

Ardila Medina, Carlos Martín; Grisales Romero, Hugo; Guzmán Zuluaga, Isabel Cristina

Enfoque multinivel de la relación entre bacilos entéricos Gram negativos,
Aggregatibacter actinomycetemcomitans, y parámetros clínicos en enfermedad
periodontal

Archivo Médico de Camagüey, vol. 15, núm. 6, noviembre-diciembre, 2011, pp. 982-
996

Centro Provincial de Ciencias Médicas de Camagüey
Camagüey, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=211121510007>



Archivo Médico de Camagüey
ISSN (Versión electrónica): 1025-0255
jorsan@finlay.cmw.sld.cu
Centro Provincial de Ciencias Médicas de
Camagüey
Cuba

Enfoque multinivel de la relación entre bacilos entéricos Gram negativos, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, y parámetros clínicos en enfermedad periodontal

A multilevel approach of the relationships between Gram-negative enteric rods, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, and clinical parameters in periodontal disease

Dr. Carlos Martín Ardila Medina;^I Dr. Hugo Grisales Romero;^{II} Dra. Isabel Cristina Guzmán Zuluaga^{III}

I Ph.D en Epidemiología. Profesor Asociado Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia. Colombia. martinardila@gmail.com

II Ph.D en Epidemiología. Profesor Titular. Universidad de Antioquia. Colombia.

III Periodoncista Universidad de Chile. Profesora Asistente. Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. Colombia.

RESUMEN

Fundamento: los bacilos entéricos Gram negativos (entéricos) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) son microorganismos invasivos tisulares que no responden adecuadamente a la terapia periodontal convencional. **Objetivo:** explorar la asociación entre estos microorganismos y parámetros clínicos de la enfermedad periodontal mediante un análisis multinivel. **Método:** se realizó un estudio descriptivo donde se examinaron los parámetros clínicos y la presencia de entéricos y Aa en 76 pacientes con periodontitis crónica. Se utilizaron pruebas de chi cuadrado y Mann-Whitney para determinar las diferencias en las variables clínicas frente a la presencia o ausencia de ambos microorganismos. La correlación entre los dos microorganismos y los datos clínicos se determinó, usando el coeficiente de correlación de Spearman. La

influencia de los dos microorganismos sobre la profundidad de sondaje (PS), el nivel de inserción clínica (NIC) y el sangrado al sondaje (SS), se evaluó mediante un análisis de regresión multinivel. **Resultados:** los dos microorganismos estudiados presentaron correlaciones positivas estadísticamente significativas con PS, NIC y SS ($P < 0.0001$). El análisis multinivel mostró que en los modelos que incluyeron como variables dependientes PS, NIC y SS, la mayor parte de la varianza se atribuyó al nivel sitio del diente, seguido por el nivel diente y el nivel paciente. **Conclusiones:** los resultados del presente estudio sugieren una correlación positiva altamente significativa entre entéricos y Aa en la población estudiada. Este hallazgo debe tenerse en cuenta cuando se considera el mejor enfoque terapéutico, y la utilización de antimicrobianos. El análisis multinivel reveló que el mayor porcentaje de la varianza se asoció con el nivel sitio del diente.

DeCS: BACTERIAS GRAMNEGATIVAS; ENFERMEDADES PERIODONTALES; TERAPIAS COMPLEMENTARIAS; PARÁMETROS

ABSTRACT

Background: gram-negative enteric bacilli (enteric) and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) are tissue-invasive organisms that do not respond adequately to conventional periodontal therapy. **Objective:** to explore the relationships between these organisms and clinical parameters of periodontal disease through a multilevel analysis. **Methods:** a descriptive study was conducted which clinical parameters and occurrence of Gram-negative enteric rods and *A. actinomycetemcomitans* were examined in 76 patients with chronic periodontitis. Chi-square and Mann-Whitney tests were used to determine differences in clinical variables versus the presence or absence of both microorganisms. Correlations among both organisms and clinical data were determined using Spearman rank correlation coefficient. A multilevel regression analysis assessed the influence of both microorganisms on the probing depth (PD), clinical attachment level (CAL) and bleeding on probing (BOP). **Results:** both microorganisms were significant and positively correlated with PD, CAL and BOP ($P < 0.0001$). Multilevel analysis showed that most of the variance in PD, CAL and BOP was attributed to the tooth site level, followed by the tooth level and patient level. **Conclusions:** the results of the present study suggest a

strong positive correlation between Gram-negative enteric rods and *A. actinomycetemcomitans* in the population studied. This finding should be taken into account when considering the best therapeutic approach, including the utilization of antimicrobials. Multilevel analysis revealed that highest percentage of variance was associated with the tooth site level.

