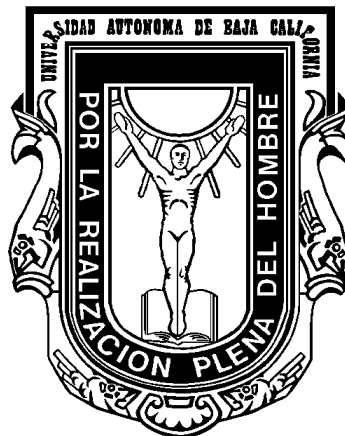


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ENFERMERÍA, MEXICALI**



TÍTULO

**PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBINA DE ESPECIES DE
ENTEROBACTERIAS EN BOLSAS PERIODONTALES DE PACIENTES CON
PERIODONTITIS CRÓNICA CONFIRMADA**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**SUSTENTA
BIOL. ANGÉLICA HURTADO CAMARENA**

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. YOLANDA BOJÓRQUEZ ANAYA**

**CO DIRECTOR DE TESIS
DRA. MARÍA DE LOURDES MONTAÑO PÉREZ**

MEXICALI BAJA CALIFORNIA ENERO 2017

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ENFERMERÍA, MEXICALI**



TÍTULO

**PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBINA DE ESPECIES DE
ENTEROBACTERIAS EN BOLSAS PERIODONTALES DE PACIENTES CON
PERIODONTITIS CRÓNICA CONFIRMADA**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**SUSTENTA
BIOL. ANGÉLICA HURTADO CAMARENA**

**DIRECTOR DE TESIS
DRA. YOLANDA BOJÓRQUEZ ANAYA**

**CO DIRECTOR DE TESIS
DRA. MARÍA DE LOURDES MONTAÑO PÉREZ**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ENFERMERÍA, MEXICALI

CARTA DE DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS PARA SUSTENTAR EL
EXAMEN DE GRADO

Mexicali, B.C. 16 de enero de 2017.

Los abajo firmantes miembros del Comité de Titulación nombrado por el Comité de Estudios de Posgrado de la Facultad de Enfermería, en respuesta a su solicitud para revisar la tesis:


"PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE ESPECIES DE ENTEROBACTERIAS EN BOLSAS PERIODONTALES DE PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA CONFIRMADA."

Presentada por la BIOL. ANGÉLICA HURTADO CAMARENA para presentar examen y obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud, le comunicamos que cumple con los requisitos de contenido y presentación establecidos por este Comité, por lo tanto el dictamen que emitimos es de:


APROBADO

Por lo que puede proceder a la etapa de presentación y defensa del mismo.

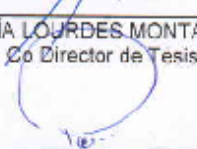
Atentamente
Comité de Titulación



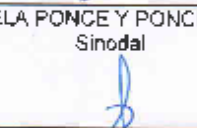
DRA. YOLANDA BOJÓRQUEZ ANAYA
Directora de Tesis



DRA. MARÍA LOURDES MONTAÑO PÉREZ
Co Directora de Tesis



DRA. GISELA PONCE Y PONCE DE LEÓN
Sinodal



DRA. ADRIANA CAMARGO BRAVO
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi directora y codirectora de tesis por su tiempo y orientación para realizar este trabajo.

Un agradecimiento muy especial al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Mexicali de la UABC, por el apoyo brindado para culminar este proyecto. Especialmente, mil gracias al Dr. Rafael Martínez Miranda quien desinteresadamente me apoyo en todo momento.

También, mi gratitud para Edel Sánchez Martínez y Cesar Efrén Herrera Herrera pasantes de la carrera de odontología quienes apoyaron constantemente durante el desarrollo de este proyecto.

DEDICATORIAS

Con todo mi corazón dedico esta tesis a mi esposo Leonardo, quien día a día me ha alentado y apoyado a seguir adelante y a mi guerrera incansable Paula Nareli, mi luz, mi fuerza mi amor incondicional, a quien probablemente mi ausencia por este proyecto le ha mermado momentos de juegos y risas que tanto amo.

ABREVIATURAS

AMC: Amoxicilina/ Ácido clavulánico

AN: Amikacina

API: Analytical Profile Index

AZM: Azitromicina

BHI: Brain Heart Infusion (Infusión Cerebro Corazón)

°C: Grados Centígrados

CIP: Ciprofloxacina

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CRO: Ceftriaxona

CXM: Cefuroxima

Biofilm: Superficie adherente formada por microorganismos, agua y matriz extracelular.

EMB: Eosin Methylene Blue (Eosina y Azul de Metileno)

FOM: Facultad de Odontología Mexicali

FOS: Fosfomicina

H₂S: Ácido Sulhídrico

IPM: Imipenem

LIA: Lisina Hierro Agar

MI: Minociclina

mm: milímetros

MRVP: Rojo de Metilo- Voges Proskauer

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

OMS: Organización Mundial de la Salud

RAM: Resistencia a los Antimicrobianos

SIM: Sulfuro, Indol, movilidad

SPSS: Statistical Package for Social Science (Paquete Estadístico para Ciencias Sociales)

Spp: Especies

TSI agar: Triple Sugar Iron Agar (agar triple azúcar hierro)

UABC: Universidad Autónoma de Baja California

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

ÍNDICE

Agradecimientos	i
Dedicatorias	ii
Abreviaturas	iii
Índice	iv
Índice de tablas	vi
Índice de gráficas	viii
Índice de figuras	ix
Resumen	x
Abstract	xi
Introducción	xii
CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 Planteamiento del problema	2
1.2 Justificación	6
1.3 Objetivos	8
1.4 Hipótesis	8
1.5 Variables	8
1.6 Operacionalización	9
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	11
2.1 Generalidades de la enfermedad periodontal y su causalidad	12
2.2 Identificación de la familia <i>Enterobacteriaceae</i>	13
2.3 Prevalencia de especies de enterobacterias	13
2.4 Susceptibilidad antimicrobiana	14
2.5 Estudios relacionados	15
CAPÍTULO III METODOLOGÍA	18
3.1 Tipo de estudio	19
3.2 Población, muestra y descripción de participantes	19
3.3 Instrumentos	20
3.4 Procedimientos de recolección de datos	23
3.5 Análisis de datos	27
3.6 Consideraciones éticas	28
CAPÍTULO IV RESULTADOS	29
CAPÍTULO V DISCUSIÓN DE RESULTADOS CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
5.1 Discusión	49
5.2 Conclusión	54
5.3 Recomendaciones	55

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	60
Anexo 1 Carta de consentimiento informado para participación en protocolos de investigación.	61
Anexo 2 Cédula de datos personales y datos de observación en el laboratorio.	62
Anexo 3 Instrumento de medición para identificación de enterobacterias.	63
Anexo 4 Instrumento para sensibilidad antimicrobiana.	64
Anexo 5 Criterios de interpretación de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana diámetro en mm	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de las variables.....	9
Tabla 2.	Prevalencia de la familia <i>Enterobacteriaceae</i> a nivel mundial.....	13
Tabla 3.	Grupos de antimicrobianos utilizados en la familia <i>Enterobacteriaceae</i> en diferentes estudios.....	15
Tabla 4.	Características del set de pruebas bioquímicas para enterobacterias.....	22
Tabla 5.	Método de inoculación de pruebas bioquímicas.....	25
Tabla 6.	Antimicrobianos utilizados en este estudio para la familia <i>Enterobacteriaceae</i> y su mecanismo de acción.....	27
Tabla 7.1.	Sexo de los pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Baja California, 2015-2016.....	30
Tabla 7.2.	Frecuencia de edad de los pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, Universidad Autónoma de Baja California, 2015- 2016.....	31
Tabla 7.3.	Pacientes con periodontitis crónica y hábito de tabaco de la Clínica Calafia de la FOM, UABC, 2015-2016.....	31
Tabla 7.4.	Dientes derechos más frecuentes con bolsas periodontales de pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.....	32
Tabla 7.5.	Profundidad de bolsas periodontales en mm de dientes derechos de los pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.....	33
Tabla 7.6.	Frecuencia de sangrado de bolsas periodontales derechas durante la toma de muestra a los pacientes con periodontitis crónica, 2015-2016.....	35
Tabla 7.7.	Frecuencia de pérdida de inserción de los dientes de lado derecho en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.....	36
Tabla 7.8.	Sitio de aislamiento dental más frecuente del lado izquierdo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	37
Tabla 7.9.	Frecuencia de profundidad de bolsas periodontales izquierdas en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	38
Tabla 7.10.	Presencia de sangrado en bolsas periodontales durante el muestreo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	39
Tabla 7.11.	Pérdida de inserción de los dientes de lado izquierdo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	39
Tabla 7.12.	Desarrollo de Enterobacterias en agar Mac Conkey aisladas de pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.....	40

Tabla 7.13.	Muestras positivas para especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de a FOM, 2015-2016.....	43
Tabla 7.14.	Prevalencia de especies de enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.....	43
Tabla 7.15.	Susceptibilidad antimicrobiana de especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de a FOM, 2015-2016.....	46
Tabla 7.16.	Datos estadísticos de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016.....	47
Tabla 7.17.	Prueba estadística Chi-cuadrada con bondad de ajuste de enterobacterias y pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC; 2015-2016.....	47

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Pacientes con hábito de tabaco de la Clínica Calafia en la FOM, UABC, 2015-2016.....	32
Gráfica 2.	Frecuencia de dientes derechos con bolsas periodontales de pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.....	33
Gráfica 3.	Profundidad en mm de bolsas periodontales en dientes derechos de los pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.....	34
Gráfica 4.	Porcentaje de sangrado durante el sondeo en bolsas periodontales derechas de pacientes de la FOM, UABC, 2015-2016.....	35
Gráfica 5.	Porcentaje de pérdida de inserción del lado derecho de pacientes de la FOM, UABC, 2015-2016.....	36
Gráfica 6.	Frecuencia de aislamiento de dientes de lado izquierdo en pacientes con 7periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	37
Gráfica 7.	Frecuencia de profundidad de bolsa periodontal izquierda en mm en pacientes de la FOM, 2015-2016.....	38
Gráfica 8.	Porcentaje de sangrado del lado izquierdo durante el sondaje en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016...	39
Gráfica 9.	Porcentaje de pérdida de inserción lado izquierdo de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.....	40
Gráfica 10.	Prevalencia de enterobacterias en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016.....	41
Gráfica 11.	Frecuencia de especies de enterobacterias por género en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Paciente con periodontitis crónica.....	30
Figura 2.	Sondeo en bolsa periodontal de un paciente de la FOM, 2015-2016...	34
Figura 3.	Placa Petri con desarrollo microbiano en agar Mac Conkey.....	42
Figura 4.	Set de pruebas bioquímicas para enterobacterias.....	44
Figura 5.	Prueba de difusión por disco <i>Klebsiella pneumoniae</i>	47

RESUMEN

Introducción: La periodontitis crónica es una enfermedad inflamatoria de los tejidos del periodonto es de origen multifactorial y es la segunda causa de pérdida parcial o total de la dentadura en adultos a nivel mundial. Los principales agentes etiológicos de este padecimiento, son algunas especies de bacterias anaerobias. No obstante, en los últimos años se han aislado especies de enterobacterias de bolsas periodontales y se les atribuye la progresión y persistencia de la enfermedad, así como la recurrencia de la misma; puesto que presentan una alta resistencia a antibióticos. **Objetivo:** el presente estudio determinó la prevalencia y susceptibilidad a antimicrobianos de especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales, de los pacientes con enfermedad periodontal crónica, que acudieron a solicitar atención odontológica a las clínicas de enseñanza de la Facultad de Odontología Mexicali (FOM) durante el periodo 2015-1 a 2016-1. **Metodología:** Este estudio fue descriptivo, observacional y transversal y el muestreo no probabilístico por conveniencia. Es importante señalar que la muestra solo fue conformada por pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, a quienes se les realizó un muestreo en placa bacteriana subgingival en bolsas periodontales mayores o iguales a 5 mm. Para dar continuidad, se aislaron las bacterias en agar Mac Conkey, ENDO, Muller Hinton y Cromagar; a las colonias sospechosas se les realizó tinción de Gram y prueba de oxidasa. Posteriormente, fueron identificadas las especies de esta familia, utilizando el sistema de identificación tradicional de bioquímica en tubo. Por último, se determinó la susceptibilidad de las cepas a diferentes antibióticos por medio de la técnica Kirby Bauer. **Resultados:** Se obtuvieron 42 muestras. El promedio de edad fue 46.12 ± 10.58 años. Las especies de enterobacterias encontradas fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Klebsiella pneumoniae*. Con una prevalencia de 9.3%. En cuanto a susceptibilidad a antibióticos, se encontró resistencia a Eritromicina, Clindamicina y Azitromicina y todas fueron sensibles a Amox/Ac-Clav, Ciprofloxacina, Amikacina, Imipenem y Ceftriaxona. Finalmente, la Minociclina, Cefuroxima y Fosfomicina mostraron efectos variables. **Conclusiones:** Los resultados muestran evidencia que compromete al odontólogo a considerar la probable infección por bacilos Gram negativos en la población con periodontitis crónica y la necesidad de prescribir antibióticos asertivos durante el tratamiento.

Palabras clave: periodontitis crónica, enterobacterias, susceptibilidad antimicrobiana

ABSTRACT

Introduction: Chronic periodontitis is an inflammatory disease of the periodontal tissue is multifactorial in origin and is the second leading cause of partial or total loss of teeth in adults worldwide. The main etiologic agents of this disease are some species of anaerobic bacteria. However, in recent years isolated enterobacterial species periodontal pocket they are and are credited with the progression and persistence of the disease and recurrence thereof; because they have high resistance to antibiotics. **Objective:** This study determined the prevalence and antimicrobial susceptibility of species of Enterobacteriaceae isolated from periodontal pockets of patients with chronic periodontal disease who came to seek dental care clinics teaching at the School of Dentistry Mexicali (FOM) for 2016-1 2015-1 to the period. **Methodology:** This study was descriptive, observational and cross-sectional and non-probability sampling for convenience. It is important to note that only the sample was composed of patients who met the inclusion criteria. Those who, underwent a sampling subgingival plaque in periodontal pockets greater than 5 mm. To continue, bacteria were isolated in agar Mac Conkey, ENDO, Muller Hinton and Cromagar; the suspect colonies underwent Gram stain and oxidase test. They were later identified species of this family, using the traditional system of identification of biochemical tube. Finally, the susceptibility of strains to various antibiotics by Kirby Bauer technique was determined. **Results:** 42 were obtained. The mean age was 46.12 ± 10.58 years. *Enterobacteriaceae* species found were *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae*. With a prevalence of 9.3%. As for susceptibility to antibiotics, resistance was found to erythromycin, clindamycin and azithromycin and all were sensitive to Amox / Ac-Clav, ciprofloxacin, amikacin, imipenem and ceftriaxone. Finally, minocycline, Cefuroxime and Fosfomicina showed variable effects. **Conclusions:** The results show evidence that commits the dentist to consider the probable infection Gram negative bacilli in the population with chronic periodontitis and the need to prescribe antibiotics during treatment assertive.

Key words: chronic periodontitis, enterobacterias, susceptibility antimicrobial

INTRODUCCIÓN

Actualmente, existe un gran interés en el campo de la odontología por preservar la salud bucal del paciente de manera integral y uno de los objetivos principales es que el paciente conserve su dentadura completa en medida de lo posible, “salvar el diente” es primordial. Lo anterior, ha permitido a la periodoncia auxiliarse de otras áreas como lo es la microbiología, para la identificación de microorganismos asociados a enfermedades periodontales.

Las enfermedades periodontales incluyen a la gingivitis y la periodontitis, ambas inflaman e infectan los tejidos del periodonto. Mundialmente se ha demostrado que la periodontitis crónica es una de las enfermedades infecciosas más comunes de la cavidad oral.² La formación y el acumulo de la placa bacteriana, induce a la formación de bolsas periodontales como resultado de la pérdida de inserción y pérdida ósea. Se sabe que este padecimiento es de origen multifactorial, sin embargo los agentes etiológicos presentes en la placa bacteriana son la principal causa el inicio de la enfermedad.

