

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BIOPELÍCULA DE PACIENTES
FUMADORES SANOS PERIODONTALMENTE

POR:

C.D. VICTOR ALEJANDRO DANIELS OLIVAS

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN ESTOMATOLOGÍA

OPCIÓN: PERIODONCIA

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

ENERO 2024



Análisis microbiológico de la biopelícula de pacientes fumadores sanos periodontalmente. Tesis presentada por Víctor Alejandro Daniels Olivas como requisito para obtener el grado de Maestro en Estomatología, ha sido aprobada y aceptada por:

M.E.S. Juan Antonio Galache Vega
Director de la Facultad de Odontología

C.D.E.O. Rosa Margarita Aguilar Madrigal
Secretaria de Investigación y Posgrado

Dra. Mercedes Bermúdez Cortés
Director de tesis

M.C. Silvia Ivonne Arzola Rodríguez
Director de tesis

Dr. Carlos Esteban Villegas Mercado
M. E. Ana Delia Larrinúa Pacheco
Asesores de tesis

Fecha 04 / Marzo / 2024

ÍNDICE

1. RESUMEN	4
2. ABSTRACT	6
3. INTRODUCCIÓN	7
4. MARCO TEORICO	9
4.1. El periodonto.....	9
4.2. Encía	11
4.3. Cemento.....	13
4.4. Ligamento periodontal.....	15
4.5. Hueso alveolar	16
4.6. Salud periodontal	16
4.7. Enfermedades periodontales, parámetros generales	19
4.8. Análisis microbiológico y su relación con la salud periodontal.....	26
4.9. El tabaquismo y su impacto periodontal	29
5. ANTECEDENTES.....	33
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	34
7. JUSTIFICACIÓN	36
8. HIPÓTESIS	37
9. OBJETIVO GENERAL	38
10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
11. METODOLOGÍA	40
11.1. Selección de la muestra.....	40
11.2. Toma de muestra de biopelícula dental.....	41
11.3. Siembra de las muestras	42
11.4. Obtención de cultivos puros	42
11.5. Caracterización macroscópica	42
11.6. Caracterización microscópica	43
11.7. Caracterización bioquímica.....	44
12. RESULTADOS	45
13. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	51
14. BIBLIOGRAFÍA	59
15. ANEXOS	67

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El hábito de fumar es considerado un factor predisponente para la instauración de disbiosis en la microbiota oral seguido de la presencia de enfermedades odontológicas. En la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Chihuahua se ha identificado este hábito frecuentemente. Derivado de esto, se planeo la exploración e identificación de los microorganismos orales presentes en la biopelícula dental de pacientes fumadores sanos, con el fin de evaluar la estrategia terapéutica para las enfermedades periodontales. A su vez, la microbiota presente en personas fumadoras sanas proveerá información para el entendimiento entre los procesos de simbiosis microbiológica en la cavidad oral y su relación con el estado de salud en pacientes fumadores.

METODOLOGÍA: Con apoyo de historia clínica, criterios de inclusión y exclusión se seleccionaron 19 pacientes fumadores sanos dentro de la Facultad de Odontología de la UACH, se les tomó una muestra de biopelícula dental con asas prefabricadas de ligadura metálica de ortodoncia y esterilizadas previamente, dichas muestras se sembraron en agar sangre y se incubaron en condiciones de microaerofilia a 37°C durante 24 a 48 horas. Las colonias obtenidas se resemebraron hasta tener cultivos axénicos. Los cultivos puros se caracterizaron macroscópicamente y microscópicamente (tinción de Gram y prueba de catalasa) y se sometieron a pruebas bioquímicas API 20A y API 20 STREP, lo cual se introdujeron en la base de datos de la prueba API y arrojaron género y especie presuntivos de cada microorganismo.

RESULTADOS: Se obtuvieron de las muestras de los 19 pacientes fumadores sanos periodontalmente, 14 cepas axénicas de las cuales una vez sometidas a pruebas bioquímicas dio como resultado un total de 10 microorganismos diferentes de todas las muestras tratadas.

CONCLUSIÓN: La presente investigación dio como resultado el conocimiento de microorganismos presente en la biopelícula de pacientes fumadores sanos periodontalmente, que pudieran tener una acción antagonista sobre los

patobiontes periodontales, por lo que se mantiene la simbiosis, sin embargo, es necesario más investigaciones específicas para confirmar dicha suposición.

2. ABSTRACT

INTRODUCTION: Smoking is considered a predisposing factor for the establishment of dysbiosis in the oral microbiota followed by the presence of dental diseases. At the Faculty of Dentistry of the Autonomous University of Chihuahua, this habit has been frequently identified. Derived from this, the exploration and identification of oral microorganisms present in the dental biofilm of healthy smoking patients is planned, in order to evaluate the therapeutic strategy for periodontal diseases. At the same time, the microbiota present in healthy smokers will provide information for the understanding between microbiological symbiosis processes in the oral cavity and its relationship with the health status in smoking patients.

METHODOLOGY: With the support of clinical history, inclusion and exclusion criteria, 19 healthy smoking patients were selected within the Faculty of Dentistry of the UACH, a sample of dental biofilm was taken with prefabricated orthodontic metal ligature loops and previously sterilized, said Samples were plated on blood agar and incubated under microaerophilic conditions at 37°C for 24 to 48 hours. The colonies obtained were reseeded until axenic cultures were obtained. Pure cultures were characterized macroscopically and microscopically (Gram stain and catalase test) and subjected to API 20A and API 20 STREP biochemical tests, which were entered into the API test database and obtain presumptive genus and species of each microorganism.

RESULTS: From the samples of the 19 periodontally healthy smoking patients, 14 axenic strains were obtained, of which once subjected to biochemical tests, a total of 10 different microorganisms were obtained from all the treated samples.

CONCLUSION: The present research resulted in the knowledge of microorganisms present in the biofilm of periodontally healthy smoking patients, which could have an antagonistic action on the periodontal pathobionts, so the symbiosis is maintained, however, more specific investigations are necessary to confirm this assumption.

3. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de tesis, tiene como finalidad identificar los microorganismos que se encuentran presentes en la biopelícula dental de los pacientes sanos periodontalmente que tienen el hábito del tabaquismo, en una población seleccionada de pacientes que se evaluaron dentro de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, en la clínica de periodoncia de la misma institución.

La salud periodontal, se mantiene gracias al equilibrio o simbiosis que se da entre los microorganismos presentes normalmente en cavidad oral y los factores del mismo ser humano que puede alterar o producir una disbiosis entre estos. Refiriéndonos a enfermedades sistémicas, condiciones de la cavidad oral, higiene, así como factores externos, donde uno de los que está ligado directamente con el desarrollo de las enfermedades periodontales es el tabaquismo.

El tabaco está ligado directamente al desarrollo de las enfermedades periodontales, debido a que sus componentes y el calor generado al inhalar el humo dentro de la cavidad oral, genera modificaciones a nivel de la microvasculatura de la misma, así como del sistema inmunológico presente en la saliva y el líquido crevicular, lo que limita la capacidad de mantener la microbiota oral en equilibrio con la salud periodontal. Estas modificaciones permiten a los microorganismos interactuar entre ellos, para generar enlaces y proliferar de manera más compleja y específica llegando al punto de degradar los tejidos básicos del periodonto y producir las diferentes enfermedades en el mismo. Sin embargo, a pesar de esto, en la práctica clínica del profesional de la salud se presentan pacientes que teniendo este factor de riesgo a desarrollar enfermedades periodontales, se encuentran en completa salud periodontal. El conocer a nivel microbiológico la composición de la biopelícula dental de dichos pacientes, nos permite pensar en desarrollar otro tipo de terapéuticas para atacar a niveles más específicos la etiología de dichas enfermedades. Es aquí donde radica la importancia de esta investigación, con el fin de aportar

resultados que puedan encaminar a la mejor comprensión del microbioma oral con sus interacciones y a favor de atacar las enfermedades periodontales o mantener el estado de salud de los pacientes.

4. MARCO TEORICO

4.1. El periodonto

Los órganos dentales están inmersos dentro de alveolos en mandíbula y maxilar, por medio de un conjunto de tejidos específicos como lo son el cemento radicular, el cual cubre las raíces de los mismos y se une por medio de ligamento periodontal al hueso alveolar en cavidades formadas para recibir a dicha parte de los dientes confiriendo soporte y estabilidad; estos tejidos a su vez se encuentran cubiertos por tejido gingival y mucosa oral, los cuales brindan protección y la primera barrera de protección a los dientes^(1, 2). A este sistema compuesto por todos estos tejidos se le conoce como periodonto y está el encargado de brindar estabilidad, soporte, nutrición y defensa a los órganos dentales, es aquí donde radica su importancia, debido a su complejidad en composición es un sistema de soporte que si no se encuentra en estado de salud, puede desencadenar varios problemas o situaciones desfavorables para los dientes y la cavidad oral en general^{(3) (4)}.

El estudio de este sistema de anclaje se ha intensificado desde inicios de los años 90's⁽⁵⁾, describiendo la arquitectura del periodonto, estableciéndose los diferentes tipos de encías, la adaptación de los tejido periodontales y su correlación e interacción entre ellos⁽⁵⁾. Algo de suma importancia es la capacidad de reparación y cicatrización que confieren las células tan diversas que se encuentran en los tejidos periodontales, siendo en esencia fibroblastos que producen tejido conectivo, que a su vez se encuentra tanto en el ligamento periodontal; encía, cubierta por epitelio plano estratificado; y hueso alveolar^(4, 6). Estos tejidos a su vez tiene funciones específicas como línea de defensa y barrera física para la invasión de microorganismos capaces de degradar los tejidos periodontales, por medio de células de defensas que se encuentran en el líquido crevicular presente en el surco gingival, las cuales buscan mantener un control o simbiosis para preservar la salud periodontal de los tejidos⁽⁷⁾.

La disposición o arquitectura de los tejidos periodontales se observa más claramente en la Figura 1, así como la interconexión dada entre sus diferentes componentes⁽⁸⁾.

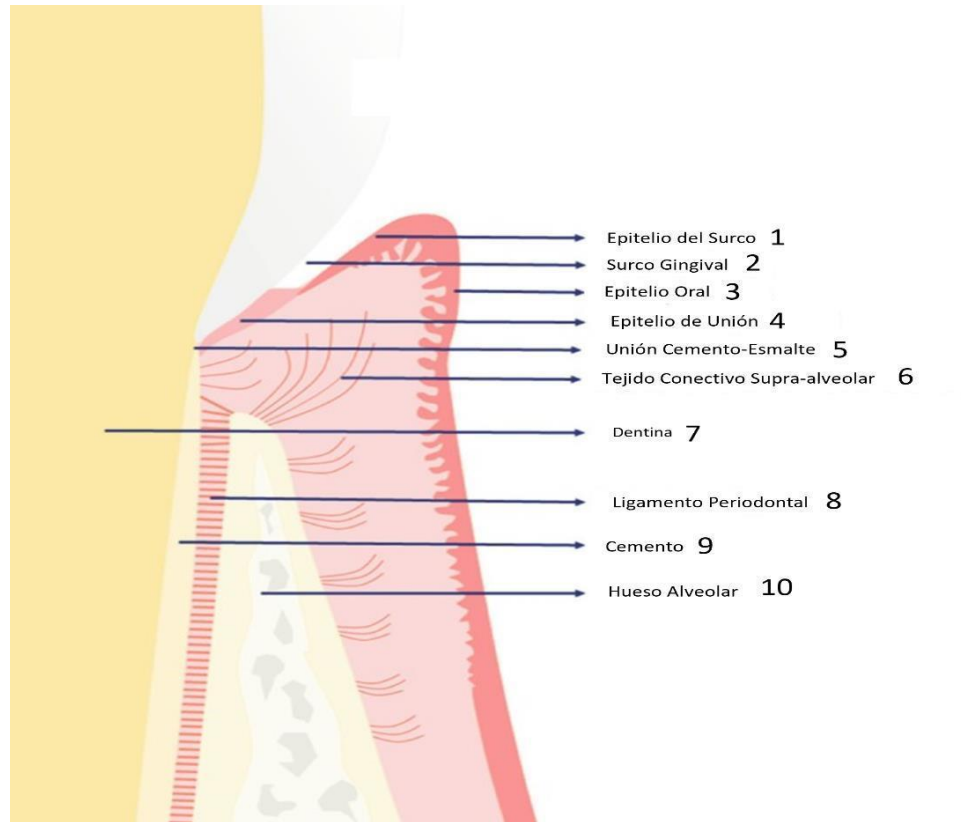


Figura 1. (Modificada de Budeneli 2020) ⁽⁸⁾. Arquitectura y ubicación de los tejidos que conforman el periodonto conforme a los dentales; 1. Epitelio del surco; 2. Surco gingival; 3. Epitelio oral; 4. Epitelio de unión; 5. Unión cemento-esmalte; 6. Tejido conectivo supra-alveolar; 7. Dentina; 8. Ligamento periodontal; 9. Cemento; 10. Hueso alveolar.

4.2. Encía

La encía es meramente tejido conectivo denso, el cual está cubierto por un epitelio plano estratificado paraqueratinizado^(6, 9, 10). Dicho tejido conectivo está constituido por abundantes fibras de colágeno y embebido en una matriz extracelular, este tejido recubre todos los órganos dentales y/o rebordes edéntulos, a nivel de la unión cemento esmalte⁽¹¹⁾. La función de la encía es actuar como barrera física del hueso alveolar, así como de los tejidos subcrestales, proveyendo de un sello epitelial, además de conferir cierta estabilidad a los mismos dientes⁽¹²⁾.

El tejido gingival puede dividirse en encía insertada y encía libre, siendo esta última el surco gingival que conforma el margen gingival, el cual posee generalmente una profundidad de 1.5 mm y contornea todas las coronas dentales y la encía insertada, que es la unión del tejido gingival al tejido óseo, esta se encuentra cubierta por queratina, lo que confiere protección y resistencia a la encía adherida al periostio, siendo una de las diferencias más notorias entre la mucosa oral y la encía⁽¹³⁻¹⁵⁾. La encía en condiciones de salud periodontal presenta color “rosa coral” o “rosa salmón” con puntilleo de “cascara de naranja”, y está delimitada por la línea mucogingival, en sentido apical siendo la transición de encía a mucosa oral^(16, 17).

En una vista microscópica, el epitelio oral recubre el tejido conectivo de la encía en su totalidad, unidos por hemidesmosomas y presentando la siguiente configuración anatómica: la capa basal, considerada como germinativa, de donde migran los queratinocitos en el remodelado epitelial hacia la superficie externa⁽¹⁸⁾, estas células requieren de aproximadamente 30 días para migrar hacia el estrato corneo y poder exfoliarse⁽¹⁹⁾, el epitelio oral gingival se encuentra dispuesto en crestas epiteliales, en este mismo están presentes células de Langerhans, las cuales confieren un rol inmunológico en la estructura gingival⁽²⁰⁾. Inmediato al estrato basal hacia el exterior, se encuentra el estrato espinoso, constituido principalmente por prolongaciones celulares, dicha capa posee la función de puente entre el estrato basal y las capas externas del epitelio, continuándose por el estrato córneo, donde se deposita la queratina como medio de protección y barrera primaria de defensa ⁽²¹⁾, en la Figura 2 puede observarse la estratificación de dichas capas del epitelio gingival⁽²²⁾.