DeCS: GRAM-NEGATIVE BACTERIA; PERIODONTAL DISEASES; COMPLEMENTARY THERAPIES; PARAMETERS

INTRODUCCIÓN

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica que comienza con una infección microbiana seguida por una destrucción de tejidos, mediada por el huésped, y causada por hiperactividad de leucocitos, generación de citoquinas, eicosanoides y matriz metaloproteinasas.¹ Se reconoce ampliamente que *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) está implicado en la patogénesis de la periodontitis.² Por otra parte, se desconoce el papel de los bacilos entéricos Gram negativos (entéricos) en la patogénesis de la enfermedad periodontal.

Sin embargo, algunos investigadores sugieren que estos microorganismos pueden tener un impacto sobre el progreso y tratamiento de la periodontitis.³ Como es anotado por algunos autores, los entéricos persisten después de la terapia periodontal mecánica y quirúrgica, se han implicado como patógenos clave en casos de periodontitis refractaria.⁴ Los entéricos también fueron detectados en grandes frecuencias y proporciones en pacientes con fracasos en implantes dentales.⁴ Además, estas bacterias son capaces de producir factores de virulencia y destrucción tisular.²⁻⁴ Ejemplos de factores de virulencia incluyen enterotoxinas y endotoxinas producidas por los entéricos^{3,4} y leucotoxinas producidas por Aa.² Los entéricos tienen la capacidad de invadir los tejidos humanos^{3,4} mientras que Aa ha demostrado su habilidad para invadir células epiteliales humanas.²

Algunos autores consideran que precisamente la capacidad invasiva de entéricos y Aa es la principal razón de la mala respuesta a la terapia mecánica periodontal en pacientes que presentan estos dos microorganismos en placa subgingival.^{2,5} Los procesos destructivos de los tejidos periodontales incluyen cambios bioquímicos celulares registrados como eventos clínicos en niveles superiores que pueden variar en

diferentes sitios de un diente. ⁶ De esta forma, tres niveles pueden estar involucrados en el proceso inflamatorio periodontal: el individuo, el diente y el sitio del diente.

El examen periodontal proporciona información de diferentes sitios en distintos dientes de los pacientes. La estructura jerárquica inherente a los datos periodontales presenta dificultades para el análisis ya que puede perderse información y sobre-estimarse el error estándar, al agregar datos del sitio en el diente dentro de los pacientes, debido a que se utilizan valores promedios. De la misma forma, puede sub-estimarse el error estándar al realizar análisis en el diente o en el nivel sitio del diente sin tener en cuenta la dependencia existente entre dientes o sitios en un paciente. El modelo multinivel plantea un enfoque estadístico para superar este problema ya que puede usarse en el análisis del comportamiento de medidas repetidas de sitios individuales conociendo que se agrupan en dientes (niveles inferiores) y se anidan dentro de sujetos (nivel superior). ⁷

El objetivo de este estudio fue explorar la asociación entre estos microorganismos y parámetros clínicos de la enfermedad periodontal mediante un análisis multinivel.