En el micro hábitat de la cavidad oral se han encontrado más de 700 especies de bacterias.⁹ Sin embargo, algunas bacterias anaerobias estrictas como: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedius*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedius*, *Tannerella forsythia* son consideradas periodontopatógenas.^{11, 12, 13, 14,15} No obstante, recientemente otras bacterias como los bacilos entéricos Gram negativos o enterobacterias están siendo investigadas por la relación etiológica que pudiese existir con la periodontitis.^{9-10,18,29-20,36-38,42,44,46,48} Algunas de las especies de la familia *Enterobacteriaceae* que han sido aisladas de bolsas periodontales son *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Enterobacter cloacae* entre otras.

A pesar de que, las enterobacterias son consideradas patógenas oportunistas e inusuales en bolsas periodontales algunos autores han reportado que son las responsables de la progresión y persistencia de la enfermedad periodontal.^{10,40} Asimismo, es importante hacer énfasis en la resistencia a los antimicrobianos que la mayoría de las enterobacterias presenta. Por ejemplo, *Klebsiella pneumoniae* actualmente en algunos países representa un riesgo de infección mortal por la falta de antimicrobianos eficaces para esta especie.⁵⁵ Adicionalmente, se ha documentado que la familia *Enterobacteriaceae*

presenta una prevalencia variable en diversos países que va de un rango del 0-92% en pacientes con periodontitis crónica.^{12,18,19,20,21,23-24,30}

Por lo anterior, se consideró importante estudiar la presencia de microorganismos inusuales como enterobacterias en bolsa periodontales y determinar el perfil antimicrobiano de dichos microorganismos aislados de pacientes con periodontitis crónica de la Facultad de Odontología de Mexicali de la Universidad Autónoma de Baja California.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Las enfermedades periodontales constituyen un problema de salud pública, estando en estudios de prevalencia a nivel mundial como la mayor causa de pérdida dental en adultos, después de las caries. Las enfermedades periodontales representan un problema de salud pública en el mundo.¹ Estudios de prevalencia a nivel mundial consideran dicha enfermedad como la mayor causa de pérdida dental en adultos después de la caries dental. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), del 15 al 20% de personas adultas en edades que oscilan entre los 33 a 44 años padecen de enfermedad periodontal, y solo el 2% de estos individuos son afectados durante la pubertad a nivel mundial.² En Estados Unidos de América los adultos de 30 años o mayores padecen algún tipo de enfermedad periodontal, la prevalencia es de 47.2%.³

En México la gingivitis y las enfermedades periodontales ocuparon el segundo lugar de las veinte principales causas de enfermedades no transmisibles en 2011 presentándose 658, 416 casos.⁴ El Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) registró en el 2014 que el 58.7% de la población que asistió a las instituciones de salud en México padecía alguna enfermedad periodontal.⁵ Dichos padecimientos fueron la quinta de las veinte principales causas de enfermedad en Baja California, con una incidencia de 29099 casos nuevos en el año 2015. El grupo de edad con mayor incidencia fue de 25-44 años con 10142 casos. Las mujeres fueron las más afectadas con 6569 casos y 3773 los hombres.⁶

La prevalencia de la enfermedad periodontal se asocia comúnmente con la región geográfica. Es una enfermedad crónica inflamatoria y de origen multifactorial, en la cual intervienen factores inherentes al huésped como son: fumar, la dieta, los hábitos de higiene bucal, raza, edad, sexo, diabetes mellitus, anticonceptivos orales, obesidad, nivel educativo,⁷ y los factores de riesgo locales como la placa bacteriana y la presencia de bacterias patógenas específicas de las periodontopatías. Los agentes etiológicos tienen gran relevancia en este padecimiento, debido a que la periodontitis crónica es una enfermedad infecciosa caracterizada por la formación de bolsas provocando la inflamación de los tejidos de soporte de la dentadura, pérdida del tejido óseo y pérdida de inserción.⁸

Por medio de distintos métodos se ha logrado aislar e identificar aproximadamente 700 especies de bacterias que habitan la cavidad bucal, se estima que más de 400 se podrían habitar las bolsas periodontales, pero solo el 50% ha tenido desarrollo en medios de cultivo.^{9,10}

Se han considerado a los microorganismos anaerobios como principales agentes etiológicos de periodontopatías, siendo las especies más frecuentes: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* entre otras.^{11, 12, 13, 14,15}

Asimismo, se ha reportado el aislamiento de especies aerobias facultativas de bolsas periodontales que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae.^{10,15-18} Algunas especies de enterobacterias, también han sido consideradas patógenos oportunistas en dicha enfermedad o bien como un factor importante que impide que el tratamiento periodontal sea exitoso debido a que estos bacilos Gram negativos generalmente poseen resistencia a una gran variedad de antibióticos.¹⁹

La prevalencia de bacilos entéricos en bolsas periodontales varía de acuerdo a las regiones geográficas, tal como se evidencia a continuación: En Rumania se han aislado enterobacterias en el 61.14%¹² de los pacientes con periodontitis, en Suecia 34.9 %, España 0 %, en China 57 %, ²¹ en Sudán 92%,²² en Estados Unidos de América 14%²⁰ y en América latina también se han realizado estudios de prevalencia de enterobacterias en donde se han reportado los siguientes porcentajes: República Dominicana 66.6%²³, Colombia 36% y Chile 17%.^{12,18-23} En México hasta el momento no se han registrado publicaciones donde se señale la prevalencia de microorganismos entéricos en pacientes con enfermedades periodontales.

En varios países se han realizado estudios de identificación de periodontopatógenos.²⁴⁻²⁶ Latinoamérica no ha sido la excepción, distintos autores han estudiado y documentado la importancia y la prevalencia de los microorganismos más frecuentes en bolsas periodontales.²⁷ En este padecimiento infeccioso las bacterias anaerobias como *Prevotella* y *Porphyromonas* entre otras, favorecen al inicio de la infección y se ha reportado que las enterobacterias son responsables del avance de la periodontitis crónica y la inefectividad de la terapia periodontal, debido a su elevada virulencia, multiresistencia antibiótica²⁸⁻³⁰ y poca susceptibilidad a la clorhexidina.²⁰ Además, estos

bacilos entéricos se han aislado de biopsias vasculares de pacientes con periodontitis crónica.³¹

Las periodontitis crónicas que no son detectadas a tiempo se pueden complicar e incrementar el daño a los tejidos periodontales provocando la pérdida de hueso y como resultado final la pérdida de dientes,³² además su alta prevalencia en la población se ha relacionado con un riesgo aumentado a infarto agudo al miocardio, accidente cerebrovascular, bajo peso al nacer y parto prematuro.³³

Por lo anterior, es importante en el área de la salud, identificar la flora microbiana de los pacientes con enfermedad periodontal y saber específicamente que bacterias están provocando la persistencia o reincidencia de la enfermedad periodontal; ya que frecuentemente estos pacientes son tratados de manera empírica porque no se realiza ninguna identificación de los agentes etiológicos; debido a que inicialmente solo se realiza una terapia mecánica en el paciente y se le dan recomendaciones de técnica de cepillado. En este sentido, al ver que el paciente no mejora solo se le indica antibióticos para bacterias anaerobias estrictas. Sin embargo, en ocasiones dichos antibióticos no tienen efecto alguno en las especies de enterobacterias, y por ende la enfermedad no cede ante el tratamiento; que en conjunto con los factores de riesgo asociados inherentes al huésped, permiten que la enfermedad progrese concluyendo con la pérdida parcial o total de la dentadura.

La identificación y desarrollo de las bacterias anaerobias es un proceso paulatino; sin embargo el aislamiento e identificación de las enterobacterias es viable ya que esta familia de bacterias entéricas se desarrollan con rapidez tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas y son metabólicamente activas, lo cual se considera que favorece su rápida propagación y la evolución de la enfermedad en la región donde se ubican.¹⁰

Después de las consideraciones anteriores, es relevante para el área de la Salud Pública conocer si existen especies de la familia *Enterobacteriaceae* y cuáles son las que afectan la población con periodontitis crónica en el municipio de Mexicali. Debido a que se observa claramente una gran incidencia de la enfermedad periodontal en pacientes de la Facultad de Odontología Mexicali (FOM), además de la reincidencia de la misma, por lo cual es pertinente realizar una investigación para conocer la prevalencia de enterobacterias en bolsas periodontales debido a que la presencia de estos bacilos está relacionada con la progresión y persistencia de la enfermedad.

En este propósito, al conocer la prevalencia de especies de enterobacterias en la población estudiada y determinar su susceptibilidad a antimicrobianos existe la probabilidad de lograr establecer protocolos de prevención y antibioticoterapias específicas en los pacientes con periodontitis crónica. Por lo que se tendría la posibilidad de reducir la resistencia a antibióticos (por su uso inespecífico). De esta forma el área de la salud bucal será beneficiada, al aplicar tratamientos específicos y al mismo tiempo, la economía de los pacientes no tendría impactos negativos ya que probablemente las terapias serían reducidas en tiempo y costos, preservando la salud del paciente.

Con estos antecedentes este proyecto plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la prevalencia y susceptibilidad a antibióticos de especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica confirmada?

1.2 Justificación

Las enfermedades periodontales son las más frecuentes después de la caries dental a nivel mundial; la periodontitis crónica pertenece al grupo de las enfermedades periodontales, siendo la población de la mayoría de los países en vías de desarrollo la más afectada por este padecimiento, debido a la carencia o al limitado acceso a la atención del personal del área de la salud bucal. La periodontitis crónica provoca lesión en los tejidos de soporte del diente; por lo que debe ser tratada y controlada para evitar la consecuente pérdida de la dentadura.²

El inicio de la enfermedad periodontal se da con la formación de la placa bacteriana (biofilm) en el área cervical y la raíz de los dientes, por lo tanto es indispensable conocer la flora periodontopatógena de la placa, sus mecanismos de acción y su control.⁷

La formación y composición del biofilm determina la gravedad de la enfermedad.³⁴ Este padecimiento se asocia a bacterias anaerobias, las cuales inician y favorecen a la evolución de la periodontitis,¹¹ y ciertas especies de enterobacterias y *Pseudomonas spp* aisladas de bolsas periodontales, son consideradas especies altamente infecciosas.³⁵⁻³⁶ Estas especies de bacterias no habituales en la microbiota subgingival³⁷⁻³⁸ pueden favorecer la patogenia periodontal en individuos que no responden al tratamiento convencional, mismo que se dirige al control químico de la flora bacteriana bucal y una terapia mecánica dirigida a los tejidos periodontales.^{10,39}

Una de las problemáticas más comunes posterior al tratamiento periodontal es la reincidencia de la enfermedad, causada por sobreinfección bacteriana. “Algunas investigaciones han reportado que no todos los pacientes ni todos los sitios del diente responden uniforme y favorablemente a la terapia mecánica convencional”,⁴⁰ la cual consiste de manera inicial en eliminar la placa bacteriana por medio de un raspado y alisado de las raíces del diente lo que favorece al eliminar las bacterias que coadyuvan en la enfermedad y explicado en parte por la composición microbiana de la placa subgingival. También se ha reportado que pacientes con sobreinfección de enterobacterias y tratados con terapia mecánica convencional o tradicional no reportan mejoría en bolsas periodontales.^{20,41}

La relevancia de las enterobacterias radica en que complican el cuadro clínico de un paciente con periodontitis, de alguna manera podrían ser la clave en casos de periodontitis refractaria, la cual incluye aquellos pacientes que no responden a ningún tratamiento o pacientes con recurrencia de la enfermedad.⁴²⁻⁴⁴ Además, si los microorganismos de bolsas periodontales persisten en el huésped después de la cirugía y la terapia periodontal su capacidad patogénica puede provocar infecciones sistémicas.⁴⁵ Estas infecciones serían el paso directo de las bacterias orales al torrente sanguíneo, comprometiendo de manera evidente la salud del paciente, ya que muchos de los microorganismos inusuales en bolsas periodontales presentan resistencia a los antimicrobianos (RAM) o bien no se considera su presencia al momento de prescribir la antibioticoterapia al paciente con periodontitis crónica.⁴⁶⁻⁴⁸

En el área microbiológica cuando se aíslan bacterias de un proceso infeccioso, es de gran relevancia identificarlas hasta género y especie, ya sea determinando su actividad metabólica o por métodos de biología molecular. Teniendo en cuenta lo anterior, en periodoncia al detectar e identificar la presencia de especies de enterobacterias en el desarrollo de la enfermedad periodontal se permitirá orientar a los profesionales de la salud bucal en estrategias de tratamiento más específicas, es decir una selección adecuada de terapia antibiótica que evite la recurrente sobre-infección de los tejidos periodontales, además de brindar un mejor seguimiento logrando el control adecuado de la enfermedad, en los pacientes de la FOM.

Los pacientes con periodontitis crónica que acuden a las clínicas de la FOM se verán beneficiados en diferentes aspectos, ya que el conocer la prevalencia de especies de Enterobacterias, así como su susceptibilidad a antibióticos permitirá a los especialistas brindar una mejor atención y eficacia de tratamiento a dichos individuos; evitando la pérdida de dientes, lo cual emocional y socialmente mejorará la calidad de vida del individuo. Además, el impacto económico en el paciente será menor. El tener un tratamiento efectivo evitando la reincidencia se reduciría de manera importante los índices de prevalencia de la enfermedad.

1.3 Objetivos

Objetivo general:

Determinar la prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana de especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con diagnóstico confirmado de periodontitis crónica en la Facultad de Odontología Mexicali durante el periodo de febrero de 2015 a marzo de 2016.

Objetivos específicos:

1. Cultivar bacterias procedentes de muestras de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica.
2. Identificar las bacterias que poseen características específicas de las especies de la familia *Enterobacteriaceae* en las muestras de la población analizada.
3. Determinar la prevalencia de especies de enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica.
4. Evaluar la susceptibilidad de especies de enterobacterias a diferentes antimicrobianos como eritromicina, clindamicina, amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacina, amikacina, azitromicina, minociclina, imipenem, cefuroxima, ceftriaxona y fosfomicina.

1.4 Hipótesis

Hipótesis de investigación:

Las enterobacterias de distintas especies serán aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica y estas presentarán susceptibilidad antimicrobiana.

Hipótesis nula:

Las enterobacterias de distintas especies estarán ausentes en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica.

1.5 Variables

Dependiente:

Enfermedad periodontal crónica.

Independiente:

Distintas especies de enterobacterias.

1.6. Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables.

Variable Independiente	Definición conceptual	Definición operacional		Escala de medición
		Dimensiones	Indicadores	
Enterobacterias	Familia de bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos y oxidasa negativos.	Presencia	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Agar Muller Hinton	Medio de cultivo bacteriano para organismos aerobios de rápido crecimiento ante agentes antimicrobianos.	Desarrollo	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Agar Mac Conkey	Medio de diferenciación selectivo para el aislamiento y la diferenciación de Enterobacteriaceae y otros bacilos Gram negativos.	Desarrollo	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
ENDO agar	Medio ligeramente selectivo y de diferenciación para el aislamiento y la diferenciación de la familia Enterobacteriaceae y otros bacilos Gram negativos.	Desarrollo	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Cromo agar	Medio de diferenciación para <i>Enterobacter sakazakii</i> y otras especies.	Desarrollo	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Tinción Gram	Tinción que permite diferenciar morfológicamente bacterias y clasificarlas en base a su capacidad de tinción.	Presencia de bacilos Gram (-)	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Oxidasa	Prueba que determina la actividad de la enzima citocromo-oxidasa.	Presencia de enzima	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Zona de diente mm (profundidad de bolsa)	Aumento de la profundidad del surco gingival como respuesta a un proceso patológico.	5mm 6mm 7mm 8mm 9mm 10mm 11mm		Cuantitativa ordinal
Sangrado al sondaje	Presencia de sangre al realizar el sondaje.	Presencia de sangrado	Si No	Cualitativa nominal dicotómica
Perdida de inserción	Distancia en mm desde la unión amelocementaria hasta el fondo de la bolsa periodontal	Perdida de inserción	Si No	Cualitativa nominal dicotómica

Continúa Tabla 1.