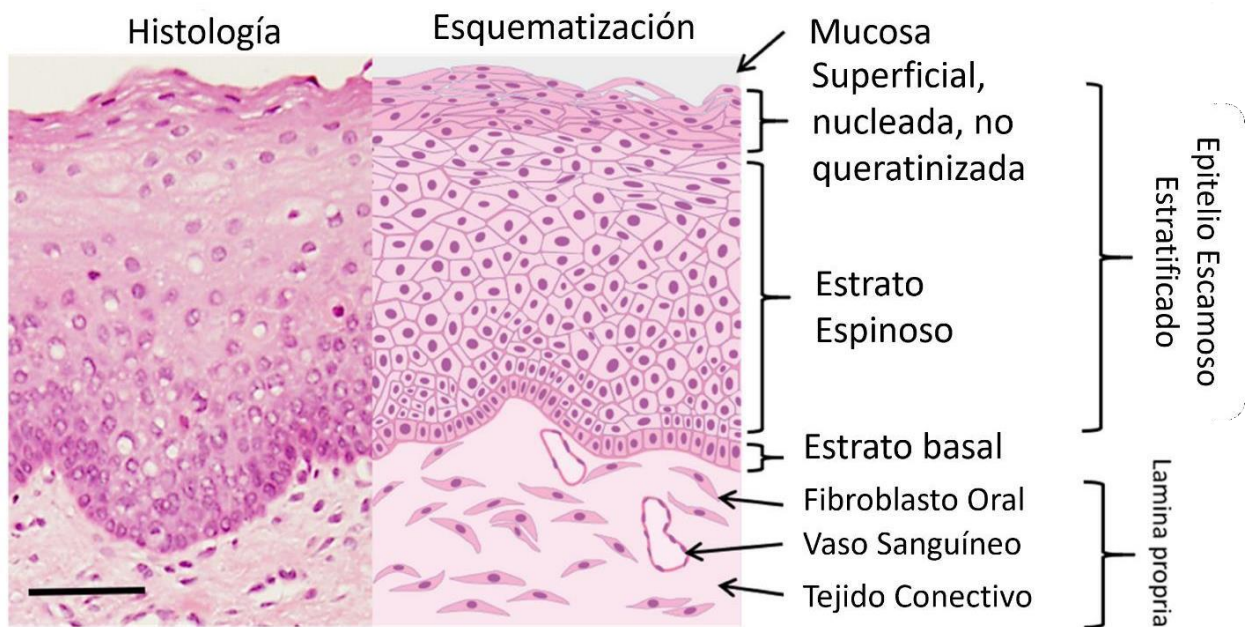


Figura 2 (Modificada Edmans 2020) ⁽²²⁾. Imagen histológica (lado izquierdo) del epitelio oral; esquematización (lado derecho) de los estratos que conforman el epitelio y componentes de la lámina propia o tejido conectivo.

4.3. Cemento

Este tejido periodontal es considerado debido a su composición, un tejido conectivo mineralizado, el cual es depositado y recubre las raíces dentales, confiriendo una interfaz entre la dentina radicular y el hueso alveolar, permitiendo la inserción del ligamento periodontal entre ellos⁽²³⁾. El cemento se encuentra compuesto por tejido conectivo avascular y duro, del cual 50% son minerales y 50% es matriz orgánica (90% colágeno tipo I)⁽²⁴⁾.

Se conocen hasta 5 tipos diferentes de cemento radicular que se clasifican, dependiendo si existen cementocitos o no en él, y las fibras existentes, siendo extrínsecas correspondientes a la sección donde se insertan las fibras de Sharpey o intrínsecas, que corresponden a las del cemento tal cual:

1. *Cemento acelular de fibras extrínsecas*: ubicado en tercio cervical hasta dos tercios apical de la superficie de la raíz, de lento desarrollo y llamado acelular debido a que sus células se mantienen en la superficie únicamente, con un grado de mineralización de 40-60%, tiene gran importancia debido a la alta cantidad de fibras de Sharpey que se insertan en él^(25, 26).

2. *Cemento celular de fibras intrínsecas*: distribuido en la zona media de la raíz hasta el tercio apical y en bifurcaciones radiculares, producido en fracturas y reabsorciones radiculares como un tejido cicatrizal, el colágeno producido por los cementoblastos y estos mismos, quedan atrapados en la matriz que producen dando la apariencia característica⁽²⁶⁾.

3. *Cemento Celular Mixto Estratificado*: presente en las zonas interradiculares o apicales, prácticamente en su estructura presenta un entramado de fibras extrínseca así como intrínsecas, y es de aquí donde proviene su nombre⁽²⁵⁻²⁷⁾.

4. *Cemento Afibrilar Acelular*: es prácticamente una matriz mineralizada con ausencia tanto de células propias del cemento y de fibras, esta ubicado en la zona cervical de la raíz del diente, es un tejido que actualmente no está bien descrito su origen ni función, sin embargo, es muy similar al cemento acelular de fibras extrínsecas^(25, 26, 28).

5. *Cemento intermedio*: Este tipo de cemento, a sido confuso en histología y ubicación, debido a que puede considerarse como su nombre lo dice, intermedio entre los demás tipos, de igual manera que el cemento afibrilar acelular, no se tiene clara su función dentro del periodonto⁽²⁵⁾.

Además de la composición colagénica del cemento, presenta otro tipo de proteínas con funciones relevantes, como lo son las sialoproteína y osteopontina que tienen su acción al momento de la mineralización, permitiendo que la hidroxiapatita pueda enlazarse con las fibras de colágeno⁽²⁸⁾, y en contraparte los proteoglicanos, que se ha descrito que tienen la función de inhibir esta mineralización, con estos procesos existe un equilibrio entre la matriz orgánica e inorgánica lo cual permite una correcta función y formación del cemento radicular⁽²⁵⁾. La representación de los tipos de cemento así como su arquitectura se encuentran representadas en la Figura 3^(26, 29).

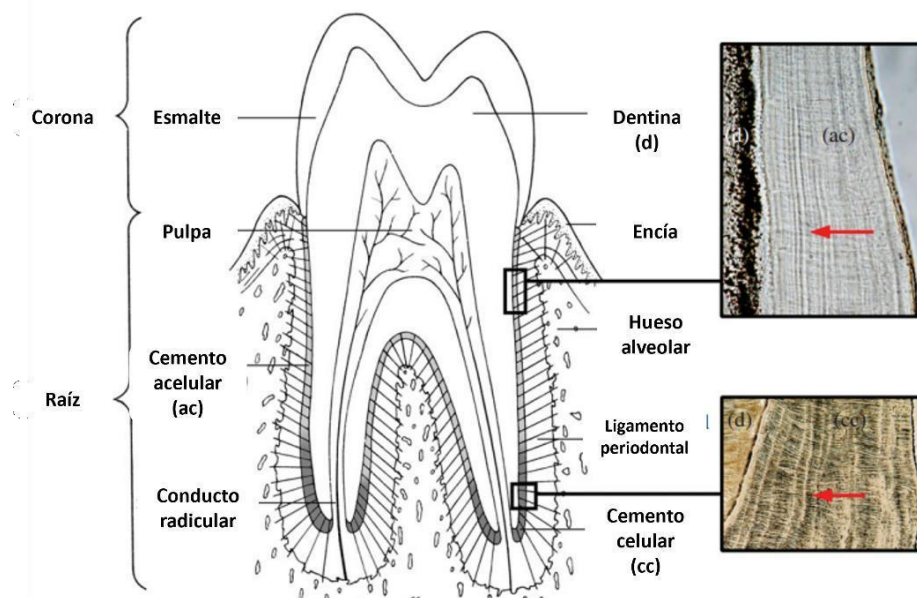


Figura 3 (Modificada de Dean 2018) ⁽²⁹⁾. Ubicación e imagen histológica del cemento acelular (ac) y cemento celular (cc).

4.4. Ligamento periodontal

Principalmente compuesto por tejido conectivo blando y especializado, que se ubica entre el cemento radicular de los dientes y el hueso alveolar propiamente dicho, jugando un papel de intermediario para la inserción de los órganos dentales en el alveolo⁽²⁾. Presenta un ancho de 0.15 a 0.38mm; además de ser un medio de inserción representa funciones de defensa, sensitivas, nutricionales y de reparación o regeneración para el periodonto ⁽¹⁾.

El ligamento periodontal, presenta los siguientes tipos de células:

1. *Fibroblastos*: Principal componente del ligamento periodontal, los fibroblastos del ligamento periodontal se caracterizan por su gran tamaño y pronta renovación, además de un citoesqueleto bien desarrollado, presentando uniones adherentes y comunicantes constantemente, y se encuentran a lo largo de las fibras del ligamento periodontal⁽¹⁶⁾.

2. *Células epiteliales*: Estas células son conocidos como *restos de Malassez*, los cuales son vestigios de la vaina de Hertwig, dada durante la formación embrionaria radicular, este tipo de células no está claro, sin embargo, se cree que tienen influencia en el proceso regenerativo y reparativo del ligamento periodontal; en contraparte, son causantes de algunas patologías, principalmente quistes^(1, 30).

3. *Células mesenquimales indiferenciadas*: también conocidas como *células progenitoras*, las cuales tienen una función indispensable en el ligamento para el proceso de renovación, y más aún en regeneración y reparación del ligamento debido a su potencial de diferenciación^(31, 32) .

4. *Fibras de colágeno*: Los tipos de colágeno que predominan en el ligamento periodontal son el tipo I, III y XII, la disposición de las fibras es en haces y compactándose unas sobre otras, dando una forma tubular, juegan un papel fundamental en la inserción del cemento radicular hacia el hueso alveolar⁽³³⁾.

4.5. Hueso alveolar

El proceso alveolar o hueso alveolar, presente en la mandíbula y el maxilar, representa las cavidades o alvéolos destinados a los órganos dentales, compuesto por corticales externas de hueso compacto, hueso esponjoso y el hueso que recubre el alveolo (hueso alveolar). Hablando de hueso cortical y el hueso alveolar están ubicados en la cresta alveolar, el hueso que recubre el alveolo también es llamado hueso propiamente dicho, fasciculado o *bundle bone*⁽²⁹⁾. Las placas corticales están conformadas por capas de laminillas de hueso delgadas en el maxilar y de mayor espesor en la mandíbula. El hueso esponjoso o trabecular, ocupa la parte central del proceso y una de sus características más relevantes que le confiere gran importancia es que a través de él se desarrolla el sistema Haversiano entre las trabéculas, lo cual da la irrigación al ligamento periodontal y al diente en sí; en este mismo esta presenta la médula amarilla (adipocitos) y la médula roja (hematopoyética) ^(30, 34).

4.6. Salud periodontal

La Organización Mundial de la Salud, define el término de salud, como “el completo estado de bienestar, tanto físico, mental y social y no solo la ausencia de enfermedad”⁽³⁵⁾; con base en este concepto, dentro de la nueva clasificación de enfermedades periodontales, se establece una definición y parámetros referentes a la salud periodontal⁽³⁶⁾.

Lang & Bartold, establecen la salud periodontal en diferentes ámbitos y tipos de periodonto: 1) *salud prístina*, cuando existe una estructura periodontal completa y ausente de inflamación histológicamente hablando; 2) *salud periodontal clínica*, con ausencia o mínima inflamación; 3) *estabilidad de la enfermedad periodontal*, en donde puede existir un periodonto reducido y aun así tener salud periodontal controlando factores desencadenantes; y 4) *enfermedad periodontal en remisión*, en donde el tratamiento periodontal dio resultando, sin

embargo, deja un periodonto reducido a causa del padecimiento que a este nivel está controlado⁽³⁶⁾.

En estado de salud periodontal, es normal encontrar infiltrado inflamatorio, no existe periodonto sano que tenga ausencia de este proceso en la zona de surco gingival. Por lo que se reconoce que no puede existir la *salud prístina*^(36, 37). Sin embargo, el infiltrado inflamatorio en salud, no corresponden a la inflamación gingival como tal, la cual puede deberse a factores locales, sistémicos y puede desencadenar enfermedades periodontales y peri implantares a diferentes escalas⁽³⁸⁾.

Los factores que interactúan entre ellos y permiten una simbiosis dando como consecuencia salud periodontal, los podemos dividir en 3 grupos⁽³⁹⁾:

1. *Microbiológico*: composición de la biopelícula supra e infragingival.
2. *Del huésped*: dentro de esta misma existe una subdivisión; *factores predisponentes locales* (Bolsas periodontales, restauraciones dentales, anatomía radicular y apiñamiento y posición dental), además de *factores modificadores sistémicos* (respuesta inmune del paciente, salud sistémica y genética el tabaquismo, medicamentos, estrés y estado nutricional)⁽⁴⁰⁾.
3. *Medio ambiente*: podemos mencionar la calidad de la saliva, pH, higiene del paciente, uso de aditamentos, pastas dentales, enjuagues dentales, entre otros ^(36, 41) .

Tonetti⁽⁴²⁾ en el 2015, establece que la higiene oral es un pilar para mantener un estado de salud periodontal, siendo una combinación tanto de las técnicas de higiene oral personal y profesionales regulares⁽⁴³⁾. Para que se desarrollen las enfermedades periodontales, el factor clave es la biopelícula dental, donde se encuentra un microbioma oral que puede proliferar y madurar si no se controla con ayuda de higiene, o si existen factores modificantes como enfermedades sistémicas, hábitos alimenticios del paciente, o el tabaquismo, sin dejar de ser indispensable la composición bacteriana y el desarrollo de estas mismas, y

girando alrededor varios factores que pueden mantener en simbiosis o producir modificaciones que den pie a la enfermedad^(36, 44).

La salud periodontal puede presentarse en un periodonto intacto o en un periodonto reducido, lo importante es evaluar los parámetros clínicos que nos dictan esta condición, los cuales se enlistan a continuación⁽³⁶⁾.

1. Sangrado al sondeo: Debe entenderse como el sangrado en los tejidos marginales gingivales al introducir una sonda con niveles de presión, en el mismo surco gingival. Si un tejido gingival sangra a una presión ligera controlada, estamos hablando de aumento significativo de infiltrado celular y reducido en cantidad de colágeno, lo que sugiere una etapa inicial de gingivitis^(36, 45).
2. Profundidad al sondeo: Si bien, pudiera obviarse la idea de que una bolsa poco profunda constituye una característica de la salud periodontal, y una profundidad de bolsa mayor a 4mm ser parte de enfermedad periodontal, hay evidencia que demuestra que no necesariamente depende de esto.^(46, 47) Es importante recordar que después de un tratamiento periodontal exitoso, pueden quedar secuelas que repercuten en el nivel de inserción, profundidad de sondeo y nivel de la cresta ósea, por lo tanto, por sí solos no son determinantes de si existe o no salud periodontal, deben considerarse como únicamente un parámetro más para llegar al diagnóstico^(36, 48).
3. Características radiográficas: Representa un componente crítico para determinar la salud periodontal, las características que la componen son, una lámina dura intacta, áreas de bifurcaciones sin pérdida ósea, un factor importante es la distancia entre la parte más coronal de la cresta ósea hacia la unión cemento esmalte, esta última puede considerarse en estado de salud entre 1.0 a 3.0mm de distancia, sin embargo, es importante considerar que factores como la edad, desgastes, posición dental o periodontos reducidos, pueden alterar dicho parámetro ^(36, 49).

4. Movilidad dental: Se ha establecido que la movilidad en un órgano dental sano, en comparación a una movilidad patológica, es de hasta 0.2mm en salud periodontal, dicho parámetro fue establecido por Nyman desde 1994⁽⁵⁰⁾. Además, en órganos dentarios sin inflamación periodontal, se tienen dos factores histológicos para establecer dicha movilidad: la altura del soporte periodontal y la anchura del ligamento periodontal; estos dos parámetros permiten diagnosticar en estado de salud periodontal si existe un ensanchamiento del ligamento por trauma oclusal leve, y la altura de los tejidos periodontales si están dañadas por una enfermedad periodontal o algún otro factor local ⁽³⁶⁾.