MÉTODOS

En el estudio descriptivo se eligieron 76 sujetos sistémicamente sanos (45 mujeres y 31 hombres) que cumplieron los criterios de selección determinados para la presente investigación. Estos pacientes asistieron a las clínicas odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia desde octubre de 2008 hasta marzo de 2009. Cada participante firmó un consentimiento informado. El Comité de Ética de la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquia aprobó el diseño del estudio donde se tuvieron en cuenta la Declaración de Helsinki sobre experimentación que involucra seres humanos. En este estudio participaron pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica. Este diagnóstico se realizó según los criterios recomendados por la Academia Americana de Periodoncia (AAP). ⁸ 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 esteroideos 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. La información relacionada con el hábito de fumar (fumador sí/no) se obtuvo mediante interrogatorio. Uno de los autores realizó todos los exámenes clínicos. En el examen inicial se evaluó la presencia de placa visible (0/1), sangrado al sondaje (0/1), profundidad de sondaje y nivel de inserción clínica en seis sitios (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual) usando una sonda periodontal calibrada (UNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL). El compromiso de furcación se evaluó según las recomendaciones de Hamp, et al,⁹ utilizando una sonda Nabers. Antes de iniciar el estudio se evaluó la reproducibilidad intra-examinador (en seis sujetos con al menos 20 dientes) valorando cada uno de los índices, mediante sondaje y examen clínico de la mitad de la boca, en dos oportunidades en la misma semana. Los coeficientes de correlación intra-clase para el promedio de la profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínica fueron 0.92 y 0.91, respectivamente.

Toma de muestras microbiológicas

Se tomaron muestras microbiológicas de los pacientes en sitios con una profundidad de sondaje \geq 5mm. Para la toma de muestras se seleccionaron las seis bolsas periodontales más profundas de cada paciente. Después de aislar la zona con algodón y eliminar la placa supragingival con cureta, se insertaron puntas de papel estéril en cada bolsa periodontal durante 20seg. Las muestras de cada paciente se depositaron en 2mL de medio de transporte (Viability Medium Goteborg Anaerobically III: VMGA III)¹⁰ y se llevaron al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia para procesarlas dentro de las dos horas siguientes. Para la identificación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, las muestras sin diluir y 10-1 se sembraron en agar TSBV (tripticasa soya bacitracina vancomicina) y se incubaron en atmósfera de 10 % de CO₂ (Campygen, Oxoid, Hampshire, Inglaterra) durante tres a cinco días. Las cepas presuntivas de *A. actinomycetemcomitans* fueron identificadas por la presencia de una estructura semejante a una estrella en el interior de las colonias y las pruebas catalasa positiva y MUG negativa (4-Metilumbeliferil-B-D-galactosidasa, para investigar la fermentación de la lactosa).

Para el aislamiento de bacilos entéricos Gram-negativos se utilizó agar MacConkey para luego incubarse a una atmósfera aeróbica a 37°C por 24-48h. 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 bioquímicas 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

Los datos fueron introducidos en una base de datos Excel (Microsoft Office 2007) para importarse posteriormente a los programas estadísticos requeridos para el análisis de los resultados de esta investigación. 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 (PS) y nivel de inserción (NIC), se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión. Se calcularon frecuencias y proporciones de cada uno de los microorganismos estudiados. Para las variables hábito de fumar, placa bacteriana, sangrado al sondaje (SS) y compromiso de furcación se calcularon frecuencias y proporciones. Se utilizó chi cuadrado para evaluar diferencias entre SS frente a la presencia o ausencia de entéricos y Aa. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para determinar las diferencias en PS y NIC ante la presencia o ausencia de los dos microorganismos estudiados. La correlación entre entéricos y Aa se expresó a través de un coeficiente de correlación no paramétrico (Spearman).

Mediante un análisis de regresión multinivel se evaluó la influencia de diferentes factores, se incluyeron la presencia de entéricos y Aa, sobre la profundidad de sondaje, el nivel de inserción clínica y el sangrado al sondaje. Se realizó un modelo de regresión multinivel con intercepto aleatorio en tres niveles: sitio (nivel 1), diente (nivel 2) y sujeto (nivel 3). Se efectuaron tres modelos de componentes de la varianza (modelo vacío) utilizando PS, NIC y SS como variable dependiente pero sin incluir variables explicativas. Los modelos vacíos se usaron para estimar la variabilidad total de PS, NIC y SS atribuida al nivel paciente, diente o sitio. Posteriormente se incluyeron en el modelo una serie de variables explicativas, presencia de entéricos y Aa, con el fin de

establecer la asociación entre cada co-variable y la variable dependiente. Se calculó el cambio de ajuste de cada modelo (-2log likelihood) incluyeron/excluyeron variables explicativas y se evaluó la significancia estadística mediante pruebas de Chi cuadrado. Un valor $P < 0.05$ se estableció como el nivel de significancia estadística para todas las pruebas.