Variable dependiente	Definición conceptual		Definición operacional		Escala de medición
			Dimensiones	Indicadores	
Enfermedad periodontal crónica	Enfermedad inflamatoria e infecciosa de origen multifactorial que afecta los tejidos del periodonto.	Diagnostico positivo de la enfermedad	Si No	Cualitativa dicotómica	nominal
Edad	Tiempo que un ser vivo, permanece en estado vital desde su nacimiento.	20-35 años 36-41 años 42-52 años 53-63 años 64-74 años		Cuantitativa ordinal	
Género	Grupo de individuos que comparten múltiples características.	Diferencia entre hombres y mujeres	Hombre Mujeres	Cualitativa Nominal dicotómica	
Tabaquismo	Es la adicción a la nicotina del tabaco, se produce por el consumo de cigarrillos.	La persona tiene el hábito de fumar	Si No	Cualitativa Nominal dicotómica	

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

MARCO TEÓRICO

En este apartado se presentan las bases que sustentan la investigación y el resumen de la literatura pertinente a las variables de estudio. Además, el desarrollo se estructura de acuerdo a los objetivos y finalmente se incluyen estudios relacionados.

2.1 Generalidades de la enfermedad periodontal y su causalidad

De acuerdo a la OMS las enfermedades periodontales son el segundo problema de salud bucal más común a nivel mundial con una prevalencia entre el 5 y 20%.² Sin embargo, en México de acuerdo al Sistema Nacional de Vigilancia de Patologías Bucales se estima que más de la mitad de la población adulta padece esta enfermedad oral.⁵ Este padecimiento se caracteriza por afectar los tejidos del periodonto causando inflamación; y en periodontitis crónicas además, provoca la destrucción o pérdida del tejido conectivo y hueso alveolar⁸ lo cual resulta en la pérdida de los elementos dentarios.

La enfermedad periodontal es de origen multifactorial, entre los factores relacionados al huésped podemos mencionar la genética, la edad, los hábitos de higiene, tabaquismo, diabetes y obesidad, entre otros. Los agentes etiológicos de este padecimiento han sido identificados en todo el mundo; a pesar de que existen ciertas variaciones relacionadas con la región geográfica, etnia o raza, las bacterias anaerobias estrictas como *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, son los principales agentes infecciosos.¹¹⁻¹⁵

Por otra parte, algunas especies anaerobias facultativas de la familia *Enterobacteriaceae* se han aislado de bolsas periodontales. No obstante, la prevalencia y especies varían a nivel mundial,²⁰ algunas de esta familia se les relaciona con la falta de mejoría en pacientes con terapia mecánica tradicional o bien la reincidencia del padecimiento. Cabe agregar, que se ha propuesto que la presencia de bacilos anaerobios facultativos Gram negativos es considerada como un factor de riesgo porque podrían conducir a complicaciones sistémicas; por ejemplo septicemias en pacientes inmunosuprimidos o bien aumentar el riesgo cardiovascular. Asimismo, Ardilla sugiere que el riesgo cardiovascular, el parto pretérmino y el bajo peso al nacer pueden estar asociados a la presencia de bacilos entéricos en bolsas periodontales de pacientes con enfermedad periodontal.³³

2.2 Identificación de la familia *Enterobacteriaceae*

Las enterobacterias son microorganismos de fácil crecimiento en el laboratorio, por lo cual su cultivo requiere medios sólidos específicos para bacilos entéricos y una incubadora a 37⁰ C en atmosfera aeróbica.

El método comercial, mas utilizado es el API 20 E que logra identificar 127 géneros y 550 especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Basandose en la actividad metabólica de los bacilos entéricos se logra una identificación precisa por medio de reacciones taxonómicas que posteriormente se clasifican utilizando una base de datos estandarizada del fabricante. Actualmente, la identificación de especies que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* se puede lograr por métodos bioquímicos o por biología molecular, ambos son confiables; el método de elección es en base a la disposición de equipo y presupuesto.

2.3. Prevalencia de especies de enterobacterias

Como se ha mencionado anteriormente, la prevalencia de enterobacterias en bolsas periodontales ha sido estudiada en distintos países y regiones del mundo en los últimos años, los resultados son variables o como lo son para Serrano, “contradictorios”.¹⁰ En relación a la prevalencia, se han realizado diversos estudios que evidencian claramente variaciones dependiendo de la región geográfica. A continuación se enlistan algunos resultados en la tabla 2.

Tabla 2. Prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae* a nivel mundial.

País	Prevalencia
Rumania	61.14%
Suecia	34.9%
España	0%
China	57%
Sudán	92%
Estados Unidos de América	14%
República Dominicana	67%
Brasil	20%
Jamaica	59.5%
Colombia	36%
Chile	17%

Fuentes: Ali,¹² Herrera,¹⁸ Goncalves,¹⁹ Slots,²⁰ Sedgley,²¹ Slots,²³ Haffajee²⁴ y C Ogunsalu³⁰

Es importante mencionar, que los porcentajes de prevalencia citados anteriormente se refieren exclusivamente a la frecuencia de enterobacterias como familia en pacientes con periodontitis en estos países.

Significa entonces, que la prevalencia de especies de bacilos entéricos inusuales en bolsas periodontales también difiere en los distintos estudios por ejemplo, en Colombia Gamboa et al³⁷ reportan que la especie de mayor prevalencia fue *Klebsiella oxitoca*, Betancourth, Arce, Botero, Jaramillo, Cruz y Contreras³⁸ encontraron el género *Klebsiella* como el más frecuente en el 35.9% de los pacientes con enfermedad periodontal, y de acuerdo al estudio de Slots et al *Enterobacter cloacae* encabeza la lista de bacilos Gram negativos anaerobios facultativos no comunes en bolsas periodontales; en Brasil Gaetti-Jardim, Nakano V, Wahasugui TC, Cabral FC, Gamba R, Avila-Campos MJ.³⁹ aislaron *Enterobacter sakasaki* como especie más frecuente en pacientes con VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana) y periodontitis necrosante.

2.4. Susceptibilidad antimicrobiana

La susceptibilidad de las bacterias a antimicrobianos puede ser evaluada in vitro por distintos métodos en medios líquidos o sólidos. La difusión en agar es ampliamente utilizada y es denominada prueba de Kirby Bauer, la cual es un método estandarizado de difusión en disco descrito por el Laboratorio Internacional de Referencia National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).⁴⁹

Estas pruebas de susceptibilidad representan un gran apoyo a las antibioticoterapias en los tratamientos de procesos infecciosos provocados por bacterias, donde el saber susceptibilidad antimicrobiana y la especie del microorganismo nos garantizan de forma confiable la susceptibilidad a antimicrobianos y por ende el éxito del tratamiento.

Resulta oportuno señalar que, la mayoría de los investigadores utilizaron el método de difusión en disco para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Los antibióticos frecuentemente utilizados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Grupos de antimicrobianos utilizados en la familia *Enterobacteriaceae* en diferentes estudios.

Grupo	Agente antimicrobiano
Aminoglucósidos	Amikacina, Gentamicina, Tobramicina y streptomycin
Nitroimidazol	Metronidazol
β -lactamasa	Amoxicilina
β -lactamasa/inhibidor de β -lactamasa	Amoxicilina/ácido clavulánico
Cefalosporinas	Ceftazidima y Ceftriaxona
Tetraciclinas	Tetraciclina y doxiciclina
Tetraciclina/Sulfonamida	Trimetoprim/sulfametoxazol
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina
Inhibidores vía de folato	Trimetoprim/sulfametoxazol
Penicilinas	ampicilina, piperacilina y ticarcilina
Cephems	Cefalotina, ceftriaxona, cefoxitin, cefuroxime y ceftazidime y aztreonam
Carbapenems	Imipenem
Phenicol	Cloramphenicol
Macrólidos	Azitromicina

Fuente: Jaramillo,¹⁷ Goncalves,¹⁹ Slots,²⁰ Gamboa³⁷ y NCLSI⁴⁹

2.5 Estudios relacionados

Gamboa et al³⁷ en el año 2013 realizaron el estudio Presence and antimicrobial profile of Gram-negative facultative anaerobe rods in patients with chronic periodontitis and gingivitis. Fue un estudio observacional, descriptivo que incluyo 22 pacientes con gingivitis y 64 pacientes diagnosticados con periodontitis crónica con más de 10 dientes en la boca, no padecían ninguna enfermedad sistémica, eran mayores de 20 años y sin tratamiento periodontal seis meses previos al estudio. Las muestras obtenidas fueron cultivadas en agar Mac Conkey e incubadas en atmosfera aeróbica por 24 horas a 37⁰C. Posteriormente se realizó tinción de Gram para corroborar la presencia de bacilos Gram negativos, técnica de oxidasa y la prueba de glucosa para comprobar que son bacterias que pertenecían a la familia *Enterobacteriaceae*. Utilizaron API 20 E para la identificación de especies y finalmente realizaron la susceptibilidad a antimicrobianos.

En el estudio anterior determinan la susceptibilidad antimicrobiana de especies de enterobacterias, los cuales mostraron poca sensibilidad a ampicilina, amoxicilina/ácido-clavulánico, altos niveles de sensibilidad a ciprofloxacina, amikacina, gentamicina, ceftazidime, ceftriaxona, kanamicina y trimetropin/sulfametoxazol.

Prudente⁷ en 2012 desarrolló un estudio en Brasil en el cual aísla periodontopatógenos en agar McConkey de pacientes con periodontitis crónica. Utilizó kits comerciales de identificación API 20 E. Algunos autores consideran el método de cultivo como “el gold standard” por su capacidad de identificar nuevas especies, además de que los organismos son viables y pueden ser utilizados para susceptibilidad antimicrobiana.

Ardilla et al⁴¹ en el año 2011 realizaron el estudio Enfoque multinivel de la relación entre bacilos entéricos Gram negativos, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, y parámetros clínicos en enfermedad periodontal. Fue un estudio descriptivo, el cual incluyó 76 sujetos (45 mujeres y 31 hombres). Las muestras fueron obtenidas de pacientes con enfermedad periodontal y cultivadas en agar Mac Conkey e incubadas en condiciones aeróbicas. A las colonias que se desarrollaron en este medio se les realizó la tinción de Gram. Para la identificación de especies de enterobacterias utilizaron bioquímicas manuales. La prevalencia de enterobacterias en este estudio fue de 26.31% y *Klebsiella pneumoniae* la especie más frecuente. Los autores concluyen que la presencia de enterobacterias y de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* están muy relacionadas con enfermedades periodontales crónicas.

Serrano, Torres, Acosta, Bejarano, Castellanos, Caviedes¹⁰ publicaron en el año 2010 un artículo titulado; Efecto de tratamiento periodontal no-quirúrgico en la detección de bacilos entéricos asociados a periodontitis crónica: descripción microbiológica. Dicho estudio descriptivo enumeró las especies de bacilos Gram negativos antes y después del tratamiento periodontal no quirúrgico en tres grupos de pacientes (n=29). En el grupo uno solo se les realizó raspaje y alisado radicular por cuadrantes; al grupo dos se hizo raspaje y alisado radicular en toda la boca y el grupo tres raspaje y alisado en boca completa suplementado con antibióticos por vía sistémica. Se empleó el sistema API 20E para la identificación de enterobacterias. La prevalencia de enterobacterias en este estudio fue del 72.4% en la etapa inicial y de 62% en la etapa final.

Goncalves et al¹⁹ en el año 2007 encontraron en su estudio periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species que la mayoría de las cepas de enterobacterias fueron susceptibles a cefalosporinas y aztreonam, imipenem, estreptomycin y fluoroquinolonas y fueron resistentes a ampicilina, amoxicilina/ácido-clavulánico, gentamicina, amikacin, trimetropin/sulfametoxazol, tetraciclinas y cloranfenicol; se detectó multiresistencia a antibióticos en ocho cepas.

Betancourth, Arce, Botero, Jaramillo, Cruz y Contreras³⁸ en el año 2006 publicaron el estudio Microorganismos inusuales en surcos y bolsas periodontales. El objetivo fue analizar los perfiles microbiológicos de individuos sanos y pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica y periodontitis agresiva, además determinaron la frecuencia de los microorganismos inusuales y las posibles asociaciones con posibles microorganismos periodontopáticos. Dicho estudio incluyó 356 pacientes. El aislamiento bacteriano incluyó medios para organismos aeróbicos (agar Mac Conkey) como anaeróbicos. Identificaron las especies de enterobacterias por métodos bioquímicos y se basaron en tablas de identificación establecidas por la Sociedad Americana de Microbiología. Se utilizó estadística descriptiva mediante el programa SPSS.

En los resultados describen que el porcentaje de microorganismos entéricos fue del 37%, siendo el género *Klebsiella* el más abundante 35.9%. Además, concluyen que la asociación entre los microorganismos periodontopáticos y los inusuales se debe estudiar más a fondo.

Sedgley Saramanarayake, Chan y Wei SHY²¹ en el año 1997 publicaron un estudio titulado A 4-year longitudinal of the oral prevalence of enteric gram-negative rods and yeasts in Chinese children. Este estudio de cohorte incluyó 116 niños, el 27.9% de estos fueron positivos para enterobacterias. Los investigadores en su discusión mencionaron que estos bacilos Gram negativos no son considerados microorganismos normales de la flora oral.

Slots, Feik y Rams²⁰ en el año 1990 con su estudio Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis demostró una elevada susceptibilidad a ciprofloxacina y una susceptibilidad variable a otros 18 antibióticos en las enterobacterias.

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA

METODOLOGÍA

En este capítulo se describirá el desarrollo del estudio, la población, los criterios de inclusión, exclusión y eliminación, la muestra, el muestreo, el instrumento, colecta de datos, análisis de datos y consideraciones éticas.

3.1 Tipo de estudio

El enfoque de esta investigación fue cuantitativo. El diseño del estudio determina los alcances de la investigación en base a los objetivos establecidos, por lo tanto se planteó un estudio observacional, descriptivo y de tipo transversal.³⁸ Es decir solo se describió la presencia o ausencia del fenómeno, como la prevalencia y la susceptibilidad a los antibióticos de especies enterobacterias en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica confirmada. El diseño, se estimó como apropiado ya que el fenómeno fue medido solo una vez y las variables no se manipularon.³⁸

3.2 Población, muestra y descripción de participantes

3.2.1 Criterios de Inclusión

- Pacientes mayores de 20 años.
- Pacientes con más de 10 dientes presentes en boca.
- Pacientes con bolsa periodontal con profundidad de ≥ 5 mm por lo menos en dos de los dientes afectados.
- Pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica confirmada por especialista de la FOM.

3.2.2 Criterios de Exclusión

- Pacientes con diabetes.
- Pacientes que refirieron haber recibido terapia periodontal y/o antibioticoterapia en los últimos seis meses.
- Pacientes que se nieguen a participar en el estudio.
- Embarazadas

3.2.3. Criterios de Eliminación

- Muestras contaminadas con otras muestras.
- Muestras con datos sociodemográficos y de folio incompletos.

3.2.4. Universo de estudio

Pacientes que acuden a la Clínica Calafia de la Facultad de Odontología Mexicali.

3.2.5. Unidad de análisis

La unidad de análisis la constituyeron los hombres y mujeres mayores de 20 años con periodontitis crónica confirmada, que asistieron a consulta de la FOM.

3.2.6. Marco muestral

La población que conformo este estudio son todos los pacientes de cualquier sexo y mayores de edad de la Clínica Calafia de la Facultad de Odontología Mexicali. En el año 2014, esta clínica otorgó atención médica bucal a 7710 pacientes por año, de los cuales 1504 fueron menores de edad y 3620 pacientes fueron de nuevo ingreso.

