

# Frecuencia de los genotipos de *FimA* de *Porphyromonas gingivalis* y *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal

Frequency of *FimA* Genotypes of *Porphyromonas gingivalis* and *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Diabetic Patients with Periodontal Disease

**Sandra Milena Moreno Correa**

Odontóloga, magistra en Ciencias Biomédicas, profesora de la Universidad del Valle, Cali, Colombia. Profesora asistente de la Facultad de Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia.

**Javier Enrique Botero Torres**

PhD en Ciencias Biomédicas, profesor de la Facultad de Odontología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Adriana Jaramillo Echeverry**

Odontóloga, magistra en Microbiología y Epidemiología, profesora de la Escuela de Odontología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

**Adolfo Contreras Rengifo**

Odontólogo, magister en Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia. PhD en Biología Craneofacial, Universidad del Sur de California, Estados Unidos. Director del Centro para el Desarrollo y Evaluación de Políticas y Tecnología en Salud Pública (Cedetes), Escuela Salud Pública y profesor de la Escuela de Odontología, Universidad del Valle.

## CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Moreno SM, Botero JE, Jaramillo A, Contreras A. Frecuencia de los genotipos de *FimA* de *Porphyromonas gingivalis* y *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos con enfermedad periodontal. Univ Odontol. 2015 Jul-Dic; 34(73): 129-137. <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.uo34-73.fgfp>

doi:10.11144/Javeriana.uo34-73.fgfp

Recibido para publicación: 20/01/2015

Aceptado para publicación: 10/12/2015

Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/universitasodontologica>

## RESUMEN

**Antecedentes:** *Porphyromonas gingivalis* es un patógeno cuyo principal factor de virulencia son las fimbrias, de las cuales existen 6 genotipos (*FimA I-V* y *IB*). Conocer su frecuencia y la de otros microorganismos del complejo rojo y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos y no diabéticos permite determinar el papel de la microbiota en la fisiopatología de la periodontitis en el diabético. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de 6 genotipos de *FimA* de *Porphyromonas gingivalis* y de *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos y no diabéticos con periodontitis. **Métodos:** Se seleccionaron 99 pacientes sanos sistémicamente con periodontitis y 105 pacientes diabéticos con periodontitis, a quienes se les tomaron muestras de fluido gingival crevicular. Se utilizó la técnica de RCP para detectar los genotipos de *FimA* y otros periodontopatógenos. Los datos se analizaron con las pruebas de  $\chi^2$  y Kruskal-Wallis. **Resultados:** *Porphyromonas gingivalis* resultó positiva en el 72,7 % de los pacientes no diabéticos y el 28,6 % de los diabéticos. El genotipo más frecuente en ambos grupos es *fimA II*; en menor porcentaje en los pacientes diabéticos ( $p = 0,000$ ). Hubo una alta correlación entre las muestras positivas para *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* y *Tanerella forsythia*. **Conclusión:** La frecuencia de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tanerella forsythia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* es menor en los pacientes diabéticos con periodontitis. El genotipo más frecuente en ambos grupos es *FimA II*. En general, la distribución de los genotipos de *FimA* fue heterogénea y no hubo diferencias estadísticamente significativas.

## PALABRAS CLAVE

Diabetes mellitus; fimbrias; microbiota; periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

## ÁREAS TEMÁTICAS

Medicina oral; microbiología oral; periodoncia

## ABSTRACT

**Background:** *Porphyromonas gingivalis* is a pathogen whose main virulence factor are fimbriae, of which there are 6 genotypes (*FimA I-V* and *IB*). Knowing the frequency of fimbriae and other red complex microorganisms and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in diabetic and non-diabetic patients allows understanding the role of microbiota in the pathophysiology of periodontitis in diabetics. **Objective:** To determine the frequency of 6 genotypes of *Porphyromonas gingivalis* *FimA* and *Tanerella forsythia*, *Treponema denticola* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in diabetic and non-diabetic patients with periodontitis. **Methods:** Gingival crevicular fluid samples from 99 systemically healthy patients with periodontitis and 105 diabetic patients with periodontitis were taken. PCR analysis was conducted to detect *FimA* genotypes and other periodontopathogens. Data were analyzed with Chi-square and Kruskal Wallis tests. **Results:** *Porphyromonas gingivalis* was positive in 72.7% of non-diabetic patients and 28.6% of diabetic patients. The most frequent genotype in both groups was *FimA II*, being less frequent in diabetic patients ( $p=0.000$ ). There was a high correlation between positive samples for *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* and *Tanerella forsythia*. **Conclusion:** The frequency of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tanerella forsythia*, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* was lower in diabetic patients with periodontitis. The most frequent genotype in both groups was *FimA II*. In general, the distribution of *FimA* genotypes was heterogeneous but there were no statistically significant differences.