Se utilizó un programa estadístico para todos los análisis (SPSS, versión 15, Chicago, IL) y se usó un programa diseñado específicamente para análisis multinivel (Multilevel Models Project institute of education. Mlwin, version 2.19, Londres, Reino Unido).

RESULTADOS

Según los datos clínicos en los sitios muestreados se estudiaron 31 hombres (41 %) y 45 mujeres (59 %) con periodontitis crónica (edad= 46+= 8.08 años), de los cuales 21.05 % fueron fumadores actuales. ([Tabla 1](#))

Tabla 1. Datos clínicos en los sitios muestreados: profundidad de sondaje

Parámetro Clínico	Promedio DE
PS (mm±DE)	5.14±1.33
NIC (mm±DE)	5.61±1.83
% SS (%±DE)	70±16
% PI (%±DE)	56±19
% SUP (%±DE)	4.3±3.1

Leyenda:

(PS), nivel de inserción clínica (NIC), porcentaje (%) de sitios con sangrado al sondaje (SS), porcentaje (%) de sitios con placa (PI), porcentaje (%) de sitios con supuración. mm=milímetro; DE= desviación estándar.

Se encontraron bacilos entéricos Gram-negativos y Aa en 20 pacientes (26.31%) y 18 (23.7%) respectivamente. Para un total de 14 (18.4%) pacientes que presentaron los dos microorganismos estudiados. En una publicación previa,³ se informaron las especies de bacilos entéricos observadas: *Enterobacteriaceae* en 16 (21.05%) y *Pseudomonas aeruginosa* en 4 (5.26%) de 20 aislamientos; *Klebsiella pneumoniae* en

12 pacientes y *Serratia marcescens* en dos pacientes. Se identificaron también otras dos especies de *Enterobacteriaceae*.

Según la correlación entre bacilos entericos Gram observados en placa subgingival de bolsas periodontales mostraron correlaciones positivas altamente significativas con Aa ($r=0.652$, $P<0.0001$), y ambos microorganismos presentaron correlaciones positivas y muy significativas con PS, NIC y SS. ([Tabla 2](#))

Tabla 2. Correlaciones entre bacilos entéricos Gram negativos y *A. actinomycetemcomitans*

Parámetro Clínico	Presencia entérico y <i>A. actinomycetemcomitans</i>	Estadístico
PS (mm; promedio)	$r= 0.662$	Spearman $P<0.0001$
NIC(mm; promedio)	$r= 0.698$	Spearman $P<0.0001$
SS(% of sites)	$r= 0.621$	Spearman $P<0.0001$

Leyenda:

(PS), nivel de inserción clínica (NIC), porcentaje (%) de sitios con sangrado al sondaje (SS), porcentaje (%) de sitios con placa (PI), porcentaje (%) de sitios con supuración. mm=milímetro; DE= desviación estándar.

Los pacientes con presencia o ausencia de entéricos y Aa presentaron diferentes condiciones clínicas como lo demuestran los diferentes parámetros clínicos estudiados ($P<0.001$). El promedio de PS y pérdida de NIC fue significativamente mayor en pacientes con presencia de los dos microorganismos estudiados. Igualmente la proporción de sitios con SS fue superior en sujetos con presencia de entéricos y Aa. ([Tabla 3](#))

Tabla 3. Comparación de los datos clínicos

Parámetro	Presencia entérico y <i>A.actinomycetemcomitans</i>	Ausencia entérico <i>A.actinomycetemcomitans</i>	Estadístico
PS (mm±SD)	5.9±1.4	5±1.2	Mann Whitney P<0.001
NIC (mm±SD)	6.44±2	5.36±1.6	Mann Whitney P<0.001
% SS (%±SD)	85±13	63±17	χ^2 P<0.001

Leyenda:

(PS), nivel de inserción clínica (NIC), porcentaje (%) de sitios con sangrado al sondaje (SS), porcentaje (%) de sitios con placa (PI), porcentaje (%) de sitios con supuración. mm=milímetro; DE= desviación estándar.

