

# Correlación de bacilos entéricos gram-negativos con parámetros clínicos y demográficos de pacientes con periodontitis crónica<sup>1</sup>

## Correlation of gram-negative enteric rods with clinical and demographic parameters of chronic periodontitis patients

**ARDILA MEDINA CM\***  
**ALZATE VEGA J\*\***  
**GUZMÁN ZULUAGA IC\*\*\***

Ardila Medina CM, Alzate Vega J, Guzmán Zuluaga IC. Correlación de bacilos entéricos gram-negativos con parámetros clínicos y demográficos de pacientes con periodontitis crónica. Av Periodon Implantol. 2014; 26, 2: 77-82.

### RESUMEN

**Introducción:** Los bacilos entéricos gram-negativos presentes en placa subgingival de pacientes con periodontitis pueden representar una causa de fracaso en la terapia periodontal.

**Objetivo:** investigar la correlación de bacilos entéricos gram-negativos con parámetros clínicos, edad, sexo y hábito de fumar de pacientes con periodontitis crónica.

**Materiales y métodos:** se estudió la presencia de bacilos entéricos gram-negativos en 76 pacientes con periodontitis crónica. Las muestras subgingivales se procesaron mediante cultivo. Se utilizó la prueba de Spearman para determinar la correlación entre las variables clínicas, demográficas y hábito de fumar con la presencia de bacilos entéricos gram-negativos ( $p < 0,05$ ).

**Resultados y conclusiones:** Se observaron bacilos entéricos gram-negativos en el 26,31% de los pacientes. Se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa entre bacilos entéricos gram-negativos y los parámetros incremento de edad, sexo masculino, hábito de fumar, aumento en la profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica, presencia de placa y sangrado ( $r=0,107$ ;  $0,235$ ;  $0,106$ ;  $0,165$ ;  $0,194$ ;  $0,123$ ;  $0,109$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente). Estos hallazgos tienen implicaciones terapéuticas importantes que deben tenerse en cuenta en el manejo de los pacientes con periodontitis que presentan entéricos en placa subgingival.

**PALABRAS CLAVE:** Periodontitis crónica, placa subgingival, bacilos entéricos gram-negativos.

### SUMMARY

**Introduction:** The Gram-negative enteric rods present in subgingival plaque of patients with periodontitis may represent a cause of failure in periodontal therapy.

**Objective:** to investigate the correlation of enteric Gram-negative rods with clinical parameters, age, sex and smoking habits of patients with chronic periodontitis.

**Materials and Methods:** we studied the presence of Gram-negative enteric rods in 76 patients with chronic periodontitis. Subgingival samples were processed by culture. We used the Spearman test to determine the correlation between clinical, demographic and smoking in the presence of Gram-negative enteric rods ( $p < 0.05$ ).

**Results and conclusions:** There were Gram-negative enteric rods in 26.31% of patients. We found a statistically significant positive correlation between Gram-negative enteric bacilli and parameters

<sup>1</sup> Investigación financiada por la Facultad Nacional de Salud Pública y el Grupo de Epidemiología de la Universidad de Antioquía.

\* Profesor Asociado Facultad de Odontología Universidad de Antioquía. Candidato a Ph. D en Epidemiología. Universidad de Antioquía. Grupo de Epidemiología. Universidad de Antioquía.

\*\* Odontóloga. Universidad de Antioquía.

\*\*\* Periodoncista. Universidad de Chile. Profesora Asistente. Facultad de Odontología. Universidad de Antioquía.

increasing age, male gender, smoking, increased probing depth and clinical attachment loss, presence of plaque and bleeding ( $r = 0.107; 0.235; 0.106; 0.165; 0.194; 0.123; 0.109; p < 0.0001$ , respectively). These findings have important therapeutic implications to be taken into account in the management of patients with periodontitis that present enteric in subgingival plaque.