## KEYWORDS

Diabetes mellitus; fimbriae; microbiota; periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

## THEMATIC FIELDS

Oral medicine; oral microbiology; periodontology

## INTRODUCCIÓN

Se ha establecido bien la asociación entre diabetes mellitus tipo I y tipo II y la enfermedad periodontal. Los estudios muestran una relación de doble vía en la cual la diabetes tipos I y II incrementa el riesgo para desarrollar periodontitis, y esta última puede complicar el control glucémico de los pacientes con diabetes. Incluso se ha sugerido que la periodontitis puede incrementar el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo II (1,2). Esta última hipótesis se explica por el estímulo constante de la respuesta inmune del huésped con enfermedad periodontal y las constantes bacteriemias a las cuales está expuesto (3-5). Esta relación de doble vía se evidencia en estudios que miden el impacto del tratamiento periodontal en el control de la glucemia del paciente diabético (5-8).

En cuanto a la relación de la microbiota subgingival y la diabetes, Makiura y colaboradores (9) reportaron que no hubo diferencias significantes entre los parámetros clínicos y la presencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Eikenella corrodens* (*E. corrodens*), *Treponema denticola* (*T. denticola*) y *Candida albicans* (*C. albicans*) en pacientes con diabetes y sin esta. Por su parte, Ebersole y colaboradores (10) reportaron una alta frecuencia de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* y *Campylobacter* subespecie (spp.). No encontraron diferencias entre pacientes diabéticos y sin diabetes. Un estudio reciente de nuestro grupo de investigación encontró que los pacientes diabéticos presentaron una menor frecuencia de microorganismos como *P. gingivalis*, *T. denticola* y *Tanarella forsythia* (*T. forsythia*), que los pacientes no diabéticos (11). Teniendo en cuenta los hallazgos previos, no existe un consenso sobre el papel de la microbiota subgingival, comúnmente descrita en el paciente con enfermedad periodontal, en la progresión y fisiopatología de esta enfermedad en el paciente diabético.

*P. gingivalis* es uno de los principales patógenos asociados al inicio y progresión de la enfermedad periodontal crónica y agresiva (12,13). Es un microorganismo aislado de tejidos diferentes al periodonto y al epitelio gingival, lo cual muestra su capacidad de migrar y establecerse en otros órganos y tejidos (14). Es un patógeno cuyo principal factor de virulencia son las fimbrias, de las cuales existen 6 genotipos con base en la secuencia de nucleótidos (*FimA I-V* y *IB*). Los genotipos *FimA II* y *FimA IV* se han asociado a cepas más virulentas en previos estudios; mientras que los

genotipos *FimA I* y *FimA III* se asocian a cepas poco virulentas y se aíslan en mayor frecuencia de pacientes sanos (15-19). Sin embargo, Dávila-Pérez y colaboradores (20) reportaron una mayor frecuencia del genotipo *FimA I* (cepas poco virulentas) en pacientes diabéticos en México. No se conoce en Colombia cuál es la frecuencia y distribución de los genotipos de *FimA* de *P. gingivalis*, ni la frecuencia de coinfección con microorganismos del complejo rojo y *A. actinomycetemcomitans* (patógenos comúnmente asociados a la progresión y severidad de la enfermedad periodontal) en el paciente diabético con periodontitis.

Por lo anterior, teniendo en cuenta que la periodontitis avanza más rápido y es más severa en los pacientes diabéticos, sobre todo en aquellos con pobre control de la glucemia (21,22), se hipotetiza que la microflora oral en el paciente diabético con periodontitis es más abundante y presenta genotipos de *FimA* más virulentos que en el paciente sin diabetes con periodontitis. Por lo tanto, nuestro estudio pretendió identificar los genotipos *FimA* de *P. gingivalis* y su relación con otros patógenos periodontales del complejo rojo y *A. actinomycetemcomitans* en pacientes diabéticos y no diabéticos y relacionarlos con la severidad de la enfermedad periodontal en pacientes diabéticos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio descriptivo de corte transversal en el cual se seleccionaron, por medio de un muestreo por conveniencia, 99 sujetos sin diabetes con periodontitis (con rangos de edad entre 22 y 84 años, con un promedio de edad de 43,4) y 105 sujetos con diagnóstico previo ( $\geq 2$  años) de diabetes mellitus (39 tipo I y 66 tipo II), confirmado por glucosa en ayunas  $\geq 126$  mg/dl o hemoglobina glucosilada  $\geq 6,5$  %, y enfermedad periodontal, con rangos de edad entre 19 y 76 años con un promedio de edad de 56,8.

Los pacientes se escogieron entre aquellos que consultaron en las clínicas de la Escuela de Odontología de la Universidad del Valle, en Cali, Colombia, y de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia, en Medellín, Colombia. Los pacientes aceptaron participar en el estudio por medio de la firma del consentimiento informado. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Humanos de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle y por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Antioquia. Se seleccionaron sujetos mayores de 18 años, con mínimo 15 dientes en boca, con diagnóstico de periodontitis o enfermedad gingival,

diabéticos y no diabéticos, que no hubiesen recibido tratamiento periodontal o tratamiento con antibióticos (23), corticoides o analgésicos antiinflamatorios no esteroideos al menos 3 meses antes de su inclusión en el estudio.