Si bien existe evidencia que respalda cada uno de los parámetros clínicos a considerar en salud periodontal, es importante recalcar que no puede basarse el diagnóstico en uno solo de los ya mencionados, pues hay factores que pueden modificar cada uno de ellos, y debe tenerse conocimiento que la salud periodontal es el conjunto de varios parámetros analizados, no únicamente alguno de ellos aislado ⁽³⁶⁾.

4.7. Enfermedades periodontales, parámetros generales

Las enfermedades periodontales, son definidas, como padecimientos causados por el desarrollo y maduración de la biopelícula dental y consecutivamente la proliferación de patobiontes que desarrollan una respuesta inflamatoria celular y producción de mediadores y enzimas, como las metaloproteinasas, que concluyen en la pérdida de tejidos periodontales por la lisis del colágeno presente en ellos, esto en diferentes grados⁽⁵¹⁾: Podemos hablar desde gingivitis, periodontitis hasta peri-implantitis causados por estos microorganismos presentes en la biopelícula dental, cuando proliferan patológicamente^(52, 53). La manera en que se desarrolla la enfermedad periodontal, es por una disbiosis o desequilibrio a nivel microbiológico, en

conjunto con los factores modificadores del huésped y del medio ambiente, que pueden alterar estas interacciones en pro o en contra de las mismas, algunos factores importantes son los hábitos alimenticios y el tabaquismo^(38, 53).

En medio de toda la complejidad que abarca el comprender las patologías periodontales, se establecieron principios con base en la evidencia que respalda al microbioma oral como factor principal para desarrollo de las enfermedades periodontales; el primero de estos, establece que las bacterias son esenciales para provocar la destrucción de los tejidos periodontales, esto lo demostró Hajishengallis en 2011 al realizar estudios experimentales en animales libres de biopelícula que no produjeron destrucción del tejido óseo⁽⁵⁴⁾. El segundo principio habla sobre los factores ambientales o terapéuticos que modifican la estructura o la estabilidad de la biopelícula y el microbioma periodontal que se altera en el transcurso de la gingivitis y la enfermedad periodontal, así como evitan el inicio de las enfermedades periodontales⁽⁵⁵⁾. Por último, la tercera conclusión, menciona que la biopelícula dental en un estado de disbiosis, es causante de la enfermedad periodontal, pero más allá de hacer el daño directamente, lo provocan los procesos inflamatorios e inmunitarios del mismo huésped que se desencadenan hacia los patobiontes⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

Si bien, los principios ya establecidos nos ayudan a comprender que el microbioma oral es causante directo de las enfermedades periodontales, no deja de existir controversia, debido a que intervienen factores externos como la higiene, genéticos, residencia, alimentación, tabaquismo, entre otros más, y estos factores pueden modificar el transcurso de la enfermedad, incluso algunos detenerla en cierta medida sin ningún sentido, es por esto que la terapia periodontal va encaminada a comprender como influyen estos factores y en qué medida los microorganismos pueden jugar a favor o en contra del desarrollo de las enfermedades periodontales^(58, 59).

El microbioma oral se encuentra compuesto por un gran número de microorganismos, se han encontrado hasta 800 tipos de especies en el ser humano,⁽⁶⁰⁾ en estas colonias se encuentran bacterias aerobias (crecen en

presencia del oxígeno), anaerobias (proliferan en ausencia del oxígeno) o facultativas (capacidad de crecer con o sin oxígeno en el medio), y además tienen la capacidad de coagregarse y coadyuvarse entre una especie y otra, hasta llegar a la colonización de los microorganismos periodontalmente patógenos, como lo estableció Socransky desde 1998, donde se estratifican los principales microorganismos desde la colonización primaria, hasta los patobiontes causantes de la enfermedad, microorganismos del complejo rojo (Figura 4)^(61, 62).

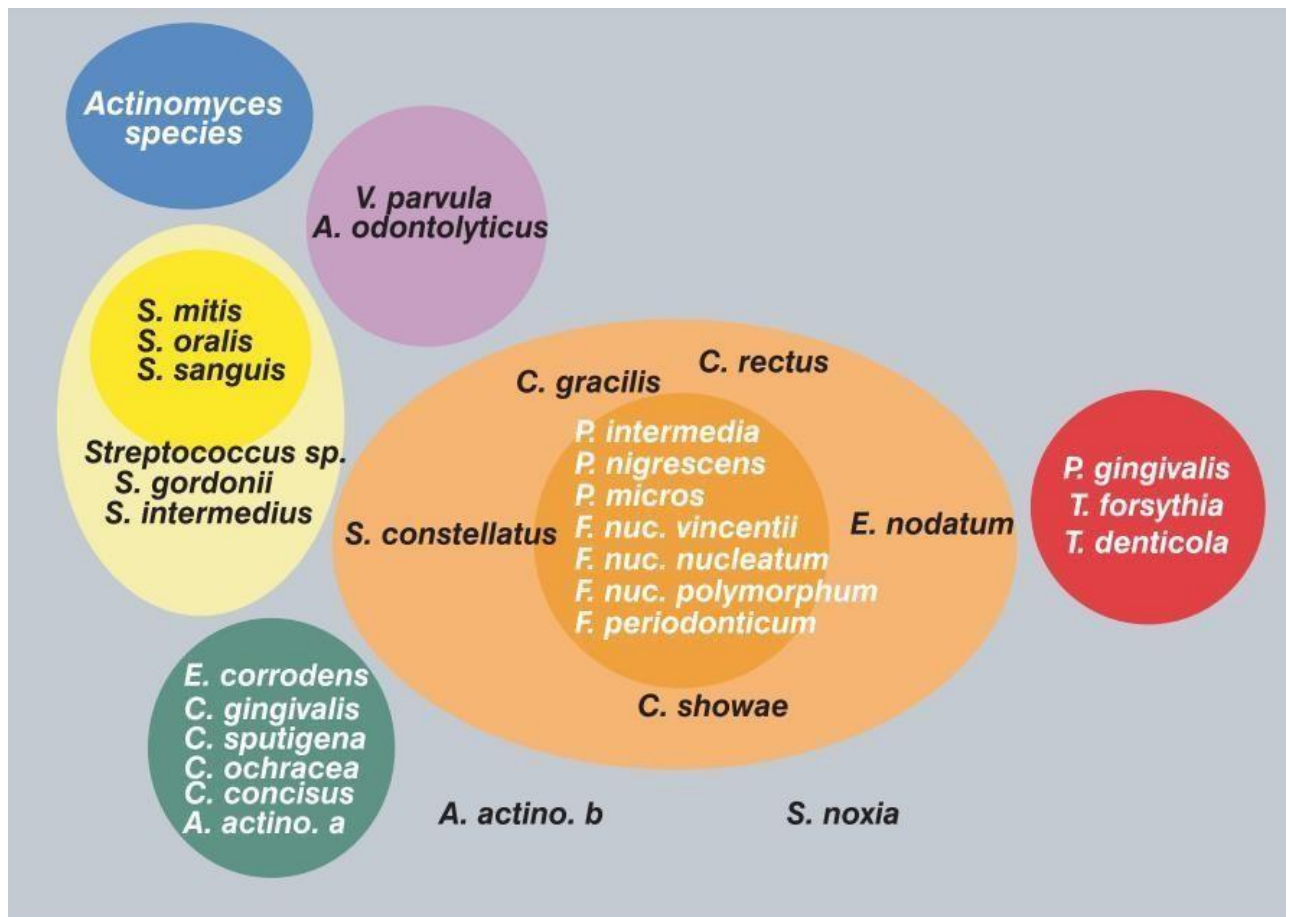


Figura 4^(61, 62). Representación de la pirámide de Socransky. Complejo amarillo (colonizadores primarios), complejo azul (colonizadores primarios-coagregación), complejo violeta (colonizadores secundarios), complejo verde (maduración), complejo naranja (microorganismos puente) y complejo rojo (patobiontes periodontales).

La biopelícula subgingival es donde se albergan los patobiontes periodontales, tanto en etapas de salud como en enfermedad⁽⁵⁸⁾, dentro de los microorganismos presente en la misma podemos encontrar varios cocos y bacilos Gram positivos como *Actinomyces spp*, y *Streptococcus spp* dichas bacterias se encontraron tanto en pacientes sanos como enfermos⁽⁶³⁾; sin embargo, existen microorganismos no tan frecuentemente como *Capnocytophaga spp*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veionella párvula* y *Porphyromonas gingivalis*, que son patógenos que se creían aislados de la enfermedad periodontal^(58, 63, 64). Es aquí la controversia y los resultados actuales de estudios más desarrollados, que nos llevan al punto clave de comprender que el microbioma oral es extensamente amplio, constituido por diferentes microorganismos tanto presentes en salud como en enfermedad, debe existir una disbiosis entre el ambiente para que lleguen al punto de quiebre entre salud y enfermedad, aunado a que existen diferentes taxones y la correlación entre los mismos juega un papel importante en la comprensión de las patologías periodontales⁽⁵⁸⁾.

Hablando de los microorganismos en la gingivitis, los estudios microbiológicos realizados demuestran que ante la ausencia de higiene oral y por consiguiente el acumulo de biopelícula, después de la congregación y crecimiento sin perturbación de microorganismos bacilos, filamentos y espiroquetas durante 2 a 3 semanas se correlacionan directamente con la inflamación clínica de la encía⁽⁶⁵⁾, dichas afirmaciones son comprobadas con estudios por medio de secuenciación del gen 16s rRNA⁽⁶⁶⁾, el cual nos ayuda a una identificación filogenética, debido a su estabilidad y por consiguiente poder diferenciar bacterias⁽⁶⁷⁾, así como hallazgos importantes como la relación de la presencia de *Prevotellas* y *Selomonas* directamente con la inflamación de la encía;⁽⁶⁶⁾ Además otros estudios han encontrado en mismas condiciones y metodología que *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas spp* y *Tannerella spp*, no se encuentran relacionadas directamente con la inflamación gingival, pero si hay un aumento significativo en cantidad a partir de los 21 días del acumulo de biopelícula⁽⁶⁸⁾.

La periodontitis viene acompañada de una diversificación y maduración de biopelícula en comparación con la gingivitis, en su mayoría microorganismos Gram negativos los cuales se vuelven más resistentes, pues sobreviven en medio sin oxígeno y es más complejo controlar su proliferación o erradicarlos, aquí es donde se encuentran en mayor medida los microorganismos del complejo rojo, la *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema dentícola* y *Tannerella forsythia*^(58, 61), al existir mayor diversidad en las colonias de microorganismos de biopelícula dental subgingival, existe un aporte nutricional en cadena, donde los microorganismos primarios permiten coagregarse a los demás microorganismos que van colonizando la biopelícula, además de nutrirse por el líquido crevicular, metabolitos de los primeros colonizadores, en algunos casos, como la *Porphyromonas gingivales*, por fluidos sanguíneos producidos por la inflamación gingival, y en esa secuencia permite estructurar una biopelícula mucho más diversa y entre los microorganismos, ecológicamente favorable⁽⁶⁹⁾. Se desconoce el papel que juega estos microorganismos en concentraciones bajas en salud, sin embargo, está demostrado que lo que lleva a la periodontitis es el aumento de estos microorganismos patógenos, así como microorganismos centrales o puente como es el *Fusobacterium nucleatum*, el cual está presente en concentraciones muy similares en los dos estados ^(63, 70); entrando en este enfoque se encontró evidencia de que estos microorganismos centrales crecen un 25% dentro de biopelícula y la carga de los patógenos clave en la periodontitis de un 5% en salud periodontal, puede aumentar hasta un 50% dentro de la biomasa componente en estado de enfermedad ^(58, 71).

En la revisión realizada por Trombelli ⁽⁴⁶⁾, se estipula la facilidad en que es visible una inflamación gingival, más el diagnosticar un “sitio de inflamación” a la “gingivitis” es más complejo para ello se hablan de varios parámetros para poder discernir de estas dos entidades o entre las enfermedades periodontales^(46, 72).

- Marcadores microbiológicos: Uno de los más importantes factores para cualquier enfermedad periodontal, son los microorganismos, los cuales desde la década de 1960 se encontró como factor etiológico para la periodontitis hasta la década de 1970 donde se confirman dichos resultados ^(10, 73-75). Existen estudios que identificaron 166 especies relacionadas con la gingivitis, entre ellos anaerobios Gram positivos (*Actinomyces viscosus*, *Parvimonas micra* (anteriormente *Micromonas* y *Peptostreptococcus micros*), facultativos Gram positivos (*Streptococcus* spp) y anaerobios Gram positivos (*Campylobacter gracilis*, *Fusobacterium*)⁽⁷³⁾.
- Volumen del líquido crevicular: Varios estudios demuestran que existe una correlación marcada en la gingivitis con el aumento del líquido crevicular y más evidente aún con el sangrado del tejido gingival ^(46, 76).
- Índice gingival: Este término se basa en la combinación de la exploración clínica y el estímulo mecánico al realizar el sondeo de los tejidos periodontales; en el cual se introduce de 1 a 2 mm la sonda periodontales a un ángulo de 45°, y se da una puntuación máxima de 4 puntos, en la siguiente escala: 0= no existe inflamación, 1=Leve inflamación y cambio de color y textura, 2= inflamación moderada con enrojecimiento, edema e hipertrofia, 3= inflamación severa en conjunto con eritema marcado, hipertrofia, ulceración y sangrado espontáneo.^(46, 77).
- Sangrado gingival: Este signo clínico fue introducido en las enfermedades periodontales desde 1958, mencionado en una investigación por Mühlemann⁽⁷⁸⁾. En numerosos estudios se ha encontrado que el sangrado gingival, principalmente al sondeo está presente en la mayoría de los casos, inclusive relacionado en comparativas de muestras histológicas de tejidos periodontales inflamados siendo un resultado positivo en conjunto con el sangrado

gingival ^(79, 80). Se ha encontrado una estrecha relación entre el sangrado al sondeo y la gingivitis siendo esta de un 85.4% de los casos ⁽⁸¹⁾.

- Marcadores genéticos: Datos específicos sugieren la susceptibilidad a la gingivitis por controles en cuestión de genética. Una investigación realizada por Michalowicz en 1991 menciona que aun con antecedentes de este tipo, actualmente existen pocos estudios que establezcan más claramente la relación de la genética con la susceptibilidad a la gingivitis, sin embargo, se han dado resultados estadísticamente y clínicamente significativos sobre las variaciones genéticas y la gingivitis ^(82, 83).

Los parámetros clínicos mencionados en conjunto con las observaciones y signos clínicos claramente visibles, nos pueden dar la pauta para llegar a un diagnóstico acertado de gingivitis o periodontitis, no solamente un sitio de inflamación que puede estar presente aún en salud periodontal; es importante recalcar que a pesar de todos los factores son de impacto para el desarrollo de la enfermedad, el factor microbiológico es uno que siempre está presente y constante en cada uno de los estudios analizados ⁽⁸⁴⁾.

4.8. Análisis microbiológico y su relación con la salud periodontal

Dentro de la cavidad oral se encuentran un gran número de especies de microorganismos. los cuales están en una relación simbiótica (benéfica para el huésped y los microorganismos) con el huésped. Sin embargo, si se modifica el número y cantidad de microorganismos se altera el equilibrio de esta relación simbiótica y se producen patologías orales como la caries y enfermedades periodontales (gingivitis y periodontitis) ⁽⁶³⁾. Los principales investigadores que se enfocaron en realizar análisis microbiológicos en el área de periodoncia fueron Socransky desde 1998 ⁽⁶¹⁾ y Jhonson en 2016 y nos brindaron información indispensable para comprender los conceptos y el proceso de la periodontitis como hoy en día se aborda, por medio de análisis microbiológico y ADN de la biopelícula oral, dando como hallazgos importantes la agrupación de los patobiontes en complejos por colores, donde el complejo rojo representa los microorganismos causantes de la enfermedad periodontal, esta clasificación fue con base al proceso de formación de biopelícula desde etapas muy tempranas, hasta el desarrollo de la enfermedad, observando la comunicación y coagregación que los microorganismos eran capaz de desarrollar entre ellos ^(61, 63).

