



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA

“Carga de *Pophyromonas gingivalis* y bacterias totales en sangre de pacientes con periodontitis”.

Fernando Quintana Galleguillos

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Patricia Hernández R

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Anilei Hoare T

Dra. Laura Chaparro R.

TUTOR EXPERTO

Dr. Mauricio Baeza P

Adscrito a Proyecto IADR-RPD Chilean Division 2020: “*Bacterial translocation signatures in periodontitis: A new paradigm for the relationship between periodontal-gut microbiota and non-communicable diseases*”, Proyecto FONDECYT 1200098. Santiago – Chile. 2023



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA CONSERVADORA

“Carga de *Pophyromonas gingivalis* y bacterias totales en sangre de pacientes con periodontitis”.

Fernando Quintana Galleguillos

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Patricia Hernández R

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Anilei Hoare T

Dra. Laura Chaparro R.

TUTOR EXPERTO

Dr. Mauricio Baeza P

Adscrito a Proyecto IADR-RPD Chilean Division 2020: “*Bacterial translocation signatures in periodontitis: A new paradigm for the relationship between periodontal-gut microbiota and non-communicable diseases*”. Proyecto FONDECYT 1200098. Santiago – Chile. 2023.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedicado a mi madre por impulsarme a retomar mis estudios, y apoyarme incondicionalmente, en lo difícil que ha sido vivir la paternidad siendo aun estudiante. Por confiar en mi al ser mi paciente en la clínica integral del adulto, sacrificando largas horas de viaje durante su tratamiento. Por inculcarme el interés de ser un aporte para la sociedad.

A mis hermanos Sergio y Myriam, que estando lejos, han sido inspiración por su fortaleza y sabiduría.

A mi hija, Isabella, que llegó a este mundo en condiciones muy difíciles, suponiendo desafíos internos muy profundos, que me llevaron a aislarme en la selva Valdiviana durante mi receso universitario, y que posteriormente fue también motivo de mi retorno. Por ti, y para ti, este logro.

Agradezco profundamente a los docentes que me encontré en el camino, a la universidad por darme las oportunidades de continuar mis estudios a pesar de mi inconstancia y tropiezos. A mis pacientes durante todo el proceso.

Agradezco a mis tutoras de tesis, doctora Patricia Hernández y doctora Anilei Hoare por su ayuda y paciencia, y a mis compañeros Gabriel y Daniela que fueron un apoyo y compañía esencial en el proceso de tesis.

A todos los amigos y compañeros que me apoyaron en el camino, a pesar de que las condiciones nos alejaran, sin duda que sin ellos no lo habría logrado, y han sido fuente de inspiración al verlos desarrollarse como profesionales.

INDICE:

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN.....	7
MARCO TEÓRICO.	9
Etiopatogenia de la periodontitis y respuesta inmune del hospedero.	10
Biopelícula subgingival y <i>P. gingivalis</i>	12
Translocación bacteriana.....	16
Planteamiento del problema:.....	22
HIPÓTESIS.....	23
OBJETIVOS.....	23
METODOLOGÍA.	24
Diseño.....	24
Selección de muestra y población en estudio.	25
Examen y mediciones clínicas generales.	25
Examen bucal y radiográfico.	25
Muestras sanguíneas y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa.....	26
Análisis estadístico.....	28
RESULTADOS.....	29
Análisis de parámetros demográficos, clínicos y séricos.	29
Carga de ADN bacteriano total en sangre periférica de individuos con periodontitis <i>versus</i> controles.	32
Carga de <i>P. gingivalis</i> en la sangre periférica de individuos con periodontitis <i>versus</i> controles.	33
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES.	42

ANEXOS:.....59
Anexo 1: Consentimiento informado.....59

RESUMEN.

INTRODUCCIÓN: *Porphyromonas gingivalis* es considerado un patobionte clave en la periodontitis, siendo altamente abundante y prevalente en sacos periodontales de pacientes con la enfermedad. Además de residir en la cavidad oral, se ha encontrado en distintos tejidos extraorales, donde se ha asociado con diversas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT). La translocación de *P. gingivalis* a la sangre podría ser un potencial mecanismo subyacente en la relación entre periodontitis y otras enfermedades sistémicas, sin embargo, la evidencia que explora el tipo y proporción de microorganismos orales o sus subproductos circulantes es escasa.

OBJETIVO: Determinar la carga de *P. gingivalis* y bacterias totales en la sangre periférica de pacientes con periodontitis en comparación con individuos controles.

METODOLOGÍA: Se realizó un estudio clínico observacional, analítico, transversal. Se incluyeron individuos ≥ 18 años, sin enfermedades sistémicas, con presencia de periodontitis (profundidades al sondaje ≥ 5 mm y pérdidas de inserción interdental ≥ 3 mm), o ausencia de ella, en individuos controles (profundidades al sondaje ≤ 3). Se excluyeron individuos con lesiones apicales endodónticas, obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²), tratamiento antiinflamatorio y/o antibiótico 3 meses previos al estudio, embarazo y lactancia. Se registraron parámetros clínicos, periodontales y radiológicos. Se tomaron muestras sanguíneas, a partir de las cuales se obtuvo ADN purificado y se realizó qPCR con partidores específicos dirigidos al gen que codifica para la subunidad 16S del ARNr, con el objetivo de determinar la carga bacteriana total y de *P. gingivalis*. El análisis estadístico se realizó mediante el programa STATA v12 (StataCorp, Collage Station, TX, USA).

RESULTADOS: No hubo diferencias significativas en los valores obtenidos de carga bacteriana total entre ambos grupos ($p=0,64$), con valores promedios de 197.459 ± 58.223 y 188.250 ± 53.497 número de copias del gen que 16S ARNr/ μ l para el grupo control y grupo periodontitis, respectivamente. En el caso de *P. gingivalis*, los valores obtenidos para ambos grupos se encontraron bajo el límite de detección del ensayo.

CONCLUSIONES: No hubo diferencias en la carga de ADN bacteriano total ni de *P. gingivalis* en la sangre periférica de individuos con periodontitis comparados con individuos controles. La carga de *P. gingivalis* se encontró bajo el límite de detección del ensayo.

MARCO TEÓRICO.

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria multifactorial asociada a una biopelícula disbiótica, que genera la destrucción progresiva del aparato de soporte dental, mediada por la respuesta inmune del hospedero. Se evidencia clínicamente mediante la pérdida de inserción clínica, presencia de saco periodontal y sangrado gingival, y radiográficamente como pérdida ósea alveolar (Papapanou et al., 2018).

La gingivitis es la forma más leve y reversible de enfermedad periodontal. La transición de gingivitis a un estado de salud periodontal depende principalmente de mejorías en la higiene oral e intervenciones adecuadas por parte del odontólogo. Sin embargo, si esta patología inflamatoria gingival no es resuelta efectivamente, y dependiendo de la susceptibilidad del hospedero, podría con el tiempo evolucionar irreversiblemente a periodontitis.

A nivel mundial, las enfermedades periodontales son muy prevalentes. La periodontitis ha aumentado su incidencia y prevalencia durante las últimas tres décadas hasta posicionarse en el 12° puesto de la lista de patologías más prevalentes a nivel global y la sexta ECNT más común (Lombardo et al., 2020). En Chile, la periodontitis severa alcanza una prevalencia de 9,8% en la población adulta (Morales et al., 2020). Actualmente, las enfermedades periodontales se erigen como un problema de salud pública, debido al alto impacto en salud y los elevados costos asociados a su tratamiento. La periodontitis podría conllevar a la pérdida dentaria (Highfield, 2009), con las consecuentes afecciones físicas y psicológicas, que impactan profundamente en la calidad de vida del individuo que la padece (Papapanou et al., 2018). Las consecuencias de las enfermedades periodontales afectan al individuo en su funcionamiento social, limitan su desempeño público y la

integración laboral, entre otros (Arteaga et al., 2009). Además, existe evidencia creciente que relaciona la periodontitis con otras enfermedades no transmisibles de alta morbilidad, como la diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, así como artritis reumatoide y efectos adversos en el embarazo (Nazir et al., 2018).

El tratamiento periodontal ha demostrado reducir la inflamación local y sistémica, mostrar mejorías en niveles séricos de biomarcadores para enfermedad cardiovascular y función endotelial, además de una disminución en los índices glicémicos (Lalla et al., 2011; Lockhart et al., 2012).

Etiopatogenia de la periodontitis y respuesta inmune del hospedero.

Para que se desarrolle la periodontitis, es prerequisite que exista gingivitis, siendo ésta el mayor factor de riesgo para su desarrollo (Lang et al., 1990; Pitchika et al., 2017). No obstante, según el perfil de riesgo, algunos individuos pueden permanecer indefinidamente con gingivitis, sin que ésta progrese a periodontitis (Pitchika et al., 2017). En la etiopatogenia de la periodontitis, la biopelícula subgingival juega un rol necesario, pero no suficiente (Page et al., 1976), siendo muy relevante la naturaleza de la respuesta inmuno-inflamatoria del hospedero. Las características de esta respuesta pueden ser modificadas por factores microbiológicos, genéticos, epigenéticos y ambientales como el tabaquismo, estrés o presencia de otras patologías como diabetes, los cuales determinan el perfil de riesgo y la susceptibilidad individual a padecer periodontitis (Seymour et al., 2001).

Frente a la presencia de una biopelícula subgingival disbiótica, el daño a los tejidos de soporte ocurre principalmente a causa de la respuesta inmune del hospedero, la

cual se encuentra desregulada, es inefectiva y está desbalanceada hacia perfiles más destructivos (Hajishengallis, 2015; Hajishengallis et al., 2020). El epitelio gingival forma la primera barrera que separa la biopelícula gingival del tejido conectivo. Es en este tejido donde los patógenos desencadenan procesos inmunoinflamatorios pertenecientes a la inmunidad innata en la lesión inicial (Yucel-Lindberg & Båge, 2013). Los neutrófilos polimorfonucleares son un tipo celular predominante en la respuesta a la colonización microbiana, y forman la primera línea defensiva (Dixon, et al., 2004). Si bien, su rol está primariamente relacionado con el control bacteriano, también participan de la destrucción tisular, a través de la producción de radicales libres de oxígeno, lisozima, citoquinas y metaloproteinasas (MMPs) (Garlet, 2010).