### Examen periodontal y toma de muestra subgingival

Se realizó un sondaje periodontal en boca completa por parte de periodoncistas previamente calibrados de acuerdo con los criterios diagnósticos de la Asociación Estadounidense de Periodoncia (AAP: American Academy of Periodontology) (24). Las medidas de profundidad al sondaje y pérdida de inserción clínica se tomaron en 6 superficies alrededor de cada diente. Las variables consideradas para el diagnóstico periodontal del paciente fueron: profundidad al sondaje (PD), inserción clínica (CAL), porcentaje de sangrado (BOP) y número de dientes. Después de remover la placa supragingival con gasas estériles, se procedió a tomar la muestra subgingival. Se introdujeron dos puntas de papel estériles en cada una de las bolsas periodontales más profundas y en el surco vestibular de los primeros molares en pacientes con enfermedad gingival. Después de un minuto, las puntas se depositaron en un Eppendorf estéril y se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el procesamiento de la muestra (16,19,20).

### Extracción de ADN y reacción en cadena de la polimerasa

La extracción del ADN bacteriano a partir de puntas de papel se realizó con el método de adsorción a sílice, de acuerdo con el protocolo de Boom, de 1989. El procedimiento de detección y genotipificación de *P. gingivalis* se llevó a cabo por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), que usa imprimadores ya descritos en la literatura (16,19,20). La extracción correcta del ADN bacteriano se confirmó con imprimadores genéricos disponibles para la detección del gen 16S rRNA. La presencia del ADN de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. denticola* y *T. forsythia* (11) se confirmó usando imprimadores específicos previamente reportados (11,17,20,25). Después, la detección de cada genotipo de *FimA* se realizó con imprimadores específicos para *FimA I*, *II*, *III*, *IV*, *V*, y *IB* (16,19,20). El ADN de las cepas de *P. gingivalis* ATCC33227 (*FimA I*), W83 (*FimA IV*), ATCC33279 (*FimA IB*) se utilizó como control positivo de estos genotipos. Para los controles positivos de los genotipos *FimA II* y *FimA III*, se utilizaron 2 aislados clínicos numerados como 486 y 723, respectivamente, que fueron tipificados y donados por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad El Bosque, de Bogotá

(26). Los controles positivos para la detección de los otros 3 patógenos periodontales fueron las cepas *A. actinomycetemcomitans* (D11-s1), *T. denticola* (ATCC 43056) y *T. forsythia* (ATCC 43037). La RCP se llevó a cabo en un termociclador marca Axiogen con los siguientes parámetros: una desnaturalización inicial a  $95^{\circ}\text{C}$  por 5 min, seguida por 35 ciclos a  $94^{\circ}\text{C}$  por 30 s,  $58^{\circ}\text{C}$  por 30 s y  $72^{\circ}\text{C}$  por 30 s y una extensión final a  $72^{\circ}\text{C}$  por 7 min, protocolo que fue estandarizado por nuestro laboratorio (25,27). Se realizó un control positivo por cada juego de imprimadores y por cada muestra. Los productos de RCP se evaluaron por electroforesis en gel de agarosa.

### Análisis estadístico

Para comparar las frecuencias de los genotipos de *FimA* y de los otros periodontopatógenos (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* y *T. denticola*), que son consideradas variables independientes, y el diagnóstico sistémico del paciente (variable dependiente) se realizó una prueba de  $\chi^2$  de Pearson. Las variables cuantitativas dependientes, como CAL y PD y BOP y número de dientes, se analizaron con la prueba estadística de Kruskal-Wallis ( $p = 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Relación entre el género y el diagnóstico periodontal con el diagnóstico sistémico

En el presente estudio se encontró un porcentaje más alto de mujeres con enfermedad periodontal en ambos grupos. Teniendo en cuenta el diagnóstico periodontal, se encontró mayor gravedad de la enfermedad en el grupo de pacientes diabéticos (tabla 1).

### Relación entre la frecuencia de *P. gingivalis* y los genotipos de *FimA* con el diagnóstico sistémico

Se encontró una mayor presencia de *P. gingivalis* en los pacientes sin diabetes, diferencias que fueron estadísticamente significativas ( $p = 0,000$ ). En relación con los genotipos de *FimA* de *P. gingivalis*, en el grupo de pacientes no diabéticos con enfermedad periodontal se observó una mayor frecuencia del genotipo *FimA II*, seguido por *FimA IB*, *FimA I*, *FimA IV* y *FimA III*. En el grupo de pacientes diabéticos la distribución fue *FimA II*, *FimA I*, *FimA III*, *FimA IB* y *FimA IV*. En ambos grupos el genotipo más frecuente fue *FimA II*, aunque hubo menor frecuencia en los pacientes diabéticos ( $p = 0,000$ ). Al comparar las frecuencias de los demás genotipos entre los dos grupos, no se encontraron diferencias significativas. El genotipo *FimA V* fue negativo en toda la muestra (tabla 2).

TABLA 1  
RELACIÓN ENTRE GÉNERO Y DIAGNÓSTICO PERIODONTAL CON DIAGNÓSTICO SISTÉMICO

Variables	Sin diabetes (%)	Diagnóstico sistémico		Total # (%)	p
		Diabetes (%)			
Género	Masculino	44 (44,4)	31 (29,5)	75 (36,8)	0,027*
	Femenino	55 (55,6)	74 (70,5)	129 (63,24)	
Diagnóstico periodontal	Gingivitis localizada	16 (16,1)	0	16 (7,8)	0,000*
	Gingivitis generalizada	42 (42,4)	0	42 (20,6)	
	Periodontitis leve	29 (29,3)	66 (62,9)	95 (46,6)	
	Periodontitis moderada	9 (9,09)	38 (36,2)	47 (23,)	
	Periodontitis severa	3 (3,03)	1 (0,95)	4 (1,9)	

\*Chi<sup>2</sup>.