Como se ha mencionado con anterioridad, existe un microbioma periodontal que desencadena la enfermedad, dentro de este se encuentran bacterias como *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, los cuales son Gram negativo; y algunos Gram positivo como *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii*, y *Actinomyces odontolyticus*; ⁽⁶³⁾ Sin embargo, la carga bacteriana de biopelícula periodontal, puede verse modificada por factores modificadores del huésped, como lo es el tabaquismo, produciendo una disbiosis y desencadenando la enfermedad periodontal por medio de la liberación de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), una inflamación gingival y sangrado, proporcionando un entorno idóneo para el desarrollo los patobiontes⁽⁸⁵⁾.

Si bien existen una gran variedad de estudios que analizan el microbioma oral con diferentes variantes, así como factores que influyen en su composición, es importante conocer las pruebas microbiológicas que permiten obtener dichos resultados, para comprender la evidencia actual. Krishnan en 2017 ⁽⁸⁶⁾ realizó una revisión sistemática de investigaciones donde abordaban el microbioma oral tanto en salud como en enfermedad, así las técnicas más comúnmente utilizadas para realizarlo, en dicho estudio, se ha demostrado que el 31% de los taxones orales no es posible aislarlos en cultivos bacterianos *in vitro*, lo cual lleva a pruebas de mayor complejidad, específicas y costosas como lo son secuenciación de ADN, pruebas bioquímicas o aislado de microorganismos en medio específicos para los mismos ^(86, 87).

Está claro el papel que juegan los microorganismos sobre la enfermedad periodontal, sin embargo, de igual manera existen factores ambientales y del huésped que pueden modificar el microbioma periodontal, entre ellos unos de los que mayor relevancia y controversia causa es el tabaquismo ⁽⁸⁸⁾, por lo que es un campo de investigación muy amplio que despierta el interés sobre cómo es que modifica la microbiota oral en pro o en contra de la salud periodontal; algunos análisis microbiológicos por medio de caracterización de la biopelícula en pacientes fumadores y no fumadores obtuvieron resultados muy inesperados e interesantes, donde incluso en pacientes con periodontitis, bacterias clave como *P. gingivalis*, *T. fonsythia* o *F. nucleatum*, se encontraban en menos concentraciones en pacientes fumadores que no fumadores ⁽⁸⁷⁻⁸⁹⁾. Este tipo de resultados y de evidencia, concluye en que el tabaquismo tiene influencia directa en la microbiota periodontal, sin embargo, despierta la duda de si es en ciertos casos favorecedor o no para la periodontitis o si existen otros factores que influyen para que el tabaquismo no dañe más agresivamente el periodonto ⁽⁹⁰⁾.

La microbiota oral, es una colonización bacteriana que se da a través del crecimiento del ser humano, desde el momento en que los órganos dentales tienen la capacidad de erupcionar y exponerse a la cavidad oral, se embeben

de glicoproteínas e inicia la adhesión de los microorganismos primarios y conforme el contacto con los alimentos, manos, y medio ambiente se establece un microbioma oral y sus interrelaciones⁽⁹¹⁾. Una vez establecida la microbiota oral, existen microorganismos comensales que se encontrarán en etapas iniciales de la formación de la biopelícula y estarán presentes constantemente en la cavidad oral, por mencionar algunos encontramos *S. salivarius*, *S. mitis*, *Actinomyces sp*, *Lactobacillus lactis*, entre otros ⁽⁹²⁾, la importancia de estos microorganismos no solo radica en el inicio de la colonización y coagregación de la biopelícula, si no que en grandes cantidades tienen la capacidad de suprimir otros patógenos periodontales claves para desarrollar la enfermedad, como es *P. gingivalis*, el cual tiene la capacidad de tolerar medios anaerobios como aerobios y adaptarse al medio, sin embargo los microorganismos comensales en cantidades elevadas inhiben esta acción dañina para el periodonto⁽⁹³⁾.

Por otro lado, existe interacciones entre los componentes del microbioma oral que potencian la acción de otro patobiontes, en vez de reducirlas⁽⁹⁴⁾. Los microorganismos del complejo rojo, *P. gingivalis*, *T. dentícola* y *T. forsythia*, las cuales entre ellas liberan metabolitos residuales por su metabolismo y que funciona como energía para poder desarrollarse entre ellas, es decir generan un ambiente esencial para poder proliferar desmedidamente por medio de los residuos metabólicos⁽⁹⁵⁾. Estudios previos han reportado la presencia tanto de patobiontes periodontales, en pequeños porcentajes, y microorganismos primarios, en índices altos de porcentaje, estos últimos son *S. mitis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. sanguis*, *R. dentocariosa*, entre otros, siendo constantes en la mayoría de los casos y dando una relación directa al mantenimiento de la salud periodontal a nivel de las interacciones microbiológicas dentro de la biopelícula dental⁽⁹⁶⁾.

Las interacciones microbianas dentro de la biopelícula dental son sumamente complejas, debido al proceso de coagregación y maduración de la biopelícula, donde los colonizadores primarios tienen la capacidad de proveer de

metabolitos a los colonizadores secundarios, puente y patobiontes periodontales⁽⁹⁷⁾, sin embargo, existen ciertas bacterias y ciertos escenarios ambientales que disminuyen la capacidad de los patobiontes para desarrollar la enfermedad^(98, 99). La cavidad oral está en constante contacto con agentes externos que la pueden modificar, y dichos factores puede alterar la biopelícula y repercutir dentro del desarrollo microbiano de la misma, se ha demostrado que sustancias como ácidos grasos poliinsaturados, mananoligosacaridos, xilooligosacaridos, ácidos linoleicos, entre otras, benefician de manera directa a microorganismos primarios que tienen la capacidad de disminuir la patogenicidad de las bacterias del complejo rojo⁽¹⁰⁰⁾, como son *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. gordonii* y *S. oralis*. Este tipo de sustancias provienen de medios externos como la alimentación, algunos probióticos, hábitos del paciente como el tabaquismo o la ingesta de vino tinto, actualmente se cree que podrían tener la capacidad de realizar modificación ayudando a microorganismos beneficiosos para la salud periodontal, pero se requieren más investigaciones para confirmarlo ⁽⁹⁸⁾.

4.9. El tabaquismo y su impacto periodontal

En el área de la salud es bien conocido que el tabaquismo, debido a los componentes que tienen los cigarrillos y la temperatura elevada del humo inhalado hacia la cavidad oral, tiene efectos dañinos en la salud en general, sin embargo, hablando a nivel periodontal es un factor importante a considerar debido a que el riesgo de un paciente fumador a desarrollar periodontitis es de 2 a 5 veces más que un paciente que no tiene esta adicción ⁽¹⁰¹⁾. El tabaquismo tiene efectos directos sobre los tejido periodontales y la microcirculación, a pesar de esto, la periodontitis en paciente fumadores no es una enfermedad distinta, sino un factor modificador que puede influir en la enfermedad, por lo que está bien estipulado dentro de la nueva clasificación el papel que juega en la toma de decisiones diagnósticas del grado de periodontitis ^(53, 84).

El impacto negativo que produce el humo del tabaco sobre los tejidos periodontales fue demostrado desde el siglo XIX⁽¹⁰²⁾ ⁽¹⁰³⁾, se han comparado a pacientes fumadores contra los no fumadores en lo que a periodoncia se refiere, los pacientes con dicho factor presentaban disminución de los tejidos de unión supracrestal, altura de hueso alveolar, edema gingival, acúmulo de cálculo dental⁽¹⁰⁴⁾, lo que comprueba la relación directa del tabaquismo con el desarrollo de las enfermedades periodontales⁽⁹⁰⁾.

En un estado de enfermedad periodontal, existen parámetros clínicos que nos permiten diagnosticar o acercarnos a pensar sobre una gingivitis o una periodontitis en sus diferentes estadios, uno de los factores en la mayoría de los casos es el sangrado espontáneo, al cepillado o a la exploración clínica por medio del sondeo periodontal ⁽⁸⁸⁾. Sin embargo, este indicador se ve alterado en pacientes fumadores de más de 10 cigarrillos diarios, se generan cambios a nivel vascular, disminuyéndose la irrigación sanguínea, así como engrosando el tejido gingival por la irritación de los químicos del tabaco, que producen aposición de queratina sobre el epitelio y dando una apariencia más opaca, es así como el sangrado gingival inclusive en paciente con enfermedad periodontal⁽¹⁰⁵⁻¹⁰⁷⁾. Es por este motivo que el diagnóstico periodontal, no solo debe basarse únicamente en el sangrado periodontal, si no en considerar todos los factores externos y del mismo paciente que puedan alterar las funciones normales del periodonto⁽⁸⁸⁾. De la misma manera, el tabaquismo puede disminuir la angiogénesis debido a componentes vasoconstrictores del cigarrillo, retraso en la reparación celular (fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos) lo cual puede influir en el proceso de cicatrización y que un tratamiento periodontal funcione exitosamente ^(88, 108).

Además, estudios clínicos longitudinales y análisis de laboratorio exhiben que el humo del tabaco disminuye la respuesta inmune del huésped hacia la biopelícula dental, mientras que también aumentan citoquinas y enzimas proinflamatorias, las cuales son en sí, las causantes de la destrucción del tejido óseo y del colágeno del tejido conectivo gingival por medio de las

metaloproteinasas ⁽¹⁰⁹⁾. Las principales célula de defensa que se encuentra en el surco gingival, son los neutrófilos, los cuales tienen como función proteger el epitelio de unión del surco y medio externo para permitir que los tejidos debajo de este epitelio sufran degradación^(88, 110). Se han demostrado que estas células se ven alteradas en número y función, lo que disminuye la respuesta inmune hacia los patógenos periodontales, dando pie a la posibilidad de generar enfermedad⁽⁸⁸⁾. La nicotina es el componente del cigarro que está más ligado sobre este tipo de acciones, suprime la producción de citoquinas proinflamatorias, como la IL-10, IL-12 (Interleucinas) o TNF(Factor de Necrosis Tumoral), y por consiguiente detiene la proliferación celular o la migración de las células inmunológicas a nivel del surco y epitelio de unión⁽¹¹¹⁾. Algunos otros estudios de pacientes fumadores, demuestran que la producción de mediadores locales como lo es la angiotensina II, histamina y prostaglandinas afectan la microcirculación gingival; asimismo, la exposición del humo y el impacto térmico del cigarrillo atacan a nivel de proteínas de unión intercelular como la ICAM-1 y E-selectina, esto por los componentes del cigarrillo que generan un aumento de quimiocinas que destruyen esta zonas de unión celular, explicando a nivel celular el daño que pueden llegar a producir ⁽¹¹²⁾.

Todas estas modificaciones a niveles vasculares e inmunológicos permiten la proliferación de los patógenos periodontales capaces de coagregarse y desarrollarse libremente hasta producir la enfermedad periodontal ⁽¹¹³⁾. Uno de los patógenos del complejo rojo, considerado clave para desarrollar la periodontitis es *P. gingivalis* ⁽¹¹⁴⁾, dicho microorganismo se demostró que ante la presencia de nicotina y la disminución inmunológica, desarrolla su capacidad de sobrevivir ante la exposición del humo del tabaco, además de facilitar la adhesión y coagregación por medio de fimbrias, permitiendo la maduración de la biopelícula dental, aun después de la exposición del tabaco mejora esta propiedad de potenciar la capacidad de las fimbrias^(87, 106, 115). Este microorganismo se ha encontrado también que tiene una relación directa con colonizadores primarios como *S. gordonii*, los cuales ante el tabaquismo mejoró

esta interacción desde etapas tempranas de la formación de la biopelícula dental^(90, 116).

A pesar de ser un factor de impacto directo en la periodontitis, existen casos donde el tabaquismo no agrava o no desarrolla la enfermedad, por lo que se tienen conocidos los procesos fisiológicos que altera, más no la vía exacta por la que los componentes del cigarrillo influyen, y si también en cierto caso, por evidencia empírica, pudiera jugar un papel nulo o en contra de la enfermedad periodontal, modificando la biopelícula de cierta manera que amortigua a los patobiontes del complejo rojo⁽⁹⁰⁾.

5. ANTECEDENTES

- Budenelli (2018) reportó en sus investigaciones que el tabaquismo, debido a sus componentes y las temperaturas, lleva a una supresión de sistema inmune y una modificación en la interacción microbiológica ⁽⁸⁸⁾.
- Holliday (2019), describe que el hábito del tabaquismo tiene la capacidad de agravar la enfermedad periodontal, debido a las modificaciones bacteriana que generan sus componentes⁽¹⁰⁸⁾.
- Jiang (2020), se dedicó a estudios microorganismos en biopelículas orales y sus interacciones microbianas, y reporta que algunas bacterias, como *S. gordonii*, suprimen a los patobiontes periodontales, adheriéndose a la biopelícula y no permite la coagregaciones de *P. gingivalis*⁽¹¹⁶⁾.
- Chaffee (2021), concluye que el tabaquismo modifica el medio ambiente oral, por lo que ciertas bacterias tienen la capacidad de crecer más fluidamente, sin embargo, propicia a colonizadores primarios que pueden tener una relación directa en detener el crecimiento de patógenos periodontales⁽⁹⁰⁾.
- Al Kawas (2021), explica que microorganismos colonizadores primarios principalmente Streptococos, están ligados a *P. gingivalis*, y puede suprimir su crecimiento si se encuentra presente en cantidades elevadas en la biopelícula dental subgingival⁽¹¹⁷⁾.

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades periodontales son multifactoriales, sin embargo, uno de los factores indispensable para que se desarrolle, es el microbioma oral, este está compuesto por una variedad de microorganismos que es normal encontrarlos en la cavidad oral, dentro de estos microorganismos se encuentran patobiontes específicos que cuando por factores del huésped locales, sistémicos o externos, genera un desequilibrio o disbiosis, proliferando y generando daño a los tejidos periodontales, dando como resultado las enfermedades periodontales.

Los microorganismos desarrollan colonias interaccionando entre ellas, cada vez en condiciones más complejas y dando pie a colonizadores secundarios que permiten la adherencia de diferentes tipos de bacterias, las cuales a su vez van liberando metabolitos y a su vez daño periodontal durante estas interacciones, siendo los patobiontes los causantes de este estado perjudicial para el periodonto.

Un factor que impacta a nivel periodontal y vuelve susceptibles a los pacientes a padecer enfermedad periodontal, es el tabaquismo, el cual produce cambios en la cavidad oral, que disminuyen la respuesta inmunológica y puede producir esta disbiosis, permitiendo a los patobiontes causar daño, sin embargo, algunos pacientes a pesar de tener este factor de riesgo no desarrollan enfermedad periodontal y se mantienen en simbiosis.

En este entendido, se establece la interrogante de por qué un gran número de pacientes fumadores no padecen la enfermedad, aun teniendo este factor de gran impacto sobre la predisposición a padecerlas, y se suponen teorías que no están comprobadas. Dichas teorías buscan el encontrar modificaciones a nivel del microbioma oral que genere interacciones bacterianas que limiten la acción de los patobiontes a desarrollar las patologías periodontales, factores como el tabaco están relacionados a modificar la biopelícula dental en contra de la salud periodontal, sin embargo, no se descarta la posibilidad de que modifiquen dicha biopelícula de alguna manera que ayude a mantener la salud periodontal en

dichos pacientes. Es decir, que modifique la presencia de especies protectoras, evitando así la enfermedad.