3.2.7. Muestreo

El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia, para lo cual se estableció un periodo de duración del estudio que comprende de febrero de 2015 hasta marzo de 2016. Todos los pacientes con periodontitis que acudan a la Clínica Calafia de la FOM.

3.2.8. Muestra

La muestra se obtuvo de los individuos de manera no probabilística, de acuerdo a las características mencionadas en los criterios de inclusión. Incluyó la totalidad de los pacientes que acudan en el periodo antes mencionado.

3.3 Instrumentos

Para el estudio se utilizaron los siguientes instrumentos para registrar información o datos sobre las variables consideradas:

El primer instrumento de recolección de datos en este estudio fue una cédula de datos personales de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión la cual integra el método de observación de recolección de datos que consta del número de folio y expediente clínico, la edad del paciente, género, diagnóstico periodontal, fecha de diagnóstico, hábito de fumar (Anexo No.2) que consiste en el registro sistemático, válido y confiable de comportamientos y situaciones observables³⁸ en los procedimientos

estandarizados para los datos obtenidos en el laboratorio, como el desarrollo bacteriano en los diferentes medios, los resultados de la tinción de Gram y oxidasa.

El segundo instrumento fue para la confirmación e identificación de las especies de enterobacterias (Anexo 3) por medio de un set de pruebas bioquímicas ya estandarizadas (tradicionales) a través del cual se logra su identificación basado en la actividad metabólica de las bacterias al utilizar ciertos sustratos.

La lectura de las pruebas consistió en verificar si las bacterias presentaban actividad metabólica o no a ciertos sustratos que se encuentran en los medios bioquímicos. La lectura se interpreta como positivo o negativo; o bien como ácido o alcalino dependiendo de la prueba en cuestión, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Características del set de pruebas bioquímicas para enterobacterias.

Prueba	Evalúa	Lectura después de 18 a 24 horas
TSI	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fermentación de glucosa, lactosa o sacarosa. 2. Producción o no de gas. 3. Producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S). 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Color amarillo Acido/positivo. Color rojo Alcalino/negativo 2. Ruptura y burbujas en el medio. 3. Color negro en el medio.
LIA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Fermentación de glucosa 2. Descarboxilación de lisina 3. Desanimación de la lisina 4. Producción de gas 5. Producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S). 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Color amarillo Acido/positivo. 2. Alcalino 3. Rojo/amarillo Acido/positivo 4. Ruptura del medio 5. Color negro en el medio
Citrato de Simmons	<ol style="list-style-type: none"> 1. Utilización de citrato e Simmons como única fuente de carbono en ausencia de azúcares 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se alcaliniza el medio y el medio vira color azul/positiva
MRVP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vía metabólica por la cual el microorganismo fermenta la glucosa. 2. Vía ácida mixta o vía butilín glicólica 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Coloración amarilla7positivo a MR 2. Al agregar 10 gotas de hidróxido de potasio (KOH) al 5% y 5 de alfa-naftol, mezclar y esperar 15 minutos. Color rojo positivo a VP
Fenil alanina-Malonato	La capacidad el microorganismo para desaminar fenilalanina y utilizar malonato como fuente de carbono.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Coloración azul/malonato positivo, verde es negativa. 2. Agregar cloruro férrico al 10%, color amarillo/fenil-alanina positiva
Sim	<ol style="list-style-type: none"> 1. Capacidad de movimiento de los microorganismos. 2. Producción de índol y 3. Producción de H₂S 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se lee antes que el indol. Se busca desarrollo difuso. 2. Al agregar unas gotas del reactivo de Erlich se observa un color rojo/Positivo. 3. Precipitado negro.

Fuente: Elaboración propia basada en Jorgensen et al.⁵¹ y Winn et al.⁵²

Posteriormente, con los resultados obtenidos se realizó una búsqueda en las tablas de identificación ya establecidas para enterobacterias. Por ejemplo, si el resultado corresponde a la especie *Escherichia coli*, se observaría actividad metabólica específica para esta especie.

El tercer instrumento fue para determinar la susceptibilidad a antimicrobianos y se registra el número de muestra, nombre del antibiótico, medida del halo de inhibición de crecimiento bacteriano en milímetros (Anexo 4) y se determina si es susceptible, intermedio o resistente a un antimicrobiano específico con base a lo establecido por NCLSI (Anexo 5).

3.4 Procedimientos de recolección de datos

Se obtuvo la aprobación del presente estudio por parte del comité de ética y de investigación de la Facultad de Enfermería de Mexicali de la Universidad Autónoma de Baja California, y posteriormente se logró la autorización de la FOM donde se desarrolló el estudio. Una vez autorizado, se acudió a la clínica en busca de pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica, los cuales se localizaron en la especialidad de periodoncia que cuenta con la capacidad para ocho pacientes por turno, dichos pacientes fueron diagnosticados por el especialista en periodoncia.

En seguida, se confirmaron los criterios de inclusión; posteriormente se le solicitó al paciente su autorización de participación, mediante la firma del consentimiento informado (Anexo 1).

Una vez cumplido lo anterior se procedió a la toma de la muestra. Previo aislamiento de la zona con rollo de algodón, se eliminó la placa dentobacteriana supragingival, con una cureta Mc Call 17/18 estéril, posteriormente se introdujo un cono de papel esterilizado en cada una de las bolsas periodontales de mayor profundidad durante 20 segundos.

Las muestras fueron depositadas en un caldo Infusión cerebro corazón (BHI) y se llevaron al laboratorio de microbiología de la FOM de la UABC para su procesamiento, dentro de las dos horas siguientes.

Se agradeció al paciente su participación en el estudio y este permaneció en la unidad de la especialidad en periodoncia para el tratamiento de la periodontitis crónica.

Para el aislamiento de bacilos entéricos Gram negativos se utilizaron medios sólidos de agar cromogénico para entobacterias, agar ENDO, agar Mac Conkey y agar Muller Hinton como control de crecimiento. Después de la siembra por estría en placa en los medios de cultivo antes mencionados, las cajas de Petri se incubaron en una atmósfera aeróbica a 37 grados centígrados por 24 y 48 horas. Posteriormente se realizó una resiembra a las 48 horas y se incubó con las mismas condiciones antes mencionadas.

Las colonias que se desarrollaron en los medios ENDO, agar Mac Conkey una vez aisladas fueron teñidas con la técnica de Gram y se determinó la incapacidad de producir la enzima citocromo oxidasa.

Posteriormente, se realizó el procedimiento para el aislamiento e identificación con pruebas bioquímicas tradicionales de posibles especies bacterianas de la familia *Enterobacteriaceae*. Los medios se prepararon en el laboratorio de acuerdo a las instrucciones y condiciones del fabricante.

Método:

1. Veinticuatro horas antes de inocular las pruebas bioquímicas se sembró por estría cada una de las cepas en agar Mac Conkey de manera individual para garantizar cultivos puros de las cepas problema y posteriormente se incubaron a 37°C.
2. Las colonias obtenidas de cada una de las cepas puras fueron inoculadas en las pruebas bioquímicas como se indica a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5. Método de inoculación de pruebas bioquímicas.

Prueba	Evalúa	Lectura después de 18 a 24 horas
TSI	<ol style="list-style-type: none"> 4. Fermentación de glucosa, lactosa o sacarosa. 5. Producción o no de gas. 6. Producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S). 	<ol style="list-style-type: none"> 4. Color amarillo Acido/positivo. Color rojo Alcalino/negativo 5. Ruptura y burbujas en el medio. 6. Color negro en el medio.
LIA	<ol style="list-style-type: none"> 6. Fermentación de glucosa 7. Descarboxilación de lisina 8. Desanimación de la lisina 9. Producción de gas 10. Producción o no de ácido sulfhídrico (H₂S). 	<ol style="list-style-type: none"> 6. Color amarillo Acido/positivo. 7. Alcalino 8. Rojo/amarillo Acido/positivo 9. Ruptura del medio 10. Color negro en el medio
Citrato de Simmons	<ol style="list-style-type: none"> 2. Utilización de citrato e Simmons como única fuente de carbono en ausencia de azúcares 	<ol style="list-style-type: none"> 2. Se alcaliniza el medio y el medio vira color azul/positiva
MRVP	<ol style="list-style-type: none"> 3. Vía metabólica por la cual el microorganismo fermenta la glucosa. 4. Vía ácida mixta o vía butil glicólica 	<ol style="list-style-type: none"> 3. Coloración amarilla7positivo a MR 4. Al agregar 10 gotas de hidróxido de potasio (KOH) al 5% y 5 de alfa-naftol, mezclar y esperar 15 minutos. Color rojo positivo a VP
Fenil alanina-Malonato	La capacidad el microorganismo para desaminar fenilalanina y utilizar malonato como fuente de carbono.	<ol style="list-style-type: none"> 3. Coloración azul/malonato positivo, verde es negativa. 4. Agregar cloruro férrico al 10%, color amarillo/fenilalanina positiva
Sim	<ol style="list-style-type: none"> 4. Capacidad de movimiento de los microorganismos. 5. Producción de índol y 6. Producción de H₂S 	<ol style="list-style-type: none"> 4. Se lee antes que el indol. Se busca desarrollo difuso. 5. Al agregar unas gotas del reactivo de Erlich se observa un color rojo/Positivo. 6. Precipitado negro.

Fuente: Elaboración propia.

3. Después de la siembra, la batería de pruebas bioquímicas se incubó en una atmósfera aerobia, a 35-37°C por 18-24 horas.

Controles: Control Positivo: Enterobacteria identificada bioquímicamente ATCC
Control Negativo: Bacteria Gram positiva

Posteriormente, se ejecutó la susceptibilidad a 11 diferentes antimicrobianos (Tabla 4) de interés por medio de la técnica de Kirby Bauer o difusión en disco, la cual se detalla a continuación.

1. Se eligieron de tres a cinco colonias pequeñas de una cepa pura, con un desarrollo previo de 24 horas.
2. Se resuspendieron las colonias seleccionadas en caldo M-H.
3. Se estandarizó la suspensión del inóculo en el caldo hasta llegar al 0,5 de McFarland.
4. Previamente, se dejó el agar MH y los sensidiscos a temperatura ambiente para evitar la humedad.
5. Antes de introducir el hisopo estéril se agitó la suspensión de la bacteria problema, se presionó y rotó el hisopo en las paredes del tubo para eliminar el exceso del líquido.
6. Al Inocular en el agar MH se fue frotando el hisopo de extremo a extremo de la placa iniciando por la parte superior. Se giró la placa 60° aproximadamente y repitió la inoculación de ida y vuelta. Se rotó la placa una vez más e inoculó nuevamente.
7. Utilizando pinzas se colocaron los discos de antimicrobiano inmediatamente uno a uno, presionándolo firmemente contra el agar. Nunca se reubicaron.
8. Las cajas Petri se incubaron por 18 horas a 37°C.
9. Antes de medir las zonas de inhibición se verificó que el crecimiento de la cepa fuera uniforme y se colocó la caja sobre un fondo claro (aplica a enterobacterias). Se midió con una regla el diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano. Se reportó en mm.
10. Se interpretaron los resultados de acuerdo a lo establecido por el National Clinical and Laboratory Standards Institute (NCLSI).

Cabe señalar que se emplearon discos de papel absorbente impregnados con antimicrobianos como: Eritromicina, Clindamicina, Amox/Ac-Clav, Ciprofloxacina, Amikacina, Azitromicina, Minociclina, Imipenem, Cefuroxima, Ceftriaxona, y fosfomicina. A continuación se presenta una tabla en donde se especifica la familia, el antimicrobiano y el mecanismo de acción, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Antimicrobianos utilizados en este estudio para la familia *Enterobacteriaceae* y su mecanismo de acción.

Familia de antibióticos	Agente antimicrobiano	Mecanismo de acción
Aminoglucósidos	Amikacina	Bactericida, inhibe la síntesis proteica bacteriana.
β -lactámico/inhibidor de β lactamasa	amoxicilina/ácido clavulánico	Bloquea síntesis de pared celular bacteriana e inhibe β -lactamasas. Amplio espectro.
Macrólido	Azitromicina Eritromicina	Inhiben la síntesis de proteínas a nivel ribosomal.
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	Bactericida. Evita la replicación del ADN bacteriano al inhibir enzimas como ADN girasa y topoisomerasa.
Cefems	Cefuroxima	Inhibe tercer y último paso de la síntesis de la pared bacteriana
Fosfomicinas	Fosfomicina	Inhibe la síntesis de la pared celular en uno de los primeros pasos.
Carbapenems	Imipenem	Bactericida. Inhibe síntesis de pared celular.
Tetraciclinas	Mlnociclina	Inhibición de la síntesis de proteínas a nivel ribosoma.
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	Bactericida. Interfiere en la replicación de ADN bacteriano por inhibición de la ADN-girasa y topoisomerasa IV bacterianas.
Lincosamidas	Clindamicina	Inhiben síntesis de proteínas a nivel ribosomal subunidad 50s.

Fuente: NCCLS⁴⁹ y Cavalieri SJ.⁵⁰

Todos los procedimientos antes mencionados se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la FOM y el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Baja California.

3.5 Análisis de datos

Para el análisis se procedió a la captura de los datos utilizando el programa estadístico Statistical Package for Social Science (SPSS), versión 20 para Windows. Para la descripción de la población se consideraron las variables sociodemográficas de los pacientes con periodontitis crónica utilizando frecuencias, proporciones, medidas de tendencia central y de dispersión.

Para responder los objetivos se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas para prevalencia de especies de enterobacterias y la bivariabilidad de presencia y ausencia de de las especies se utilizó chi-cuadrada. Con un valor de significancia $p=.05$. Por último, para la susceptibilidad y el análisis exploratorio como, profundidad de sondeo presencia de sangrado y nivel de inserción, se utilizaron pruebas de dispersión y se reportarán medidas de tendencia central.

3.6 Consideraciones éticas

Este estudio se realizó con fundamento al Título quinto de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud,⁵³ el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud⁵⁴ y contará con la aprobación del comité de ética y de investigación de la Facultad de Enfermería de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) como lo dispone el Artículo 14 fracción VII. Se tomó en consideración lo establecido en el Reglamento de la ley general de salud el Título II, relacionado a los aspectos éticos de la investigación en seres humanos.

De acuerdo al Capítulo I del artículo 13 se respetó en todo momento la dignidad de los pacientes, se protegieron los derechos así como la integridad física de los individuos que aceptaron participar en este estudio.

En base al artículo 14 fracciones I, V, VI, VII y VIII; esta investigación fue autorizada por las instituciones implicadas. De acuerdo al artículo 16 se garantizó la privacidad del paciente en todo momento, lo pacientes fueron informados acerca de que las publicaciones se realizarán sin nombres.

En lo que respecta al artículo 17 fracción II este estudio es de riesgo mínimo, debido a que los pacientes fueron sometidos a una toma de muestra no invasiva e indolora. Es relevante mencionar, que dicha muestra fue tomada con instrumental estéril.

Finalmente y con referencia a los artículos 20, 21 Fracciones I, II, VII y VIII en los cuales se hace referencia al consentimiento informado por escrito para obtener la autorización de participación voluntaria en el estudio por los pacientes después de haber sido informados completamente acerca de los procedimientos, a los que fueron sometidos, el objetivo del estudio, los beneficios del estudio, se les garantizó responder a cualquier pregunta y se le otorgó la posibilidad de negarse a participar en el presente estudio.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS

RESULTADOS

Los resultados se presentan en tres secciones la primera describe las características sociodemográficas, hábito de fumar y datos clínicos de la población de estudio, la segunda las muestras que resultaron positivas a enterobacterias dictando la prevalencia y por último, el antibiograma.

Características sociodemográficas: El porcentaje de pacientes del sexo masculino fue 52.4% (22) y del femenino 47.6% (20). Tabla 7.1.

Tabla 7.1. Sexo de los pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Baja California, 2015-2016.

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Masculino	22	52.4
Femenino	20	47.6
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Figura 1. Paciente con periodontitis crónica



Propiedad: Clínica Calafia de la FOM, UABC.