TABLA 2  
RELACIÓN ENTRE FRECUENCIA DE *P. GINGIVALIS* Y GENOTIPOS DE *FIM A* CON DIAGNÓSTICO SISTÉMICO

Variable	No diabetes (%)	Diabetes (%)	Total (%)	p
<i>P. gingivalis</i>	72 (72,7)	30 (28,6)	102 (50,0)	0,000*
<i>FimA I</i>	15 (20,8)	5 (16,7)	20 (20,0)	0,629*
<i>FimA II</i>	40 (55,6)	6 (20)	46 (45,1)	0,000*
<i>FimA III</i>	4 (5,6)	5 (16,7)	9 (8,8)	0,071*
<i>FimA IV</i>	6 (8,3)	2 (6,67)	8 (7,8)	0,077*
<i>FimA IB</i>	17 (23,6)	4 (13,3)	21 (20,6)	0,242*

TABLA 3  
RELACIÓN ENTRE FRECUENCIA DE PERIODONTOPATÓGENOS Y DIAGNÓSTICO SISTÉMICO

Microorganismo	Diagnóstico sistémico		Total (%)	P
	No diabetes (%)	Diabetes (%)		
<i>T. denticola</i>	55 (55,6)	25 (23,8)	80 (39,2)	0,000*
<i>T. forsythia</i>	73 (73,7)	27 (25,7)	100 (49)	0,000*
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	20 (20)	21 (20)	41 (20)	0,971*

\*Chi<sup>2</sup>.

TABLA 4  
RELACIÓN ENTRE VARIABLES CLÍNICAS PERIODONTALES Y DIAGNÓSTICO SISTÉMICO

Variables	Diagnóstico sistémico		p
	No diabetes	Diabetes	
CAL (promedio/valores extremos)	2,89/0,7-6,8	3,01/1,25-6,41	0,6350*
PD (promedio/valores extremos)	2,95/1,2-5,9	2,61/1,3-4,54	0,00014*
BOP (promedio %)	51,78	47,2	0,2478*
Número dientes perdidos (promedio)	9	12	0,00001*

\*Chi<sup>2</sup>.

### Relación entre la frecuencia de periodontopatógenos y el diagnóstico sistémico

La frecuencia de otros patógenos periodontales como *T. denticola* y *T. forsythia* fue menor en el grupo de no diabéticos que en el grupo de diabéticos. *A. actinomycetemcomitans* tuvo una presencia baja en los dos grupos y no hubo diferencias estadísticamente significativas. En ambos grupos hubo una alta frecuencia de los microorganismos mencionados en las muestras positivas para *P. gingivalis*, que mostró una asociación estadísticamente significativa para *T. denticola* y *T. forsythia* ( $p = 0,0000$ ) (tabla 3).

### Relación entre las variables clínicas periodontales y el diagnóstico sistémico

En los pacientes diabéticos se encontró una mayor pérdida de inserción clínica ( $p = 0,6350$ ) y mayor número de dientes perdidos ( $p = 0,00001$ ) que en los pacientes no diabéticos; en este segundo grupo se observó una mayor profundidad al sondaje ( $0,00014$ ) y sangrado subgingival ( $p = 0,2478$ ) (tabla 4).

## DISCUSIÓN

Identificar la frecuencia y distribución de los genotipos de *FimA* de *P. gingivalis* y su relación con los patógenos del complejo rojo y *A. actinomycetemcomitans*, en el paciente diabético con periodontitis, permite determinar el papel de estos patógenos que comúnmente se han asociado a la severidad de la enfermedad periodontal en este tipo de paciente sistémicamente afectado. En el presente estudio se analizó la frecuencia de estos microorganismos a partir muestras de fluido gingival crevicular de pacientes con diabetes y sin esta, utilizando la prueba de RCP para detección de ADN bacteriano específico de las especies y genotipos mencionados.

Se encontró una frecuencia más baja de estos microorganismos en el grupo de diabéticos, y aun cuando hubo una mayor frecuencia del genotipo más patogénico de *P. gingivalis* (*FimA II*), su presencia fue más elevada en los pacientes sin diabetes. Ello nos llevó a rechazar la hipótesis de que “la flora patogénica comúnmente relacionada con la severidad de la enfermedad sea su causante en el paciente diabético”. La RCP es una prueba sumamente sensible y específica. Sin embargo, pudo haber sido muy útil el análisis por cultivo de las especies que se logran aislar del fluido gingival crevicular e incluso aumentar el repertorio de especies estudiadas por RCP, sobre todo aquellas que son sacarolíticas y que se relacionan con la inflamación en el tejido periodontal. Considerando las

condiciones del ambiente tisular en un paciente con este tipo de patología sistémica, esta se puede asumir como una limitación del estudio.