7. JUSTIFICACIÓN

Debido a la complejidad de las enfermedades periodontales, así como los múltiples factores que pueden producir una disbiosis en la cavidad oral, es importante encaminar la investigación científica hacia la producción de terapias que sean cada vez más efectivas para atacar las enfermedades periodontales a un menor costo y con mayor accesibilidad a la población.

Actualmente la Organización Mundial de la Salud reporta que las enfermedades periodontales abarcan hasta un 80% de la población mundial, siendo una de las enfermedades, epidemiológicamente hablando, con mayor impacto global, y en México no es la excepción, una de las posibles causas puede ser la falta de acceso en los sistemas de salud nacional al área de periodoncia, imposibilitando a gran parte de la población que no puede solventar una atención del sector privado.

El entendimiento de los factores protectores microbiológicos en pacientes con factores de riesgo para las enfermedades periodontales que permanecen sanos, permitirá a largo plazo, desarrollar terapias probióticas y prebióticas para tratar a pacientes que padezcan o estén en riesgo de padecer enfermedades periodontales.

Este tipo de hallazgos beneficiaría principalmente a la población en general, a lograr prevenir o tratar enfermedades periodontales de manera más eficiente y pensando en costos reducidos y en tiempo, así como al profesional de la salud a lograr el control y manejo de dichos pacientes con una mayor tasa de éxito.

8. HIPÓTESIS

Los pacientes fumadores periodontalmente sanos presentan una carga microbiológica específica.

9. OBJETIVO GENERAL

Identificar los tipos de microorganismos presentes en muestras de biopelícula recolectadas en pacientes periodontalmente sanos fumadores, en la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

10. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislamiento de la microbiota cultivable en muestras de biopelícula periodontal en pacientes fumadores sanos.
- Identificación bioquímica de los microorganismos existente cultivados de las muestras de biopelícula periodontal en pacientes sanos fumadores.

11. METODOLOGÍA

11.1. Selección de la muestra

Mediante diagnóstico periodontal, realizado en las clínicas de la Facultad de Odontología de la UACH, se realizó una anamnesis, llenado de historia clínica, sondeo y exploración intraoral, y con base en los criterios de inclusión y exclusión (anexo 3), los pacientes que se incluyeron en la investigación cumplieron los siguientes estándares: profundidad de sondeo ≤ 4 mm, sin sangrado al sondeo, únicamente pacientes que se evaluaron dentro de las instalaciones de la Facultad de Odontología de la UACH, en un rango de edad de 18-70 años de edad, que no hayan recibido ningún tratamiento periodontal en los últimos 2 meses.

Se excluyeron pacientes con cualquier tipo de prótesis parcial o total, fija o removible, así como aparatología de ortodoncia, ortopedia o ferulización, profundidad de sondeo > 4 mm o sangrando al sondeo, dientes con movilidad grado II o III, enfermedades sistémicas no controladas que impacten en la salud periodontal, caries clase V según Black, pacientes bajo antibioticoterapia o colutorios antisépticos y que no hayan firmado el consentimiento informado.

Posterior a esto se seleccionó a la población que fue candidata para la recolección de las muestras de biopelícula periodontal. Obteniendo una población que cumplía con los requisitos de 19 pacientes, los cuales se agendaron para la toma de muestra en la fecha estipulada, así como la presentación de una carta de consentimiento informado, donde se estipuló todos los aspectos de la investigación, se resolvieron dudas y firmaron de manera consciente y por decisión propia.

11.2. Toma de muestra de biopelícula dental.

La población seleccionada se citó un día en específico en diferentes horarios, donde con la ayuda de un asas de ligadura metálica 0.10 de ortodoncia, las cuales se realizaron y esterilizaron previamente, se tomaron las muestras de biopelícula dental del surco gingival de los dientes 16/26 por vestibular, 36/46 por lingual, 42/32 y/o 41/31 por lingual, tal y como se observa en la Figura 5 para la comprensión de los órganos dientes seleccionados⁽¹¹⁸⁾.

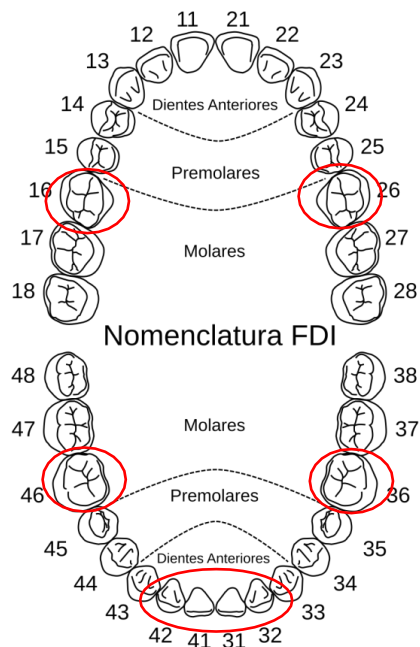


Figura 5. Se muestran las zonas seleccionadas para la toma de muestra de biopelícula dental (Odontograma FDI).

11.3. Siembra de las muestras.

Con cada una de las muestras recolectadas, de cada paciente, se sembró directamente en una caja Petri con agar sangre, en una mesa de trabajo previamente desinfectada y entre dos mecheros de Bunsen, para evitar la contaminación al momento de la siembra, se realizó por medio de técnica a estría cerrada, seguido de la esterilización directa a la llama de cada una de las asas de ligadura y posterior depósito en el recipiente para residuos biológicos. Posteriormente se llevaron dichos cultivos a incubarse a 37°C durante 24 a 48 horas en condiciones de microaerofilia.

11.4. Obtención de cultivos puros

Una vez que transcurrido el tiempo en las condiciones descritas se obtuvieron colonias mixtas, nuevamente se tomaron con asa microbiológica una muestra de cada colonia presente en el agar con cultivo mixto, para resembrarse por medio de estriado por agotamiento en placas de agar sangre en las condiciones ya mencionadas y así se obtuvieron crecimiento de cultivo axénicos (puros). Dichos cultivos se caracterizaron posteriormente macroscópicamente (observación de morfología colonial) y microscópicamente (tinción de Gram y visualización al microscopio).

11.5. Caracterización macroscópica

Una vez obtenidos los cultivos puros, se realizó un análisis de cada uno de ellos, describiendo características morfológicas visuales tales como el color, forma, tamaño, tipo de superficie, tipo de bordes, si eran elevadas o no y tipo de hemólisis; esta última se evaluó a contra luz, donde una lisis parcial de los glóbulos rojos se observa ligero color “dorado” (alfa hemólisis); lisis total de los

glóbulos rojos, un halo amarillo total alrededor de las colonias (beta hemólisis); y sin hemolisis (gamma hemólisis). Esta información posteriormente se vació en una tabla de concentrado de información para optimizar la comprensión de la información (Tabla 1).

11.6. Caracterización microscópica

El análisis a este nivel se realizó con ayuda de un microscopio óptico con objeto de 100x, estudiando el frotis de la masa microbiana previamente realizando fijación en la llama de un mechero de Bunsen y tinción de Gram, el fundamento de esta tinción es la fijación del colorante por parte de la pared bacteriana de los microorganismos, siendo las bacterias con peptidoglicanos y los ácidos teicoicos, los cuales permiten absorber el colorante y permiten observarse en una tonalidad más violeta, dichas bacterias son las conocidas como Gram positivas, mientras que las Gram negativas toman una tonalidad rosada, debido a que no tienen la capacidad de que su membrana tome los pigmentos y por consiguiente no es visible al microscopio.

El procedimiento para la tinción de Gram fue el siguiente:

1. Frotis de la masa microbiana en un portaobjetos con una gota de agua destilada y se fija directo a la llama de un mechero de bunsen.
2. Colocación de Cristal Violeta por un minuto, lavado para eliminar el excedente, sin mucha presión.
3. Lugol por 1 minuto, y de igual manera lavado para eliminar exceso.
4. Alcohol-Acetona, 15 segundos y lavado con agua.
5. Por último, se vierte Safranina y se deja actuar por 1 minuto continuando con el lavado del mismo y dejar secar.
6. Análisis al microscopio, describiendo la morfología bacteriana, si eran cocos, bacilos en arreglos como cadena, racimos o duplas, Gram positivo o negativo y la información se fue vaciando en la tabla 1.

11.7. Caracterización bioquímica

Cada colonia asilada obtenida se sometió a pruebas bioquímicas por medio del sistema estandarizado API, se siguieron las instrucciones del fabricante. La galería <<Api 20A> es un sistema estandarizado que incluye 20 ensayos enzimáticos para la identificación de microorganismos anaerobios. La galería <<API 20 Strep>> es un sistema estandarizado que asocia 20 ensayos bioquímicos de un gran poder discriminante, lo cual permite realizar un diagnóstico de grupo o por especie de la mayoría de los estreptococos, enterococos y otros microorganismos relacionados.

Para ambos casos y de forma general, de cada colonia de interés se preparó una suspensión bacteriana de turbidez ajustada al 3 de la escala de McFarland en medio de suspensión API 20A y para las galerías API 20 Strep se ajustó a una escala de McFarland de 4.

Posteriormente, se inocularon las cúpulas de las galerías siguiendo los instructivos de cada una de las galerías, donde primero se colocaba agua destilada en el recipiente que contendría las galerías, para crear un ambiente de humedad, seguido de esto los pozos se fueron rellenando con el inóculo y colocación de aceite, esto variaba dependiendo los instructivos y la reacción enzimática que se esperaba.

Ambas galerías se incubaron a 37°C, durante 4 horas para las API 20 Strep y 24 horas para las API 20A; para posteriormente leer e interpretar los resultados de las pruebas enzimáticas introduciendo los datos obtenidos en la base de datos de las galerías API para obtener género y especie presuntivo de cada colonia, los cuales se agregaron a la misma tabla de la caracterización micro y macroscópica.

12. RESULTADOS

En la presente investigación se obtuvieron resultados que pueden encaminar a la comprensión microbiológica más específica del microbioma oral, sus interacciones y relación con la salud periodontal. Con ayuda de diferentes filtros, así como llenado de historia clínica (Anexo 1) y exploración oral, se obtuvieron 19 pacientes fumadores sanos periodontalmente a los cuales se les sometió a toma de muestra de biopelícula periodontal, siendo 16 pacientes hombres y 3 mujeres, con un promedio de edad de 24.5 años, el 100% de los pacientes no presentaban antecedentes heredofamiliares ni enfermedades sistémicas (hipertensión arterial, hipotensión, diabetes, hipertiroidismo, hipotiroidismo, cáncer, hemofilia, VIH/SIDA, hepatitis, hemofilia, depresión, alergias, ni haber sufrido hemorragias); el 26.3% consumía 1 cigarrillo al día, 36.84% 2 cigarrillos diarios y 36.86% de 3 cigarrillos o más diarios; el 57.89% consumían bebidas alcohólicas cuando menos 1 vez a la semana; más del 90% consumía lácteos (leche, queso, yogurt) diario; el 100% de la población estudiada tenía más de 6 meses de haber acudido al dentista ni haberse realizado una profilaxis dental; 89.47% refería higienizar su boca con cepillo dental de 2 a 3 veces al día y el resto 1 vez al día; 52.63% reporto usar el hilo dental diario; 100% no utilizaba ningún tipo de colutorio. Además de lo ya mencionado, fue imprescindible cumplir con los criterios de inclusión y exclusión, representados en la Tabla 1, lo cual se corroboró con un diagnóstico periodontal, donde el 100% de los pacientes cumplía con una profundidad de sondeo $\leq 4\text{mm}$ y ausencia de sangrado al sondeo en la totalidad de los sitios sondeados.

Tabla 1. Criterios de inclusión y exclusión para seleccionar la población a muestrear.

CRITERIOS INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
<ul style="list-style-type: none">• Pacientes de 18 años en adelante.• Profundidad de sondeo $\leq 4\text{mm}$• Captados dentro de la Facultad de Odontología de la UACH.	<ul style="list-style-type: none">• Profundidad de sondeo $\geq 4\text{mm}$• Prótesis fija o removible.• Caries extensa.• Tratamiento farmacológico.

<ul style="list-style-type: none"> • Diagnosticado dentro de las instalaciones de la misma universidad. • Mínimo un cigarrillo diarios. 	<ul style="list-style-type: none"> • Embarazadas • Tratamiento hormonal. • Colutorios antisépticos • Movilidad dental grado II y III • Sangrado al sondeo • Tratamiento periodontal en los últimos 6 meses.
---	---

La toma de muestra fue realizada en una mesa de trabajo previamente preparada con mecheros de bunsen, desinfectada y con asas de ligadura metálica prefabricadas y esterilizadas, se tomó una muestra por paciente la cual se sembró en agar sangre directamente con técnica de estría cerrada y se fueron etiquetando, este proceso dio como resultado un total de 19 cajas Petri con agar sangre y la siembra de la biopelícula dental de pacientes fumadores sanos periodontalmente de los 19 pacientes seleccionados para el estudio. Dichas cajas se incubaron en condiciones de microaerofilia a 37°C durante 24 a 48 horas, obteniendo un total de 19 colonias mixtas; posteriormente de cada uno de los cultivos se resembró cada una de las colonias que visualmente eran diferentes utilizando la técnica de estría por agotamiento, y sometiéndose a las mismas condición, dando como resultando 19 cajas Petri de agar sangre con 4 a 5 colonias diferentes dentro de cada una de ellas, siendo el primer paso para el aislamiento de colonias puras. Al realizar un examen visual de cada colonia, se resembraron en las mismas condiciones las que se distinguían diferentes, lo cual arrojó 14 cepas puras diferentes, obtenidas de la muestra de biopelícula dental del total de 19 paciente fumadores sanos periodontalmente.

Cada una de las cepas aisladas de la biopelícula de paciente fumadores sanos periodontalmente, se sometió a un análisis macroscópico visual, evaluando el número, color, forma, elevación, margen, apariencia, densidad y consistencia de las colonias; seguido de un análisis microbiológico con apoyo de la tinción de Gram y prueba de catalasa a cada una de las cepas obteniendo un total de 12 cepas Gram positivo y 2 Gram negativo; 9 cepas Catalasa positivo y 5 Catalasa negativo; 1 α -hemolítica, 7 β -hemolíticas y 6 sin hemólisis. Porcentualmente hablando un 85.7% fue Gram positivo, 64.2% Catalasa positivo, 7.14% α -





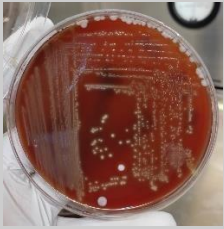
hemolítica, 50% β -hemolíticas y 42.85% sin hemólisis del total de las 14 cepas obtenidas de los 19 pacientes del estudio.







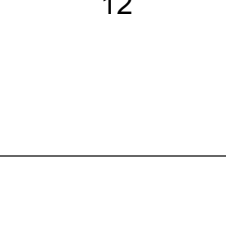
Evalúadas las características macroscópicas y microscópicas, para obtener el género y especie presuntivo de cada una de las 14 cepas se aplicaron las pruebas bioquímicas API 20A y API 20 STREP, las cuales nos arrojaron apoyándonos de la base de datos de dichas pruebas, un total de 10 microorganismos diferentes dentro de las 14 cepas puras de entre todos los 19 pacientes fumadores sanos periodontalmente, los cuales fueron *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces viscosus*, *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Gemella morbillorum*, *Prevotella intermedia/disiens*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Peptostreptococcus spp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Fusobacterium mortiferum* y *Actinomyces naeslundii*. Solo un microorganismo se repitió 5 veces dentro de las 14 cepas aisladas cultivables, y este microorganismo fue la *Gemella morbillorum*.




