odontology - Ciudad Universitaria
Avda. Ramón y Cajal, s/n
28040 Madrid
SPAIN

e-mail: dhg2587@teleline.es

fax: 34-91-394-19-10

Table 1. Demographic data, smoking habit and daily medication usage of both samples.

		SPA-group	NED-group
Demographics	N	31	30
	mean age	43.1	43
	age range	26 – 62	29 - 63
	% female	55	57
Systemic drugs	% daily	32.3	3.2

Table 2. Comparative data on last antibiotic usage in the Spanish and the Dutch patients.

		SPA-group	NED-group
Antibiotics-last usage	%1-12 months	54.8	13.0
	%13-48 months	25.8	7.0
	%>5 years	0.0	43.3
	%never	19.4	36.7
Antibiotics-types	%unknown	28	70
	%amoxicillin	48	5
	%Rhodogyl®	12	0
	%metronidazole	0	10
	%macrolides	12	5
	%tetracyclines	0	5
	%amoxi+metro	0	5

Table 3. Comparative data of microbiological variables and β -lactamase producing species.

	SPA-group		NED-group		p value ^{a)}
	mean	s.d.	mean	s.d.	
total-cfu control plates	1.57E+07	2.50E+07	1.34E+07	1.10E+07	NS
total-cfu amoxicillin plates	1.69E+05	2.10E+05	3.83E+04	4.60E+04	p=0.001
total-cfu Augmentine plates	1.90E+04	3.00E+04	9.86E+03	1.28E+04	p=0.01
% resistance-amoxicillin	1.69	2.18	0.55	0.74	p=0.0017
% resistance-Augmentine	0.16	0.18	0.12	0.18	p=0.027
cfu β-lactamase sp. on amoxi.	3.89E+04	5.60E+04	7.98E+03	1.50E+04	p=0.001
% β-lactamase sp. on amoxi.	30.51	30.92	16.45	23.79	p=0.05
% β-lactamase sp. on control	0.44	0.75	0.18	0.42	p=0.09
% prevalence of β-lactamase	87.1		73.3		
n. β-lactamase strains	74		33		
n. β-lactamase strains/patient	2.4	1.64	1.1	0.92	p<0.001
n. strains amoxi-resistant	6.6	1.94	2.8	1.21	p<0.001
% β-lactamase strains in amoxi	36.27	23.90	39.29	31.00	NS

^{a)} Calculated by means of Student t-test for two independent samples.

Table 4. Characterisation of β -lactamase producing bacteria in the subgingival microflora in Spain and The Netherlands.

Spa-group		Ned-group
n strains		n strains
23	<i>Prevotella</i> species	32
5	<i>P. buccae</i>	7
2	<i>P. melaninogenica</i>	3
1	<i>P. loescheii</i>	7
1	<i>P. denticola</i>	3
1	<i>P. intermedia</i>	9
	<i>P. oralis</i>	2
13	unidentified <i>Prevotella</i> sp	1
4	<i>Capnocytophaga</i> sp.	
4	<i>Bacteroides</i> sp.	
2	<i>Propionibacterium acnes</i>	
1	<i>Actinomyces meyeri</i>	
1	<i>Peptostreptococcus prevotti</i>	
15	lack of growing	
24	uncomplete identification	1
74	Total-strains	33