También son parte de la respuesta inmune innata los macrófagos, que dentro de sus productos sintetizan mediadores y citoquinas proinflamatorias, que inducen a la degradación del colágeno y tejidos periodontales. Esta función destructora y proinflamatoria por parte de macrófagos, se atribuye al subtipo M1, los que son activados por la vía clásica. Mientras que al subtipo M2, activado por la vía alterna, se le atribuye un perfil reparador y anti-inflamatorio (Birkedal-Hansen, 1993; Page et al., 1997; Alvarez et al., 2019).

Al no ser resuelta la inflamación por la inmunidad innata, se inicia la respuesta inmune adaptativa, en la cual predominan 2 vías, con funciones antagónicas: Th1/Th17, proinflamatoria y osteodestructiva; y Th2/Treg, inmunomodulador y osteoprotectora. La orientación de la respuesta inmune adaptativa determinará, en parte, la susceptibilidad a padecer pérdida ósea alveolar (Alvarez, et al., 2019). Un periodonto sano se caracteriza por poseer un menor número de linfocitos B, células

plasmáticas y neutrófilos en relación a la periodontitis o gingivitis. De hecho, una pequeña cantidad de linfocitos T $\gamma\delta$, pueden encontrarse en una encía sana y se piensa que contribuyen a mantener la homeostasis de los tejidos (Moutsopoulos, et al. 2017; Dutzan, et al. 2016). En enfermedad periodontal, se ha documentado un incremento de neutrófilos y un aumento de IL-17 por parte de linfocitos T CD4+ (Dutzan, et al. 2016).

La liberación de citoquinas proinflamatorias, por macrófagos y otras células de la inmunidad innata y adaptativa, como factor de necrosis tumoral α (TNF- α) Interleucinas (IL-1 β) y prostaglandina E₂ (PGE₂) (Garlet, et al., 2010), estimulan la producción del receptor de activación de factor nuclear κ B (RANKL) por parte de osteoblastos y Linfocitos T helper (Th1-Th17). El RANKL interactúa con receptores ubicados en precursores osteoclasticos (RANK), induciendo la diferenciación osteoclastica y pérdida ósea alveolar (Taubman et al., 2001; Taubman et al., 2005).

Biopelícula subgingival y *P. gingivalis*.

La biopelícula subgingival corresponde a comunidades microbianas altamente organizadas, inmersas en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival. Esta biopelícula es la principal causante de las enfermedades periodontales, ya que es capaz de proliferar a nivel del surco gingivodentario y provocar una respuesta inmuno-inflamatoria por parte del hospedero, que finalmente derivará en la formación del saco periodontal en conjunto con la destrucción de los tejidos de inserción dentarios (Abusleme et al., 2013).

En el microbioma subgingival se han descrito más de 700 variedades de especies bacterianas, siendo el segundo microbioma más diverso después del intestinal (Deo

et al., 2019). Algunos autores señalan que esta cifra incluso supera las 1000 especies distintas (Kumar, 2019). Las comunidades bacterianas cambian en estado de salud, gingivitis o periodontitis (Moore, et al., 2000; Moore, et al., 1987). Diferentes cambios a nivel de la biopelícula, además de factores genéticos y medioambientales, determinarán una respuesta protectora o patogénica del hospedero, por lo que la comprensión de la microbiota periodontal resulta altamente relevante (Offenbacher, et al., 2018; Moutsopoulos, et al., 2018).

La gingivitis es una respuesta a un aumento en la carga de microorganismos subgingivales, acompañado de cambios en la composición de las comunidades microbianas subgingivales, con predominancia de ciertas especies. Durante este proceso de sucesiones microbianas se observa un aumento en la proporción de bacterias anaerobias Gram negativo (Haubek et al., 2008; Loe et al., 1965), sin que necesariamente desaparezcan especies iniciales, asociadas a salud periodontal (Díaz et al., 2012). Estas modificaciones promueven cambios en la respuesta inmune del hospedero.

En la pared celular de bacterias Gram negativo existen componentes capaces de activar la respuesta inmune generando inflamación, como lipopolisacáridos (LPS) y los lípidos ricos en serina (Clark et al., 2013; Silva et al., 2022). El exudado inflamatorio generado en el surco gingival, a su vez, favorece el crecimiento de bacterias Gram negativo ricas en proteasas que utilizan glicoproteínas como su principal fuente de energía, como lo hace *P. gingivalis* (Grenier et al., 2001; Ter Steeg et al., 1988). En este contexto, se ha detectado una mayor carga bacteriana en sacos periodontales que presentan sangrado al sondaje comparados a aquellos

con similar grado de destrucción y ausencia de sangrado, lo que perpetúa los cambios en la biopelícula subgingival (Abusleme et al., 2013).

Si bien la gingivitis es un factor de riesgo para la periodontitis (Tanner et al., 2007), aún no está claro de qué forma la microbiota asociada a gingivitis promueve el desarrollo de periodontitis. La destrucción de los tejidos que ocurre en la periodontitis se ha relacionado a cambios específicos generados en la composición del microbioma subgingival (Abusleme et al., 2021).

Los estudios muestran que un microbioma disbiótico está enriquecido de ciertas especies, factores de virulencia, y/o actividades metabólicas, que preceden la progresión de la periodontitis (Fine et al., 2013; Tanner et al., 2007). Las bacterias mayormente asociadas a periodontitis son *P. gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, incluidas en el “complejo rojo” de bacterias descrito por Socransky (Bodet et al., 2007; Socransky et al., 1998). Con el mejoramiento de las técnicas moleculares para la caracterización de comunidades bacterianas, a estas especies, se han sumado otras como *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas endodontalis* y *Parvimonas micra* al microbioma subgingival asociado a periodontitis (Abusleme et al., 2021).

P. gingivalis ha sido la especie asociada a periodontitis más estudiada. Posee un rol protagónico en el desarrollo y progresión de esta enfermedad, debido a sus capacidades de producir sinergia polimicrobiana, disbiosis, evasión de la respuesta inmune y desequilibrio ecológico subgingival (Cardoso et al., 2008; Darveau et al., 2012; Henry et al., 2012). Es un bacilo anaerobio estricto, Gram negativo, pigmentado de negro, que cuenta con múltiples factores de virulencia que causan la desregulación de la inmunidad innata y respuesta inflamatoria (Bodet et al., 2007).

Entre sus factores de virulencia destacan la producción de colagenasas, hemolisinas, endotoxinas, ácidos grasos, amonio, sulfuro de hidrógeno y gingipainas, entre otros (Fiorillo et al., 2019). Durante la colonización temprana del surco gingival, genera interacciones importantes con otros microorganismos, por ejemplo, *Streptococcus* spp. y *F. nucleatum* (Mohanty et al., 2019), o con hongos como *Candida albicans* (Schlecht et al., 2015).

P. gingivalis estimula el crecimiento generalizado de la biopelícula subgingival debido a su efecto sobre el sistema inmune, produciendo la desregulación de la cascada del complemento y limitación de la capacidad de fagocitosis por parte de células del sistema inmune (Hajishengallis, 2011; Maekawa et al., 2014). Estos mecanismos, mediados por gingipainas, en conjunto con la presencia de fimbrias en su estructura molecular, son factores de virulencia que se asocian a la capacidad de *P. gingivalis* de invadir células epiteliales y endoteliales (Andrian et al., 2004; Fiorillo et al., 2019).

Dado que *P. gingivalis* puede colonizar el surco gingival en ausencia de periodontitis (Vieira Colombo et al., 2006) sin necesariamente generar enfermedad en ratones libres de gérmenes (Hajishengallis, 2011), se concluye que su virulencia depende del serotipo capsular y del ambiente (Cugini et al., 2013). Al respecto, se ha descrito que serotipos como el K1 y K2 de *P. gingivalis* podrían estar asociados a un mayor potencial osteoclastogénico, mediado por RANKL y Linfocitos Th17, lo cual se traduciría en una mayor reabsorción ósea alveolar en periodontitis (Marchesan et al., 2013). Por otra parte, la capacidad de *P. gingivalis* de responder y adaptarse a un ambiente con alto estrés oxidativo (como el presente en los sacos periodontales)

es un determinante importante en su capacidad de virulencia, y resalta la relevancia de la comprensión de sus estrategias de resistencia (Henry et al., 2012).

Además de la colonización subgingival, en los últimos años, se ha descrito que bacterias orales como *P. gingivalis* o sus subproductos podrían translocar a sangre e invadir tejidos a distancia, así como inducir una respuesta inflamatoria sistémica. Lo anterior, podría contribuir al desarrollo de ECNT, como enfermedades cardiovasculares, diabetes, infecciones respiratorias, enfermedad de Alzheimer y artritis reumatoidea, entre otras (Cullinan et al., 2009; Gualpa Bustamante et al., 2022; Loyola-Rodriguez et al., 2010; Monsarrat et al., 2016; Singhrao et al., 2019)

Translocación bacteriana.

El concepto de translocación bacteriana fue inicialmente descrito por Wolochow el año 1966 (Wolochow et al., 1966), haciendo referencia a la capacidad de bacterias o de sus subproductos de pasar hacia la sangre y generar bacteremia (Powell, 1981).

En la cavidad oral, existen múltiples especies bacterianas que se han detectado en sangre periférica, para lo cual se han propuesto diferentes mecanismos que requieren de mayor investigación. Ante el cepillado y procedimientos de higiene dental, epitelio gingival ulcerado o intervenciones odontológicas que generen disrupción de los tejidos, se podrían generar bacteremias transitorias que faciliten la colonización sistémica de bacterias orales (Emery et al., 2021; Genco et al., 2010; Forner et al., 2006).