Los microorganismos que resultaron Gram positivo fueron 12 de las 14 cepas aisladas: *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces viscosus*, *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Gemella morbillorum* (5), *Staphylococcus saccharolyticus*, *Peptostreptococcus spp*, *Staphylococcus epidermidis* y *Actinomyces naeslundii*. Dejando únicamente 2 microorganismos Gram negativo: *Prevotella intermedia/disiens* y *Fusobacterium mortiferum*. Catalasa positivo se encontraron 9 de 14 microorganismos: *Streptococcus intermedius*, *Actinomyces viscosus*, *Gemella morbillorum* (3), *Staphylococcus saccharolyticus*, *Peptostreptococcus spp*, *Staphylococcus epidermidis* y *Actinomyces naeslundii*; Dejando únicamente 5 Catalasa negativo *Gemella morbillorum* (2), *Fusobacterium mortiferum*, *Peptoniphilus asaccharolyticus* y *Prevotella intermedia/disiens*. 1 α -hemolítica: *Actinomyces viscosus*; 7 β -hemolíticas: *Gemella morbillorum* (5), *Prevotella intermedia/disiens* *Staphylococcus saccharolyticus*; y 6 sin hemólisis: *Streptococcus intermedius*, *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Peptostreptococcus spp*, *Staphylococcus epidermidis* y

Actinomyces naeslundii *Fusobacterium mortiferum*. La información anterior se encuentra sintetizada y descrita en la Tabla 2.

Tabla 2. Descripción macroscópicas, microscópica, catalasa y género y especie.

CEPA	CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MACROSCÓPICA	CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA MICROSCÓPICA	CATALASA	GENERO Y ESPECIE PRESUNTIVO
1 	Colonias pequeñas, puntiformes, elevadas, borde entero, blanquecinas, brillantes, opacas a la luz, sin hemólisis	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Streptococcus intermedius</i>
2 	Colonias medianas, circulares, planas, borde ondulado, color rosa, brillante, translúcida, α-hemólisis	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Actinomyces viscosus</i>
3 	Colonias medianas, blanquecinas, redondas, brillantes, elevadas, borde entero, opacas a la luz, cremosas y sin hemólisis	Streptococos Gram+	Negativo	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
4 	Colonias pequeñas, forma irregular, elevadas, borde irregular, translúcidas, β-hemolítico.	Streptococos Gram+, diplococos	Negativo	<i>Gemella morbillorum</i>
5 	Colonias pequeñas, amarillentas, puntiformes, borde entero, elevadas, brillantes, β-hemolítico.	Streptococos Gram+, diplococos	Negativo	<i>Gemella morbillorum</i>
6	Colonias pequeñas, puntiformes,	Streptococos	Negativo	<i>Gemella morbillorum</i>

	elevadas, borde entero, brillante, opacas a la luz, cremosa. β -hemolítico	Gram+, diplococos		
7 	Pequeñas, puntiformes, elevadas, borde entero, brillantes, opacas a la luz, amarillentas. β -hemólisis.	Streptococos Gram+, cadenas largas	Negativo	<i>Gemella morbillorum</i>
8 	Colonias pequeñas, puntiformes, borde entero, elevadas, amarillentas y traslucidas, β -hemólisis.	Streptococos Gram+	Negativo	<i>Prevotella intermedia/disiens</i>
9 	Colonias pequeñas, puntiformes, elevadas, color blanquecino, brillante, entero, β -hemólisis.	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>
10 	Colonias pequeñas, puntiforme, borde entero, color verde, brillante, traslucida, sin hemólisis.	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Peptostreptococcus spp</i>
11 	Colonias medianas, circulares, elevadas, bordes enteros, amarillenta, opaca a la luz, sin hemólisis.	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
12 	Colonias pequeñas, puntiformes, borde entero, brillantes, amarillentas, traslucidas. β -	Streptococos Gram+	Negativo	<i>Gemella morbillorum</i>

	hemólisis.			
13 	Colonias medianas, forme y bordes irregulares, planas, azuladas, brillantes, translucido a la luz, no hemolíticas.	Streptococos Gram+, cadena larga	Positivo	<i>Fusobacterium mortiferum</i>
14 	Colonias pequeñas, redondas, blanquecinas, borde entero, brillantes, opacas a la luz, sin hemólisis.	Streptococos Gram+	Positivo	<i>Actinomyces naeslundii</i>

13. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Actualmente está presente una necesidad de comprender el papel que juegan los microorganismos y sus interacciones en la salud periodontal, por lo que se está en una constante búsqueda de terapias prebiótica y probióticas que permitan mantener la salud o tratar más eficientemente la enfermedad periodontal a menor costo, aquí la relevancia de los resultados del presente estudio, debido a que existen microorganismos que interactúan entre sí y tienen una intervención previa a la patogénesis de los patobiontes orales, además que son colonias que están presentes en pacientes que fuman, lo cual es un factor que está a la alza en uso en la población y aun así se mantienen en simbiosis⁽¹¹⁹⁾, estos microorganismos pueden influir sobre los patobiontes orales como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, y no permitir que ejerzan su patogenicidad sobre el periodonto y/o no puedan proliferar y desarrollar enfermedades periodontales^(97, 120). Es así como pueden llegarse a considerarse que alguno o algunos de estos microorganismos encontrados podrían influir en las interacciones bacterianas y contrarrestar los patobiontes periodontales, como es el caso de los probióticos⁽¹²¹⁾.

Dichos resultados aportan información sobre la tendencia a considerar al factor microbiológico, como el principal causante y a su vez el nicho a estudiar para mantener la salud periodontal, esto debido a que es verdad que las enfermedades periodontales son enfermedades complejas debido a ser multifactoriales⁽⁹⁸⁾, pero no puede darse la enfermedad sin existir una disbiosis a nivel microbiológico, y puede estar dada o agravada por factores del huésped, así como factores externos^(122, 123). Sin embargo, en el presente estudio los resultados fueron dados en pacientes sanos con el hábito del tabaquismo y en colonias cultivables, lo que hace necesario comprender de mejor manera el microbioma oral y su interacción, para enfocar las terapias desde una perspectiva diferente.

Estudios han demostrado que el tabaquismo puede elevar hasta 5 veces más la posibilidad de padecer periodontitis, así como de agravarla una vez que está presente en los pacientes, además que el humo del tabaco y los componentes del cigarrillo, alteran a nivel microbiológico y anatómico, la composición y calidad respectivamente^(90, 124). Existen resultados que demuestran que existen modificaciones sobre la carga y presencia de ciertos microorganismos, en su mayoría *Streptococcus* y *Actinomyces*, que favorecen el mantenimiento de la simbiosis oral, inhibiendo la acción y proliferación de los patobiontes periodontales como lo son *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*⁽¹²⁵⁻¹²⁷⁾.

Los resultados encontrados en investigaciones previas no son totalmente claros, debido a la complejidad de los mismos, un estudio realizado por Wu y colaboradores mostró una relación conforme a los cambios en el microbioma oral de paciente fumadores a los no fumadores, donde existía proliferación de microorganismos que disminuían la presencia de otro tipo de bacterias⁽¹²⁸⁾. En estos estudios los resultados más concretos establecen que la presencia en gran cantidad de microorganismos como *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* y *Capnocytophaga*, en conjunto con una disminución de patobiontes como *Porphyromonas gingivalis*, *Neisseria sp* y *Gemella*, se adjudica al humo del cigarro como la principal causa de esta modificación microbiológica por el ambiente que pudiera ser propicio para algunos microorganismos, sin embargo, los resultados son dados por una comparativa únicamente de los pacientes no fumadores y fumadores. En la presente investigación se analizó la biopelícula de paciente fumadores periodontalmente sanos, donde los grupos *Actinomyces* y *Peptostreptococcus* mencionados se encuentran presentes, sin embargo también uno de los disminuidos también fue encontrado en varias colonias aisladas, el cual es la *Gemella morbillorum*, que probablemente pueda influir en el mantenimiento de la salud periodontal por las interacciones microbiológicas en las que están involucrados, pues se ha demostrado que es parte de la biopelícula dental de pacientes fumadores sanos y que en el presente estudio

se encontró en mayor cantidad en la biopelícula de la población estudiada ^(128, 129).

Gemella morbillorum es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo y comensal de orofaringe, vagina y tracto gastrointestinal; que con anterioridad se consideraba un microorganismo poco común en los humanos, sin embargo, con el desarrollo de las técnicas de caracterización bacteriana, se ha encontrado muy comúnmente en pacientes con padecimientos infecciosos, dentro de los más comunes, la endocarditis bacteriana e infecciones osteoarticulares, y su principal mecanismo de patogenicidad es el producir la liberación de IL-2 en procesos proinflamatorios⁽¹³⁰⁾. Este microorganismo se ha demostrado en estudios comparativos, que se encuentra en mucho mayor cantidad en la biopelícula dental de pacientes no fumadores y que se encuentran periodontalmente sanos ⁽¹²⁹⁾. Además, otros estudios donde caracterizaron el microbioma oral por medio de secuenciación de la subunidad 16S, se le adjudica el desarrollo de enfermedades, como la periodontitis, a los cambios microbiológicos en fumadores, los cuales tenían una concentración menor de microorganismos como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Gemella*, *Fusobacterium*, en comparación a los fumadores, lo que eleva el riesgo de desarrollar la enfermedad a causa de la disbiosis que se desencadena⁽¹³¹⁾. Varios de estos microorganismos como *Prevotella intermedia*, *Gemella morbillorum*, *Fusobacterium mortiferum*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus*, se encontraron en este estudio, lo que nos permite suponer que son microorganismos que son capaces de subsistir al factor del tabaquismo y mantener el estado de simbiosis periodontal.

Se ha demostrado en investigaciones anteriores que el consumo de tabaco altera el microbioma oral, disminuyendo la cantidad de nitratos, lo que suprime la abundancia de microorganismos, como lo son *Proteobacterias*, disminuyendo también la cantidad de oxígeno en la sangre ⁽¹³²⁾; dichos resultados relacionan la disminución de microorganismos dependientes del oxígeno, produciendo un ambiente más anaerobio, lo que favorece la susceptibilidad de padecer la

enfermedad periodontal. Sin embargo, también confirma el aumento de microorganismos como *Actinomyces*, los cuales tienen una función reguladora dentro de las interacciones bacterianas y en grandes cantidades suprimen el ambiente para permitir a *Porphyromonas gingivales*, uno de los principales patobiontes, a proliferar y desarrollar la enfermedad periodontal ⁽¹³³⁾.

En el presente estudio se encontró la presencia de *Actinomyces naeslundii* y *Actinomyces viscosus*, lo que refuerza que, en pacientes fumadores sanos, pueden estar en diferentes concentraciones y permitir un estado de simbiosis dentro de la interacción bacteriana tan compleja. Cabe destacar que en otro estudio donde evaluaban la interacción bacteriana en la proliferación de la biopelícula dental entre *Streptococcus mutans* y *Actinomyces naeslundii*, se encontró que este último es uno de los más importantes para la simbiosis dentro del microbioma oral, debido a que degrada el ácido láctico en ácidos más débiles, dificultando la agregación de microorganismos importantes para la patogénesis de las enfermedades causadas por la biopelícula dental, dentro de los cuales podemos mencionar al *Fusobacterium nucleatum*, microorganismo puente de suma importancia para la adhesión de las bacterias del complejo rojo causantes de las periodontitis⁽¹³⁴⁾. Se requiere mayor evidencia para poder confirmar la función sobre la salud periodontal de los *Actinomyces* encontrados en la muestra biopelícula dental de pacientes fumadores sanos periodontalmente, sin embargo, nos permite pensar y suponer que, al encontrarse en la biopelícula dental, ayudan a mantener la salud debido a su importancia en las interacciones bacterianas del microbioma oral.

Otra investigación indagó sobre la inhibición del crecimiento de las colonias de algunos de los microorganismos periodontopatógenos; *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces actinomycetemcomitans* y *Fusobacterium nucleatum*, se reportaron 6 principales bacterias que suprimieron la proliferación de estas colonias, siendo en orden descendente las siguientes: 1) *Streptococcus salivarius*, 2) *Streptococcus mitis*, 3) *Streptococcus oralis*, 4) *Bifidobacterium dentium*, 5) *Actinomyces viscosus* y 6) *Actinomyces*

naeslundii⁽⁹²⁾; estos últimos dos fueron detectables por medio de pruebas API en el presente estudio, por lo que pueden considerarse como unos de los más relevantes para la prevalencia de la salud periodontal en los pacientes fumadores que se estudiaron en esta investigación.

Se reconocer a los *Streptococcus*, como el género de microorganismos del microbioma oral que coloniza primariamente la cavidad bucal desde la infancia, además de encontrarse muchas especies en este ambiente⁽¹³⁵⁾. Dentro de las especies más conocidas en cavidad oral encontramos *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, , *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, los cuales están categorizados como un colonizadores primarios de la biopelícula dental y aumentan sus niveles en caries dental ⁽¹³⁶⁻¹³⁸⁾. Más no son los únicos encontrados, se ha demostrado en varios estudios que *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus infantis* *Streptococcus mitis* y *Streptococcus intermedius*, se encuentran en elevada concentración en pacientes sanos a nivel periodontal, y se les relacionan a los *Streptococcus* microorganismos antagonistas de los periodontopatógenos, sin embargo, también *Streptococcus constellatus* y *Streptococcus intermedius*, son detectables en periodontitis⁽¹³⁹⁾. En el presente estudio en pacientes fumadores sanos se encontró el *Streptococcus intermedius* en la biopelícula de dichos pacientes, lo que confirma dicha información previa de que está presente tanto en salud como enfermedad, y se puede considerar debido a su rol simbiótico en el microbioma oral, como uno de los microorganismos importantes para el mantenimiento de este estado de salud periodontal, para confirmar esta suposición se requieren mayor cantidad de investigaciones que estudien la función de este microorganismo.

Las técnicas utilizadas en la presente investigación, fueron principalmente bacteriológicas, por medio de cultivos bacterianos en agar sangre, rico en nutrientes para permitir el crecimiento microbiano generalizado y poder abarcar la mayor cantidad de bacterias cultivables, sin embargo, a pesar de tener los cuidados previos y mantener las condiciones de esterilidad lo más posible, pueden verse contaminadas por microorganismos que se encuentra en

ambiente y que son difíciles de eliminar. Se ha demostrado que una variedad de especies de *Staphylococcus*, son parte del microbioma de la piel del ser humano, uno de los más conocidos es *Staphylococcus epidermidis*, el cual como su especie lo dice, está presente en la piel del ser humano y ha desarrollado una resistencia a antimicrobianos y un sinfín de agentes externos que le permiten ser parte de las bacterias de la piel del ser humano, y se ha demostrado que es parte de la simbiosis de la misma⁽¹⁴⁰⁾. Esta bacteria es difícil evitar que contamine los cultivos bacterianos, debido a esto se puede decir que se encuentra en el aire que respiramos o superficialmente en la piel, por lo que es fácil de cultivarse inclusive sin desear hacerlo⁽¹⁴¹⁾. En el caso de *Staphylococcus saccharolyticus* también es comensal normal de piel de espalda, frente, codos, y tiene la particularidad de ser anaerobio facultativo, lo que no sucede comúnmente con otros *Staphylococcus*, puede proliferar en ambientes bajos en oxígeno y además contaminar los cultivos bacterianos de manera más facilitada^(142, 143). Los dos microorganismos mencionados, fueron encontrados dentro de las 14 cepas de biopelícula de paciente fumadores sanos periodontalmente, y se les atribuye muy probablemente su presencia a la contaminación de las siembras, al momento de tomar las muestras por la cercanía a la piel de la cara, o en algún momento de resiembra que lograran entrar a las cajas Petri y proliferar, pues no se les ha encontrado un rol claro dentro del microbioma de la cavidad oral. Algo similar sucede con *Peptoniphilus asaccharolyticus* el cual es un coco Gram positivo, parte del microbioma de piel, vagina e intestino, se le ha encontrado en infecciones en prótesis óseas, e infecciones de la mismo índole^(144, 145), sin embargo, no es muy común en este tipo de afecciones, es un microorganismo oportunista de estas zonas anatómicas, por este motivo pudiera considerarse en este estudio como una bacteria contaminante, debido a su presencia en piel o en tejido óseo en estado de salud más comúnmente.