Con respecto a la relación entre el género y el diagnóstico periodontal con el diagnóstico sistémico, se encontró un porcentaje más alto en mujeres con enfermedad periodontal, tanto en el grupo de diabéticos como en el de no diabéticos. En el grupo de pacientes no diabéticos, el diagnóstico periodontal más frecuente fue enfermedad gingival asociada a placa generalizada; mientras que en el grupo de diabetes el diagnóstico más frecuente fue periodontitis leve (tabla 1). Esto muestra cómo en el paciente diabético hay una mayor severidad de la enfermedad periodontal, como lo reportan estudios previos (2,5,7,8), y que se atribuye posiblemente al perfil proinflamatorio sistémico presente en todo el cuadro patológico de la diabetes mellitus.

La frecuencia de *P. gingivalis* se determinó a través de la detección del gen 16sRNA con la técnica de RCP convencional, la cual se encontró más alta (72,7 %) en el grupo de no diabéticos que en el de diabéticos (30 %;  $p = 0,000$ ). Estos resultados difieren del estudio de Makiura y colaboradores (9), realizado en 30 pacientes japoneses con periodontitis y diabetes mellitus tipo II, en el cual se reporta una alta frecuencia de *P. gingivalis*, que incluso aumenta en aquellos pacientes con los valores más altos en HbA1c. Ebersole y colaboradores (10) también informan de una frecuencia más alta de *P. gingivalis* en personas diabéticas con periodontitis que en los no diabéticos con periodontitis, en un estudio realizado en individuos estadounidenses de origen hispano. Por otra parte, en población colombiana, Castrillón y colaboradores (11) encontraron una frecuencia más baja de microorganismos del complejo rojo en pacientes con periodontitis y diabetes que en los pacientes no diabéticos con periodontitis; mientras en población china Yang y colaboradores (28) no encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de *P. gingivalis* en diabéticos y no diabéticos con periodontitis crónica. En la presencia de *P. gingivalis* en el paciente con enfermedad periodontal tales diferencias pueden indicar que la colonización bacteriana no es suficiente en algunos casos y que la respuesta inflamatoria es un factor importante para el desarrollo de la enfermedad (5,7), junto con otros factores como la edad, los hábitos y el género, como lo refieren Cullinan y colaboradores (29).

En cuanto a los genotipos de *P. gingivalis*, el más frecuente en ambos grupos fue *FimA II*, en el grupo de

no diabéticos que en el grupo de diabéticos (55,6 % y 20 %, respectivamente;  $p = 0,000$ ). Ojima y colaboradores (30), en un estudio en Japón con 97 personas con diabetes tipo II, reportan una mayor frecuencia del genotipo *FimA II* en el grupo de pacientes con periodontitis (42 %), al compararse con el grupo sin periodontitis (35,7 %). Aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, usando un modelo de regresión mostraron la asociación significativa entre este genotipo y la progresión de la enfermedad periodontal, independiente del género y la edad. Makiura y colaboradores (9) reportaron una frecuencia del 33,3 % del genotipo *FimA II* en 30 pacientes japoneses con diabetes tipo II. Esta frecuencia fue más alta que la de los demás genotipos. El estudio, además, mostró una disminución importante en la ocurrencia de este genotipo después del tratamiento periodontal a las dos semanas, cuatro semanas, dos meses, cuatro meses y seis meses, y encontraron que *FimA II* se mantuvo presente en los pacientes que tuvieron los niveles más altos de HbA1c, incluso después del tratamiento periodontal.

En China, Yang y colaboradores (28) encontraron mayor proporción del genotipo *FimA II* en pacientes diabéticos con periodontitis comparado con pacientes sin diabetes con periodontitis, diferencia que fue significativa. En contraste, Dávila-Pérez y colaboradores (20), en México, reportaron una frecuencia alta de los genotipos *FimA I* y *FimA III*, los cuales corresponden a las cepas poco virulentas de *P. gingivalis*, en los pacientes con diabetes tipo II y enfermedad periodontal. En este estudio, los autores atribuyen estas diferencias a las variables étnicas y demográficas que pueden presentarse en países multirraciales, como también lo refieren Missailidis y colaboradores (19) en un estudio de genotipificación en Brasil. Esto se explica porque las poblaciones pueden cambiar sus hábitos y estilos de vida. En ello influyen factores como el tipo de alimentación, las costumbres sanitarias, el estado de pobreza, el acceso a servicios públicos y de salud, el tipo de vivienda y la cantidad de personas por habitación, lo cual puede condicionar la colonización microbiana y predispone en algunos casos a infecciones crónicas con microorganismos altamente resistentes desde etapas muy tempranas.

En nuestro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la frecuencia de los genotipos de *FimA* y la severidad de la enfermedad periodontal, tal como se reportó en un estudio previo sobre la prevalencia de estos genotipos en población colombiana (25) y posiblemente atribuido a lo

reportado por Moon y colaboradores (31), quienes observaron la reacción cruzada de los imprimadores específicos para *FimA II* con el genotipo *FimA Ib*, lo cual pudo arrojar errores en los resultados de estudios previos. Este mismo grupo en un estudio en población coreana revisó los nuevos imprimadores sintetizados para *FimA II* y encuentra que no hay diferencias en la frecuencia del genotipo y la severidad de la enfermedad, y concluyen que los resultados de estudios previos deben ser revisados y que la presencia de este genotipo en sujetos sanos podría aumentar el riesgo para el desarrollo de enfermedad periodontal. Estos resultados coinciden con nuestros hallazgos (32).