En un estudio realizado por Emery y cols. (Emery et al., 2021b) en el que se tomaron muestras de sangre periférica donde se analizó ADN de bacterias intactas, se

observó que el 43-52% de las especies bacterianas identificadas, tanto en pacientes sanos como con enfermedad periodontal activa, podían ser clasificadas como orales. Al comparar los perfiles sanguíneos de pacientes sanos en relación con los pacientes con periodontitis, se observó que en ambos casos existe una amplia colección de bacterias tanto comensales como patógenas, y que la diferencia entre ambos perfiles sanguíneos fue mínima, es decir, sin diferencias estadísticamente significativas. Al igual que en el estudio previamente citado, estudios previos concluyen que el ADN bacteriano predominante en el microbioma sanguíneo pertenece a proteobacterias, concluyendo que el intestino es el órgano con mayor potencial para generar translocación (Byrd et al., 2021; Castillo et al., 2019; Kitamoto et al., 2020; Païssé et al., 2016; J. Zhou et al., 2006).

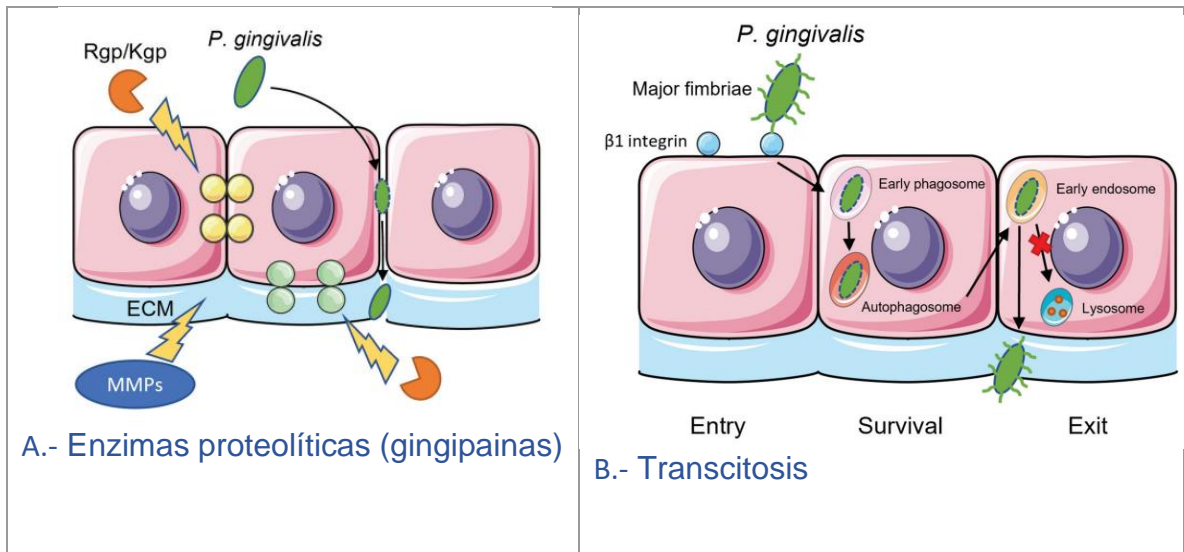
Algunos estudios sugieren asociaciones entre periodontitis y la diseminación hematógena de microorganismos como factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares. En efecto, se ha descrito que las comunidades bacterianas detectadas en biopsias de placas ateroscleróticas o en paredes de aneurismas son más abundantes y diversas en pacientes con enfermedad periodontal. La detección de bacterias periodontales asociadas a periodontitis en dichas biopsias sugiere que éstas podrían estar asociadas con la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares (Armingohar et al., 2014). Mediante qPCR, Gaetti-Jardim y cols. (Gaetti-Jardim et al., 2009) reportaron que el 47,3% del ADN bacteriano total de placas de ateroma en sujetos con periodontitis corresponde al proveniente de patobiontes periodontales, mientras que en pacientes con salud gingival el ADN de estas bacterias correspondía sólo a un 7,2%. En efecto, múltiples estudios han identificado a *P. gingivalis* y *T. denticola* en este tipo de lesiones (Kozarov et al.,

2006; Stelzel et al., 2002). Estudios *in vivo* e *in vitro* han propuesto que *P. gingivalis* pudiese ser capaz de contribuir a la inflamación vascular mediante múltiples mecanismos, tales como la activación de receptores tipo Toll, el aumento de la producción de factores proinflamatorios, aumento de la expresión de moléculas de adhesión de superficie celular y la consecuente apoptosis de células vasculares; además de la activación de la cascada de coagulación (Kebeschull et al., 2010; Kozarov, 2012).

La translocación y colonización de patobiontes orales en el tracto digestivo también se ha asociado a la patogénesis de enfermedades intestinales, como el síndrome de colon irritable, inflamación de colon y cáncer colorrectal (Zhao et al., 2021). *P. gingivalis* podría encontrarse en el intestino de individuos con cáncer colorrectal, y aunque se desconocen los mecanismos específicos en cómo participa de la patogénesis, se han propuesto posibles vías (Kitamoto et al., 2020). En modelos experimentales con ratas donde se administró *P. gingivalis* por vía intestinal, se observó una interrupción de la integridad del epitelio intestinal debido a una menor expresión de proteínas de unión estrecha, lo que podría generar diseminación de bacterias desde el intestino hacia el hígado (Arimatsu et al., 2014; Nakajima et al., 2015). *P. gingivalis* podría ser capaz, además, de inhibir la apoptosis por múltiples mecanismos (Mao et al., 2007; Yilmaz et al., 2004), activar la proliferación celular (Y. Zhou et al., 2015) y contribuir a la capacidad de metástasis de lesiones tumorales de origen intestinal, debido a la producción de metaloproteinasas (Inaba et al., 2015; Y. Zhou et al., 2015).

Los serotipos de *P. gingivalis* podrían presentar una distinta capacidad de translocar, dependiendo de sus factores de virulencia, entre los que destacan

gingipainas (cisteína proteasas), peptidilarginina deiminasa (PPAD) y fimbrias (How et al., 2016; Fata, et al. 2019). Estudios *in vitro*, en modelos animales o estudios en bacterias similares, han permitido postular 4 posibles mecanismos celulares que podrían participar en la translocación de *P. gingivalis*: (i) mediante enzimas proteolíticas (gingipainas), (ii) transcitosis, (iii) fagocitosis, y (iv) asociación con otros microorganismos (de Jongh et al., 2023) (Figura 1).



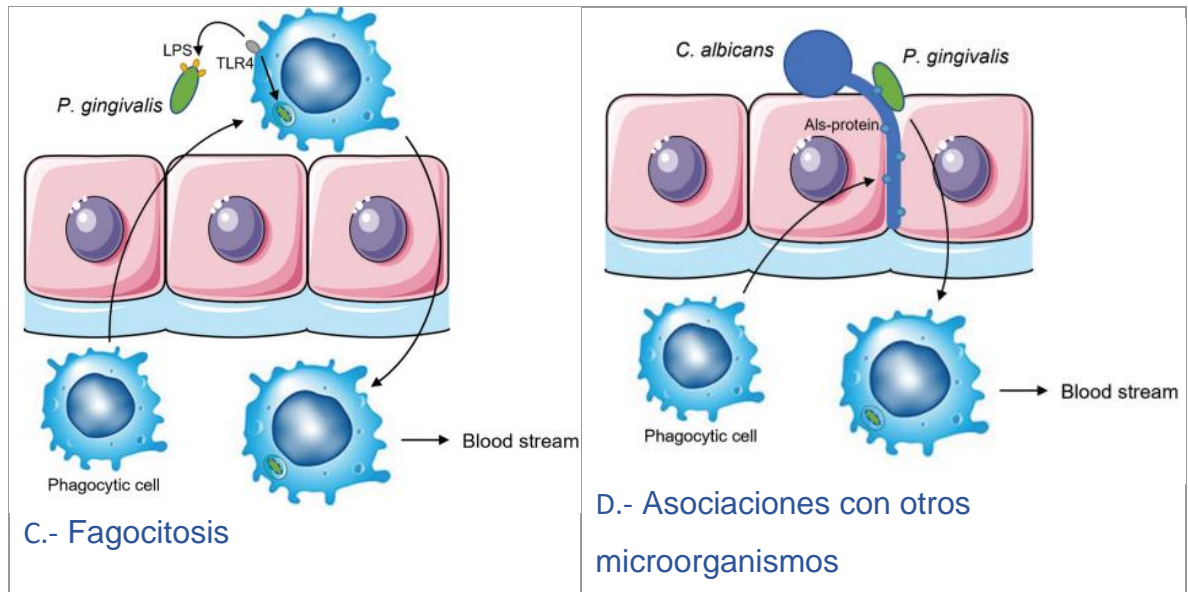


Figura 1. Mecanismos propuestos para la translocación de *P. gingivalis* a la circulación sistémica. (obtenido de Jongh et al., 2023). (A) *P. gingivalis* secreta enzimas proteolíticas (gingipainas Rgp/Kgp) que degradan las uniones moleculares y estimulan la producción de MMPs por parte de fibroblastos. Estas moléculas debilitan la integridad de las barreras epiteliales, permitiendo a *P. gingivalis* avanzar a capas más profundas de los tejidos. (B) La fimbria de *P. gingivalis* se une al receptor $\beta 1$ integrina de células epiteliales, que luego ingresa a la célula y forma el fagosoma temprano. *P. gingivalis*, para evitar ser destruida al transferirse a lisosomas, utiliza la vía autofágica. Finalmente, la bacteria es excretada por la vía de reciclaje endocítica. (C) El LPS perteneciente a *P. gingivalis* es reconocido por receptores tipo Toll (TLR4), presente en macrófagos, células dendríticas o monocitos, lo que induce la fagocitosis de la bacteria. Luego la bacteria viaja dentro del fagocito a modo de “caballo de troya”, alcanzando la circulación sanguínea (D) *P. gingivalis* se une con *Candida albicans* a través de proteínas de las hifas. Los

fagocitos al ser atraídos hacia las hifas, entran en contacto con *P. gingivalis*, la fagocitan, y la transportan a la sangre.

Planteamiento del problema:

A pesar de que la literatura propone la posibilidad de translocación de bacterias periodontales a sangre, la evidencia que explora el tipo y proporción de microorganismos orales o sus subproductos circulantes es escasa, especialmente en poblaciones latinoamericanas. La relevancia de este tema como un potencial mecanismo involucrado en el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles, y de *P. gingivalis* como patobionte periodontal clave, conlleva al planteamiento de la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la carga de *P. gingivalis* y de bacterias totales en sangre en pacientes con periodontitis en relación a individuos sin esta enfermedad?