La edad mínima de los pacientes con periodontitis crónica fue: 27 años 2.4% (1); y la máxima 67 años 2.4% (1). 50 años 11.9% (5) fue la más frecuente ver Tabla 7.2.

Tabla 7.2. Frecuencia de edad de los pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, Universidad Autónoma de Baja California, 2015- 2016.

Edad	Frecuencia	Porcentaje
27	1	2.4
28	1	2.4
31	1	2.4
32	2	4.8
33	1	2.4
34	1	2.4
35	1	2.4
37	1	2.4
38	4	9.5
40	3	7.1
42	1	2.4
44	1	2.4
45	2	4.8
47	1	2.4
48	1	2.4
49	2	4.8
50	5	11.9
51	2	4.8
54	1	2.4
55	2	4.8
56	1	2.4
57	1	2.4
60	3	7.1
65	1	2.4
66	1	2.4
67	1	2.4
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

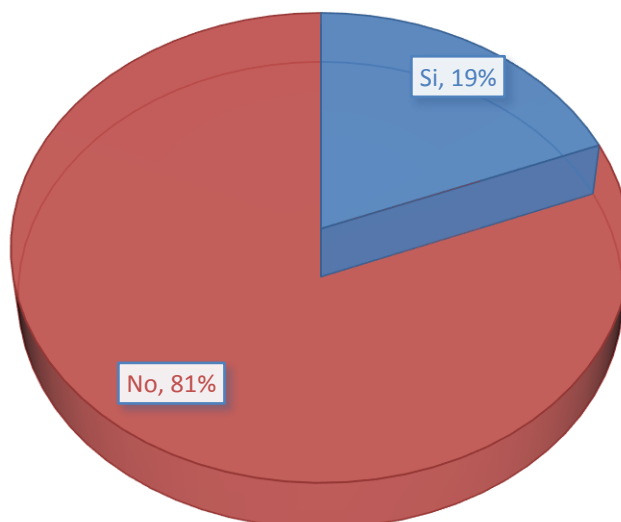
El 19% (8) de la población estudiada si tenía el hábito de tabaco y el 81% (34) no. Tabla 7.3.

Tabla 7.3. Pacientes con periodontitis crónica y hábito de tabaco de la Clínica Calafia de la Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Baja California, 2015-2016.

Fumadores	Frecuencia	Porcentaje
No	34	81.0
Si	8	19.0
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 1 Pacientes con hábito de tabaco de la Clínica Calafia en la FOM, UABC, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

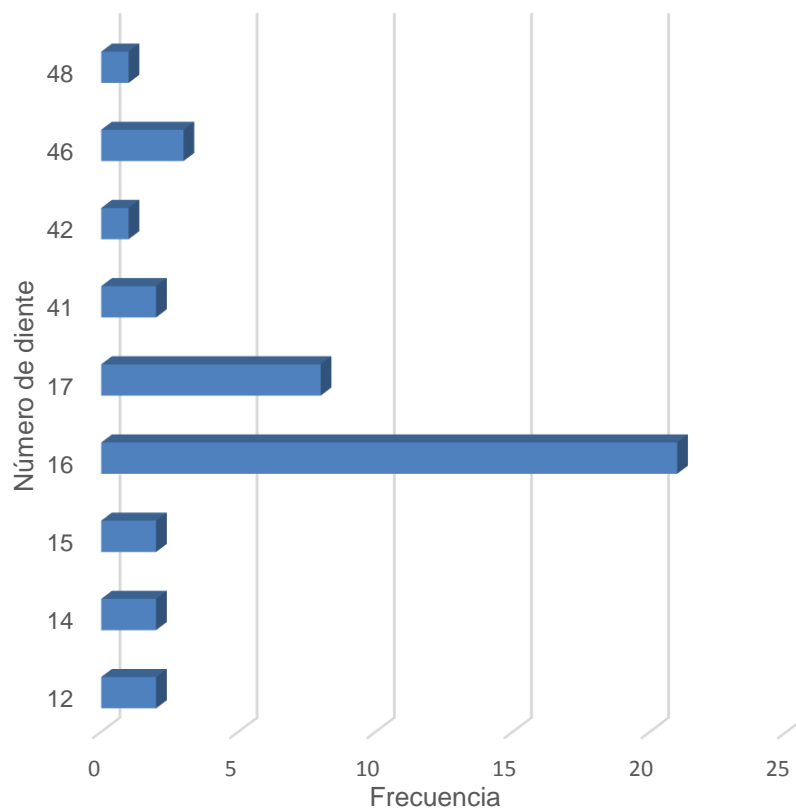
Se observaron bolsas periodontales en los dientes derechos: número 11 2.4% (1); número 42 2.4% (1); número 48 2.4% (1) y número 16 50% (21) fue el más frecuente. Tabla 7.4.

Tabla 7.4. Dientes derechos más frecuentes con bolsas periodontales de pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.

Número de diente derecho	Frecuencia	Porcentaje
11	1	2.4
12	2	4.8
14	2	4.8
15	2	4.8
16	21	50.0
17	8	19.0
41	2	4.8
42	1	2.4
46	3	7.1
48	1	2.4
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 2. Frecuencia de dientes derechos con bolsas periodontales de pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

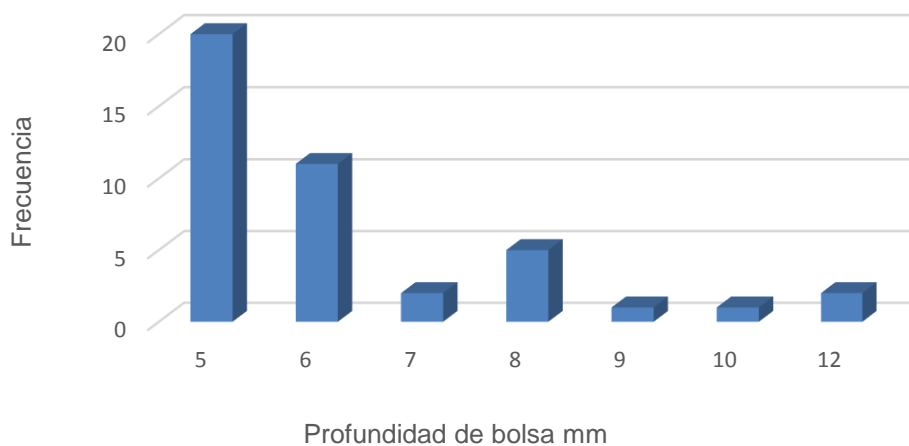
La profundidad de 5 mm 47.6% (20) en bolsas periodontales derechas fue la más frecuente y se observó 8mm 11.9% (5); 9 mm 2.4% (1) y 10mm 2.4% (1) Tabla 7.5.

Tabla 7.5. Profundidad de bolsas periodontales en mm de dientes derechos de los pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.

Profundidad de bolsas periodontales derechas mm	Frecuencia	Porcentaje
5	20	47.6
6	11	26.2
7	2	4.8
8	5	11.9
9	1	2.4
10	1	2.4
12	2	4.8
Total	42	100.0

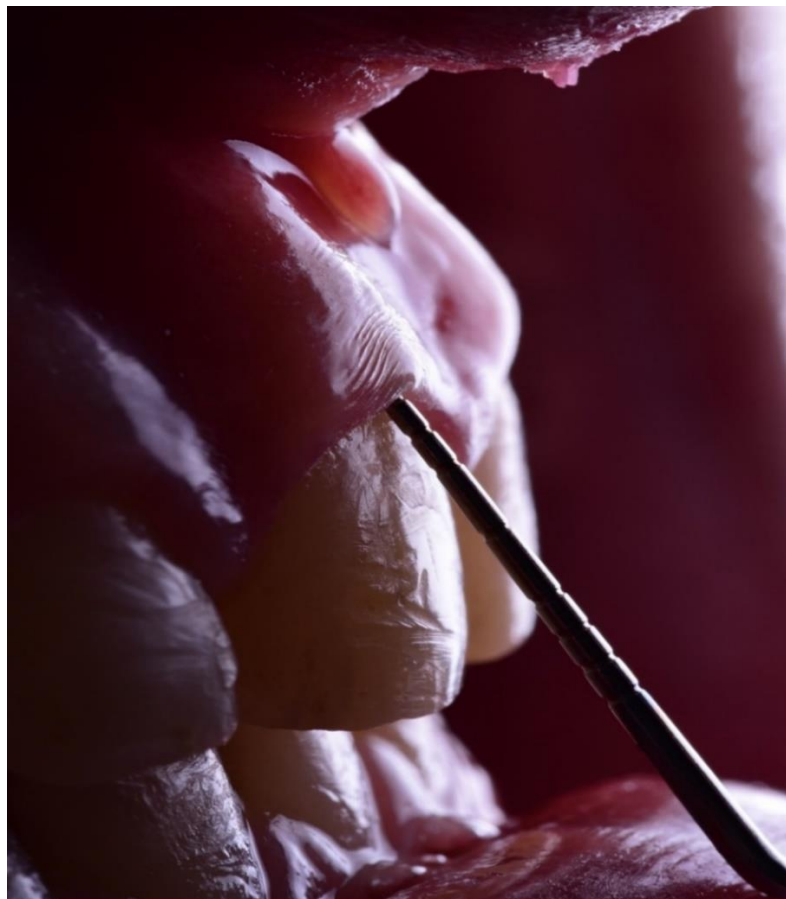
Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 3. Profundidad en mm de bolsas periodontales en dientes derechos de los pacientes de la Clínica Calafia, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Figura 2. Sondeo en bolsa periodontal de un paciente de la FOM, 2015-2016.



Propiedad: Facultad de Odontología Mexicali. UABC.

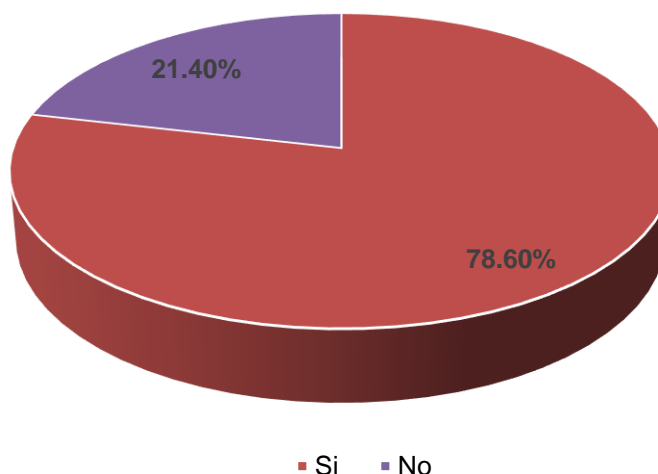
Si hubo presencia de sangrado en el 78.6% (33) de bolsas periodontales del lado derecho y en el 21.4% (9) no. Tabla 7.6.

Tabla 7.6. Frecuencia de sangrado de bolsas periodontales derechas durante la toma de muestra a los pacientes con periodontitis crónica, 2015-2016.

Presencia de Sangrado	Frecuencia	Porcentaje
Si	9	21.4
No	33	78.6
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 4. Porcentaje de sangrado durante el sondeo en bolsas periodontales derechas de pacientes de la FOM, UABC, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*

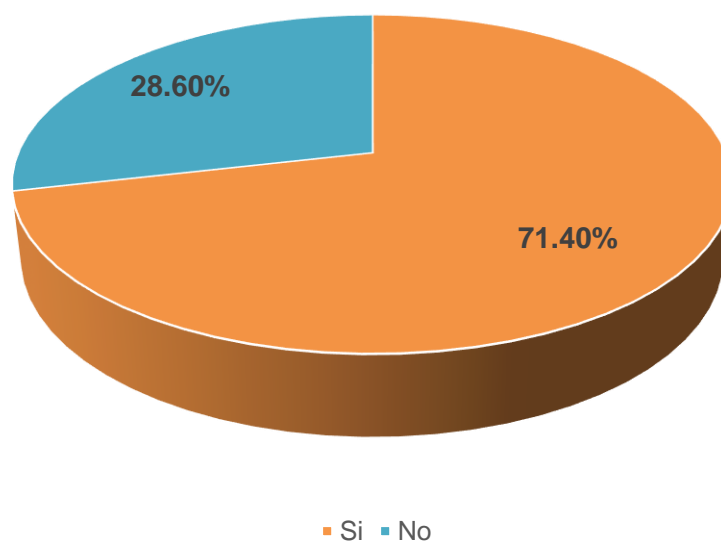
El 71.4% (30) representa la de pérdida de inserción en los dientes de lado derecho y 28.6% (12) no presentó. Tabla 7.7

Tabla 7.7. Frecuencia de pérdida de inserción de los dientes de lado derecho en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.

Pérdida de inserción	Frecuencia	Porcentaje
No	12	28.6
Si	30	71.4
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 5. Porcentaje de pérdida de inserción del lado derecho de pacientes de la FOM, UABC, 2015-2016



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*

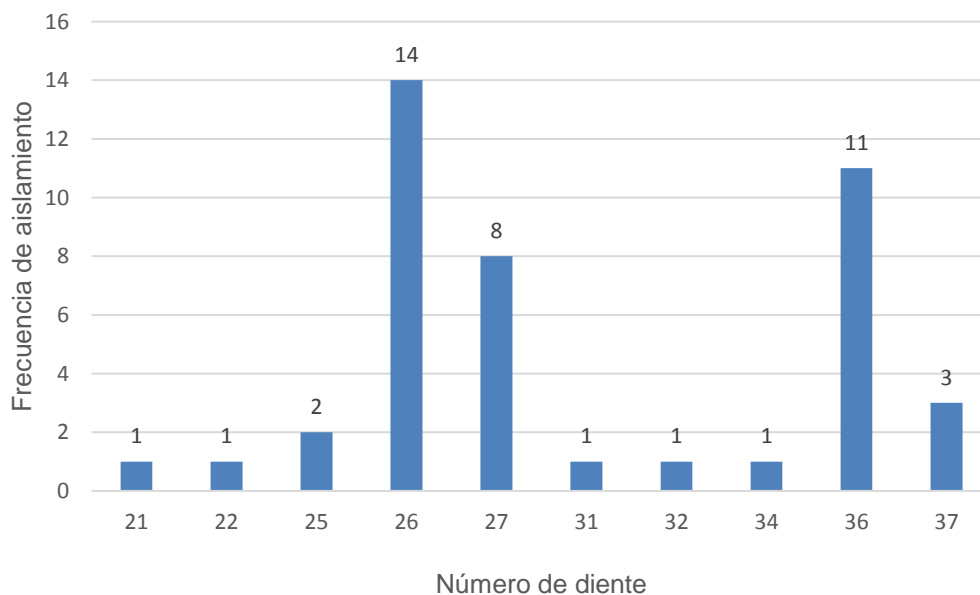
Los sitios de aislamiento dental del lado izquierdo fueron del: número 26 33.1% (14); número 21 2.4% (1); número 22 2.4% (1); número 31 2.4% (1); número 32 2.4% (1) y número 34 2.4% (1); Tabla 7.8.

Tabla 7.8. Sitio de aislamiento dental más frecuente del lado izquierdo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.