La microbiota descrita de pacientes con enfermedad periodontal incluye especies como *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans*, que son más frecuentemente aisladas del surco gingival y que se relacionan con un perfil proinflamatorio y altamente patogénico (33). En este estudio, la frecuencia de los patógenos del complejo rojo fue menor en el grupo sin diabetes que en el grupo de diabéticos. El *A. actinomycetemcomitans* tuvo una presencia baja entre los dos grupos. En ambos grupos hubo una alta frecuencia de *T. denticola* y *T. forsythia* en las muestras positivas para *P. gingivalis*, entre los cuales hubo una asociación significativa. Estos resultados son similares a los reportados por Castrillón y colaboradores (11) en población colombiana y pueden ser atribuidos a la alta disponibilidad de glucosa en el fluido gingival crevicular, como lo refiere el estudio de Ficara y colaboradores (34), lo cual puede crear un ambiente de competencia entre las especies sacarolíticas y los periodontopatógenos del complejo rojo, que son principalmente asacarolíticos y proteolíticos (11). En los estudios de Sastrowijoto y colaboradores (35), en Ámsterdam, y Tervonen y colaboradores (36), en Minnesota, se obtuvieron resultados similares.

Field y colaboradores (37) no encontraron diferencias significativas entre la microbiota del paciente diabético y no diabético con enfermedad periodontal en una población del Reino Unido. Teniendo en cuenta los resultados de los estudios previos, Casarin y colaboradores (38) compararon la microbiota subgingival de los pacientes diabéticos y no diabéticos con periodontitis en una población brasilera y encontraron diferencias significativas entre los grupos, donde los géneros *Aggregatibacter*, *Neisseria*, *Gemella*, *Eikenella*, *Selenomonas*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Streptococcus* fueron más frecuentes en los pacientes diabéticos mientras que hubo bajos porcentajes de los géneros *Porphyromonas*, *Filifactor*, *Eubacterium*, *Synergistetes*, *Tannerella* y *Treponema*.

Zhou y colaboradores (39) utilizaron tecnología de secuenciación en pacientes de origen chino, no diabéticos sin periodontitis, no diabéticos con periodontitis, diabéticos sin periodontitis y diabéticos con periodontitis. En su estudio se encontraron los géneros *Actinomyces* y *Aggregatibacter*, además de *Porphyromonas tanneriae*, *Capnocytophaga sputigena*, *T. forsythia*, y bacterias de las familias *Prevotellaceae* y *Propionibacteriaceae* en mayor proporción en los pacientes diabéticos con periodontitis al ser comparados con los no diabéticos con periodontitis, pero no se detectaron diferencias en la frecuencia de *P. gingivalis* y *T. denticola* entre estos dos grupos. Los anteriores datos sugieren que en los pacientes diabéticos el microbioma periodontal debe analizarse cuidadosamente, pues teniendo en cuenta los resultados observados y comparados con otros estudios, el ambiente tisular parece predisponer a la colonización de especies diferentes, lo cual podría impactar en los protocolos farmacológicos utilizados actualmente en el paciente diabético con enfermedad periodontal.

En los pacientes diabéticos se encontró una mayor pérdida de inserción clínica y un mayor número de dientes perdidos que en los pacientes no diabéticos, en quienes lo que más se vio afectado era la profundidad al sondaje y el sangrado subgingival. Botero y colaboradores (40) también refieren la alteración de estas dos variables (CAL y número de dientes) y su correlación positiva con aquellos pacientes que presentan más concentraciones de glucemia en la sangre. Preshaw y colaboradores (7) reportan varios estudios en pacientes adultos mayores de 40 años con diabetes tipo II y pacientes jóvenes y niños que padecen diabetes tipo I y su relación con la pérdida de inserción clínica. Gurav (5) menciona que la respuesta inflamatoria y los mediadores químicos que se ven aumentados en el paciente diabético, debido al desequilibrio en el metabolismo y a la generación de productos finales de la glicosilación (AGE), pueden predisponerlo al desarrollo de enfermedad periodontal y a su gravedad. Los AGE pueden actuar indirectamente aumentando la respuesta inflamatoria y directamente a través de sus receptores (RAGE), lo que puede inducir una disminución en la síntesis de colágeno por los fibroblastos y un aumento en la producción del ligando del receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$  (RANKL) con disminución de la expresión de osteoprotegerina (41). Ello lleva a una mayor pérdida de hueso alveolar, como se ha observado en el modelo animal en ratones diabéticos estimulados con *P. gingivalis* (42).

## Consideraciones clínicas

Los resultados de este estudio aportan a los datos que se conocen acerca de la microbiota oral del paciente diabético y al entendimiento de los cambios biológicos y fisiopatológicos que ocurren en los niveles celular y tisular que impactan en el tipo de especies que pueden estar relacionadas con el proceso salud-enfermedad. De tal manera, a futuro, con la ayuda de más estudios en este campo, se podrían modificar los protocolos farmacológicos y terapéuticos actualmente utilizados en los pacientes diabéticos con enfermedad periodontal.