HIPÓTESIS.

La carga de *P. gingivalis* y bacterias totales en la sangre periférica es mayor en pacientes con periodontitis que en individuos controles.

OBJETIVOS.**Objetivo General.**

Determinar la carga de *P. gingivalis* y bacterias totales en la sangre periférica de pacientes con periodontitis en comparación con individuos controles.

Objetivos específicos.

1. Determinar la carga de ADN bacteriano total en la sangre periférica de pacientes con periodontitis *versus* individuos controles.
2. Determinar la carga de ADN de *P. gingivalis* en la sangre periférica de pacientes con periodontitis *versus* individuos controles.

METODOLOGÍA.

Diseño.

Estudio clínico, observacional, analítico, transversal.

Selección de muestra y población en estudio.

Mediante una técnica de muestreo por conveniencia, se reclutaron un total de 22 voluntarios, quienes acudieron a la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Santiago, entre los años 2021 y 2022. Los criterios de inclusión fueron: personas mayores de 18 años, sin enfermedades sistémicas y que aceptaron las condiciones de participar en el estudio. Los criterios de exclusión para participar en el estudio comprendían pacientes con lesiones apicales de origen endodóntico; mujeres embarazadas o en proceso de lactancia; presencia de enfermedades crónicas como diabetes mellitus o enfermedades gastrointestinales, hipo o hipertiroidismo, entre otras; la existencia de condiciones como obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$); la administración de tratamiento periodontal en el último año o terapia farmacológica con antibióticos, antiinflamatorios o inmunomoduladores en los últimos 3 meses.

Los participantes fueron divididos en 2 grupos:

- Grupo control (11 individuos): profundidad al sondaje (PS) $\leq 3\text{mm}$ en un periodonto intacto o reducido por causas no relacionadas con periodontitis, de acuerdo con la actual clasificación de las Enfermedades Periodontales (Chapple et al., 2018).

- Pacientes con Periodontitis (11 individuos) (Papapanou et al., 2018), con pérdida de inserción interdental (CAL) ≥ 3 mm en al menos en 2 sitios no adyacentes y presencia de PS ≥ 5 mm.

Todos los candidatos al estudio fueron informados sobre los objetivos y procedimientos que involucraba su participación, firmando un consentimiento informado (anexo 1). Todos los procedimientos se realizaron en conformidad con las pautas éticas y legislación vigente, siguiendo lo establecido por la declaración de Helsinki de 1964 y sus enmiendas posteriores. El estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Bioseguridad y Comité Ético-Científico de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, como se declara en los anexos 2 y 3.

Examen y mediciones clínicas generales.

Se realizó un examen general, y se consignó información respecto a motivo de consulta, salud general, y antecedentes médicos (anexo 4). El índice de masa corporal (IMC) se calculó en base al peso (kg) dividido por la altura al cuadrado, y los individuos se categorizaron en normopeso ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) o sobrepeso ($25 < IMC < 30 \text{ kg/m}^2$). Individuos con obesidad ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) fueron excluidos.

Examen bucal y radiográfico.

A los participantes se les realizó un periodontograma de boca completa, utilizando un espejo intraoral y una sonda periodontal manual Carolina del Norte (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). En éste, se registraron parámetros como movilidad dentaria y compromiso de furca; así como profundidad al sondaje (PPD), nivel de inserción clínica (CAL) e índice dicotómico de sangrado del surco, en 6 sitios por diente

(mesiovestibular, mediovestibular, disto-vestibular; mesiolingual, mediolingual y distolingual o palatino).

El índice de sangrado del surco fue considerado “positivo” cuando el sitio sangró hasta 15 segundos después de haber sido introducida la sonda periodontal en el fondo del surco gingival. La profundidad al sondaje se registró como la distancia en milímetros desde el margen gingival hasta la base del surco gingivo-dentario, y el nivel de inserción clínica se definió como la distancia en milímetros desde la unión amelo-cementaria hasta la base del surco gingivo-dentario.

Además, se realizaron mediciones de índice COPD (dientes cariados, obturados y perdidos), en conjunto con un set de radiografías periapicales totales a cada participante.

Muestras sanguíneas y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa.

Se obtuvieron muestras sanguíneas de todos los participantes del estudio, mediante estricta asepsia. Se recolectó sangre en ayunas mediante venopunción de la vena antecubital en tubos Vacutainer®.

Las fracciones de muestras de sangre fueron trasladadas al Laboratorio de Biología Periodontal y almacenadas a -80°C para su posterior procesamiento.

El ADN sanguíneo fue posteriormente extraído usando el kit “DNEasy Blood and Tissue” (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA), incluyendo tratamientos con lisozima y proteinasa K para asegurar la lisis de las bacterias presentes en las muestras (Diaz et al., 2012). La calidad y concentración del ADN fue confirmada mediante

espectrofotometría (UV-Vis NanoDrop® ND-1000, Technomed, Wilmington, DE, USA) (Diaz et al., 2012).

La determinación de la carga de *P. gingivalis* y de bacterias totales (expresada como número de copias del gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal o ARNr por μ l) en las muestras de sangre de individuos con periodontitis se determinó mediante la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR), utilizando la química SYBR green (KAPA SYBR® Fast qPCR, KAPA Biosystems, Woburn, MA, USA) mediante un termociclador automatizado (StepOnePlus™, Applied Biosystems, Singapur), según las recomendaciones del fabricante.

Los conjuntos de partidores se muestran en la Tabla 1. Tanto las bacterias totales como *P. gingivalis* se cuantificaron usando partidores específicos dirigidos al gen que codifica para la subunidad ARNr16S, contra regiones conservadas y variables del gen, respectivamente.

Cada qPCR se realizó con los kits KAPA SYBR® Fast qPCR (KAPA Biosystems, Woburn, MA, EE. UU.). En cada experimento se incluyeron controles positivos, consistentes en ADN obtenido de cultivos puros de *P. gingivalis* ATCC 33277 y control negativo consistente en Buffer TE, sin ADN. El programa de PCR incluyó los siguientes pasos: 95°C por 3 min, 40 ciclos: bacterias totales 95°C por 15 seg y 60°C por 1 min; *P. gingivalis* 95°C por 3 seg y 58°C por 1 min.

Para la cuantificación absoluta de las cargas bacterianas totales y de especies individuales se interpolaron los valores del ciclo umbral (CT) de las muestras de prueba en las curvas estándar de números de copias de ADN conocidos de *P. gingivalis*. Los límites de detección inferior y superior fueron 10^2 y 10^8 copias del

gen 16S ARNr, respectivamente. Las cargas bacterianas se expresaron como copias del gen que codifica para la subunidad 16S ARNr/ μ l (Bordagaray et al., 2021).

Tabla 1: Partidores utilizados para determinar la carga bacteriana total y de *P. gingivalis* (Bordagaray et al., 2021)

Bacteria objetivo	Gen objetivo	Partidor directo (F) (5'—3')/ Partidor inverso (R) (5'—3')
Bacterias totales	16S ARNr	TCCTACGGGAGGCAGCAGT/ GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT
<i>P. gingivalis</i>	16S ARNr	AGGCAGCTTGCCATACTGCG/ ACTGTTAGTAACTACCGATGT

Análisis estadístico

Las cargas bacterianas en sangre (carga total y de *P. gingivalis*) se expresaron en número de copias del gen 16S ARNr/ μ l. La distribución de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La comparación entre variables cualitativas (frecuencias) se realizó por el test de chi cuadrado o test exacto de Fisher. Las variables cuantitativas entre dos grupos independientes (periodontitis *versus* controles) fueron analizadas por el test t no pareado o el test Mann Whitney, para

datos no paramétricos. Además, se realizaron modelos de regresión multivariados ajustado por potenciales variables de confusión.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa STATA v12 (StataCorp, Collage Station, TX, USA).

RESULTADOS.

Análisis de parámetros demográficos, clínicos y séricos.

Se realizó un análisis de parámetros demográficos, clínicos y séricos (tabla 2) de todos los individuos reclutados en el estudio. Estos individuos fueron separados en dos grupos, según los criterios de exclusión e inclusión previamente descritos, con un total de 22 voluntarios que fueron divididos en un grupo de individuos control (n=11) y un grupo periodontitis (n=11). De los 11 individuos con periodontitis, nueve presentaron periodontitis etapa III (n=9; 81,81%), uno periodontitis etapa II (n=1, 9,09%), y uno periodontitis etapa IV (n=1, 9,09%), de acuerdo a la clasificación del Workshop 2017 (Papapanou et al., 2018). Esto se condice con las diferencias estadísticamente significativas en profundidad al sondaje promedio y nivel de inserción clínica entre ambos grupos ($p=0.00$).

Las edades promedio de los participantes del grupo sanos fue de $25 \pm 4,62$ años y de $37,8 \pm 9,75$ años para el grupo periodontitis, con una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p<0,05$).

El consumo de tabaco arrojó diferencias significativas entre los grupos, con la presencia de un fumador en el grupo control (9,09%), cinco en el grupo periodontitis

(45,45%) y una correlación positiva entre la presencia de hábito tabáquico y periodontitis ($p=0,03$). El grupo periodontitis presentó un menor porcentaje de mujeres que lo controles, con un 27,26% versus 81,81%, respectivamente ($p=0,01$). Mientras que parámetros como las lipoproteínas de alta densidad (HDL; $p=0,00$) y triglicéridos ($p=0,01$) fueron estadísticamente mayores para el grupo control, el índice de masa corporal ($p=0,00$) y la relación entre lipoproteínas de baja densidad y HDL (LDL/HDL; $p=0,01$), tuvieron mayores valores para el grupo periodontitis (Tabla 2). Cabe destacar que ningún individuo era obeso.

Otros parámetros como el nivel educacional, consumo de alcohol, colesterol total, colesterol LDL y COPD tuvieron una distribución similar entre ambos grupos (tabla 2; $p>0,05$). Los niveles de presión arterial fueron normales en la mayoría de los participantes, y sólo un individuo con periodontitis presentó un valor mayor a 140/90 mm de Hg ante una toma de presión única, sin que hubiera una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio ($p=0,26$).