**KEY WORDS:** Chronic periodontitis, subgingival plaque, gram-negative enteric rods.

**Fecha de recepción:** 20 de noviembre de 2009.

**Fecha de aceptación:** 10 de enero de 2010.

## INTRODUCCIÓN

Los bacilos entéricos gram-negativos comprenden especies de la familia *Enterobacteriaceae* y bacilos gram-negativos no fermentadores que también incluyen especies de *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (1). Las *Enterobacteriaceae* abarcan especies como *Klebsiella*, *Serratia* y *Enterobacter*. Estas especies se encuentran comúnmente en el tubo digestivo de humanos y animales, donde se consideran microflora normal (2). La *Klebsiella* es una de las principales especies de la familia *Enterobacteriaceae* y es una de las principales causas de neumonía en adultos mayores, ocasionando también septicemias e infecciones urinarias (2). De este género, la especie médica más importante es la *Klebsiella pneumoniae*, presentándose como saprofito en la nasofaringe, tracto gastrointestinal y piel (2). Por otra parte, la *Klebsiella oxytoca* ocasiona infecciones en recién nacidos y en pacientes inmuno comprometidos (3). *Serratia marcescens* es un patógeno oportunista que se presenta con mucha frecuencia en infecciones intrahospitalarias (4), mientras *Enterobacter sakazakii* es un patógeno oportunista emergente que causa meningitis, septicemias y enterocolitis necrotizante (5). Igualmente, *Pseudomonas* y *Acinetobacter* son especies patógenas en el hombre que poseen características invasoras y toxigénicas que le permiten iniciar un proceso infeccioso (1).

Las enfermedades periodontales se distribuyen ampliamente en el mundo y representan un problema de salud pública tanto en países industrializados como en países en desarrollo (6). La periodontitis crónica es probablemente la enfermedad infecciosa inflamatoria crónica más común en los adultos y conduce a la pérdida dental en ausencia de tratamiento apropiado (6). Algunos procedimientos como la administración de antimicrobianos o enjuagues bucales que contienen clorhexidina puede generar supresión parcial de los microorganismos anaerobios asociados con periodontitis, permitiendo el sobrecrecimiento de bacilos en-

téricos gram-negativos (7). Su prevalencia en la bolsa periodontal varía alrededor del mundo (14-92%), favoreciendo el progreso de la periodontitis, causando ocasionalmente complicaciones sistémicas (8-10). Desde los sitios periodontales infectados, estos patógenos pueden entrar al torrente sanguíneo, induciendo septicemias en pacientes con leucemia aguda (11). Los bacilos entéricos gram-negativos persisten con frecuencia después de terapias mecánicas y quirúrgicas (12), presentando además resistencia in vitro a la mayoría de antibióticos adjuntos usados para tratar la periodontitis (13-17). Algunos estudios han observado que estos microorganismos se encuentran frecuentemente en adultos mayores (8,14) pero no se conocen investigaciones que estudien su correlación con parámetros demográficos, hábito de fumar y variables clínicas. De esta manera, los objetivos de este estudio son evaluar la prevalencia de bacilos gram-negativos entéricos presentes en placa subgingival de pacientes con periodontitis crónica y establecer su correlación con los parámetros descritos previamente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sujetos

Se invitaron a participar en este estudio 76 sujetos sistémicamente sanos (45 mujeres y 31 hombres) que asistieron a las clínicas odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquía entre Octubre de 2008 y Marzo de 2009. Cada participante firmó un consentimiento informado. El Comité de Ética de la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquía aprobó el diseño del estudio teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki sobre experimentación que involucra seres humanos. Se consideraron candidatos para participar en esta investigación pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica. Los criterios de exclusión fueron embarazo,

lactancia, presencia de diabetes o cualquier enfermedad sistémica que alterara el curso de la enfermedad periodontal, terapia periodontal en el último año, y utilización de antimicrobianos o antiinflamatorios no esteroides en los seis meses previos al examen clínico y a la toma de muestras microbiológicas.

### Evaluación clínica

A cada paciente se le realizó una historia clínica, además de un examen clínico y radiográfico completo. Uno de los autores (CA) realizó todos los exámenes clínicos. La profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínica se midieron en seis sitios (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) usando una sonda periodontal calibrada (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL). El diagnóstico de periodontitis crónica se realizó según los criterios recomendados por la Academia Americana de Periodoncia (AAP) (18).

