

Asociación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y microorganismos del complejo rojo con parámetros clínicos de pacientes con periodontitis crónica

*Association of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and red complex microorganisms with clinical parameters of patients with chronic periodontitis*

Dr. Carlos Martín Ardila Medina ^I; Dra. Juliana Alzate Vega ^I; Dra. Isabel Cristina Guzmán Zuluaga ^{II}

I Universidad de Antioquia, México.

II Universidad de Chile, Chile.

RESUMEN

Fundamento: en Latinoamérica se ha estudiado muy poco la asociación entre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y microorganismos del complejo rojo con los parámetros clínicos de pacientes con periodontitis crónica.

Objetivo: identificar la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythia* en pacientes con periodontitis crónica, y establecer su asociación con parámetros clínicos y hábito de fumar.

Método: se examinaron los parámetros clínicos (profundidad de bolsa, nivel de inserción, sangrado al sondaje, índice de placa y supuración) y la presencia de periodontopatógenos en 76 pacientes con periodontitis crónica en Medellín, Colombia. Las muestras subgingivales se procesaron mediante cultivo. Para determinar las diferencias de las variables clínicas y el hábito de fumar con la presencia o ausencia de periodontopatógenos se utilizaron pruebas de chi cuadrado y U de Mann-Whitney ($P < 0.05$).

Resultados: se encontró *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia* en el 23, 7 %, 64, 4 % y 40, 8 % de los pacientes respectivamente. Los sujetos que presentaron *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* mostraron peores parámetros clínicos, diferencias que fueron altamente significativas ($P < 0.0001$). *T. forsythia* se asoció significativamente con mayor profundidad de sondaje ($P = 0.02$), presencia de sangrado ($P < 0.0001$) y placa bacteriana ($P < 0.0001$). Se observó una asociación altamente significativa entre hábito de fumar y presencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* ($P < 0.0001$).

Conclusiones: *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* se asociaron con condiciones periodontales adversas. Es importante realizar exámenes microbiológicos de las poblaciones con periodontitis debido a que la composición particular de la placa subgingival puede determinar un adecuado tratamiento periodontal.

DeSC: PERIODONTITIS CRÓNICA, ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO, INTERACCIONES HUÉSPED-PATÓGENO, PORPHYROMONAS GINGIVALIS, SIGNOS Y SÍNTOMAS, MEDIOS DE CULTIVO

ABSTRACT

Background: the association between *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and red complex microorganisms with clinical parameters of patients with chronic periodontitis has been studied very little in Latin America.

Objective: to identify the presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tanerella forsythia* in patients with chronic periodontitis, and establish their association with clinical parameters and smoking.

Method: we examined clinical parameters (probing depth, attachment level, bleeding on probing, suppuration and plaque index) and the presence of periodontal pathogens in 76 patients with chronic periodontitis in Medellín, Colombia. Subgingival samples were processed by culture. Chi square and Mann-Whitney test were used to determine differences in clinical variables and smoking in the presence or absence of periodontal pathogens ($P < 0.05$).

Results: We found *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *T. forsythia* in 23, 7 %, 64, 4 % and 40, 8 % of patients respectively. Patients with *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* showed worse clinical parameters, differences were highly significant ($P < 0.0001$). *T. forsythia* was associated with significantly higher probing depth ($P = 0.02$), presence of

bleeding ($P < 0.0001$) and plaque ($P < 0.0001$). There was a highly significant association between smoking and presence of *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* ($P < 0.0001$).

Conclusions: *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *A. actinomycetemcomitans* were associated with adverse periodontal conditions. It is important to conduct microbiological tests on populations with periodontitis because the particular composition of subgingival plaque determines an appropriate periodontal treatment.

DeSC: CHRONIC PERIODONTITIS, MICROBIOLOGICAL ANALYSIS, HOST-PATHOGEN INTERACTIONS, PORPHYROMONAS GINGIVALIS, SIGNS AND SYMPTOMS, CULTURE MEDIA

INTRODUCCIÓN

La periodontitis crónica es una enfermedad inflamatoria causada por bacterias gram-negativas principalmente. Los patógenos periodontales considerados como los principales agentes causales de la periodontitis incluyen *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* (pertenecientes al complejo rojo) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.^{1, 2} Estos microorganismos expresan un número potencial de factores de virulencia e inducen mediadores inflamatorios del huésped que eventualmente conducen a destrucción de tejido conectivo y pérdida ósea alveolar.³ Algunos investigadores han demostrado que la frecuencia relativa de cada microorganismo varía entre poblaciones de diferentes orígenes geográficos, concluyendo que la prevalencia de patógenos periodontales específicos cambia entre individuos del mismo ambiente y entre distintas etnias y países.^{4, 5} La mayor parte del conocimiento disponible sobre la composición microbiana de la placa subgingival se basa en estudios realizados en Europa y Estados Unidos,^{6, 7} de tal manera que este tipo de información es limitada en países latinoamericanos.⁴ Aun cuando existen diferencias en la composición de la microflora subgingival en sujetos de varias regiones geográficas, es necesario un entendimiento de la composición bacteriana de la infección periodontal que permita el establecimiento de estrategias preventivas y terapéuticas particulares.⁴