Tabla 2: Parámetros demográficos, clínicos y séricos de individuos del grupo control y grupo periodontitis.

Variable	C	P	Valor p
Edad (años, promedio \pm DE)	25 \pm 4,62	37,8 \pm 9,75	0,00*
Género (n: mujeres, porcentaje)	9 (81,81)	3 (27,26)	0,01*
Nivel Educacional (~ mediana, RIC)	3 \pm 0	3 \pm 1	0,51
Tabaquismo [\sim n (%)]	1 (9,09)	5 (45,45)	0,03*

Alcohol (gr/día, promedio (DE))	2,02 ± 2,50	3,32 ± 1,89	0,50
IMC (kg/m ² promedio + DE)	21,86 ± 2,11	26,40 ± 3,16	0,00*
PA sistólica (mm Hg, promedio + DE)	115,00 ± 13,27	122,27 ± 6,31	0,31
PA diastólica (mm Hg, promedio + DE)	69,53 ± 10,02	76,90 ± 13,43	0,13
HTA [n~ (%)]	0 (0%)	1(9,09%)	0,26
PS [mm., mediana (RIC)]	1,90 ± 0,21	2,60 ± 0,59	0,00*
NIC [mm., mediana (RIC)]	0,20 ± 0,50	1,40 ± 2,20	0,00*
SS [porcentaje., mediana (RIC)]	10,71 ± 35,42	70,2 ± 14,14	0,00*
COPD [mediana (RIC)]	2 ± 4	5 ± 8	0,20
Triglicéridos [mg/dL, mediana (RIC)]	94 ± 62	99 ± 166	0,01*
Colesterol total (mg/dL, promedio + DE)	182,69 ± 27,57	175,09 ± 50,78	0,64
Colesterol HDL [(mg/dL, mediana (RIC)]	70 (13)	42 (14)	0,00*
Colesterol LDL [(mg/dL, mediana (RIC)]	88 (35,20)	79,80 (38,40)	0,86

LDL/HDL [(mg/dL, mediana (RIC)]	1,15 (0,78)	2,12 (0,99)	0,01*
---------------------------------	-------------	-------------	-------

C: Control, P: Periodontitis. Nivel educacional (~1: Educación básica, ~2: Educación media completa, ~3: Educación universitaria incompleta, ~4: Educación universitaria completa). PA: Presión arterial. HTA: Hipertensión (~: Valores PA sistólica >140mmHg, diastólica >90mmHg). IMC: índice de masa corporal (Peso/Estatura²). Tabaquismo: ~: Hábito tabáquico. PS: Profundidad al sondaje; NIC: Nivel de inserción clínica; SS: Sangrado al sondaje; COPD: índice copd (Dientes con Caries, Obturaciones, Perdidos). HDL: “high density lipoprotein” (lipoproteína de alta densidad); LDL: “Low density lipoprotein” (lipoproteína de baja densidad). Dislipidemia: colesterol ≥ 200 mg/dL, HDL <40 mg/dL, LDL ≥ 130 mg/dL, o triglicéridos ≥ 150 mg/dL. *p<0,05.

Carga de ADN bacteriano total en sangre periférica de individuos con periodontitis versus controles.

Los resultados de la cuantificación del número de copias del gen 16S ARNr en sangre periférica de los individuos sanos y pacientes con periodontitis se muestran en la Figura 2. No hubo diferencias significativas en los valores obtenidos de carga bacteriana total (p=0,64) entre ambos grupos de estudio, siendo los valores promedios obtenidos de 197.459 ± 58.223 y 188.250 ± 53.497 copias del gen para el grupo control y grupo periodontitis, respectivamente.

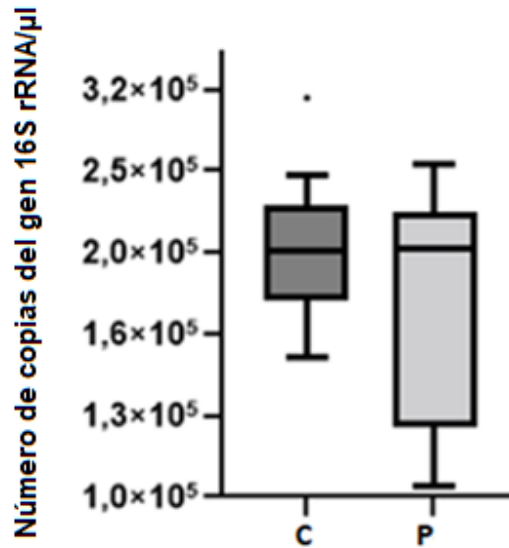


Figura 2: Carga bacteriana total en sangre periférica (número de copias del gen 16S ARNr/ μ l), en individuos controles y con periodontitis. C: grupo control, P: grupo periodontitis ($p=0,69$).

Carga de *P. gingivalis* en la sangre periférica de individuos con periodontitis versus controles.

Los resultados de la carga de *P. gingivalis* se muestran en la Figura 3, expresados como el número de copias del gen 16S ARNr amplificadas con partidores dirigidos a regiones específicas del gen de *P. gingivalis*. La carga de *P. gingivalis* obtenida fue de $15,84 \pm 29,64$ y $21,61 \pm 37,47$ copias del gen para el grupo control y grupo periodontitis respectivamente, cuya distribución fue similar ($p=0,88$). Además, los valores obtenidos de carga de *P. gingivalis* se encuentran bajo el mínimo detectable (el límite de detección de la curva estándar utilizada en el qPCR corresponde a 100 copias del gen marcador).

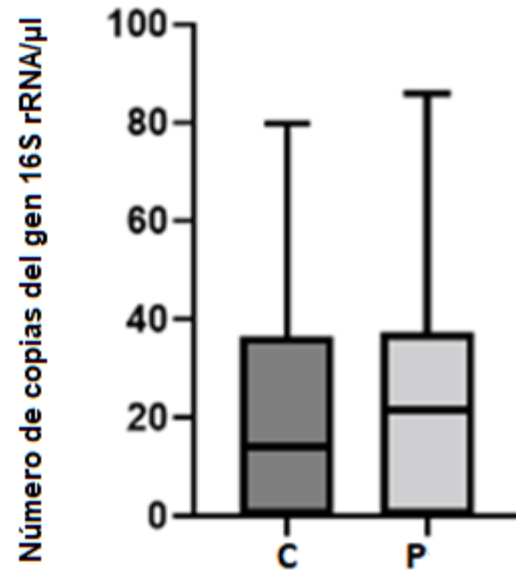


Figura 3: Carga bacteriana de *P. gingivalis* en sangre periférica (número de copias del gen 16S ARNr/µl), en individuos controles y con periodontitis. C: grupo control, P: grupo periodontitis (p=0,88).

DISCUSIÓN.

La periodontitis es una enfermedad inmunoinflamatoria altamente prevalente en la población chilena y mundial, la cual se ha asociado a otras ECNT de alto impacto y morbimortalidad a nivel de salud pública nacional y global (Morales et al., 2016). Uno de los eventuales mecanismos propuestos para explicar la relación de la periodontitis con otras enfermedades sistémicas consiste en la potencial translocación de la microbiota subgingival a sangre. *P. gingivalis*, uno de los patobiontes claves en la enfermedad, ha sido encontrado en órganos a distancia y relacionado con varias patologías sistémicas, como cardiovasculares, intestinales y Enfermedad de Alzheimer, entre otras (Joshi et al., 2021; Kozarov, 2012; Lee et al., 2022; Schirmer et al., 2019; Singhrao et al., 2019)

El objetivo del presente estudio fue determinar, mediante qPCR, la carga de *P. gingivalis* y bacterias totales en la sangre periférica de pacientes con periodontitis y compararlas con individuos controles.

Los valores de carga bacteriana total obtenidos en nuestro trabajo no arrojaron diferencias significativas entre los grupos de estudio, con valores promedios de 197.459 ± 58.223 y 188.250 ± 53.497 copias del gen 16S rRNA, para el grupo control y periodontitis respectivamente. Esta información se condice con lo reportado por otros autores (Emery et al. 2021), quienes tampoco obtuvieron diferencias estadísticamente significativas al comparar cargas bacterianas totales en sangre entre grupos periodontitis y control, utilizando el mismo método de cuantificación bacteriana que en el presente estudio (qPCR). Emery y cols. (Emery et al., 2021b) analizaron muestras de sangre de pacientes con enfermedad periodontal severa, analizando únicamente el ADN bacteriano proveniente de células intactas. La gran

mayoría del ADN obtenido provino de proteobacterias cuyo origen es el intestino, información similar a la obtenida en otros estudios (Castillo et al., 2019; Hammad et al., 2020; Li et al., 2018); mientras que un 43-45% del ADN detectado en sangre se identificó como perteneciente a bacterias orales, de las cuales la mayor abundancia corresponde a especies del género *Streptococcus* (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. infantis*) (Emery et al., 2021).

De acuerdo a los métodos de purificación y amplificación de ADN utilizados en nuestro estudio, no es posible distinguir si la carga bacteriana obtenida proviene de células bacterianas intactas o ya lisadas, ni tampoco la biopelícula exacta de procedencia. Païssé y cols. determinaron que el ADN bacteriano obtenido de muestras sanguíneas pertenecía principalmente a bacterias procesadas por el sistema inmune, o fragmentos celulares libres (Païssé et al., 2016), mientras que otros autores han postulado la factibilidad de que las bacterias en sangre periférica se encuentren no-viables o en estado de latencia (Kell et al., 2018; Potgieter et al., 2015). Por otra parte, aún se precisa determinar si la relación entre eventos de bacteremia y ECNT pudiera ser atribuible a fragmentos de ADN bacteriano circulante, bacterias viables capaces de colonizar tejidos, o a factores de virulencia bacterianos que pudieran translocar (Emery et al., 2021).