### Muestreo microbiológico

Se tomaron muestras microbiológicas de los pacientes en sitios con una profundidad de sondaje  $\geq 5$  mm. Para el muestreo se seleccionaron las seis bolsas periodontales más profundas. Después de aislar la zona con algodón y remover la placa supragingival con cureta, se insertaron conos de papel estéril en cada bolsa periodontal durante 20 segundos. Las muestras de cada paciente se depositaron en 2 mL de medio de transporte (Viability Medium Göteborg Anaerobically III: VMGA III) (19) y se llevaron al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquía para procesarlas dentro de las dos horas siguientes. Para el aislamiento de bacilos entéricos gram-negativos se utilizó agar MacConkey para luego incubarse a una atmósfera aeróbica a 37° C por 24-48 horas. Sobre las colonias que crecieron en agar MacConkey se empleó tinción de gram para verificación. En agar Cetrimide, se subcultivaron todas las colonias sospechosas de pertenecer al género *Pseudomonas*. La identificación primaria de las colonias aisladas se realizó por pruebas bioquímicas manuales como oxidasa, citrato, MIO (Movilidad-Indol-Ornitina), lisina, urea de Christensen, TSI (agar hierro triple azúcar), malonato, DNAsa. En el caso de los microorganismos no fermentadores de la glucosa, se utilizaron pruebas adicionales como la oxidación-fermentación (OF) de glucosa, movilidad en gota pendiente y crecimiento a 42° C. Se realizaron pruebas bioquími-

cas y enzimáticas confirmatorias para todos los microorganismos utilizando los sistemas de identificación comercial Rapid ANA II (Remel™, Apogent) y API ZYM (Biomérieux® Francia).

Después de la incubación se calculó el número total de unidades formadoras de colonias por mililitro de cada muestra a partir de los medios de cultivo. El porcentaje relativo de recuperación de cada microorganismo se calculó a partir del total de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml).

### Análisis estadístico

Para describir las variables relacionadas con los sujetos y los dientes se realizó un análisis exploratorio sobre la distribución de los índices profundidad de sondaje y nivel de inserción, utilizando medidas de tendencia central y de dispersión. Se obtuvieron frecuencias y proporciones de cada uno de los microorganismos estudiados. Para las variables hábito de fumar, placa bacteriana, sangrado al sondaje, y supuración se calcularon frecuencias y proporciones. Se utilizó la prueba no paramétrica de Spearman para determinar la correlación entre las variables clínicas/demográficas y hábito de fumar con la presencia de bacilos entéricos gram-negativos ( $p < 0,05$ ). Se utilizó un programa estadístico para todos los análisis (SPSS, versión 15, Chicago, IL).

### RESULTADOS

Se estudiaron 31 hombres (41%) y 45 mujeres (59%) con periodontitis crónica. Las tablas 1 y 2 describen los parámetros clínicos/demográficos y hábito de fumar de los pacientes con presencia de entéricos en placa subgingival. En los sujetos con presencia de entéricos se observó un mayor porcentaje de hombres y de no fumadores (Tabla 1), y se encontraron porcentajes elevados de sangrado al sondaje y placa bacteriana (Tabla 2). La pérdida de inserción clínica de los pacientes con bacilos entéricos gram-negativos fue entre moderada y avanzada (Tabla 2).

Se encontraron bacilos entéricos gram-negativos en 20 (26,31%) de 76 pacientes. Se observaron especies *Enterobacteriaceae* en 16 (21,05%) y *Pseudomonas aeruginosa* en 4 (5,26%) de 20 aislamientos. Se encontró *Klebsiella pneumoniae* en 12 pacientes y *Serratia marcescens* en dos pacientes. Se identificaron también otras dos especies de *Enterobacteriaceae* (Tabla 3).

**TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y HÁBITO DE FUMAR EN PACIENTES CON PRESENCIA DE ENTÉRICOS EN PLACA SUBGINGIVAL**

Parámetro	
Edad (años±DS) .....	47±5,97
<i>Género</i>	
• Mujeres .....	40%
• Hombres .....	60%
<i>Hábito de fumar</i>	
• No-fumadores .....	70%
• Fumadores .....	30%
DE= Desviación estándar.	

**TABLA 2.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE PACIENTES CON PRESENCIA DE ENTÉRICOS EN PLACA SUBGINGIVAL**

Parámetro	
• Profundidad de sondaje (mm±DE) .....	3,4±1,48
• Nivel de inserción clínica (mm±DE) .....	4,3±1,99
• % sangrado al sondaje (mm±DE) .....	77±21
• % placa bacteriana (mm±DE) .....	56±28
• % supuración (mm±DE) .....	4,3±3,1
DE= Desviación estándar.	