## CONCLUSIONES

La frecuencia de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* es menor en los pacientes diabéticos con enfermedad periodontal cuando se comparan con los no diabéticos con enfermedad periodontal. El genotipo más frecuente en ambos grupos es *FimA II*, que se encuentra en menor porcentaje en los pacientes diabéticos ( $p = 0,000$ ). No hubo diferencias significativas en la distribución de los genotipos de *FimA* entre los diferentes diagnósticos periodontales.

## RECOMENDACIONES

Llevar a cabo más estudios microbiológicos en los que se integren el cultivo y la RCP específica para especies sacarolíticas subgingivales y, así, determinar el papel de la microbiota subgingival en el paciente diabético para, en un futuro, aportar a las estrategias de tratamiento farmacológico.

## REFERENCIAS

1. Bandyopadhyay D, Marlow N, Fernandes J, Leite R. Periodontal disease progression and glycaemic control among Gullah African Americans with type-2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010; 37(6): 501-9.
2. Ameet MM, Avneesh HT, Babita RP, Pramod P. The relationship between periodontitis and systemic diseases - hype or hope? *J Clin Diagn Res.* 2013; 7(4): 758-62.
3. Xiong X, Elkind-Hirsch K, Vastardis S, Delarosa R, Pridjian G, Buekens P. Periodontal disease is associated with gestational diabetes mellitus: a case-control study. *J Periodontol.* 2009; 80(11): 1742-9.
4. Fernandes J, Wiegand R, Salinas C, Grossi S, Sanders J, Lopes-Virella M, Slate E. Periodontal disease status in Gullah African Americans with type 2 diabetes living in South Carolina. *J Clin Periodontol.* 2009; 80(7): 1062-8.
5. Gurav A. Periodontitis and insulin resistance: casual or causal relationship? *Diabetes Metab J.* 2012; 36: 404-11.
6. Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Spessot A, Qu W,

- Kislinger T, Lu Y, Stern DM, Schdmidt A. Blockade of RAGE suppresses periodontitis-associated bone loss in diabetic mice. *J Clin Invest*. 2000; 105: 757-64.
7. Preshaw P, Alba A, Herrera D, Jepsen S, Konstantinidis A, Makrilakis K, Taylor R. Periodontitis and diabetes: a two-way relationship. *Diabetol*. 2012; 55: 21-31.
  8. Sgolastra F, Severino M, Pietropaoli D, Gatto R, Monaco A. Effectiveness of periodontal treatment to improve metabolic control in patients with chronic periodontitis and type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Periodontol*. 2013; 84(7): 958-73.
  9. Makiura N, Ojima M, Kou Y, Furuta N, Okahashi N, Shizukuishi S, Amano A. Relationship of *Porphyromonas gingivalis* with glycemic level in patients with type 2 diabetes following periodontal treatment. *Oral Microbiol Immunol*. 2008; 23: 348-51.
  10. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic Americans with type 2 diabetes. *J Periodontol*. 2008; 79: 637-46.
  11. Castrillón C, Hincapié J, Yepes F, Roldán N, Moreno SM, Contreras A, Botero JE. Occurrence of red complex microorganisms and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in patients with diabetes. *J Investig Clin Den*. 2015; 6(1): 25-31.
  12. Slots J, Ting M. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in human periodontal disease: occurrence and treatment. *Periodontol* 2000. 1999; 20: 82-121.
  13. Furuichi Y. Periodontal status and serum antibody titers for *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in a rural population in Japan. *J Clin Periodontol*. 2001; 28: 264-9.
  14. Hajishengallis G. *Porphyromonas gingivalis*-host interactions: open war or intelligent guerilla tactics? *Microbes Infect*. 2009; 11: 637-45.
  15. Wang M, Liang S, Hosur KB, Domon H, Yoshimura F, Amano A, Hajishengallis G. Differential virulence and innate immune interactions of type I and II fimbrial genotypes of *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 2009; 24(6): 478-84.
  16. Amano A, Nakagawa I, Okahashi N, Hamada N. Variations of *Porphyromonas gingivalis* fimbriae in relation to microbial pathogenesis. *J Periodontal Res*. 2004; 39: 139-42.
  17. Nishiyama S, Murakami Y, Nagata H, Shizukuishi S, Kawagishi I, Yoshimura S. Involvement of minor components associated with the fimA fimbriae of *Porphyromonas gingivalis* in adhesive functions. *Microbiol*. 2007; 153: 1916-25.
  18. Enersen M, Olsen I, Kvalheim O, Caugant D. FimA genotypes and multilocus sequence types of *Porphyromonas gingivalis* from patients with periodontitis. *J Clin Microbiol*. 2008; 46: 31-42.
  19. Missailidis CG, Umeda JE, Ota-Tsuzuki C, Anzai D, Mayer MPA. Distribution of fimA genotypes of *Porphyromonas gingivalis* in subjects with various periodontal conditions. *Oral Microbiol Immunol*. 2004; 19: 22-9.
  20. Dávila-Pérez C, Amano A, Alpuche-Solis AG, Patiño-Marín N, Pontigo-Loyola AP, Hamada S, Loyola-Rodríguez JP. Distribution of genotypes of *Porphyromonas gingivalis* in type 2 diabetic patients with periodontitis in Mexico. *J Clin Periodontol*. 2007; 34: 25-30.
  21. Jindal A, Parihar AS, Sood M, Singh P, Singh N. Relationship between severity of periodontal disease and control of diabetes (glycated hemoglobin) in patients with type 1 diabetes mellitus. *J Int Oral Health*. 2015; 7(2): 17-20.
  22. Sonnenschein SK, Meyle J. Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontol* 2000. 2015; 69(1): 221-54.
  23. Marsh PD. The commensal microbiota and the development of human disease--an introduction. *J Oral Microbiol*. 2015 Sep 18; 7: 29128.
  24. Armitage G. Diagnóstico y clasificación de las enfermedades periodontales. *Periodontol* (ed. Esp.). 2000. 2005; 9: 9-21.
  25. Moreno S, Jaramillo A, Parra B, Botero JE, Contreras A. *Porphyromonas gingivalis* Fim-A genotype distribution among Colombians. *Colomb Med*. 2015; 46(3): 122-7.
  26. Pérez-Chaparro PJ, Lafaurie GI, Gracieux P, Meuric V, Tamanai-Shacoori Z, Castellanos JE, Bonnaure-Mallet M. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* fimA genotypes in isolates from subgingival plaque and blood sample during bacteremia. *Biomedica*. 2009; 29(2): 298-306.
  27. Moreno S, Parra B, Contreras A. Genotipificación *Porphyromonas gingivalis*-fimA: estandarización del método. *Rev Colom Inv Odontol*. 2014; 5(13): 11- 21.
  28. Yang BT, Xu JL, He L, Meng HX, Xu L. *Porphyromonas gingivalis* FimA genotype distribution among periodontitis patients with type 2 diabetes. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2016 Jan; 51(1): 20-4.
  29. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Plamer JE, Faddy MJ, Lang NP, Seymour GJ. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population. *J Clin Periodontol*. 2001; 28: 1137-44.
  30. Ojima M, Takeda M, Yoshioka H, Nomura M, Tanaka N, Kato T, Shizukuishi S, Amano A. Relationship of periodontal bacterium genotypic variations with periodontitis in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2005; 28(2): 433-4.
  31. Moon JH, Shin SI, Chung JH, Lee SW, Amano A, Lee JY. Development and evaluation of new primers for PCR-based identification of type II fimA of *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2012; 64: 425-8.
  32. Moon JH, Herr Y, Lee HW, Shin SI, Kim C, Amano A, Lee, JY. Genotype analysis of *Porphyromonas gingivalis* fimA in Korean adults using new primers. *J Med Microbiol*. 2013; 62: 1290-4.
  33. Contreras A, Moreno S, Jaramillo A, Peláez M, Duque A, Botero JE, Slots J. Periodontal microbiology in Latin America. *Periodontol* 2000. 2015; 67: 58-86. <http://doi.org/10.1111/prd.12074>.
  34. Ficara AJ, Levin MP, Grower MF, Kramer GD. A comparison of the glucose and protein content of gingival fluid from diabetics and nondiabetics. *J Periodontal Res*.