En análisis sanguíneos utilizando cultivos celulares, algunos estudios han obtenido muy poco o nulo crecimiento bacteriano (Païssé et al., 2016; Whittle et al., 2019). En un estudio realizado por Damgaard y cols (Damgaard et al., 2021) se analizaron muestras sanguíneas de pacientes mayores de 50 años con periodontitis, las que fueron separadas en capa leucocitaria, plasmática y de eritrocitos. Se analizó previamente contaminaciones de la capa leucocitaria, luego fueron cultivadas

muestras de plasma y eritrocitos en placas de agar tripticasa de soya en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Los resultados arrojaron un crecimiento bacteriano en un 25% de las placas del grupo periodontitis, y en un 13% del grupo control ($p=0,00$), concluyendo que la periodontitis aumenta el riesgo de generar contaminaciones en sangre. Païssé y cols, por su parte, encontraron que el ADN bacteriano en sangre se encuentra principalmente presente en la capa leucocitaria (93,7%), y en muy baja abundancia en la capa de eritrocitos (6,2%) y plasma (0,03%) (Païssé et al., 2016).

Ensayos *in vitro* compararon técnicas de cultivo directo en agar, hemocultivo y análisis por PCR, utilizando sangre de pacientes sanos contaminada intencionalmente con patógenos periodontales. Al analizar parámetros como sensibilidad, especificidad y valor predictivo, se concluyó que el método más recomendable para la detección y cuantificación bacteriana en muestras de sangre corresponde al cultivo directo en agar. Sin embargo, esta información requiere de mayor análisis al ser un estudio *in vitro*, y es incierto si sus resultados son extrapolables a estudios clínicos o condiciones *in vivo* (Ambrosio et al., 2019).

Resulta relevante considerar que los métodos de cultivo celular sólo permiten el crecimiento de bacterias viables presentes en sangre, y que estas se puedan adaptar y desarrollar en el medio de cultivo y condiciones generadas. Aún existen especies que no se han podido cultivar, por lo que se desconoce su impacto en la salud periodontal (Keijser et al., 2008).

P. gingivalis, descrito como patógeno clave en la periodontitis (Hajishengallis, 2015), presenta alta prevalencia en sacos periodontales, habiéndose descrito valores de 82-92% (Rojas et al., 2017). Es importante considerar, que se ha observado en estudios hasta un 25% de presencia de *P. gingivalis* subgingival en individuos libres

de periodontitis (Griffen et al., 1998). Durante eventos puntuales que afectan a los tejidos orales, como procedimientos de higiene, traumatismos o intervenciones odontológicas que implican discontinuidad de tejidos, *P. gingivalis* podría migrar desde el surco, atravesando las barreras epiteliales y el endotelio de vasos sanguíneos, para diseminarse hacia la circulación sanguínea (Forner et al., 2006).

En un estudio realizado en España por Marín y cols. (Marín et al., 2016), se analizó la carga bacteriana posterior al cepillado dental, medida a nivel subgingival y sanguíneo de pacientes sanos, con gingivitis y periodontitis, mediante tres técnicas de cultivo, además de técnicas moleculares (qPCR). Se determinó que las especies más prevalentes en periodontitis en las muestras subgingivales eran *Porphyromonas intermedia* y *F. nucleatum* (88%), seguidas por *P. gingivalis* (75%). Además, la presencia de *F. nucleatum* en salud también fue muy prevalente (59%). Mediante qPCR no se logró detectar ADN de *P. gingivalis* ni de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* para las muestras sanguíneas (Marín et al., 2016).

En una investigación realizada por Balejo y cols., se analizó la carga total y de *P. gingivalis* en sangre de pacientes con periodontitis y sanos, utilizando colutorios orales de clorhexidina al 0,12% previo a la realización de pulido radicular. Las muestras sanguíneas fueron tomadas previo a la intervención, y a los 2 y 6 minutos después de iniciado el pulido. Mediante qPCR y cultivos, se encontró una menor carga total en sangre para el grupo sanos en todos los tiempos de estudio, sin existir diferencias en relación al uso del colutorio. Sólo hubo un aumento significativo en la carga de *P. gingivalis* en el grupo periodontitis a los 6 minutos una vez iniciado el pulido radicular (Balejo et al., 2017).

En el presente trabajo, la carga de *P. gingivalis* obtenida fue de $15,8 \pm 29,6$ y $21,6 \pm 37,4$ copias del gen 16S ARNr/ μ l para el grupo control y grupo periodontitis, respectivamente. Sin embargo, estos valores se encontraban bajo el límite de detección del ensayo (qPCR). Estos resultados se condicen con el estudio realizado por Damgaard y cols. (Damgaard et al., 2021) donde, mediante cultivos microbiológicos, fueron analizadas muestras de sangre de pacientes con periodontitis, sin detectar el desarrollo de *P. gingivalis*.

Considerando que las bacterias que logran alcanzar la circulación sanguínea representan un porcentaje bajo, existe poca o casi nula evidencia de que exista un microbioma sanguíneo viable, por lo que se ha estipulado que la mayoría del DNA presente en sangre podría provenir de bacterias procesadas por el sistema inmune (Païssé et al., 2016). Así mismo, es posible que el impacto sistémico atribuido a la periodontitis y a *P. gingivalis* se deba más al estado inflamatorio crónico y desregulación inmune, que a la translocación bacteriana en sí (Hajishengallis, 2015).

Por otra parte, se ha descrito ampliamente la presencia de *P. gingivalis* en biopsias de placas de ateroma (Gaetti-Jardim et al., 2009, Kozarov et al., 2006; Stelzel et al., 2002), en tejidos cerebrales de individuos con enfermedad de Alzheimer (Dominy et al., 2019), en placenta (Kotz et al., 2009) y en hígado (Ishikawa et al., 2013). En individuos con enfermedad cardiovascular se ha descrito la presencia de *P. gingivalis* hasta en un 100% de las biopsias de la arteria femoral, con una abundancia relativa de un 46,77% de esta bacteria en la biopelícula (Mougeot et al., 2017). Por este motivo, aún se precisa determinar por qué vías sería plausible que *P. gingivalis* colonice estos tejidos, donde la translocación a sangre o el eje oral-

intestinal siguen estando entre las principales propuestas (Emery et al., 2021b). En efecto, gran parte de las bacterias encontradas en sangre provienen del sistema digestivo, por lo que se postula que *P. gingivalis* sería capaz de colonizarlo (Fiorillo et al., 2019; Lee et al., 2022), configurando una posible vía de ingreso desde ahí al sistema circulatorio. El aumento de la permeabilidad intestinal, en conjunto con periodontitis en etapas avanzadas, podrían configurar el escenario ideal para detectar presencia de *P. gingivalis* en sangre (Schirmer et al., 2019).

Si bien la mayoría de los individuos que participaron de este estudio presentaban periodontitis etapa III con presencia de sacos periodontales mayores o iguales a 5 mm en gran parte de los cuadrantes, las profundidades al sondaje promedio en el grupo periodontitis fueron relativamente bajas (2,60 mm), lo cual podría explicarse por la presencia de sacos profundos con distribución localizada. Las profundidades al sondaje promedio del grupo periodontitis en el estudio realizado por Balejo y cols. (Balejo et al., 2017), fue de 3,50 mm, lo que podría haber determinado una biopelícula subgingival con una mayor abundancia relativa de *P. gingivalis*, pues se conoce que a medida que aumenta la profundidad del saco periodontal, aumenta la predominancia de bacterias anaerobias estrictas (Emery et al., 2021b; Plachokova et al., 2021; Shi et al., 2018). Lo anterior es un factor importante a considerar para estudios futuros, donde se sugiere incorporar un mayor número de participantes, distintos perfiles de pacientes, y diferentes momentos de observación, considerando el efecto de procedimientos asociados a disrupción mecánica de la barrera epitelial. De cualquier modo, cabe mencionar que este trabajo es pionero en su tema, especialmente en población chilena, y forma parte de un estudio de mayor envergadura y carácter multicéntrico.

Resultaría relevante a futuro investigar la relación de la microbiota y su potencial translocación sanguínea en pacientes con periodontitis y otras ECNT, como con diabetes mellitus tipo II, enfermedades gastrointestinales o dislipidemias. Es importante considerar que condiciones como patologías intestinales o dislipidemia podrían aumentar la permeabilidad intestinal, y la consecuente translocación de bacterias intestinales (Arimatsu et al., 2014; Kitamoto et al., 2020; Nakajima et al., 2015).

Aun considerando que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la carga bacteriana total y carga de *P. gingivalis* en sangre, la evidencia respecto a las implicancias sistémicas en periodontitis es clara, reafirmando la necesidad de continuar y profundizar líneas de investigación similar que permitan conocer y comprender los mecanismos de relación entre la enfermedad periodontal y otras enfermedades crónicas no transmisibles.

CONCLUSIONES.

En base a los objetivos y resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye que:

- a) No hubo diferencias en la carga de ADN bacteriano total en la sangre periférica de individuos con periodontitis en comparación a individuos controles.
- b) No hubo diferencias en la carga de ADN bacteriano de *P. gingivalis* en la sangre periférica de individuos con periodontitis en comparación a sujetos controles. La carga de ADN bacteriano de *P. gingivalis* se encontró bajo el límite de detección del ensayo.