**TABLA 3.- NÚMERO Y PORCENTAJE DE ENTÉRICOS AISLADOS EN PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA**

Especie	Número	(%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	12	60
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	4	20
<i>Serratia marcescens</i> .....	2	10
<i>Klebsiella oxytoca</i> .....	1	5
<i>Enterobacter sakazakii</i> .....	1	5

Se observaron correlaciones positivas altamente significativas entre la presencia de bacilos entéricos gram-negativos e incremento en la profundidad de sondaje y pérdida de inserción clínica ( $r=0,198; 0,234; p<0,0001$ , respectivamente) (Tabla 4). Igualmente, se encontraron correlaciones positivas altamente significativa entre entéricos con las variables hábito de fumar, presencia de placa bacteriana y sangrado ( $r=0,106; 0,123; 0,109; p<0,0001$ , respectivamente) (Tabla 4). El género masculino y el incremento de la edad también presentaron correlaciones positivas altamente significativas con la presencia de entéricos ( $r=0,235; 0,107; p<0,0001$ , respectivamente) (Tabla 4). A su vez, la presencia de supuración presentó una correlación débil pero estadísticamente significativa con la presencia de bacilos entéricos gram-negativos ( $r=0,044; p<0,05$ ) (Tabla 4).

**DISCUSIÓN**

Diferentes estudios han demostrado ampliamente el papel etiológico de los bacilos entéricos gram-negativos en infecciones humanas graves (1-5). En el presente estudio se investigó la prevalencia de bacilos entéricos gram-negativos en placa subgingival de 76 pacientes con periodontitis crónica y su correlación con parámetros clínicos/demográficos y hábito de fumar. Se identificaron cuatro especies de bacilos entéricos gram-negativos en 20 pacientes (26,31%). En

**TABLA 4.- CORRELACIÓN DE BACILOS ENTÉRICOS GRAM-NEGATIVOS CON PARÁMETROS CLÍNICOS/ DEMOGRÁFICOS Y HÁBITO DE FUMAR**

Parámetro	Correlación Spearman	
Edad	$r=0,107$	$p< 0,0001$
Sexo masculino	$r=0,235$	$p< 0,0001$
Hábito de fumar	$r=0,106$	$p< 0,0001$
Profundidad de sondaje	$r=0,198$	$p< 0,0001$
Nivel de inserción clínica	$r=0,234$	$p< 0,0001$
Presencia de sangrado	$r=0,122$	$p< 0,0001$
Presencia de placa bacteriana	$r=0,134$	$p< 0,0001$
Presencia de supuración	$r=0,044$	$p< 0,05$

Latinoamérica la frecuencia de entéricos varía según la población estudiada, alcanzando una prevalencia de 17,6% en Chile (6) y 67% en Santo Domingo (20). Igualmente, en Brasil (14) y Colombia (16,17), algunos investigadores han encontrado frecuencias similares a las halladas en el presente estudio.

Desde hace casi dos décadas se ha descrito la asociación entre bacilos entéricos gram-negativos y periodontopatógenos (10), pero no se había investigado su correlación con parámetros clínicos/demográficos y hábito de fumar. La presente investigación encontró una correlación altamente significativa con el sexo masculino e incremento de la edad (Tabla 4). Este hallazgo es corroborado por estudios previos que también observaron más prevalencia de entéricos en adultos mayores, sin embargo, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sexos (8, 14). En este sentido, Slots y cols. (8) sugirieron que la frecuencia de entéricos aumenta a medida que incrementa la edad, posiblemente causada por una acumulación de estos microorganismos con el paso del tiempo, debido en parte a que no son fácilmente controlados con tratamiento periodontal convencional. También propusieron que los hombres pueden presentar mayor cantidad de entéricos debido a que consultan con menor frecuencia atención odontológica especializada (8). La presente investigación encontró que la presencia de bacilos entéricos y el hábito de fumar están correlacionados positivamente, observándose también correlaciones positivas a medida que se incrementa la gravedad de los parámetros clínicos, sugiriendo de esta manera, peores condiciones periodontales en los pacientes que presentan bacilos entéricos gram-negativos en placa subgingival (Tabla 4). Este es un hallazgo relevante que debe tenerse en cuenta durante el manejo terapéutico de los pacientes con enfermedad periodontal. Desafortunadamente no se conocen estudios previos que hayan evaluado correlaciones entre bacilos entéricos gram-negativos con parámetros clínicos periodontales y hábito de fumar que permitan establecer comparaciones con los resultados de este estudio, no obstante, algunos investigadores han sugerido que el alto potencial patogénico de estos microorganismos pueden tener impacto sobre el progreso y tratamiento de la enfermedad periodontal (10, 12). Como fue descrito por Slots y colaboradores, los bacilos entéricos gram-negativos persistieron después de terapias periodontales mecánicas y quirúrgicas (20). Por otra parte, diferencias relacionadas con la exposición al tabaco, respuesta del huésped, hábitos de higiene oral, composición microbiana y acceso a la atención odontológica pueden ayudar a explicar estas correlaciones

en la expresión clínica de la periodontitis de la población estudiada (21-25). Por esta razón es fundamental conocer la composición de la microflora subgingival específica de cada región geográfica para determinar el protocolo terapéutico apropiado.