En el análisis multinivel se incluyeron 1,870 dientes y 11,220 sitios. Se describe el nivel al que pertenece cada una de las variables estudiadas. ([Tabla 4](#))

Tabla 4. Características clínicas y demográficas de los individuos en los tres niveles jerárquicos

Parámetro	Valor
Variables del Nivel 3 (Paciente)	n=76
Edad (promedio±DE)	46±8
Sexo Femenino	45 (59.2%)
Fumadores	17
Presencia de Entéricos	(22.3%)
Presencia de Aa	20 sujetos
Presencia de Entéricos y Aa	18 sujetos 14 sujetos
Variables del Nivel 2 (Diente)	n=1870
Compromiso de Furcación	59%
Variables del Nivel 1 (sitio)	n=11,220
Profundidad Sondaje (promedio±DE)	5.15±0.6
Nivel Inserción Clínica (promedio±DE)	5.25±0.6
Sangrado al sondaje	73%
Presencia de Placa	59%

E=desviación estándar

Aa= *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Los resultados del modelo multinivel incluyeron la profundidad de sondaje como variable dependiente y las variables explicativas estadísticamente significativas. En el modelo vacío se obtuvo la variabilidad de cada nivel individual calculando el porcentaje de la variabilidad total adicionando todos los estimadores simultáneamente. La mayor parte de la varianza se atribuyó al nivel sitio (63%), seguido por el nivel diente (23%) y el nivel paciente (14%). ([Tabla 5](#))

Tabla 5. Modelo de regresión lineal Multinivel estimando la relativa contribución de los parámetros a nivel sujeto, diente y sitio en la variabilidad de la profundidad del sondaje.

Intercepto	Modelo vacío $\beta \pm DE$
	2.958 \pm 0.081
Varianza	
Sujeto (Nivel 3)	0.456 \pm 0.082
Diente (Nivel 2)	0.839 \pm 0.039
Sitio (Nivel 1)	2.010 \pm 0.029
Total varianza	3.305
% Total varianza	
Sujeto (Nivel 3)	14
Diente (Nivel 2)	23
Sitio (Nivel 1)	63
-2 LL	42199.666

DE=desviación estándar

Según la estimación de la regresión para las co-variables estadísticamente significativas. Los sujetos fumadores (P=0.003) se asociaron significativamente con bolsas profundas. En el modelo la presencia de entéricos y Aa también se asoció significativamente con bolsas profundas (P=0.01). Ninguna otra variable fue significativa en el nivel sujeto. ([Tabla 6](#))

Tabla 6. Modelo de regresión lineal Multinivel evaluando la significancia de los parámetros en los tres niveles y explicando la variabilidad en la profundidad del sondaje

Parámetros	Profundidad Sondaje ($\beta \pm DE$)	Valor P
Nivel Sujeto		
Hábito de Fumar	-0.054 \pm 0.02	0.003
Entérico y Aa	-0.045 \pm 0.02	0.01
Edad, género		NS
Nivel Diente		
Posición del diente (posterior versus anterior)	-0.018 \pm 0.002	0.0002
Compromiso de Furcación		NS
Nivel Sitio		
Placa Bacteriana	-0.164 \pm 0.068	0.008
Sangrado al sondaje	-0.207 \pm 0.059	0.0002
Superficie (mesio-distal)	-0.096 \pm 0.008	0.008

DE=desviación estándar

NS=no significativo

En el nivel diente, los dientes anteriores presentaron menor profundidad de sondaje (P=0.0002). En el nivel sitio del diente, el modelo presentó una mayor profundidad de sondaje asociada a: sitios proximales (P=0.008), sangrado al sondaje (P= 0.0002) y presencia de placa bacteriana (P=0.008). Resultados similares se observaron cuando en el modelo multinivel se incluyó el nivel de inserción y el sangrado al sondaje como variable dependiente (datos no presentados).