El objetivo de esta investigación es determinar la prevalencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en placa subgingival de pacientes con periodontitis crónica, evaluando también su asociación con parámetros clínicos periodontales y hábito de fumar.

MÉTODO

Participaron en este estudio 76 sujetos sistémicamente saludables que asistieron a las clínicas odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia 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 Antioquia aprobó el diseño del estudio teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki sobre experimentación que involucra seres humanos. Participaron en esta investigación sujetos 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. También se excluyeron pacientes con ortodoncia. Después de realizar una historia clínica y un examen clínico y radiográfico completo, uno de los autores (CA) realizó todos los exámenes clínicos. Se registraron los siguientes parámetros clínicos: profundidad de sondaje, nivel de inserción clínica, sangrado al sondaje, índice de placa y supuración. La profundidad de sondaje y el nivel de inserción clínica se evaluaron 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 de la Academia Americana de Periodoncia (AAP).⁸ Se tomaron muestras microbiológicas de los pacientes en sitios con una profundidad de sondaje ≥ 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 dos 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 y se llevaron al laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia para procesarlas inmediatamente. A partir de las muestras subgingivales se hicieron cultivos microbiológicos en agar TSBV39 y en agar Brucella suplementado con sangre de cordero al 5 %, hemina y menadiona.⁹ Las cajas de agar TSBV se incubaron en una atmósfera al 5 % de CO₂ entre 3 y 5 días (permite recuperación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*). Las cajas de agar Brucella se incubaron en anaerobiosis por siete días para la recuperación de *P. gingivalis* y *T. forsythia*. La identificación se hizo teniendo en cuenta características morfológicas de las colonias y pruebas bioquímicas adicionales.¹⁰

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 utilizaron pruebas de chi cuadrado y Mann-Whitney para determinar la asociación de las variables clínicas y hábito de fumar con la presencia de los periodontopatógenos estudiados ($P < 0.05$). 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. Según las características clínicas y demográficas de los pacientes evaluados, se observó mayor pérdida de inserción ($P < 0.001$), presencia de placa bacteriana ($P < 0.001$) y supuración ($P = 0.006$) en los hombres, diferencias que fueron estadísticamente significativas. Igualmente en el sexo masculino se presentó un mayor porcentaje de fumadores ($P < 0.001$). (Tabla 1)

Tabla 1. Características clínicas y demográficas de 76 pacientes con periodontitis crónica

	Hombres	Mujeres	Valor P
Edad	47±9 años	45±8 años	0,5
Profundidad Bolsa	3,1±1,3mm	2,9±1,2mm	0,5
Nivel Inserción	3,8±1,2mm	3,3±1,6mm	<0.001
Sangrado	74%	73%	0.5
Placa	56%	48%	<0.001
Supuración	17%	13%	0.006
Hábito de Fumar	29%	18%	<0.001

±= desviación estándar

Se encontró *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T. forsythia* en el 23, 7 %, 64, 4 % y 40, 8 % de los pacientes respectivamente. Con respecto a la asociación de los parámetros clínicos y hábito de fumar con la presencia de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *T.*

forsythia en placa subgingival de pacientes con periodontitis crónica, los pacientes que presentaron *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* mostraron peores parámetros clínicos, diferencias estadísticas que fueron altamente significativas ($P < 0.0001$). Por otra parte, la presencia de *T. forsythia* se asoció significativamente con mayor profundidad de sondaje ($P = 0.02$), presencia de sangrado ($P < 0.0001$) y placa bacteriana ($P < 0.0001$). También se observó una asociación estadística altamente significativa entre hábito de fumar y presencia de *A. actinomycetemcomitans* y *P. gingivalis* ($P < 0.0001$). Por el contrario, la presencia de *T. forsythia* no presentó ninguna asociación con fumadores ($P = 0.5$). (Tabla 2), (Tabla 3), (Tabla 4)

Tabla 2. Asociación de *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) con profundidad de sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NI), sangrado, placa, supuración (SUP) y hábito de fumar (HF)