Número de diente izquierdo	Frecuencia	Porcentaje
21	1	2.4
22	1	2.4
25	2	4.8
26	14	33.3
27	8	19.0
31	1	2.4
32	1	2.4
34	1	2.4
36	11	26.2
37	3	4.8
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 6. Frecuencia de aislamiento de dientes de lado izquierdo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

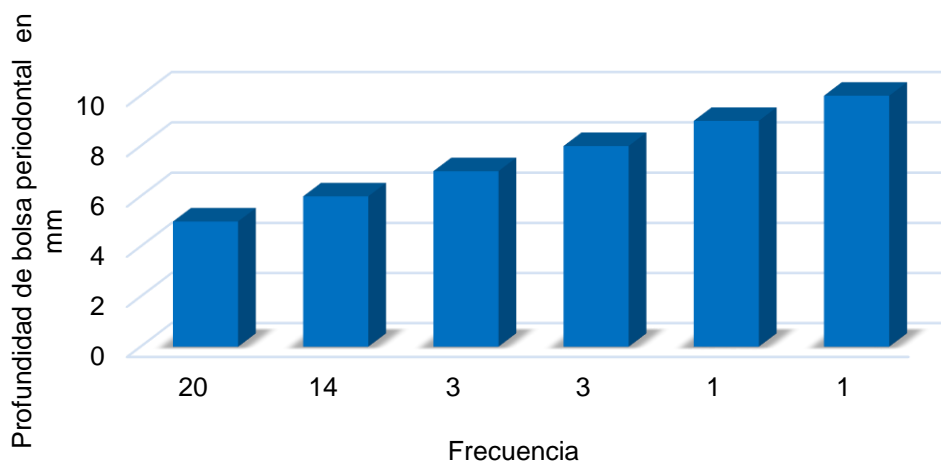
La profundidad en bolsas periodontales izquierdas de 5 mm 47.6% (20) fue la más observada; 9 mm 1 (2.4) y 10mm 1 (2.4%) fueron las menos frecuentes. Tabla 7.9.

Tabla 7.9. Frecuencia de profundidad de bolsas periodontales izquierdas en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.

Profundidad de bolsa periodontal izquierda mm	Frecuencia	Porcentaje
5	20	47.6
6	14	33.3
7	3	7.1
8	3	7.1
9	1	2.4
10	1	2.4
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 7. Frecuencia de profundidad de bolsa periodontal izquierda en mm en pacientes de la FOM, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar Incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

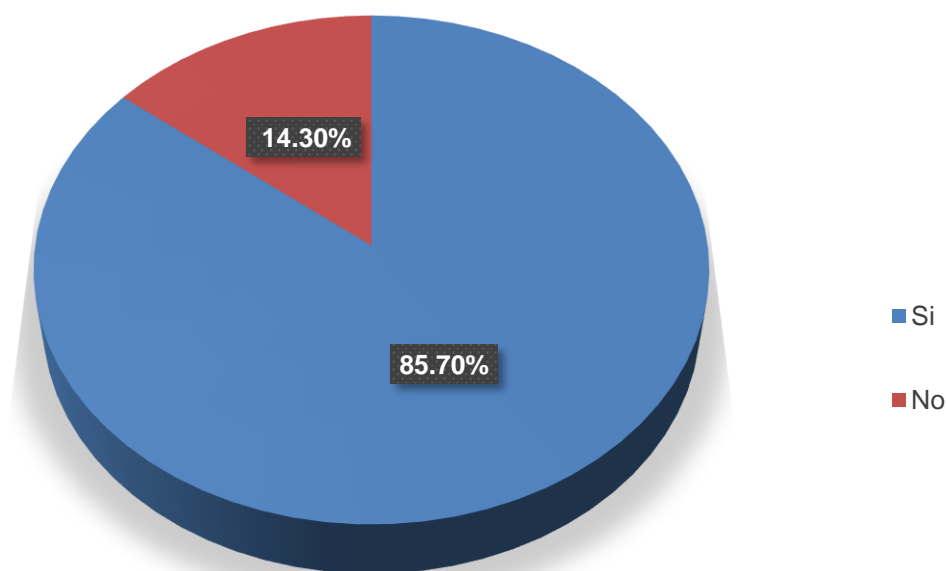
Presencia de sangrado en bolsas periodontales izquierdas: si 36 (85.7%) y No 6 (14.3%). Tabla 7.10.

Tabla 7.10. Presencia de sangrado en bolsas periodontales durante el muestreo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.

Presencia de sangrado	Frecuencia	Porcentaje
No	6	14.3
Si	36	85.7
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 8. Porcentaje de sangrado del lado izquierdo durante el sondaje en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

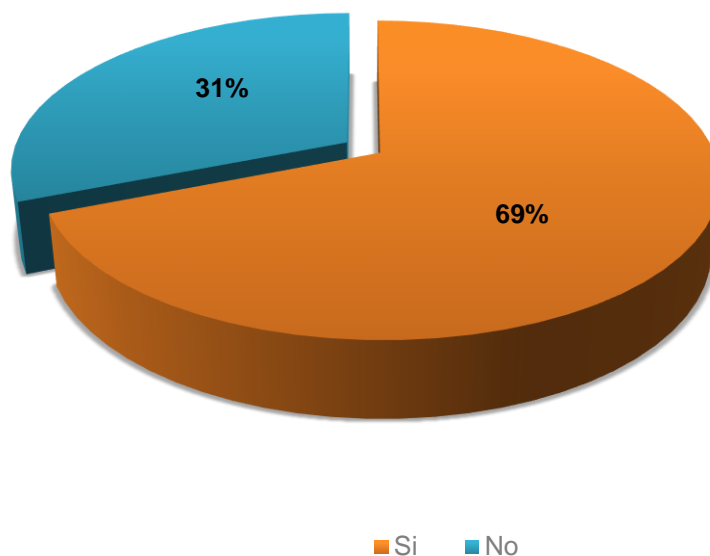
La pérdida de inserción en los dientes de lado izquierdo: Si 69% (29) y No 31% (13). Tabla 7.11.

Tabla 7.11. Pérdida de inserción de los dientes de lado izquierdo en pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.

Pérdida de inserción	Frecuencia	Porcentaje
No	13	31.0
Si	29	69.0
Total	42	100.0

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 9. Porcentaje de pérdida de inserción lado izquierdo de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*

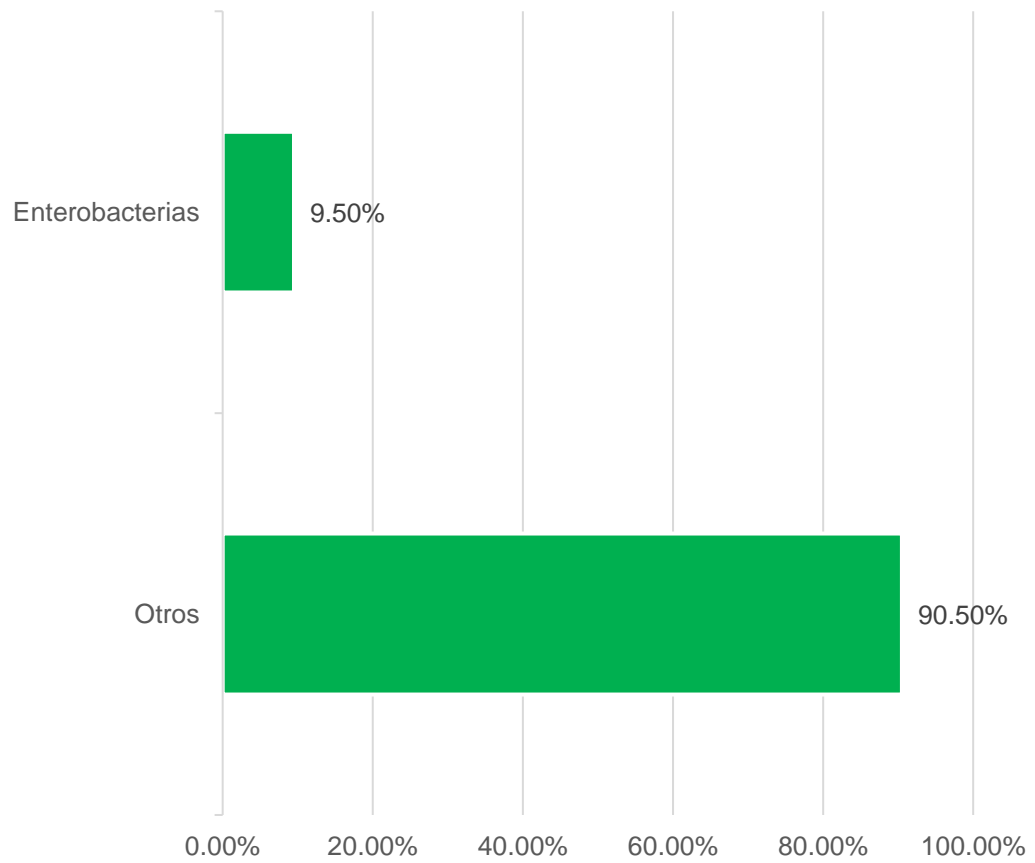
El cien por ciento de las muestras tuvo desarrollo bacteriano en el caldo infusión cerebro corazón y en el medio nutritivo sólido utilizado como control. El 90.5% (38) muestras no se crecieron en los agares Mac Conkey y ENDO. El 9.5% (4) que si se desarrolló dieron lactosa positiva en agar Mac Conkey, fueron bacilos Gram negativos y oxidasa negativa. Prevalencia de Enterobacterias: 9.5% (4 muestras positivas) y negativas 90.5% (38). Tabla 7.12.

Tabla 7.12 Desarrollo de Enterobacterias en agar Mac Conkey aisladas de pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.

Desarrollo de Enterobacterias en agar Mac Conkey	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	38	90.5
Positivo	4	9.5
Total	42	100.0

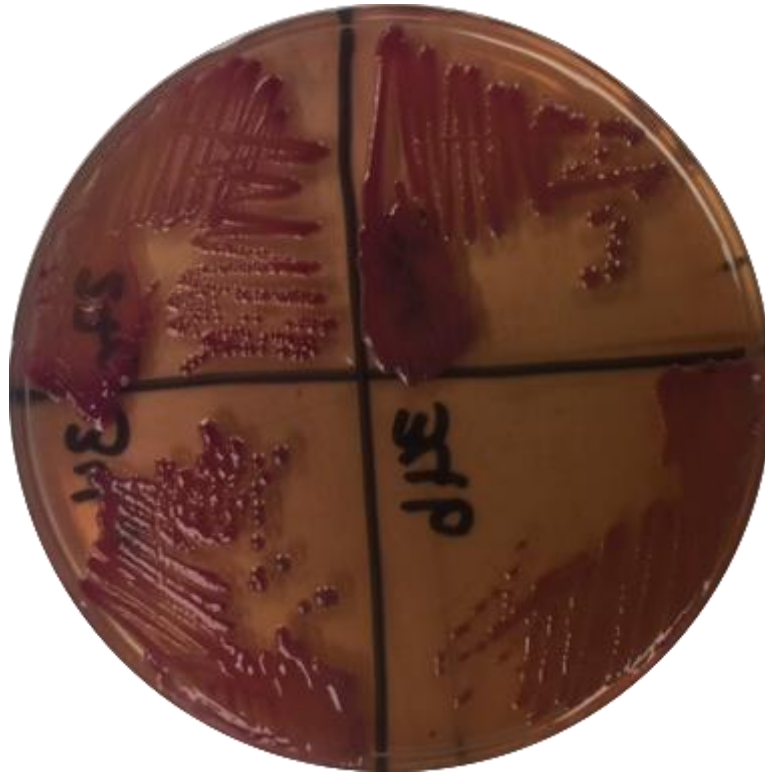
Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 10. Prevalencia de enterobacterias en bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Figura 3. Placa Petri con desarrollo microbiano en agar MacConkey.



Propiedad: Laboratorio de Microbiología de la FOM, UABC.

Se encontraron 4 muestras positivas a diferentes especies: folio 007 dientes 15 y 27 ambos desarrollaron colonias típicas de enterobacterias, sin identificar especie. Folio 034a diente número 15, desarrollo colonias mucoides y rosadas que correspondieron a *Klebsiella pneumoniae*. Folio 035 a y b dientes 17 y 31 respectivamente, ambas desarrollaron colonias rosadas de consistencia mucoide en agar Mac Conkey y concernió a la especie *Klebsiella oxytoca*. Folio 040b diente 26, las colonias de esta muestra fueron rosa-rojizas y precipitaron sales biliares se identificó la enterobacteria *Escherichia coli* (Tabla 7.13).

Tabla 7.13. Muestras positivas para especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de a FOM, 2015-2016.

Número de folio	Diente	Crecimiento en Mac Conkey	Especies de Enterobacterias
007	15 derecho 27 izquierdo	Colonias típicas de enterobacterias color rosadas	Sin identificar
034a	15 derecho	Colonias rosadas de consistencia mucóide	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
035a	17 derecho	Colonias mucoides y rosadas	<i>Klebsiella oxytoca</i>
035b	31 izquierdo	Colonias mucoides y rosadas	<i>Klebsiella oxytoca</i>
040b	26 izquierdo	Colonias rosa-rojizo con precipitación de bilis	<i>Escherichia coli</i>

Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

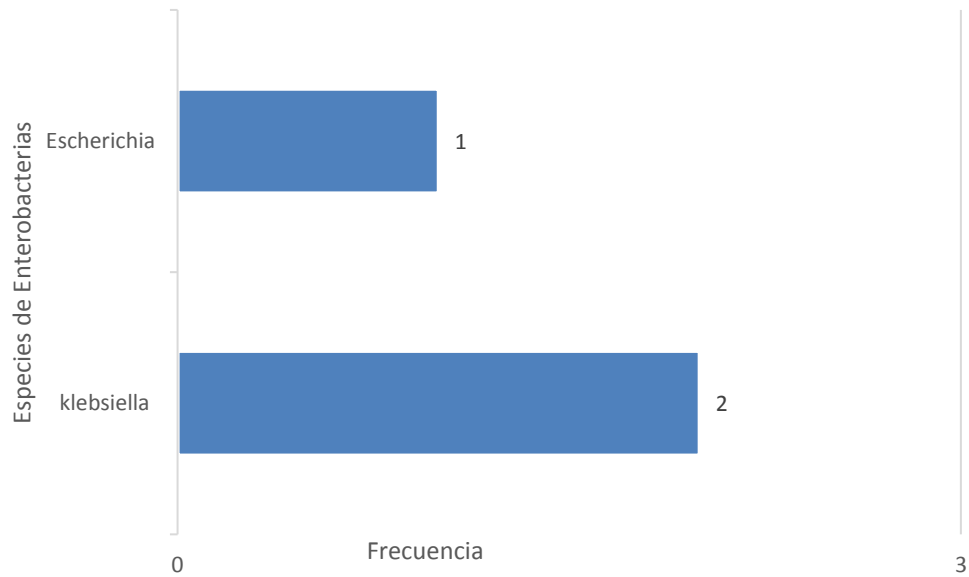
Prevalencia de especies de enterobacterias en pacientes *Escherichia coli* 33.3% (1) *Klebsiella pneumoniae* 33.3% (1) y *Klebsiella oxytoca* 33.3% (1) Tabla 7.14.

Tabla 7.14. Prevalencia de especies de Enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.

Especies de enterobacterias	Frecuencia	Porcentaje
<i>Escherichia coli</i>	1	33.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	33.3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	33.3
Total	3	100.0

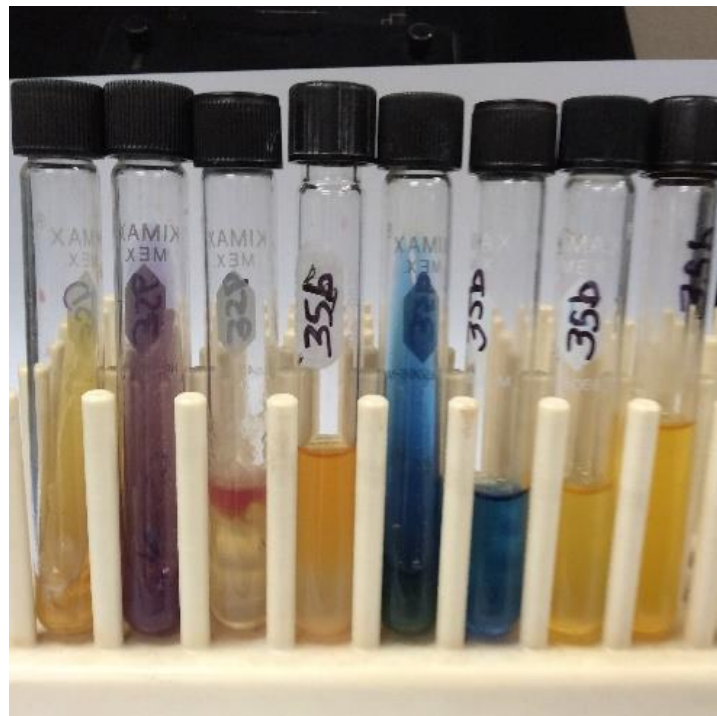
Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Gráfica 11. Frecuencia de especies de Enterobacterias por género en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM, 2015-2016.