DISCUSIÓN

En este estudio se investigó la relación entre entéricos y Aa con parámetros clínicos de pacientes con periodontitis crónica. La información del presente estudio puede tener implicaciones terapéuticas para el tratamiento de infecciones no orales causadas por patógenos bucales.^{1,2,6} La diseminación de los patógenos orales a otros sitios del cuerpo ocurre frecuentemente y puede causar enfermedades serias.^{1, 2, 6} Por estas razones, es pertinente el estudio de los microorganismos presentes en placa subgingival en una población en particular, para así identificar su posible impacto sobre los resultados después del tratamiento.¹¹

Esta investigación identificó entéricos en 20 (26.31%) de 76 pacientes. En Latinoamérica, se informaron frecuencias similares a las encontradas en este estudio, en poblaciones de Brasil¹² y Colombia.¹³ Estos microorganismos se observan con frecuencia en pacientes considerados clínicamente refractarios a terapias mecánicas y antibióticas convencionales.^{3- 5} Adicionalmente, muestran menos susceptibilidad a la clorhexidina¹⁴ y presentan resistencia in vitro a la mayoría de antibióticos adjuntos usados para tratar la periodontitis.^{3- 5} Se requieren estudios posteriores que permitan clarificar el efecto de los entéricos sobre los parámetros clínicos y la respuesta al tratamiento.

En la presente investigación se observó Aa en 18 (23.7%) individuos. La prevalencia observada en este estudio es similar a las frecuencias publicadas en poblaciones suramericanas, usando técnicas de cultivo (26.6 %, 26.3 %) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (23.6%).^{11- 13} Aa tiene la habilidad de sobrevivir y colonizar las bolsas periodontales, probablemente por el gran alcance de sus factores de virulencia que incluye actividad proteolítica, capacidad de modular la respuesta inmune, evasión de fagocitosis, habilidad para evadir y alterar el sistema inmune y producir destrucción periodontal.^{2, 6} Publicaciones previas demuestran que Aa es un patógeno capaz de invadir los tejidos periodontales, con resultados pobres de la terapia químico-mecánica.^{2, 6} Estudios futuros deben ser diseñados para determinar la influencia de múltiples especies subgingivales sobre la respuesta de los pacientes a la terapia periodontal.

No se conocen estudios sobre la asociación de entéricos y Aa, y su relación con parámetros clínicos. En este estudio se observó una correlación positiva altamente significativa entre entéricos y Aa ($P < 0.0001$). Botero, et al,¹³ notaron que las colonias de entéricos son de gran tamaño, indicando que estos microorganismos podrían colonizar las bolsas periodontales en altas proporciones. Por otra parte, la detección mediante PCR no tiene en consideración si la muestra es viable lo cual puede conducir a la detección de frecuencias más elevadas.¹³ D'Ercole et al¹⁴ compararon recientemente métodos de cultivos convencionales y PCR para la detección de periodontopatógenos, observando que para los dos métodos, existió un alto grado de exactitud en la determinación de Aa.

Los parámetros clínicos estudiados estuvieron significativamente incrementados en presencia de entéricos y Aa. Esta evidencia indica que los dos microorganismos se encuentran estrechamente asociados con el proceso de destrucción periodontal y

pueden estar involucrados en el curso de destrucción tisular que incluye bolsas profundas y pérdida de inserción. Diferencias en la respuesta del huésped, hábitos de higiene oral, acceso a terapia odontológica y composición microbiana pueden ayudar a explicar estas diferencias en la expresión clínica de la periodontitis en la población estudiada.¹⁵ En Latinoamérica se necesitan investigaciones más exhaustivas y metodológicamente bien diseñadas que estudien la relación entre periodontitis y variables ambientales, económicas y genéticas.¹¹

En el estudio se utilizó un modelo de regresión múltiple multinivel para analizar la influencia jerárquica de los niveles sujeto, diente y sitio sobre la profundidad de sondaje en 76 pacientes con periodontitis crónica. La mayor parte de la varianza se atribuyó al nivel sitio, seguido por el diente y el nivel paciente. Estos resultados implican que la mayor variación en PS, NIC y SS se debe a factores que actúan a nivel del sitio del diente. Estas observaciones corroboran los resultados de estudios previos donde se observó que los factores a nivel sitio presentaron un mayor impacto que las variables a nivel sujeto cuando evaluaron la relativa contribución de la variabilidad multinivel.^{7, 16} Es importante destacar que en la presente investigación la presencia de entéricos y Aa, a pesar de pertenecer a variables del nivel sujeto fueron significativas en los tres modelos estudiados, lo cual indica la importancia de este hallazgo y sus implicaciones en la terapia periodontal.