Como se ha demostrado existe evidencia respaldada, con respecto a los roles bacterianos que se generan dentro del microbioma oral para mantener un estadio de simbiosis o que permite proliferar a los patobiontes periodontales, y

genera una disbiosis que termina en enfermedades periodontales. En condiciones normales se mantiene este equilibrio bacteriano, sin embargo, al agregar factores externos, como es el tabaquismo general modificaciones bacteriana dentro del mismo ecosistema lo que eleva el riesgo a padecer o desarrollar la enfermedad. En este estudio se aborda pacientes fumadores sanos periodontalmente, para conocer la composición de la biopelícula de dichos pacientes y es un primer paso para buscar la mejora a futuro de las terapias probióticas y prebióticas, para mantener la salud periodontal, ya que la composición bacteriana de dichos pacientes podría darnos una posible opción elegir una mejor terapéutica.

El presente estudio encontró microorganismos que se han reportado que tienen acciones antagonistas sobre los patobiontes periodontales, específicamente de *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus spp*, *Actinomyces naeslundii* y *Actinomyces viscosus*; así como *Gemella morbillorum*, un microorganismo que está presente en estado de salud periodontal, lo que confirma que los pacientes se encontraban microbiológicamente en simbiosis; también se encontraron *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saccharolyticus*, los cuales es común encontrarlos en el medio ambiente y en la piel del ser humano; y otras bacterias que son parte del microbioma oral tanto en salud como en enfermedad, del periodonto, como lo es *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium mortiferum*.

Con los hallazgos anteriormente mencionados, en el presente estudio podemos concluir que los pacientes fumadores periodontalmente sanos presentan una carga microbiológica específica que se compone por microorganismo están presentes en paciente sanos y son parte del microbioma oral como son *Gemella morbillorum*, *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium mortiferum* y bacterias como *Streptococcus intermedius*, *Peptostreptococcus spp*, *Actinomyces naeslundii* y *Actinomyces viscosus* que fueron cultivables en condiciones de microaerofilia en dichos pacientes y que nos permite suponer que tienen una acción antagonista hacia los microorganismos periodontógenos lo que permite

mantener la simbiosis en el ambiente microbiano oral a pesar de tener un agente externo como el tabaquismo que eleva más del 80% las posibilidades de desarrollar periodontitis por el impacto que tiene en el microbioma oral y en la respuesta del hospedero.

Sin embargo, a pesar de los resultados y conclusión de esta investigación, es necesario realizar estudios más complejos de caracterización bacteriana y mayor evidencia de qué función realmente tienen estos microorganismos dentro de la biopelícula de pacientes fumadores sanos periodontalmente.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Nanci A, Bosshardt DD. Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology 2000*. 2006;40:11-28.
2. Cho MI, Garant PR. Development and general structure of the periodontium. *Periodontology 2000*. 2000;24:9-27.
3. Chen FM. [Periodontal tissue engineering and regeneration]. *Zhonghua kou qiang yi xue za zhi = Zhonghua kouqiang yixue zazhi = Chinese journal of stomatology*. 2017;52(10):610-4.
4. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *Journal of periodontology*. 1976;47(5):256-60.
5. Hassell TM. Tissues and cells of the periodontium. *Periodontology 2000*. 1993;3:9-38.
6. Kim DM, Bassir SH, Nguyen TT. Effect of gingival phenotype on the maintenance of periodontal health: An American Academy of Periodontology best evidence review. *Journal of periodontology*. 2020;91(3):311-38.
7. Garaicoa-Pazmino C, Fretwurst T, Squarize CH, Berglundh T, Giannobile WV, Larsson L, et al. Characterization of macrophage polarization in periodontal disease. *Journal of clinical periodontology*. 2019;46(8):830-9.
8. Buduneli N. *Anatomy of Periodontal Tissues. Biomarkers in Periodontal Health and Disease: Rationale, Benefits, and Future Directions*. Cham: Springer International Publishing; 2020. p. 1-7.
9. Gibbs S, Roffel S, Meyer M, Gasser A. Biology of soft tissue repair: gingival epithelium in wound healing and attachment to the tooth and abutment surface. *European cells & materials*. 2019;38:63-78.
10. Preus HR, Anerud A, Boysen H, Dunford RG, Zambon JJ, Löe H. The natural history of periodontal disease. The correlation of selected microbiological parameters with disease severity in Sri Lankan tea workers. *Journal of clinical periodontology*. 1995;22(9):674-8.
11. Cortellini P, Bissada NF. Mucogingival conditions in the natural dentition: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S204-s13.
12. Kim D, Lee AE, Xu Q, Zhang Q, Le AD. Gingiva-Derived Mesenchymal Stem Cells: Potential Application in Tissue Engineering and Regenerative Medicine - A Comprehensive Review. *Frontiers in immunology*. 2021;12:667221.
13. Nuñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. *Periodontology 2000*. 2019;79(1):107-16.
14. Garnick JJ, Ringle RD. The dento-gingival junction as seen with light microscopy and scanning electron microscopy. *Scanning microscopy*. 1988;2(2):1113-22.
15. Ko YK, Hong S, Kim HM, Liu M, Moon E, Kim P, et al. Characterization of junctional structures in the gingival epithelium as barriers against bacterial invasion. *Journal of periodontal research*. 2022;57(4):799-810.
16. Alfonso García SL, Mira Uribe LM, Castaño López S, Parada-Sanchez MT, Arboleda-Toro D. Ultrastructural Characterization of Human Gingival Fibroblasts in 3D Culture. *Cells*. 2022;11(22).
17. Kabakov L, Nemcovsky CE, Plasmanik-Chor M, Meir H, Bar DZ, Weinberg E. Fibroblasts from the oral masticatory and lining mucosa have different gene expression profiles and proliferation rates. *Journal of clinical periodontology*. 2021;48(10):1393-401.

18. Müller-Glauser W, Schroeder HE. Exfoliative cytology and ultrastructure of superficial epithelial cells from the normal human oral mucosa. *Journal de biologie buccale*. 1983;11(4):317-26.
19. Skougaard M. Turnover of the gingival epithelium in marmosets. *Acta odontologica Scandinavica*. 1965;23(6):623-43.
20. Newcomb GM, Seymour GJ, Powell RN. Association between plaque accumulation and Langerhans cell numbers in the oral epithelium of attached gingiva. *Journal of clinical periodontology*. 1982;9(4):297-304.
21. Schroeder HE, Theilade J. Electron microscopy of normal human gingival epithelium. *Journal of periodontal research*. 1966;1(2):95-119.
22. Edmans JG, Clitherow KH, Murdoch C, Hatton PV, Spain SG, Colley HE. Mucoadhesive Electrospun Fibre-Based Technologies for Oral Medicine. *Pharmaceutics*. 2020;12(6).
23. Crossman J, Elyasi M, El-Bialy T, Flores Mir C. Cementum regeneration using stem cells in the dog model: A systematic review. *Archives of oral biology*. 2018;91:78-90.
24. Nuñez J, Sanz-Blasco S, Vignoletti F, Muñoz F, Arzate H, Villalobos C, et al. Periodontal regeneration following implantation of cementum and periodontal ligament-derived cells. *Journal of periodontal research*. 2012;47(1):33-44.
25. Yamamoto T, Hasegawa T, Yamamoto T, Hongo H, Amizuka N. Histology of human cementum: Its structure, function, and development. *The Japanese dental science review*. 2016;52(3):63-74.
26. Yamamoto T, Hasegawa T, Hongo H, Amizuka N. Alternating lamellar structure in human cellular cementum and rat compact bone: Its structure and formation. *Journal of oral biosciences*. 2019;61(2):105-14.
27. Takahashi S, Yamamoto T, Takahashi T, Yawaka Y. Incremental lines in human cellular cementum: A histological study. *Journal of oral biosciences*. 2023;65(1):55-61.
28. Bosshardt DD, Stadlinger B, Terheyden H. Cell-to-cell communication--periodontal regeneration. *Clinical oral implants research*. 2015;26(3):229-39.
29. Dean C, Le Cabec A, Spiers K, Zhang Y, Garrevoet J. Incremental distribution of strontium and zinc in great ape and fossil hominin cementum using synchrotron X-ray fluorescence mapping. *Journal of the Royal Society, Interface*. 2018;15(138).
30. Bosshardt DD. Are cementoblasts a subpopulation of osteoblasts or a unique phenotype? *Journal of dental research*. 2005;84(5):390-406.
31. Karring T, Nyman S, Gottlow J, Laurell L. Development of the biological concept of guided tissue regeneration--animal and human studies. *Periodontology 2000*. 1993;1:26-35.
32. Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet (London, England)*. 2004;364(9429):149-55.
33. Groeneveld MC, Van den Bos T, Everts V, Beertsen W. Cell-bound and extracellular matrix-associated alkaline phosphatase activity in rat periodontal ligament. *Experimental Oral Biology Group. Journal of periodontal research*. 1996;31(1):73-9.
34. Saffar JL, Lasfargues JJ, Cherruau M. Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontology 2000*. 1997;13:76-90.
35. <http://www.who.int/about/mission/en>. WHOCoWP. Accessed March 26, 2018.
36. Lang NP BP. Periodontal health. *J Periodontol*. 2018 Jun;;89 S9-S16.
37. GC A. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999 Dec;4:1-6.
38. Murakami S, Mealey BL, Mariotti A, Chapple ILC. Dental plaque-induced gingival conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S17-s27.

39. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. Nature reviews Disease primers. 2017;3:17038.
40. John V, Alqallaf H, De Bedout T. Periodontal Disease and Systemic Diseases: An Update for the Clinician. Journal (Indiana Dental Association). 2016;95(1):16-23.
41. Zaura E, ten Cate JM. Towards understanding oral health. Caries research. 2015;49 Suppl 1:55-61.
42. Tonetti MS, Eickholz P, Loos BG, Papapanou P, van der Velden U, Armitage G, et al. Principles in prevention of periodontal diseases: Consensus report of group 1 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. Journal of clinical periodontology. 2015;42 Suppl 16:S5-11.
43. Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. Results after 6 years. Journal of clinical periodontology. 1981;8(3):239-48.
44. Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, et al. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. Journal of periodontology. 1994;65(3):260-7.
45. Greenstein G. The role of bleeding upon probing in the diagnosis of periodontal disease. A literature review. Journal of periodontology. 1984;55(12):684-8.
46. Trombelli L, Farina R, Silva CO, Tatakis DN. Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. Journal of clinical periodontology. 2018;45 Suppl 20:S44-s67.
47. Lindhe J, Nyman S. Long-term maintenance of patients treated for advanced periodontal disease. Journal of clinical periodontology. 1984;11(8):504-14.
48. Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. Journal of clinical periodontology. 2008;35(8):685-95.
49. Wikner S, Söder PO, Frithiof L, Wouters F. The approximal bone height and intrabony defects in young adults, related to the salivary buffering capacity and counts of Streptococcus mutans and Lactobacilli. Archives of oral biology. 1990;35 Suppl:213s-5s.
50. Nyman SR, Lang NP. Tooth mobility and the biological rationale for splinting teeth. Periodontology 2000. 1994;4:15-22.
51. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. Periodontology 2000. 2001;25:8-20.
52. Pérez-Chaparro PJ, Duarte PM, Shibli JA, Montenegro S, Lacerda Heluy S, Figueiredo LC, et al. The Current Weight of Evidence of the Microbiologic Profile Associated With Peri-Implantitis: A Systematic Review. Journal of periodontology. 2016;87(11):1295-304.
53. Jepsen S, Caton JG, Albandar JM, Bissada NF, Bouchard P, Cortellini P, et al. Periodontal manifestations of systemic diseases and developmental and acquired conditions: Consensus report of workgroup 3 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. Journal of periodontology. 2018;89 Suppl 1:S237-s48.
54. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, Hashim A, Jotwani R, Eskan MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. Cell host & microbe. 2011;10(5):497-506.
55. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. Advances in dental research. 1994;8(2):263-71.
56. Page RC, Offenbacher S, Schroeder HE, Seymour GJ, Kornman KS. Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. Periodontology 2000. 1997;14:216-48.

57. Vandenberg JI, Conigrave A, King GF, Kirk K. From kinetics to imaging: an NMR odyssey - a festschrift symposium in honour of Philip William Kuchel. *European biophysics journal : EBJ.* 2013;42(1):1-2.
58. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000.* 2020;83(1):14-25.
59. Curtis MA, Slaney JM, Aduse-Opoku J. Critical pathways in microbial virulence. *Journal of clinical periodontology.* 2005;32 Suppl 6:28-38.
60. Lourenço TG, Heller D, Silva-Boghossian CM, Cotton SL, Paster BJ, Colombo AP. Microbial signature profiles of periodontally healthy and diseased patients. *Journal of clinical periodontology.* 2014;41(11):1027-36.
61. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of clinical periodontology.* 1998;25(2):134-44.
62. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000.* 2005;38:135-87.
63. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N, Silva N, Burleson JA, Strausbaugh LD, et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *The ISME journal.* 2013;7(5):1016-25.
64. Hong BY, Furtado Araujo MV, Strausbaugh LD, Terzi E, Ioannidou E, Diaz PI. Microbiome profiles in periodontitis in relation to host and disease characteristics. *PLoS one.* 2015;10(5):e0127077.
65. Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Løe H. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *Journal of periodontal research.* 1966;1:1-13.
66. Schincaglia GP, Hong BY, Rosania A, Barasz J, Thompson A, Sobue T, et al. Clinical, Immune, and Microbiome Traits of Gingivitis and Peri-implant Mucositis. *Journal of dental research.* 2017;96(1):47-55.
67. de Farias ST, Rêgo TG, José MV. Origin of the 16S Ribosomal Molecule from Ancestor tRNAs. *Journal of molecular evolution.* 2021;89(4-5):249-56.
68. Huang S, Li R, Zeng X, He T, Zhao H, Chang A, et al. Predictive modeling of gingivitis severity and susceptibility via oral microbiota. *The ISME journal.* 2014;8(9):1768-80.
69. Mira A, Simon-Soro A, Curtis MA. Role of microbial communities in the pathogenesis of periodontal diseases and caries. *Journal of clinical periodontology.* 2017;44 Suppl 18:S23-s38.
70. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Jr., Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature reviews Microbiology.* 2010;8(7):471-80.
71. Diaz PI, Hoare A, Hong BY. Subgingival Microbiome Shifts and Community Dynamics in Periodontal Diseases. *Journal of the California Dental Association.* 2016;44(7):421-35.
72. Parameter on plaque-induced gingivitis. *American Academy of Periodontology. Journal of periodontology.* 2000;71(5 Suppl):851-2.
73. Lie MA, Danser MM, van der Weijden GA, Timmerman MF, de Graaff J, van der Velden U. Oral microbiota in subjects with a weak or strong response in experimental gingivitis. *Journal of clinical periodontology.* 1995;22(8):642-7.
74. Riviere GR, Smith KS, Tzagaroulaki E, Kay SL, Zhu X, DeRouen TA, et al. Periodontal status and detection frequency of bacteria at sites of periodontal health and gingivitis. *Journal of periodontology.* 1996;67(2):109-15.
75. van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *Journal of clinical periodontology.* 2002;29(11):1023-8.

76. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of "high-responder" and "low-responder" subjects. *Journal of clinical periodontology*. 2004;31(4):239-52.
77. Loe H, Silness J. PERIODONTAL DISEASE IN PREGNANCY. I. PREVALENCE AND SEVERITY. *Acta odontologica Scandinavica*. 1963;21:533-51.
78. Curilović Z, Mazor Z, Berchtold H. Gingivitis in Zurich schoolchildren. A reexamination after 20 years. *Schweizerische Monatsschrift fur Zahnheilkunde = Revue mensuelle suisse d'odonto-stomatologie*. 1977;87(8):801-8.
79. Brex MC, Schlegel K, Gehr P, Lang NP. Comparison between histological and clinical parameters during human experimental gingivitis. *Journal of periodontal research*. 1987;22(1):50-7.
80. Greenstein G, Caton J, Polson AM. Histologic characteristics associated with bleeding after probing and visual signs of inflammation. *Journal of periodontology*. 1981;52(8):420-5.
81. Andriankaja OM, Muñoz-Torres FJ, Vivaldi-Oliver J, Leroux BG, Campos M, Joshipura K, et al. Insulin resistance predicts the risk of gingival/periodontal inflammation. *Journal of periodontology*. 2018;89(5):549-57.
82. Dashash M, Drucker DB, Hutchinson IV, Bazrafshani MR, Blinkhorn AS. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and gingivitis in children. *Oral diseases*. 2007;13(3):308-13.
83. Garlet GP, Trombone AP, Menezes R, Letra A, Repeke CE, Vieira AE, et al. The use of chronic gingivitis as reference status increases the power and odds of periodontitis genetic studies: a proposal based in the exposure concept and clearer resistance and susceptibility phenotypes definition. *Journal of clinical periodontology*. 2012;39(4):323-32.
84. Papananou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89 Suppl 1:S173-s82.
85. Schulz S, Stein JM, Schumacher A, Kupietz D, Yekta-Michael SS, Schittenhelm F, et al. Nonsurgical Periodontal Treatment Options and Their Impact on Subgingival Microbiota. *Journal of clinical medicine*. 2022;11(5).
86. Krishnan K, Chen T, Paster BJ. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral diseases*. 2017;23(3):276-86.
87. Hanioka T, Morita M, Yamamoto T, Inagaki K, Wang PL, Ito H, et al. Smoking and periodontal microorganisms. *The Japanese dental science review*. 2019;55(1):88-94.
88. Buduneli N, Scott DA. Tobacco-induced suppression of the vascular response to dental plaque. *Molecular oral microbiology*. 2018;33(4):271-82.
89. Shchipkova AY, Nagaraja HN, Kumar PS. Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. *Journal of dental research*. 2010;89(11):1247-53.
90. Chaffee BW, Couch ET, Vora MV, Holliday RS. Oral and periodontal implications of tobacco and nicotine products. *Periodontology 2000*. 2021;87(1):241-53.
91. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*. 2021;87(1):107-31.
92. van Essche M, Loozen G, Godts C, Boon N, Pauwels M, Quirynen M, et al. Bacterial antagonism against periodontopathogens. *Journal of periodontology*. 2013;84(6):801-11.
93. Kamarajan P, Hayami T, Matte B, Liu Y, Danciu T, Ramamoorthy A, et al. Nisin ZP, a Bacteriocin and Food Preservative, Inhibits Head and Neck Cancer Tumorigenesis and Prolongs Survival. *PloS one*. 2015;10(7):e0131008.

94. Zhurakivska K, Troiano G, Caponio VCA, Dioguardi M, Laino L, Maffione AB, et al. Do Changes in Oral Microbiota Correlate With Plasma Nitrite Response? A Systematic Review. *Frontiers in physiology*. 2019;10:1029.
95. Senneby A, Davies JR, Svensäter G, Neilands J. Acid tolerance properties of dental biofilms in vivo. *BMC microbiology*. 2017;17(1):165.
96. Lenartova M, Tesinska B, Janatova T, Hrebicek O, Mysak J, Janata J, et al. The Oral Microbiome in Periodontal Health. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021;11:629723.
97. Vives-Soler A, Chimenos-Küstner E. Effect of probiotics as a complement to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis: a systematic review. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. 2020;25(2):e161-e7.
98. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S, Romano A, Lombardi T, Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(9).
99. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2017;14(8):491-502.
100. Shokryazdan P, Faseleh Jahromi M, Navidshad B, Liang JB. Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. *Medical microbiology and immunology*. 2017;206(1):1-9.
101. Warnakulasuriya S, Dietrich T, Bornstein MM, Casals Peidró E, Preshaw PM, Walter C, et al. Oral health risks of tobacco use and effects of cessation. *International dental journal*. 2010;60(1):7-30.
102. Pindborg JJ. Tobacco and gingivitis; correlation between consumption of tobacco, ulceromembranous gingivitis and calculus. *Journal of dental research*. 1949;28(5):460-3.
103. Eke PI, Wei L, Thornton-Evans GO, Borrell LN, Borgnakke WS, Dye B, et al. Risk Indicators for Periodontitis in US Adults: NHANES 2009 to 2012. *Journal of periodontology*. 2016;87(10):1174-85.
104. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of periodontology*. 2000;71(5):743-51.
105. Bunaes DF, Mustafa M, Mohamed HG, Lie SA, Leknes KN. The effect of smoking on inflammatory and bone remodeling markers in gingival crevicular fluid and subgingival microbiota following periodontal therapy. *Journal of periodontal research*. 2017;52(4):713-24.
106. Hanioka T, Tanaka M, Ojima M, Takaya K, Matsumori Y, Shizukuishi S. Oxygen sufficiency in the gingiva of smokers and non-smokers with periodontal disease. *Journal of periodontology*. 2000;71(12):1846-51.
107. Dietrich T, Bernimoulin JP, Glynn RJ. The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. *Journal of periodontology*. 2004;75(1):16-22.
108. Holliday RS, Campbell J, Preshaw PM. Effect of nicotine on human gingival, periodontal ligament and oral epithelial cells. A systematic review of the literature. *Journal of dentistry*. 2019;86:81-8.
109. Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA. Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *Journal of clinical periodontology*. 2005;32 Suppl 6:180-95.
110. Scott DA, Krauss J. Neutrophils in periodontal inflammation. *Frontiers of oral biology*. 2012;15:56-83.

111. Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E. Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. *Journal of periodontal research*. 2006;41(3):184-8.
112. Silva H. Tobacco Use and Periodontal Disease-The Role of Microvascular Dysfunction. *Biology*. 2021;10(5).
113. Kumar PS, Matthews CR, Joshi V, de Jager M, Aspiras M. Tobacco smoking affects bacterial acquisition and colonization in oral biofilms. *Infection and immunity*. 2011;79(11):4730-8.
114. Haffajee AD, Socransky SS. Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *Journal of clinical periodontology*. 2001;28(5):377-88.
115. National Center for Chronic Disease P, Health Promotion Office on S, Health. Reports of the Surgeon General. The Health Consequences of Smoking—50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention (US); 2014.
116. Jiang Y, Zhou X, Cheng L, Li M. The Impact of Smoking on Subgingival Microflora: From Periodontal Health to Disease. *Frontiers in microbiology*. 2020;11:66.
117. Al Kawas S, Al-Marzooq F, Rahman B, Shearston JA, Saad H, Benzina D, et al. The impact of smoking different tobacco types on the subgingival microbiome and periodontal health: a pilot study. *Scientific reports*. 2021;11(1):1113.
118. <https://www.fdiworlddental.org/>. [
119. Haas AN, Furlaneto F, Gaio EJ, Gomes SC, Palioto DB, Castilho RM, et al. New tendencies in non-surgical periodontal therapy. *Brazilian oral research*. 2021;35(Supp 2):e095.
120. Seminario-Amez M, López-López J, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Jané-Salas E. Probiotics and oral health: A systematic review. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*. 2017;22(3):e282-e8.
121. Nguyen T, Brody H, Radaic A, Kapila Y. Probiotics for periodontal health-Current molecular findings. *Periodontology 2000*. 2021;87(1):254-67.
122. Hajishengallis G. Interconnection of periodontal disease and comorbidities: Evidence, mechanisms, and implications. *Periodontology 2000*. 2022;89(1):9-18.
123. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological research*. 2013;69(1):137-43.
124. Apatzidou DA. The role of cigarette smoking in periodontal disease and treatment outcomes of dental implant therapy. *Periodontology 2000*. 2022;90(1):45-61.
125. Amato M, Di Spirito F, D'Ambrosio F, Boccia G, Moccia G, De Caro F. Probiotics in Periodontal and Peri-Implant Health Management: Biofilm Control, Dysbiosis Reversal, and Host Modulation. *Microorganisms*. 2022;10(11).
126. Balta MG, Papathanasiou E, Blix IJ, Van Dyke TE. Host Modulation and Treatment of Periodontal Disease. *Journal of dental research*. 2021;100(8):798-809.
127. Van Holm W, Carvalho R, Delanghe L, Eilers T, Zayed N, Mermans F, et al. Antimicrobial potential of known and novel probiotics on in vitro periodontitis biofilms. *NPJ biofilms and microbiomes*. 2023;9(1):3.
128. Wu J, Peters BA, Dominianni C, Zhang Y, Pei Z, Yang L, et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *The ISME journal*. 2016;10(10):2435-46.
129. Yang Y, Zheng W, Cai QY, Shrubsole MJ, Pei Z, Brucker R, et al. Cigarette smoking and oral microbiota in low-income and African-American populations. *Journal of epidemiology and community health*. 2019;73(12):1108-15.
130. Saad E, Faris ME, Abdalla MS, Prasai P, Ali E, Stake J. A Rare Pathogen of Bones and Joints: A Systematic Review of Osteoarticular Infections Caused by *Gemella morbillorum*. *Journal of clinical medicine research*. 2023;15(4):187-99.

131. Suzuki N, Nakano Y, Yoneda M, Hirofujii T, Hanioka T. The effects of cigarette smoking on the salivary and tongue microbiome. *Clinical and experimental dental research*. 2022;8(1):449-56.
132. Huang C, Shi G. Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases. *Journal of translational medicine*. 2019;17(1):225.
133. Rosier BT, Moya-Gonzalez EM, Corell-Escuin P, Mira A. Isolation and Characterization of Nitrate-Reducing Bacteria as Potential Probiotics for Oral and Systemic Health. *Frontiers in microbiology*. 2020;11:555465.
134. de Oliveira RVD, Bonafé FSS, Spolidorio DMP, Koga-Ito CY, Farias AL, Kirker KR, et al. *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* Interaction in Dual-Species Biofilm. *Microorganisms*. 2020;8(2).
135. Camelo-Castillo AJ, Mira A, Pico A, Nibali L, Henderson B, Donos N, et al. Subgingival microbiota in health compared to periodontitis and the influence of smoking. *Frontiers in microbiology*. 2015;6:119.
136. Bensing BA, Khedri Z, Deng L, Yu H, Prakobphol A, Fisher SJ, et al. Novel aspects of sialoglycan recognition by the Siglec-like domains of streptococcal SRR glycoproteins. *Glycobiology*. 2016;26(11):1222-34.
137. Duran-Pinedo AE, Frias-Lopez J. Beyond microbial community composition: functional activities of the oral microbiome in health and disease. *Microbes and infection*. 2015;17(7):505-16.
138. Hannig C, Hannig M, Kensche A, Carpenter G. The mucosal pellicle - An underestimated factor in oral physiology. *Archives of oral biology*. 2017;80:144-52.
139. Rams TE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. Antibiotic resistance in human chronic periodontitis microbiota. *Journal of periodontology*. 2014;85(1):160-9.
140. Oliveira F, Rohde H, Vilanova M, Cerca N. Fighting *Staphylococcus epidermidis* Biofilm-Associated Infections: Can Iron Be the Key to Success? *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021;11:798563.
141. Dengler Haunreiter V, Boumasmoud M, Häffner N, Wipfli D, Leimer N, Rachmühl C, et al. In-host evolution of *Staphylococcus epidermidis* in a pacemaker-associated endocarditis resulting in increased antibiotic tolerance. *Nature communications*. 2019;10(1):1149.
142. Brüggemann H, Poehlein A, Brzuszkiewicz E, Scavenius C, Enghild JJ, Al-Zeer MA, et al. *Staphylococcus saccharolyticus* Isolated From Blood Cultures and Prosthetic Joint Infections Exhibits Excessive Genome Decay. *Frontiers in microbiology*. 2019;10:478.
143. Steinbrueckner B, Singh S, Freney J, Kuhnert P, Pelz K, Aufenanger J. Facing a mysterious hospital outbreak of bacteraemia due to *Staphylococcus saccharolyticus*. *The Journal of hospital infection*. 2001;49(4):305-7.
144. Althaqafi A, Munshi A, Altayib H, Alsubhi N, Alnajjar D, Al-Amri A. Septic Abortion Secondary to *Peptoniphilus asaccharolyticus* Complicated by Bacteremia: A Case Report and Review of Literature. *Cureus*. 2023;15(3):e35978.
145. Sarantis M, Argyrou C, Tzefronis D, Stasi S, Macheras G. Sonication Fluid Isolation of *Peptoniphilus asaccharolyticus* After Total Hip Arthroplasty. *Cureus*. 2022;14(1):e21419.

15. ANEXOS

Anexo 1. Historia clínica, consentimiento informado y criterios inclusión y exclusión



Universidad Autónoma de Chihuahua
Facultad de Odontología
Maestría en Estomatología Opción Terminal
Periodoncia



HISTORIA CLÍNICA

Fecha:

Datos generales.

Nombre:	Edad:	1. Sexo: F /M (01/02)
Fecha de Nacimiento:	Ocupación/Semestre en curso:	Cel:
Familiar cercano:		Cel:

Datos heredofamiliares.

Familiares que tengan o hayan tenido enfermedades como:	
1. Diabetes	Si/No (01/02)
2. Hipertensión	Si/No (01/02)
3. Cáncer	Si/No (01/02)
4. Hipertiroidismo	Si/No (01/02)
5. Hipotiroidismo	Si/No (01/02)
6. Síndromes	Si/No (01/02)
7. Hemofilia	Si/No (01/02)

Antecedentes personales patológicos.

Padece alguna de las siguientes enfermedades:

- | | | |
|--------------------------|------------------|-------|
| 8. Hipertensión arterial | Si/No
(01/02) | |
| 9. Hipotensión arterial | Si/No
(01/02) | |
| 10. Diabetes | Si/No
(01/02) | |
| 11. Hipertiroidismo | Si/No
(01/02) | |
| 12. Hipotiroidismo | Si/No
(01/02) | |
| 13. VIH/SIDA | Si/No
(01/02) | |
| 14. Hepatitis | Si/No
(01/02) | |
| 15. Hemofilia | Si/No
(01/02) | |
| 16. Depresión | Si/No
(01/02) | |
| 17. Hemorragias | Si/No
(01/02) | |
| 18. Cáncer | Si/No
(01/02) | Cual: |
| 19. Alergias | Si/No
(01/02) | Cual: |

Hábitos de higiene y alimenticios.

- | | | |
|---|------------------|------------------------|
| 20. Tabaquismo | Si/No
(01/02) | Cantidad diaria: |
| 21. Bebidas alcohólicas | Si/No
(01/02) | Cantidad y frecuencia: |
| 22. Consumo de lácteos | Si/No
(01/02) | Cuál y frecuencia: |
| 23. Visitas al dentista cada 6 meses | Si/No
(01/02) | |
| 24. Higiene bucal de 2 a 3 veces diarias | Si/No
(01/02) | |
| 25. Uso de hilo dental | Si/No
(01/02) | |
| 26. Uso de enjuague bucal | Si/No
(01/02) | Cual: |
| 27. Última limpieza dental profesional realizada: | | |