	PS	NI	Sangrado	Placa	SUP	HF
Presencia de <i>P. g</i>	3,03±1,3mm	3,59±1,8mm	44,71±38,2%	23,9±32%	0,8±0,5%	27±4%
Ausencia de <i>P. g</i>	2,78±1,2mm	3,45±1,7mm	36,77±35,9%	19,5±28%	0,3±0,3%	12±3%
Valor P	<0.0001	0.1	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

± = desviación estándar

Tabla 3. Asociación de *Tanerella forsythia* (*T. f*) con profundidad de sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NI), sangrado, placa, supuración (SUP) y hábito de fumar (HF)

	PS	NI	Sangrado	Placa	SUP	HF
Presencia de <i>T. f</i>	3,01±1,3mm	3,61±1,8mm	46±39%	24±33%	0,6±0,4 %	23±41%
Ausencia de <i>T. f</i>	2,88±1,2mm	3,45±1,6mm	35,7±34%	20,3±29%	0,7±0,5%	22±40%
Valor P	0.02	0.1	<0.0001	<0.0001	<0.0001	>0.5

± = desviación estándar

Tabla 4. Asociación de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a*) con profundidad de sondaje (PS), nivel de inserción clínica (NI), sangrado, placa, supuración (SUP) y hábito de fumar (HF)

	PS	NI	Sangrado	Placa	SUP	HF
Presencia de A. a	3,21±1,4mm	3,94±1,9mm	44,8±37,6%	25±31%	1±0,4%	39±5%
Ausencia de A. a	2,87±1,2mm	3,42±1,6mm	40,8±37,7%	21,8±33%	0,6±0,6%	17±4%
Valor P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

±= desviación estándar

DISCUSIÓN

Diferentes estudios han evaluado la distribución de los patógenos periodontales en las poblaciones del mundo, ³⁻⁷ indicando que es pertinente el estudio de la microflora subgingival presente en enfermedad periodontal de pacientes de regiones geográficas específicas, no solo para la comprensión de sus implicaciones en la patogénesis de la enfermedad periodontal sino también para identificar su posible impacto sobre los resultados después del tratamiento. ⁴ En la presente investigación se observaron peores condiciones periodontales en los hombres comparado con las mujeres. Esto puede ser debido a características personales que conduce a que los hombres consulten menos al odontólogo y al especialista en periodoncia. ¹¹ Además, el último estudio nacional de salud bucal realizado en Colombia, ¹² encontró que los hombres presentaban mayor prevalencia de enfermedad periodontal destructiva, corroborando de esta manera los hallazgos del presente estudio.

P. gingivalis fue el microorganismo que se observó con mayor frecuencia en la presente investigación (64, 4 %). Otros estudios realizados en Suramérica encontraron prevalencias similares en pacientes con periodontitis crónica. ¹³⁻¹⁵ En el presente estudio se encontró asociación entre *P. gingivalis* y condiciones clínicas desfavorables. En concordancia con este hallazgo, otros investigadores observaron asociación de este microorganismo con una mayor profundidad al sondaje. ^{14, 15}

El rango de identificación de *T. forsythia* en pacientes con periodontitis crónica varía entre 40 % y 42 % cuando se emplean técnicas de cultivo, ¹⁶ corroborando de esta forma los resultados obtenidos en el presente estudio. Por otra parte, la identificación de *A.*

actinomycescomitans varía entre el 8 % y el 57 % en diferentes poblaciones del mundo.^{3-7, 13-16}

Un estudio reciente realizado en Colombia¹⁵ encontró una prevalencia de *A. actinomycescomitans* del 16,5 %, similar a la observada en el presente estudio. Es importante tener en cuenta que *A. actinomycescomitans* ha mostrado baja respuesta a la terapia mecánica periodontal.¹⁷ En este contexto, es importante estudiar su presencia en esta población debido a que diferentes protocolos antimicrobianos se administran como terapia ajunta al rapado y alisado radicular para el tratamiento de bolsas periodontales que contienen *A. actinomycescomitans*.¹⁸

Los resultados obtenidos en la presente investigación son confirmados por varios estudios en el mundo que han observado una menor prevalencia de *A. actinomycescomitans* comparada con la de los otros dos microorganismos estudiados. Igualmente, estos estudios han corroborado la relación que existe entre estos tres microorganismos y periodontitis crónica moderada-avanzada.^{3-7, 13-16} Sin embargo, pocos estudios presentan detalladamente la asociación entre *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycescomitans* con cada uno de los parámetros clínicos periodontales. En la presente investigación se observaron asociaciones altamente significativas que indican condiciones periodontales adversas en los pacientes con periodontitis crónica que presentan estos tres microorganismos en placa subgingival. Por esta razón es fundamental conocer la composición de la microflora subgingival específica de cada región geográfica para determinar el protocolo terapéutico apropiado.