Fuente: cédula de datos personales y de observación para determinar incidencia y prevalencia de la familia *Enterobacteriaceae*.

Figura 4. Set de pruebas bioquímicas para enterobacterias.



Propiedad: Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología Mexicali.

Susceptibilidad antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae*: Eritromicina resistente, Clindamicina resistente, Amox/Ac-Clav sensible, Ciprofloxacina intermedio, Amikacina sensible, Azitromicina resistente, Minociclina resistente, Imipenem sensible, Cefuroxima intermedio, Ceftriaxona sensible, y fosfomicina sensible. *Klebsiella oxytoca*: Eritromicina resistente, Clindamicina resistente, Amox/Ac-Clav sensible, Ciprofloxacina sensible, Amikacina sensible, Azitromicina resistente, Minociclina sensible, Imipenem sensible, Cefuroxima sensible, Ceftriaxona sensible, y fosfomicina sensible. *Escherichia coli*: Eritromicina resistente, Clindamicina resistente, Amox/Ac-Clav sensible, Ciprofloxacina sensible, Amikacina sensible, Azitromicina resistente, Minociclina intermedio, Imipenem sensible, Cefuroxima sensible, Ceftriaxona sensible, y fosfomicina sensible (Tabla 7.15).

Tabla 7.15. Susceptibilidad antimicrobiana de especies de enterobacterias aisladas de bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica de a FOM, 2015-2016.

Antibiótico	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 034a			<i>Klebsiella oxytoca</i> 035a			<i>Klebsiella oxytoca</i> 035b			<i>Escherichia coli</i> 040b		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
Eritromicina E15			0 mm			0 mm			0 mm			0 mm
Clindamicina CC			0 mm			0 mm			0 mm			0 mm
Amoxicilina/ Ácido clavulánico AMC	20 mm			25 mm			25 mm			21 mm		
Ciprofloxacina CIP		17 mm		30 mm			31 mm			25 mm		
Amikacina AN	18 mm			20 mm			20 mm			17 mm		
Azitromicina AZM			8 mm			0 mm			10 mm			10 mm
Minociclina MI			12 mm	18 mm			19 mm				14 mm	
Imipenem IPM	30 mm			32 mm			30 mm			28 mm		
Cefuroxima CXM		17 mm		29 mm			26 mm			18 mm		
Ceftriaxona CRO	29 mm			38 mm			34 mm			29 mm		
Fosfomicina FOS	19 mm			18 mm			20 mm			22 mm		

Fuente: Instrumento para sensibilidad antimicrobiana

Nota: S=susceptible, I=intermedio y R=resistente

Figura No. 5 Prueba de difusión por disco *Klebsiella pneumoniae*.



Propiedad: Laboratorio de Microbiología de la FOM, UABC.

Tabla 7.16. Datos estadísticos de pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC, 2015-2016.

Variable	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	42	27	67	46.12	10.583
Profundidad de bolsa derecha	42	5	12	6.26	1.822
Profundidad de bolsa izquierda	42	5	10	5.90	1.206

Fuente: Base de datos SPSS obtenidos de cédula de datos personales.

Resultado analítico: Prueba Chi cuadrada de bondad de ajuste 0.00000001

Tabla 7.17. Prueba estadística Chi-cuadrada con bondad de ajuste de enterobacterias y pacientes con periodontitis crónica de la FOM, UABC; 2015-2016.

Prueba	Enterobacterias
Chi-Square	24.381 ^a
df	1
Asymp. Sig.	0.00000001

Fuente: Base de datos SPSS obtenidos de cédula de datos personales.

CAPÍTULO V
DISCUSIÓN DE RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Inicialmente se evaluaron 183 pacientes. Todos acudieron a consulta en la Clínica Calafia de la FOM, por presentar síntomas de periodontitis, siendo diagnosticados con periodontitis crónica, por el especialista en periodoncia. Únicamente 47 fueron sujetos a esta investigación y se les tomó una muestra de bolsas periodontales.

Una vez diagnosticados, se les solicitó su participación e informó acerca del estudio y firmaron el consentimiento informado (Anexo 1). Cabe mencionar, que los pacientes fueron seleccionados siguiendo estrictamente los criterios de inclusión. Por otro lado, aquellos pacientes que habían estado en tratamiento con antibiótico en el último mes o habían pasado por algún tratamiento periodontal previo, estaban embarazadas, padecían diabetes o se negaban a participar no fueron incluidos conforme a los criterios de exclusión señalados en la metodología. Finalmente, de acuerdo a los criterios de eliminación se descartaron 5 muestras. En consecuencia, la muestra final quedó integrada por 42 pacientes (n=42).

Respecto a las características sociodemográficas, el sexo predominante en los pacientes con periodontitis crónica fue el de los hombres con una prevalencia de 52% (22) seguido por las mujeres 47.6% (20). Estos resultados difieren de lo reportado por Ardila y cols,⁴¹ donde las mujeres predominan. Sin embargo, los resultados concuerdan con lo publicado por Serrano et al¹⁰ y Vieira et al 2016.³⁵

En relación a la variable edad, el mayor porcentaje contaba con edades que oscilaban entre 38 y 50 años (47.7%). La edad mínima fue 27 años y la máxima 67 años. 50 años fue la edad más frecuente (5) con un porcentaje de 11.9 (Cuadro 4.2). Por último, la media de edad fue de $\mu=46.12\pm 10.58$; semejante a lo reportado en la literatura.^{16,41}

En otro sentido, la variable conductual analizada fue el hábito de fumar en los pacientes. Los resultados obtenidos mostraron que sólo el 19% (8) de la población fumaba. Dicha cifra, está dentro de los datos publicados en estudios similares que oscilan entre el 7.3 al 36.4% de pacientes con periodontitis crónica y hábito de fumar.^{18,41}

Otros aspectos considerados en este estudio, de los pacientes con periodontitis crónica fueron datos clínicos, cabe señalar que se analizaron mínimo dos dientes por paciente uno de lado derecho y el otro del lado izquierdo. Además, se observaron y midieron índices periodontales como: la profundidad de la bolsa periodontal, la presencia o ausencia

de sangrado, así como la pérdida de inserción en ambos dientes. Estos últimos considerados en otros estudios para el diagnóstico preciso de la periodontitis crónica.

Los datos más relevantes de los dientes de lado derecho que presentaron mayor frecuencia de bolsas periodontales fue el diente número 16 con 50% (21), seguido por el 17 con 19% (8). Los menos frecuentes fueron los dientes número 11, 42 y el 48 con 2.4%. No obstante, los pacientes estudiados no presentaron bolsas periodontales en los dientes número 13, 18, 43, 44, 45 y 47 de ambas arcadas de lado derecho. El 71% de los dientes afectados también presentaban pérdida de inserción.

La profundidad mínima en bolsas periodontales derechas fue 5 mm con una frecuencia de 20 (47,6%) y 2 (4.8%) pacientes tuvieron profundidad máxima de 12 mm. La media de la población general fue $\mu = 6.26 \pm 1.82$.

Por otro lado, la profundidad máxima de bolsa en pacientes positivos a enterobacterias fue de 8 mm y la mínima 5 mm. $\mu = 6 \pm 1.41$. Estudios de Gamboa et al³⁷ reportaron una $\mu = 5.60 \pm 1.75$ de profundidad de bolsa en presencia de enterobacterias la cual es menor a la reportada por nuestro estudio.

Por último, el 78% de los pacientes de la Clínica Calafia tuvieron sangrado en bolsas periodontales, un porcentaje superior al 47.09% reportado por Botero et al²⁹ pero más cercano al 70% publicado por Ardilla et al⁴¹ y 68.92% en Chile Herrera et al.³⁵

Los datos obtenidos en el lado izquierdo son los siguientes: El 69% de los dientes tuvieron pérdida de inserción y los dientes más frecuentes de los cuadrantes del lado izquierdo fueron el número 26 en el 33.3% (14) de los pacientes, seguido por el número 36 con 26.2% (11). Contrario a lo anterior, no se localizaron bolsas periodontales en los dientes número 23, 24, 28, 33, 35 y 38.

La profundidad mínima y más frecuente de las bolsas periodontales izquierdas fue de 5 mm 47% (20), seguida por 6 mm (33%) y la máxima profundidad de bolsa izquierda fue de 10 mm 2,4% (1). La μ fue de 5.9 ± 1.26 . En los pacientes con presencia de enterobacterias la profundidad máxima fue de 6 mm y la mínima 5 mm con una $\mu = 5.25 \pm 0.5$, la cual fue inferior a 6.3 ± 0.9 reportado por Barbosa et al.⁴⁶

Del lado izquierdo la presencia de sangrado fue más frecuente 85.7% que en el derecho y mucho mayor que en Brasil 66,89% Prudente⁷ y menor que en España 100% Herrera et al.³⁵

Por otra parte, en cuanto a los datos microbiológicos las 4 muestras con crecimiento y fermentación de lactosa en agar Mac Conkey, lo que permitió diferenciar de los bacilos Gram negativos no fermentadores. Además, todas las cepas fueron negativas a la prueba de oxidasa y fueron coloreadas con la tinción de Gram se observaron en el microscopio óptico como bacilos Gram negativos. Todo lo anterior como pruebas características mínimas de identificación de la familia *Enterobacteriaceae* reportadas en la literatura.⁵¹⁻⁵²

Finalmente, se determinó que la prevalencia de enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM durante el periodo de enero 2015 a marzo 2016 fue del 9.5%. Este porcentaje está dentro de lo publicado que va del 0 al 92%.^{12,18-21,23-24,30}

La prevalencia de especies de la familia *Enterobacteriaceae* se puede comparar de manera indirecta con otros estudios realizados en latinoamerica o incluso por país. Por ejemplo, en distintas regiones de Colombia Betancourth et al³⁸ 39% prevalencia entéricos en pacientes con periodontitis crónica, Goncalves et al¹⁹ aisló especies de *Enterobacteriaceae* en el 20% de los pacientes, Ardilla et al encontró enterobacterias en 21.05% de su población bajo estudio,⁴¹ Lafaurie et al¹⁶ reportaron 34.5%, Gamboa et al³⁷ obtuvieron 34.4% de enterobacterias y Serrano et al¹⁰ publicaron una prevalencia de enterobacterias de 72.4% en fase inicial y después del tratamiento periodontal no quirúrgico la prevalencia de entéricos persistió en el 17.2% de pacientes. Cabe resaltar, que la prevalencia de anaerobios estrictos sólo fue detectada en el muestreo inicial con 74.8%, después del tratamiento no hubo desarrollo microbiano en las muestras.¹⁰

En otros países, se han encontrado índices de prevalencia muy elevados como en Sudan 92% Ali,¹² Santo Domingo 67%. Slots²³. Rumania 61% Ali¹² y Jamaica 59.5% Ogunsalu.³⁰ Contrario a lo anterior, las prevalencias más bajas se reportaron en: Brasil 20% Goncalves¹⁹ Molander²⁵ en Suecia 14%. Herrera et al¹⁸., en Chile fue 17% y en España 0%. En Estados Unidos la prevalencia fue de 14% de acuerdo a Slots et al.²⁰ A este grupo podemos contribuir un poco, agregando los datos de prevalencia de 9.5% de enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica en México, ya que hasta el momento no se han encontrado estudios publicados referentes al tema en cuestión en nuestro país.

Lo anterior corrobora ampliamente lo reportado en la literatura, que geográficamente existe una gran diversidad de prevalencia de los distintos patógenos oportunistas aislados de bolsas periodontales.

Respecto a los resultados de frecuencia de especies *Enterobacteriaceae*. Se aislaron e identificaron tres especies *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Escherichia coli*. En una proporción de 66.6% y 33.3% respectivamente de acuerdo al género. Molander et al,²⁵ encontraron también especies de los mismos generos. El género *Klebsiella* estuvo en mayor proporción al igual que lo reportado por Betancourth et al.³⁸

En relación a la susceptibilidad a distintos antimicrobianos de las especies de enterobacterias encontradas. Se determinó resistencia a Eritromicina, Clindamicina y Azitromicina en las tres especies aisladas de la familia *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Escherichia coli*. No obstante, todas las cepas fueron susceptibles a los siguientes antimicrobianos: Amox/Ac-Clav, Amikacina, Imipenem, Cefuroxima, Ceftriaxona y fosfomicina. Respecto a la Minociclina, *Klebsiella oxytoca* y *pneumoniae* fueron susceptibles; en cambio, *E.coli* fue de susceptibilidad intermedia. En cuanto a la Ciprofloxacina, sólo *Klebsiella pneumoniae* es de susceptibilidad intermedia las demás cepas fueron sensibles a este antimicrobiano. Los datos de la bacteria antes mencionada difieren de los reportados por Goncalves et al,¹⁹ ya que sus cepas fueron sensibles a CIP.

Pero, es importante resaltar, la susceptibilidad de *E. coli* a ciprofloxacina y de *Klebsiella pneumoniae* al Carbapenem utilizado, porque actualmente existe una gran preocupación por la resistencia de estas especies a los antibióticos antes mencionados. De hecho, la infección por *Klebsiella pneumoniae* podría causar la muerte (OMS, 2016).⁵⁵

Las enterobacterias son consideradas patógenos multiresistentes a antimicrobianos, además la resistencia a antimicrobianos puede ser transmitida entre los microorganismos Goncalves.¹⁹ Las cepas aisladas en este estudio presentaron resistencia a los antimicrobianos (RAM) Clindamicina y Eritromicina utilizados comúnmente para el tratamiento periodontal. Debemos mencionar que la mayoría de las cepas aisladas fueron susceptibles a CIP antimicrobiano reportado como el de mejor elección para erradicar enterobacterias de bolsas periodontales. Slots J et al,²⁰ Gamboa et al,³⁷ Jaramillo et al¹⁷ y Barbosa et al.⁴⁶ Sin embargo, para *Klebsiella pneumoniae* el antimicrobiano de elección podría ser IPM.

Los datos anteriores destacan la importancia de realizar una identificación bacteriana hasta especie y determinar el perfil antimicrobiano preciso de las cepas aisladas de bolsas periodontales, para poder prescribir el antimicrobiano específico y efectivo para la especie identificada, todo esto permitirá un tratamiento adecuado a los pacientes con periodontitis crónica. Además, sería importante considerar la necesidad de una antibioterapia combinada para garantizar el efecto tanto en microorganismos anaerobios como aerobios oportunistas sobre todo en periodontitis reincidentes.

Finalmente, siendo las variables a analizar de tipo cualitativo, se decidió aplicar una prueba de Chi cuadrada de Bondad de Ajuste, obteniéndose un valor de "p" de 0.000000001; siendo este menor a 0.05 es considerado estadísticamente significativo.

Por otro lado a pesar de que la muestra es pequeña y los resultados con cultivos positivos más pequeña aún, es de suma importancia incrementar la muestra, considerar otras variables como morbilidades sistémicas o adicciones, hábitos de higiene dental, estatus socioeconómico entre otros. De igual manera buscar alternativas de aislamiento bacteriano más económicos, rápidos y eficientes. Es de suma importancia estudiar más la prevalencia y relación de estos patógenos oportunistas con los periodontopatógenos clásicos porque también se han relacionado con enfermedades cardiovasculares, además se ha demostrado que los sitios afectados por periodontitis crónica de donde han sido aisladas especies de enterobacterias presentan mayor destrucción del periodonto.

5.2 CONCLUSIÓN

Los resultados anteriores confirman la hipótesis de investigación con una prevalencia de 9.5% de enterobacterias. Además, se corroboró la frecuencia de 3 distintas especies de la familia de *Enterobacteriaceae*: *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* y *Escherichia coli*.