REFERENCIAS

- Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., et al. (2013). The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME Journal*, 7(5). doi: 10.1038/ismej.2012.174
- Abusleme, L., Hoare, A., Hong, B. Y., & Diaz, P. I. (2021). Microbial signatures of health, gingivitis, and periodontitis. In *Periodontology 2000* (Vol. 86, Issue 1). doi: 10.1111/prd.12362
- Alvarez, C., Monasterio, G., Cavalla, F., Córdova, L. A., Hernández, M., et al (2019). Osteoimmunology of oral and maxillofacial diseases: Translational applications based on biological mechanisms. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Issue JULY). doi: 10.3389/fimmu.2019.01664
- Ambrosio, N., Marín, M. J., Laguna, E., Herrera, D., Sanz, M., et al. (2019). Detection and quantification of *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in bacteremia induced by interdental brushing in periodontally healthy and periodontitis patients. *Archives of Oral Biology*, 98. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.11.025
- Andrian, E., Grenier, D., & Rouabhia, M. (2004). In vitro models of tissue penetration and destruction by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 72(8). doi: 10.1128/IAI.72.8.4689-4698.2004

- Arimatsu, K., Yamada, H., Miyazawa, H., Minagawa, T., Nakajima, M., et al. (2014). Oral pathobiont induces systemic inflammation and metabolic changes associated with alteration of gut microbiota. *Scientific Reports*, 4. doi: 10.1038/srep04828
- Armingohar, Z., Jørgensen, J., Kristoffersen, A., Abesha-Belay, E., & Olsen, I. (2014). Bacteria and bacterial DNA in atherosclerotic plaque and aneurysmal wall biopsies from patients with and without periodontitis. *Journal of Oral Microbiology*, 6(1). doi: 10.3402/jom.v6.23408
- Arteaga, O., Urzúa, I., Espinoza, I., Muñoz, A., Mendoza, C., et al. (2009). Prevalencia de Caries y Pérdida de Dientes en Población de 65 a 74 Años de Santiago, Chile. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 2(3). doi: 10.1016/s0718-5391(09)70027-8
- Balejo, R., Cortelli, J., Costa, F., Cyrino, R., Aquino, D., et al. (2017). Effects of chlorhexidine preprocedural rinse on bacteremia in periodontal patients: A randomized clinical trial. *Journal of Applied Oral Science*, 25(6). doi: 10.1590/1678-7757-2017-0112
- Bodet, C., Chandad, F., & Grenier, D. (2007). Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathologie Biologie*, 55(3–4). doi: 10.1016/j.patbio.2006.07.045
- Bordagaray, M., Fernández, A., Garrido, M., Astorga, J., Hoare, A., et al. (2021). Systemic and Extraradicular Bacterial Translocation in Apical Periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. doi: 10.3389/fcimb.2021.649925

- Byrd, K., & Gulati, A. (2021). The “Gum–Gut” Axis in Inflammatory Bowel Diseases: A Hypothesis-Driven Review of Associations and Advances. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 12). doi: 10.3389/fimmu.2021.620124
- Cardoso, C., Garlet, G., Moreira, A., Júnior, W., Rossi, M., et al. (2008). Characterization of CD4+CD25+ natural regulatory T cells in the inflammatory infiltrate of human chronic periodontitis. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(1). doi: 10.1189/jlb.0108014
- Castillo, D., Rifkin, R., Cowan, D., & Potgieter, M. (2019). The healthy human blood microbiome: Fact or fiction? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(MAY). doi: 10.3389/fcimb.2019.00148
- Chapple, I., Mealey, B., Van Dyke, T., Bartold, P., Dommisch, H., et al. (2018). Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89. doi: 10.1002/JPER.17-0719
- Clark, R., Cervantes, J., Maciejewski, M., Farrokhi, V., Nemati, R., et al. (2013). Serine lipids of *Porphyromonas gingivalis* are human and mouse toll-like receptor 2 ligands. *Infection and Immunity*, 81(9). doi: 10.1128/IAI.00803-13
- Cugini, C., Klepac-Ceraj, V., Rackaityte, E., Riggs, J., & Davey, M. (2013). *Porphyromonas gingivalis*: Keeping the pathos out of the biont. *Journal of Oral Microbiology*, 5(2013). doi: 10.3402/jom.v5i0.19804

- Cullinan, M., Ford, P., & Seymour, G. (2009). Periodontal disease and systemic health: Current status. In *Australian Dental Journal* (Vol. 54). doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01144.x
- Damgaard, C., Sækmoose, S., Nilsson, M., Kilian, M., Nielsen, C., et al. (2021). Periodontitis increases risk of viable bacteria in freshly drawn blood donations. *Blood Transfusion*, 19(5). doi: 10.2450/2021.0336-20
- Darveau, R., Hajishengallis, G., & Curtis, M. (2012). *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease. *Journal of Dental Research*, 91(9). doi: 10.1177/0022034512453589
- de Jongh, C., de Vries, T., Bikker, F., Gibbs, S., & Krom, B. (2023). Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* to translocate over the oral mucosa and other tissue barriers. In *Journal of Oral Microbiology* (Vol. 15, Issue 1). doi: 10.1080/20002297.2023.2205291
- Deo, P., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. In *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* (Vol. 23, Issue 1). doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_304_18
- Diaz, P., Dupuy, A., Abusleme, L., Reese, B., Oberfell, C., et al. (2012). Using high throughput sequencing to explore the biodiversity in oral bacterial communities. *Molecular Oral Microbiology*, 27(3). doi: 10.1111/j.2041-1014.2012.00642.x
- Dominy, S., Lynch, C., Ermini, F., Benedyk, M., Marczyk, A., et al. (2019). *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease

causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Science Advances*, 5(1). doi: 10.1126/sciadv.aau3333

Emery, D., Cerajewska, T., Seong, J., Davies, M., Paterson, A., et al. (2021). Comparison of Blood Bacterial Communities in Periodontal Health and Periodontal Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. doi: 10.3389/fcimb.2020.577485

Fine, D., Markowitz, K., Fairlie, K., Tischio-Bereski, D., Ferrendiz, J., et al. (2013). A consortium of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Streptococcus parasanguinis*, and *Filifactor alocis* is present in sites prior to bone loss in a longitudinal study of localized aggressive periodontitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(9). doi: 10.1128/JCM.00729-13

Fiorillo, L., Cervino, G., Laino, L., D'Amico, C., Mauceri, R., et al. (2019). *Porphyromonas gingivalis*, periodontal and systemic implications: A systematic review. In *Dentistry Journal* (Vol. 7, Issue 4). doi: 10.3390/dj7040114

Forner, L., Larsen, T., Kilian, M., & Holmstrup, P. (2006). Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *Journal of Clinical Periodontology*, 33(6). doi: 10.1111/j.1600-051X.2006.00924.x

Gaetti-Jardim, E., Marcelino, S., Feitosa, A., Romito, G., & Avila-Campos, M. J. (2009). Quantitative detection of periodontopathic bacteria in atherosclerotic plaques from coronary arteries. *Journal of Medical Microbiology*, 58(12). doi: 10.1099/jmm.0.013383-0

Garlet, G. (2010). Critical reviews in oral biology & medicine: Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: A re-appraisal from host defense and tissue

destruction viewpoints. In *Journal of Dental Research* (Vol. 89, Issue 12). doi: 10.1177/0022034510376402

Genco, R., & Van Dyke, T. (2010). Reducing the risk of CVD in patients with periodontitis. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 7, Issue 9). doi: 10.1038/nrcardio.2010.120

Grenier, D., Imbeault, S., Plamondon, P., Grenier, G., Nakayama, K., et al. (2001). Role of gingipains in growth of *Porphyromonas gingivalis* in the presence of human serum albumin. *Infection and Immunity*, 69(8). doi: 10.1128/IAI.69.8.5166-5172.2001

Griffen, A., Becker, M., Lyons, S., Moeschberger, M., & Leys, E. (1998). Prevalence of *Porphyromonas gingivalis* and periodontal health status. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(11). doi: 10.1128/jcm.36.11.3239-3242.1998

Gualpa Bustamante, K., Álvarez Calle, M. del R., & Carvajal Endara, A. (2022). Efecto del tratamiento periodontal no quirúrgico en el control de la artritis reumatoide. *Research, Society and Development*, 11(11). doi: 10.33448/rsd-v11i11.33148

Hajishengallis, G. (2011). Immune evasion strategies of *Porphyromonas gingivalis*. In *Journal of Oral Biosciences* (Vol. 53, Issue 3). doi: 10.2330/joralbiosci.53.233

Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: From microbial immune subversion to systemic inflammation. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 15, Issue 1). doi: 10.1038/nri3785

Hajishengallis, G., Chavakis, T., & Lambris, J. (2020). Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. In *Periodontology 2000* (Vol. 84, Issue 1). doi: 10.1111/prd.12331

- Haubek, D., Ennibi, O., Poulsen, K., Væth, M., Poulsen, S., et al. (2008). Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *The Lancet*, 371(9608). doi: 10.1016/S0140-6736(08)60135-X
- Henry, L., McKenzie, R., Robles, A., & Fletcher, H. (2012). Oxidative stress resistance in *Porphyromonas gingivalis*. In *Future Microbiology* (Vol. 7, Issue 4). doi: 10.2217/fmb.12.17
- Highfield, J. (2009). Diagnosis and classification of periodontal disease. In *Australian Dental Journal* (Vol. 54). doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01140.x
- Inaba, H., Amano, A., Lamont, R., & Murakami, Y. (2015). Involvement of protease-activated receptor 4 in over-expression of matrix metalloproteinase 9 induced by *Porphyromonas gingivalis*. *Medical Microbiology and Immunology*, 204(5). doi: 10.1007/s00430-015-0389-y
- Ishikawa, M., Yoshida, K., Okamura, H., Ochiai, K., Takamura, H., et al. (2013). Oral *Porphyromonas gingivalis* translocates to the liver and regulates hepatic glycogen synthesis through the Akt/GSK-3 β signaling pathway. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1832(12). doi: 10.1016/j.bbadis.2013.07.012
- Joshi, C., Bapat, R., Anderson, W., Dawson, D., Hijazi, K., et al. (2021). Detection of periodontal microorganisms in coronary atheromatous plaque specimens of myocardial infarction patients: A systematic review and meta-analysis. In *Trends in Cardiovascular Medicine* (Vol. 31, Issue 1). doi: 10.1016/j.tcm.2019.12.005

- Kebschull, M., Demmer, R., & Papapanou, P. (2010). "Gum bug, leave my heart alone!"-epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *Journal of Dental Research*, 89(9). doi: 10.1177/0022034510375281
- Keijser, B., Zaura, E., Huse, S., Van Der Vossen, J., Schuren, F., et al. (2008). Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research*, 87(11). doi: 10.1177/154405910808701104
- Kell, D., & Pretorius, E. (2018). No effects without causes: the Iron Dysregulation and Dormant Microbes hypothesis for chronic, inflammatory diseases. *Biological Reviews*, 93(3). doi: 10.1111/brv.12407
- Kitamoto, S., Nagao-Kitamoto, H., Hein, R., Schmidt, T., & Kamada, N. (2020). The Bacterial Connection between the Oral Cavity and the Gut Diseases. In *Journal of Dental Research* (Vol. 99, Issue 9). doi: 10.1177/0022034520924633
- Kotz, J., Chegini, N., Shiverick, K., & Lamont, R. (2009). Localization of *P. gingivalis* in Preterm Delivery Placenta. *Journal of Dental Research*, 88(6). doi: 10.1177/0022034509338032
- Kozarov, E. (2012). Bacterial invasion of vascular cell types: Vascular infectology and atherogenesis. In *Future Cardiology* (Vol. 8, Issue 1). doi: 10.2217/fca.11.75
- Kozarov, E., Sweier, D., Shelburne, C., Progulske-Fox, A., & Lopatin, D. (2006). Detection of bacterial DNA in atheromatous plaques by quantitative PCR. *Microbes and Infection*, 8(3). doi: 10.1016/j.micinf.2005.09.004