En el presente estudio se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de *P. gingivalis* y *A. actinomycescomitans* con hábito de fumar. El efecto deletéreo del hábito de fumar sobre el periodonto se ha estudiado ampliamente, observándose mayor destrucción periodontal en los fumadores.¹⁹ Igualmente el hábito de fumar parece afectar el hábitat local de los patógenos periodontales, alterando también la habilidad del huésped para controlar la infección, disminuyendo la respuesta inmune local y sistémica, produciendo gran destrucción en los tejidos periodontales,¹⁹ como se observó en la presente investigación. El hábito de fumar podría complicar la terapia periodontal ya que sería más difícil la eliminación o control de los patógenos periodontales.¹⁹

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 asociaciones en la expresión clínica de la periodontitis de la población estudiada.^{19, 20}

CONCLUSIONES

La presencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* estuvo asociada con condiciones periodontales adversas en los pacientes con periodontitis crónica de la población estudiada. Estos hallazgos resaltan la importancia de los estudios microbiológicos en los diversos grupos poblacionales, lo cual puede proporcionar resultados variables en términos de la composición de la microflora subgingival y su relación con el estado periodontal. También se observó una asociación importante de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* con hábito de fumar explicando de alguna manera la mayor destrucción periodontal de los pacientes estudiados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol* 2008;79:670-676.
2. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontology* 2006;40:50-76.
3. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol* 2008;35:346-361.
4. 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;35:106-113.
5. 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.
6. Armitage GC, Robertson PB. The biology, prevention, diagnosis and treatment of periodontal diseases: scientific advances in the United States. *J Am Dent Assoc* 2009;140(S1):36S-43S.
7. Ericsson JS, Abrahamsson KH, Ostberg AL, Hellström MK, Jönsson K, Wennström JL. Periodontal health status in Swedish adolescents: an epidemiological, cross-sectional study. *Swed Dent J* 2009;33:131-139.

8. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
9. Tsuzukibashi O, Takada K, Saito M, Kimura C, Yoshikawa T, Makimura M, et al. A novel selective medium for isolation of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res* 2008;43:544-548.
10. D'Ercole S, Catamo G, Piccolomini R. Diagnosis in periodontology: a further aid through microbiological tests. *Crit Rev Microbiol* 2008;34:33-41.
11. de Oliveira LF, Jorge AO, Dos Santos SS. In vitro minocycline activity on superinfecting microorganisms isolated from chronic periodontitis patients. *Braz Oral Res* 2006;20:202-206.
12. III National Study on Oral Health. II National Study of risk factors in chronic disease. Publication no.7. Bogotá, Colombia: Colombian Republic Ministry of Health; 1999
13. Mayorga-Fayad I, Lafaurie GI, Contreras A, Castillo DM, Barón A, Aya Mdel R. Subgingival microbiota in chronic and aggressive periodontitis in Bogotá, Colombia: an epidemiological approach. *Biomedica* 2007;27:21-33.
14. Colombo AP, Boches SK, Cotton SL, Goodson JM, Kent R, Haffajee AD, et al. Comparisons of subgingival microbial profiles of refractory periodontitis, severe periodontitis, and periodontal health using the human oral microbe identification microarray. *J Periodontol* 2009;80:1421-1432.
15. Lafaurie GI, Contreras A, Baron A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. *J Periodontol* 2007;78:629-639.
16. Teixeira RE, Mendes EN, Roque Carvalho MA, Nicoli JR, Farias Lde M, Magalhães PP. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype-specific genotypes and periodontal status in Brazilian subjects. *Can J Microbiol* 2006;52:182-188.
17. Morikawa M, Chiba T, Tomii N, Sato S, Takahashi Y, Konishi K, et al. Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex polymerase chain reaction. *J Periodontal Res* 2008; 43:268-274.
18. Ribeiro Edel P, Bittencourt S, Zanin IC, Bovi Ambrosano GM, Sallum EA, Nociti FH, et al. Full-mouth ultrasonic debridement associated with amoxicillin and metronidazole in the treatment of severe chronic periodontitis. *J Periodontol* 2009;80:1254-1264.
19. Gomes SC, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R, et al. Periodontal status in smokers and never-smokers: clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens. *J Periodontol* 2006;77:1483-1490.

20. 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;15:354-359.

Recibido: 20 de diciembre de 2009

Aprobado: 4 de marzo de 2010

Dr. Carlos Martín Ardila Medina. Especialista en Periodoncia. Especialista en Didáctica Universitaria. Universidad de Antioquia, México. *E-mail:* martinardila@gmail.com