- 1975; 10: 171-5.
35. Sastrowijoto SH, Hillemans P, van Steenberg T, Abraham-Inpijn L, de Graaff J. Periodontal condition and microbiology of healthy and diseased periodontal pockets in type 1 diabetes mellitus patients. *J Clin Periodontol.* 1989; 16: 316-22.
  36. Tervonen T, Oliver RC, Wolff LF, Bereuter J, Anderson L, Aepli DM. Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 1994; 21: 375-9.
  37. Field CA, Gidley MD, Preshaw PM, Jakubovics N. Investigation and quantification of key periodontal pathogens in patients with type 2 diabetes. *J Periodontol Res.* 2012; 47: 470-8.
  38. Casarin RCV, Barbagallo A, Meulman BT, Santos VR, Sallum EA, Nociti FH, Duarte PM, Casati MZ, Gonçalves Alves RB. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *J Periodont Res.* 2013; 48: 30-6.
  39. Zhou M, Rong R, Munro D, Zhu C, Gao X, Zhang Q, Dong Q. Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16SrDNA pyrosequencing. *PLoS One.* 2013; 8 (4): e61516.
  40. Botero JE, Yepes F, Roldán N, Castrillón C, Hincapié J, Ochoa S, Ospina CA, Becerra MA, Jaramillo A, Gutiérrez SJ, Contreras A. Tooth and periodontal clinical attachment loss are associated with hyperglycemia in patients with diabetes. *J Periodontol.* 2012; 83(10): 1245-50.
  41. Sonnenschein SK, Meyle J. Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontol.* 2000. 2015; 69(1): 221-54.
  42. Lalla E, Papapanou P. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2011; 7: 738-48.

## CORRESPONDENCIA

Sandra Milena Moreno Correa  
sandra.m.moreno@correounivalle.edu.co

Javier Enrique Botero Torres  
[drjavo@yahoo.com](mailto:drjavo@yahoo.com)

Adriana Jaramillo Echeverry  
adriana\_jaramillo\_echeverry@hortmail.com

Adolfo Contreras Rengifo  
[adolfofoco@yahoo.com](mailto:adolfofoco@yahoo.com)