Los resultados de la investigación asociaron mayor PS, mayor pérdida del NIC y mayor frecuencia de sangrado con variables del sujeto (hábito de fumar, presencia de entéricos y Aa), variables del diente (tipo de diente) y sitio del diente (sitios proximales, presencia de placa y sangrado al sondaje), se confirmó la evidencia que indica, como las mediciones en diferentes sitios y dientes del mismo paciente no son independientes.^{7, 16}

Es importante tener en cuenta que los hallazgos de la investigación están de acuerdo con las recomendaciones de reconocidas agremiaciones científicas que sugieren una evaluación jerárquica de la enfermedad periodontal, donde se tuvieron en cuenta las características particulares del paciente.¹⁷

CONCLUSIONES

La investigación confirma que la presencia de bacilos entéricos Gram negativos y *A. actinomycetemcomitans* está relacionada con condiciones periodontales adversas. Estos resultados pueden impactar sobre el tratamiento periodontal y deben tenerse en cuenta en el tratamiento mecánico y antimicrobiano de la enfermedad periodontal en Latinoamérica. Se requieren posteriores estudios que investiguen estas variaciones geográficas en la microflora periodontal y sus implicaciones clínicas.

El modelo multinivel es un modelo analítico promisorio que por su contribución al análisis de los datos debe considerarse en el diseño de estudios epidemiológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Friedewald VE, Kornman KS, Beck JD, Genco R, Goldfine A, Libby P, et al. The American Journal of Cardiology and Journal of Periodontology editors' consensus: periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. J Periodontol. 2009; 80:1021-32.
2. Demmer RT, Papapanou PN. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. Periodontol. 2000. 2010; 53:28-44.
3. Ardila CM, Fernández N, Guzmán IC. Antimicrobial susceptibility of moxifloxacin against Gram-negative enteric rods from Colombian patients with chronic periodontitis. J Periodontol. 2010;81:292-9.
4. Listgarten MA, Lai CH. Comparative microbiological characteristics of failing implants and periodontally diseased teeth. J Periodontol. 1999; 70:431-7.
5. Walker C, Karpinia K. Rationale for use of antibiotics in periodontics. J Periodontol. 2002; 73:1188-96.
6. Armitage GC, Cullinan MP. Comparison of the clinical features of chronic and aggressive periodontitis. Periodontology 2000. 2010; 53: 12-27.
7. Tomasi C, Koutouzis T, Wennstrom JL. Locally delivered doxycycline as an adjunct to mechanical debridement at retreatment of periodontal pockets. J Periodontol. 2008; 79:431-9.
8. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol. 1999; 4:1-6.

9. Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol.* 1975; 2:126-35.
10. Moller AJ. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. Methodological studies. *Odontol Tidskr.* 1966; 74:1-380.
11. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Otero A, Jaramillo A, Silva N, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol.* 2008; 35:106-3.
12. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, Souto R, Rosalém WJ, Mendes MC, et al. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2002; 73:360-9.
13. 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.
14. D'Ercole S, Catamo G, Tripodi D, Piccolomini R. Comparison of culture methods and multiplex PCR for the detection of periodontopathogenic bacteria in biofilm associated with severe forms of periodontitis. *New Microbiol.* 2008; 31:383-91.
15. 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.
16. Tomasi C, Leyland AH, Wennstrom JL. Factors influencing the outcome of non-surgical periodontal treatment: a multilevel approach. *J Clin Periodontol.* 2007; 34:682-90.
17. Armitage GC, Offenbacher S. Consensus report on periodontal diseases: epidemiology and diagnosis. *Ann Periodontol.* 1996; 1:216-22.

Recibido: 1ro de junio de 2011

Aprobado: 16 de septiembre de 2011

Dr. Carlos Martín Ardila Medina. Email: martinardila@gmail.com