Se requieren futuros estudios que clarifiquen el efecto que tienen los bacilos entéricos gram-negativos sobre los parámetros clínicos y la respuesta al tratamiento periodontal.

## CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio muestran que los pacientes con periodontitis crónica estudiados en esta investigación presentan una prevalencia alta de bacilos entéricos gram-negativos que se correlaciona con condiciones periodontales adversas. Este hallazgo tiene implicaciones terapéuticas importantes que deben tenerse en cuenta en el manejo de los pacientes con enfermedad periodontal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lindberg AA. Vaccination against enteric pathogens: from science to vaccine trials. *Curr Opin Microbiol* 1998; 1:116-24.
2. Gupta A. Hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit-*Klebsiella pneumoniae*. *Semin Perinatol* 2002;26:340-5.
3. Al-Anazi KA, Al-Jasser AM, Al-Zahrani HA, Chaudhri N, Al-Mohareb FI. *Klebsiella oxytoca* bacteremia causing septic shock in recipients of hematopoietic stem cell transplant: Two case reports. *Cases J* 2008;18:160-3.
4. Guler E, Davutoglu M, Ucmak H, Karabiber H, Kokoglu OF. An outbreak of *Serratia marcescens* septicemia in neonates. *Indian Pediatr* 2009;46:61-3.
5. Cawthorn DM, Botha S, Witthuhn RC. Evaluation of different methods for the detection and identification of *Enterobacter sakazakii* isolated from South African infant formula milks and the processing environment. *Int J Food Microbiol* 2008;127:129-38.
6. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol* 2008; 35:106-13.

7. Slots J, Rams TE, Schonfeld SE. In vitro activity of chlorhexidine against enteric rods, pseudomonads and acinetobacter from human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1991;6:62-4.
8. Slots J, Feik D, Rams TE. Age and sex relationships of superinfecting microorganisms in periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5:305-8.
9. 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;65:1046-52.
10. Slots J, Rams TE, Listgarten MA. Yeasts, enteric rods and pseudomonads in the subgingival flora of severe adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1988;3:47-52.
11. Greenberg MS, Cohen SG, McKitick JC, Cassileth PA. The oral flora as a source of septicemia in patients with acute leukemia. *Oral Surg* 1982;53:32-6.
12. Slots J, Feik D, Rams TE. In vitro antimicrobial sensitivity of enteric rods and pseudomonads from advanced adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990;5:298-301.
13. Feres M, Haffajee AD, Goncalves C, Allard KA, Som S, Smith C, et al. Systemic doxycycline administration in the treatment of periodontal infections. I. Effect on the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 1999;26:775-83.
14. Barbosa FC, Mayer MP, Saba-Chujfi E, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16:306-10.
15. Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce RM. Occurrence of periodontopathic and superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in a Colombian population. *J Periodontol* 2007;78:696-704.
16. Lafaurie GI, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. *J Periodontol* 2007;78:629-39.
17. Ardila CM, Fernández N, Guzmán I. Antimicrobial susceptibility of moxifloxacin against Gram-negative enteric rods from Colombian chronic periodontitis patients. *J Periodontol* 2010;81:292-9.
18. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
19. Möller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *Methodological studies. Odontol Tidskr* 1966;74 (Suppl.):1-380.
20. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie GM. Subgingival microflora of advanced periodontitis in the Dominican Republic. *J Periodontol* 1991;62:543-7.
21. Mager DL, Haffajee AD, Socransky SS. Effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects. *J Clin Periodontol* 2003;30:1031-7.
22. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol* 2001;28:377-88.
23. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. *J Clin Periodontol* 2001;28:283-95.
24. Wara-aswapati N, Pitiphat W, Chanchaimongkon L, Taweechaisupapong S, Boch JA, Ishikawa I. Red bacterial complex is associated with the severity of chronic periodontitis in a Thai population. *Oral Dis* 2009;15:354-9.
25. Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, Grittayaphong C. Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *J Periodontol* 2009;80:122-9.

## **CORRESPONDENCIA**

Carlos M. Ardila Medina

Calle 64, n° 52-59

Medellín, Colombia

E-mail: martinardila@gmail.com