De muestras de bolsas periodontales en pacientes con periodontitis crónica de la Clínica Calafia de la FOM se pudo aislar, cultivar e identificar bacterias que poseen características concretas de especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Lo anterior permitió determinar la prevalencia de especies de enterobacterias y confirmar su susceptibilidad a algunos antimicrobianos como Amoxicilina/Ácido Clavulánico, Ciprofloxacina, Amikacina, Minociclina, Imipenem, Cefuroxima, Ceftriaxona y Fosfomicina.

De acuerdo a los datos estadísticos, es válido aislar distintas especies de enterobacterias de las bolsas periodontales de pacientes con periodontitis crónica y además con la posibilidad de que posean susceptibilidad antimicrobiana.

Con base a lo antes mencionado, se considera la muestra de este estudio significativa y trascendental a pesar de su número, ya que de alguna manera sugiere al odontólogo considerar la presencia de enterobacterias para un tratamiento más asertivo.

5.3 RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar este tipo de estudios en una muestra mucho mayor y aumentar el tiempo. El muestreo de este proyecto abarco prácticamente un año y solo se consideraron pacientes sin diabetes, sería importante realizar estudios comparativos que incluyan pacientes con diabetes, con gingivitis e individuos sanos para determinar la presencia de especies de enterobacterias en placa subgingival.

También, se recomienda realizar estudios longitudinales para poder conocer mejor la microbiota subgingival de los pacientes con enfermedades periodontales de Mexicali. Otra recomendación sería que el clínico incluya estudios microbiológicos como parte del esquema de tratamiento para los pacientes con periodontitis crónica para descartar o confirmar la presencia de patógenos oportunistas en bolsas periodontales.

De acuerdo a los resultados de esta investigación, por sus características y mecanismo de acción la ciprofloxacina podría ser el antimicrobiano más recomendado para enterobacterias en bolsas periodontales.

REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

1. Papapanou P. Periodontal Diseases: Epidemiology. *Annals of Periodontology*. 1996.(1);1-36.
2. World Health Organization. [Sede Web]*Media Centre. Fact sheet N°318.April 2012. [15-marzo-2015].Oral health.[una pantalla]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs318/en/>
3. Eke PI, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO, Genco RJ, James Beck, Douglass G. Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: 2009 and 2010.J DENT RES. 2012 [citado 8 marzo 2015] Disponible en:<http://jdr.sagepub.com/content/early/2012/08/29/0022034512457373.full.pdf+html>
4. SUIVE/DGE/SALUD/Información Epidemiológica de Morbilidad, Anuario 2011. Versión Ejecutiva.pp64-65. Disponible en: http://epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2012/ver_ejecutiva_2011.pdf
5. Secretaria de Salud. Sistema Nacional de Vigilancia de Patologías Bucales. Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB). Disponible en: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/bol_sivepab/SIVEPAB-2014.pdf
6. Secretaria de Salud. Dirección General de Epidemiología Anuarios de morbilidad. 1984-2015. [base de datos en Internet]*. México. [acceso 19 de noviembre de 2016]. Disponible en: http://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/principales_estatal_grupo.html
7. Prudente S. Estudio de prevalencia y susceptibilidad antimicrobianas de diferentes periodontopatógenos en pacientes con periodontitis crónica en Brasil. [Tesis doctoral].Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2012.
8. Armitage G. Development of Classification System for Periodontal Diseases an Conditions. *Ann. Periodontol*. 1999. (4); 1-6.
9. Paster BJ, Olsen I, Aas JA, Dewhirst FE. The breadth of bacterial diversity in the human pocket and other oral sites. *Periodontology* 2000. 2006. 42;80-87.
10. Serrano C, Torres N, Acosta A, Bejarano A, Castellanos Me, Caviedes M. Efecto de tratamiento periodontal no-quirúrgico en la detección de bacilos entéricos asociados a periodontitis crónica: descripción microbiológica. *Fundación Juan José Carraro*.2010.32;4
11. Socransky SS, Haffajje AD, Cugini M.A, Smith CM, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-44.
12. Ali RW, Velcescu C, Jivanescu MC. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples for Romanian adult periodontitis patients.*J Clin Periodontol*.1996. (23);133-9.
13. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol*. 2008; 35 (8): 346–361. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01280.x
14. Perea E. La microbiología Oral en la era de la genómica y la proteómica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.2005.23; 113-115.
15. Darveau R, Tanner A, Page R. The Microbial Challenge in Periodontitis. *Periodontol*.1997.14; 12-32.
16. Lafaurie G, Contreras A, Baron A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and Microbial Aspects of Chronic and Agressive Periodontitis in Colombia. A Multicenter Study. *Journal Periodontol*.2007.78; 629-639.
17. Jaramillo A, Betancourth M, Mayorga-Fayad I, Castillo DM, Aya MR, Lafaurie GI, et al.Perfiles Antimicrobianos de Bacterias Subgingivales en Pacientes con Periodontitis en Colombia. *Rev. Clin Periodoncia Implantol Rehabil. Oral*. 2008; 1 (2):61-65.

18. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Otero A, Jaramillo A, Silva N, Sanz M, Botero JE, León R. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol* 2008; 35:106-13
- Ardilla M. Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica. *Av. Periodon Implantol.* 2010. 22.1.
19. Goncalves MO, Coutinho-Filho WP, Pimenta FP, Pereira GA, Pereira JJA, Mattos-Guaraldi AL et al. Periodontal disease as reservoir for multi-resistant and hydrolytic enterobacterial species. The Society for Applied Microbiology, *Letters in Applied Microbiology.* 2007.44:488-494
20. Slots J, Feik D, Rams TE. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae and Acinetobacter in human periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1990; 5:149-54
21. Sedgley CM, Saramanarayake LP, Chan JCY and Wei SHY. A 4-year longitudinal of the oral prevalence of enteric gram-negative rods and yeasts in Chinese children. *Oral Microbiology and Immunology.* 1997; 12: 183-188.
22. Ali RW, Bakken V, Nilsen R and Skaug N. Comparative Detection Frequency of 6 Putative Periodontal Pathogens in Sudanese and Norwegian Adult Periodontitis Patients. *Journal of Periodontology.* 1994; 65(11):1046-1052.
23. Slots J, Rams TE, Feik D, Taveras HD, Gillespie GM. Subgingival Microflora of Advanced Periodontitis in the Dominican Republic. *Journal of Periodontology.* 1991; 62 (9):543-547.
24. Haffajje AD, Borgen A, Hasturk H, Feres M, López NJ, Socransky SS. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 996-1002.
25. Molander A, Reit C, Dahlen G, Kvist T. Microbiological status of root filled teeth with apical Periodontitis. *Int End J* 1998; 31: 1-7.
26. Camelo-Castillo AJ, Mira A, Pico A, Nibali L, Henderson B, Donos N and Tomás I. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Front Microbiol.* 2015; 6:119:2-12.
27. Contreras A, Moreno SM, Jaramillo A, Pelaez M, Duque A, Botero JE, Slots J. Periodontal microbiology in Latin America. *Periodontology* 2000.67. 2015: 58–86.
28. 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(2):292-9.
29. Botero JE, Contreras A, Lafaurie G, Jaramillo A, Betancourt M, Arce M. Occurrence of periodontopathic and Superinfecting bacteria in chronic and aggressive periodontitis subjects in Colombian population. *Journal Periodontol.* 2007; 696-704.
30. Ogunsalu C, Daisley H, Akpaka PE. Patients with Juvenile Periodontitis in Jamaica: A Prospective Multi-centre Study of 15 Cases over a 15-year Period. *West Indian Med J* 2011; 60 (2): 235-239.
31. Armingohar Z, Jørgensen JJ, Kristoffersen AK, Abesha-Belay E and Olsen I. Bacteria and bacterial DNA in atherosclerotic plaque and aneurysmal wall biopsies from patients with and without periodontitis. *Journal of Oral Microbiology* 2014; 6:1-13.
32. Botero JE, Bedoya E. Determinantes del Diagnóstico Periodontal. *Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 2010; 3(2):94-99.
33. Santos-Pereira SA, Giraldo PC, Saba-Chujfi E, Amaral RLG, Morais SS, Fachini AM, et al. Chronic periodontitis and pre-term labour in Brazilian pregnant women: an association to be analysed. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 208–213.
34. Socransky SS, Haffajjee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000.2005; 38:135-187.

35. Vieira Colombo AP, Bichara C, Rocha FA, Martins do Souto R, da Silva-Boghossian CM. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microbial Pathogenesis*.2016; 94:27-34.
36. da Silva-Boghossian CM, Martins do Souto R, Luiz RR, Vieira Colombo AP. Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases. *Archives of oral biology*.2011; 56:899–906.
37. Gamboa F, Garcia DA, Acosta A, Mizrahi D, Paz A, Martinez D. et al. Presence and antimicrobial profile of Gram-negative facultative anaerobe rods in patients with chronic periodontitis and gingivitis. *Acta Odontol. Latinoam*.2013.26 (1); 24-30.
38. Betancourth M, Arce R, Botero J, Jaramillo A, Cruz C, et al. Microorganismos inusuales en surcos y bolsas periodontales. *Colomb. Med.* 2006; 37(1): 6-14. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cm/v37n1/v37n1a02.pdf>
39. Gaetti-Jardim, Nakano V, Wahasugui TC, Cabral FC, Gamba R, Avila-Campos MJ. Occurrence of yeast, enterococci and other enteric bacteria in subgingival biofilm of HIV-positive patients with chronic gingivitis and necrotizing periodontitis. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008.39:257-261.
40. Ardila CM. Efecto de las enterobacterias en pacientes con periodontitis crónica. *Av Periodon Implantol*. 2010; 22(1): 27-35
41. Ardila et al. Enfoque multinivel de la relación entre bacilos entéricos Gram negativos, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, y parámetros clínicos en enfermedad periodontal.2011.5.6:993-1007.
42. Listgarten MA, Lai CH, Young V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. *J Periodontol* 1993; 64:155-6.
43. Winkelhoff AJv, Rurenga P, Wekema-Mulder GJ, Singadji ZM, Rams TE. Non-oral gram-negative facultative rods in chronic periodontitis microbiota. *Microbial Pathogenesis*. 2016; 94: 117–122.
44. Guzmán IC, Grisales H, Ardila AM. Administración Sistémica Adjunta De Moxifloxacina Versus Ciprofloxacina Más Metronidazol En El Tratamiento De Periodontitis Crónica Con Presencia De Bacilos Entéricos Gram Negativos: II. Analisis Multinivel. *Revista Facultad De Odontología Universidad De Antioquia*. 2012; 23(2):207-224.
45. Szulc M, Kustrzycki W, Janczak D, Michalowska D, Baczynska D, and Radwan-Oczko M. Presence of Periodontopathic Bacteria DNA in Atheromatous Plaques from Coronary and Carotid Arteries. *BioMed Research International* 2015(12):1-6. [citado 26 septiembre 2015] Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/825397/>
46. Barbosa FCB, Mayer MPA, Saba-Chujfi E, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16: 306–310.
47. Berezow AB and Darveau RP. Microbial Shift and Periodontitis. *Periodontol* 2000. 2011; 55(1): 36–47.
48. Ardila CM, Arbeláez MI, Guzmán IC. Perfil microbiológico subgingival de pacientes con periodontitis crónica en una población de Colombia. *Avances en periodoncia*.2012; 24(1):47-53.
49. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI documento M100-S24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
50. Cavalieri SJ et al. Editora coordinadora Marie B. Coyle. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. Colaborador American Society for Microbiology. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. ISBN 1-55581-349-6 (soft cover) 2005.

51. James H. Jorgensen, Michael A. Pfaller. Editors In Chief. Karen C. Carroll, Marie Louise Landry, Guido Funke, Sandra S. Richter and David W. Warnock. Volume Editors. Manual of Clinical Microbiology. 11th edition. Printed in Canada. ASM Press. 2015.
52. Winn WC, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schrenckenberger PC, Woods GL. Koneman Elmer W. Enterobacteriaceae en Diagnóstico Microbiológico. Medica Panamerica. 6ta edición. 2008.
53. http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/legis/lgs/LEY_GENERAL_DE_SALUD.pdf
mayo/30/2015
54. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
Mayo/31/2015
55. World Health Organization. [Sede Web]*Media Centre. Nota de prensa. Septiembre 2016. [Nov/10/2016]. Resistencia a los antimicrobianos. [una pantalla]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>

ANEXOS



Anexo 1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre _____

Lugar y Fecha _____

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado: PREVALENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE ESPECIES DE ENTEROBACTERIAS EN BOLSAS PERIODONTALES DE PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA CONFIRMADA

Registrado ante el Departamento de Posgrado e Investigación con el número:

El objetivo del estudio es: Aislar e identificar especies de enterobacterias en bolsas periodontales de pacientes con diagnóstico de periodontitis crónica en la Facultad de Odontología Mexicali (FOM) durante el periodo 2015-1.-2015-2

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: permitir la toma de una muestra de bolsas periodontales y mucosa bucal.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre el procedimiento a seguir así como los beneficios derivados de mi participación en el estudio.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente.

El Investigador Responsable me ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Nombre y firma de la paciente

Anexo 2

Cédula de datos personales y datos de observación en el laboratorio

Folio: _____

Paciente: _____ **Edad:** _____

Género: M / F **No. Expediente:** _____

Dx. Periodontal: _____ **Fecha de Diagnóstico:** _____

Presión arterial: _____ **Peso:** _____ **Estatura:** _____

Circunferencia de cintura: _____ **Fumador:** Si / No

Diente No.: _____ **Derecho=** _____ **Izquierdo=** _____

# DE MUESTRA	DIENTE ZONA	SANGRADO SI/NO	PERDIDA DE INSERCIÓN	TOMA ICC	FECHA INCUBACIÓN	LECTURA CALDO ICC	SIEMBRA FECHA Y HORA				+/- LECTURA 24 HORAS				+/- LECTURA 48 HORAS							
							M	H	E	N	D	O	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C
Derecho	# mm Bolsa					48 hrs ()																
						24 hrs ()																
Izquierdo	# mm Bolsa					48 hrs ()																
						24 hrs ()																
Mucosa	zona					48 hrs ()																
						24 hrs ()																

Gram () _____

Oxidasa: () _____

NOMBRE DEL OBSERVADOR:

OBSERVACIONES DE LABORATORIO:

Chromoagar = CR

Mc Conkey = MC

Muller-Hinton=MH

Anexo 3

Instrumento de medición para identificación de enterobacterias.

Medios de Cultivo	Número de cepa	Número de cepa	Número de cepa	Número de cepa	Número de cepa	Número de cepa
TSI						
LIA						
Indol						
Movilidad						
H ₂ S						
Citrato de Simons						
Rojo de metilo						
Malonato						
Lisina						
S						

TSI (triple azúcar hierro), Agar LIA (lisina, hierro agar), indol,

Anexo 4

Instrumento para sensibilidad antimicrobiana

Número de muestra	Antibiótico	Halo de inhibición mm	Susceptible	Intermedio	Resistente
	Amikacina				
	Gentamicina				
	Kanamicina				
	Tobramicina				
	amoxicilina/ácido clavulánico				
	Ceftazidima				
	Ceftriaxona				
	Trimetropim/ sulfametoxazol				
	Ciprofloxacina				

Anexo 5

Criterios de interpretación de resistencia o susceptibilidad antimicrobiana diámetro en mm

Antimicrobiano	Criterio de interpretación diámetro en mm		
	S	I	R
Eritromicina E15	SD	SD	SD
Clindamicina CC	SD	SD	SD
Amoxicilina/ Ácido clavulánico AMC	≥18	14-17	≤13
Ciprofloxacina CIP	≥21	16-20	≤15
Amikacina AN	≥17	15-16	≤14
Azitromicina AZM	SD	SD	SD
Minociclina MI	≥16	13-15	≤12
Imipenem IPM	23	20-22	≤19
Cefuroxima CXM	≥23	15-22	≤14
Ceftriaxona CRO	≥25	20-22	≤19
Fosfomicina FOS	≥16	13-15	≤12

Fuente: NCLSI

Nota:SD= sin datos para enterobacterias