- Kumar, S. (2019). Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and Periodontitis. In *Dental Clinics of North America* (Vol. 63, Issue 1). doi: 10.1016/j.cden.2018.08.005
- Lalla, E., & Papapanou, P. (2011). Diabetes mellitus and periodontitis: A tale of two common interrelated diseases. In *Nature Reviews Endocrinology* (Vol. 7, Issue 12). doi: 10.1038/nrendo.2011.106
- Lang, N., Adler, R., Joss, A., & Nyman, S. (1990). Absence of bleeding on probing An indicator of periodontal stability. *Journal of Clinical Periodontology*, 17(10). doi: 10.1111/j.1600-051X.1990.tb01059.x
- Lee, Y., Liu, C., Lee, C., Zhang, R., Huang, C. et al. (2022). The Periodontopathic Pathogen, *Porphyromonas gingivalis*, Involves a Gut Inflammatory Response and Exacerbates Inflammatory Bowel Disease. *Pathogens*, 11(1). doi: 10.3390/pathogens11010084
- Lockhart, P., Bolger, A., Papapanou, P., Osinbowale, O., Trevisan, M., et al. (2012). Periodontal Disease and Atherosclerotic Vascular Disease: Does the Evidence Support an Independent Association? *Circulation*, 125(20). doi: 10.1161/cir.0b013e31825719f3
- Loe, H., Theilade, E., & Jensen, S. (1965). Experimental gingivitis in man. *The Journal of Periodontology*, 36. doi: 10.1902/jop.1965.36.3.177
- Lombardo, G., Lugoboni, F., Signoriello, A., Liboni, P., Fiorino, A., et al. (2020). Assessment of oral conditions in individuals treated with methadone: A research report. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 18(1). doi: 10.3290/j.ohpd.a43937

- Loyola-Rodriguez, J., Martinez-Martinez, R., Abud-Mendoza, C., Patiño-Marin, N., & Seymour, G. (2010). Rheumatoid arthritis and the role of oral bacteria. *Journal of Oral Microbiology*, 2(2010). doi: 10.3402/jom.v2i0.5784
- Maekawa, T., Krauss, J., Abe, T., Jotwani, R., Triantafilou, M., et al. (2014). *Porphyromonas gingivalis* manipulates complement and TLR signaling to uncouple bacterial clearance from inflammation and promote dysbiosis. *Cell Host and Microbe*, 15(6). doi: 10.1016/j.chom.2014.05.012
- Mao, S., Park, Y., Hasegawa, Y., Tribble, G., James, C., et al. (2007). Intrinsic apoptotic pathways of gingival epithelial cells modulated by *Porphyromonas gingivalis*. *Cellular Microbiology*, 9(8). doi: 10.1111/j.1462-5822.2007.00931.x
- Marchesan, J., Gerow, E., Schaff, R., Taut, A., Shin, S. et al. (2013). *Porphyromonas gingivalis* oral infection exacerbates the development and severity of collagen-induced arthritis. *Arthritis Research and Therapy*, 15(6). doi: 10.1186/ar4376
- Marín, M., Figuero, E., González, I., O'Connor, A., Diz, P., et al. (2016). Comparison of the detection of periodontal pathogens in bacteraemia after tooth brushing by culture and molecular techniques. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 21(3). doi: 10.4317/medoral.20842
- Mohanty, R., Asopa, S., Joseph, Md., Singh, B., Rajguru, J., et al. (2019). Red complex: Polymicrobial conglomerate in oral flora: A review. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(11). doi: 10.4103/jfmpe.jfmpe_759_19

- Monsarrat, P., Blaizot, A., Kémoun, P., Ravaud, P., Nabet, C., et al. (2016). Clinical research activity in periodontal medicine: A systematic mapping of trial registers. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(5). doi: 10.1111/jcpe.12534
- Morales, A., Bravo, J., Baeza, M., Werlinger, F., & Gamonal, J. (2016). Las enfermedades periodontales como enfermedades crónicas no transmisibles: Cambios en los paradigmas. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 9(2). doi: 10.1016/j.piro.2016.07.004
- Morales, A., Jara, G., Werlinger, F., Cabello, R., Espinoza, I., et al. (2020). Sinopsis de la Situación de Salud Oral en Chile - Parte II: Diagnósticos Poblacionales de Salud Oral. *International Journal of Interdisciplinary Dentistry*, 13(2). doi: 10.4067/s2452-55882020000200088
- Mougeot, J., Stevens, C., Paster, B., Brennan, M., Lockhart, P., et al. (2017). *Porphyromonas gingivalis* is the most abundant species detected in coronary and femoral arteries. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1). doi: 10.1080/20002297.2017.1281562
- Nakajima, M., Arimatsu, K., Kato, T., Matsuda, Y., Minagawa, T., et al. (2015). Oral administration of *P. gingivalis* induces dysbiosis of gut microbiota and impaired barrier function leading to dissemination of enterobacteria to the liver. *PLoS ONE*, 10(7). doi: 10.1371/journal.pone.0134234
- Nazir, M., Alghamdi, L., Alkadi, M., Albeajan, N., Alrashoudi, L., et al. (2018). The burden of diabetes, its oral complications and their prevention and management. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(8). doi: 10.3889/oamjms.2018.294

- Page, R., & Schroeder, H. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease: a summary of current work. In *Laboratory Investigation* (Vol. 34, Issue 3).
- Païssé, S., Valle, C., Servant, F., Courtney, M., Burcelin, R., et al. (2016). Comprehensive description of blood microbiome from healthy donors assessed by 16S targeted metagenomic sequencing. *Transfusion*, 56(5). doi: 10.1111/trf.13477
- Papapanou, P., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., et al. (2018). 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*, 89. doi: 10.1002/JPER.17-0721
- Pitchika, V., Thiering, E., Metz, I., Rothmaier, K., Willenberg, A., et al. (2017). Gingivitis and lifestyle influences on high-sensitivity C-reactive protein and interleukin 6 in adolescents. *Journal of Clinical Periodontology*, 44(4). doi: 10.1111/jcpe.12690
- Plachokova, A., Andreu-Sánchez, S., Noz, M., Fu, J., & Riksen, N. (2021). Oral microbiome in relation to periodontitis severity and systemic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11). doi: 10.3390/ijms22115876
- Potgieter, M., Bester, J., Kell, D., & Pretorius, E. (2015). The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 39, Issue 4). doi: 10.1093/femsre/fuv013
- Powell, D. (1981). Barrier function of epithelia. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 4(4). doi: 10.1152/ajpgi.1981.241.4.g275
- Rojas, M., Jacques, J., Molinett, S., Botelho, J., & Padilla, C. (2017). Distribución gen *fimA* de *Porphyromonas gingivalis* en pacientes chilenos con periodontitis crónica.

Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral, 10(3). doi: 10.4067/s0719-01072017000300141

Schirmer, M., Garner, A., Vlamakis, H., & Xavier, R. (2019). Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 17, Issue 8). doi: 10.1038/s41579-019-0213-6

Schlecht, L., Peters, B., Krom, B., Freiberg, J., Hänsch, G., et al. (2015). Systemic *Staphylococcus aureus* infection mediated by *Candida albicans* hyphal invasion of mucosal tissue. *Microbiology (United Kingdom)*, 161(1). doi: 10.1099/mic.0.083485-0

Seymour, G., & Gemmell, E. (2001). Cytokines in periodontal disease: Where to from here? *Acta Odontologica Scandinavica*, 59(3). doi: 10.1080/000163501750266765

Shi, M., Wei, Y., Hu, W., Nie, Y., Wu, X., et al. (2018). The subgingival microbiome of periodontal pockets with different probing depths in chronic and aggressive periodontitis: A pilot study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8(MAY). doi: 10.3389/fcimb.2018.00124

Silva, S., Pinheiro, M., Pereira, R., Dias, A., Ferraz, R., et al. (2022). Serine-based surfactants as effective antimicrobial agents against multiresistant bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1864(9). doi: 10.1016/j.bbamem.2022.183969

Singhrao, S., & Olsen, I. (2019). Assessing the role of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis to determine a causative relationship with Alzheimer's disease. In

Journal of Oral Microbiology (Vol. 11, Issue 1). doi:
10.1080/20002297.2018.1563405

- Socransky, S., Haffajee, A., Cugini, M., Smith, C., & Kent, R. (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology*, 25(2). doi: 10.1111/j.1600-051X.1998.tb02419.x
- Stelzel, M., Conrads, G., Pankuweit, S., Maisch, B., Vogt, S., et al. (2002). Detection of *Porphyromonas gingivalis* DNA in Aortic Tissue by PCR. *Journal of Periodontology*, 73(8). doi: 10.1902/jop.2002.73.8.868
- Tanner, A., Kent, R., Kanasi, E., Lu, S., Paster, B., et al. (2007). Clinical characteristics and microbiota of progressing slight chronic periodontitis in adults. *Journal of Clinical Periodontology*, 34(11). doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01126.x
- Taubman, M., & Kawai, T. (2001). Involvement of T-lymphocytes in periodontal disease and in direct and indirect induction of bone resorption. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 12(2). doi: 10.1177/10454411010120020301
- Taubman, Martin A., Valverde, P., Han, X., & Kawai, T. (2005). Immune Response: The Key to Bone Resorption in Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, 76(11-s). doi: 10.1902/jop.2005.76.11-s.2033
- Ter Steeg, P., Van Der Hoeven, J., De Jong, M., Van Munster, P., & Jansen, M. (1988). Modelling the gingival pocket by enrichment of subgingival microflora in human serum in chemostats. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 1(2). doi: 10.3109/08910608809140185

- Vieira Colombo, A., Silva, C., Haffajee, A., & Vieira Colombo, A. (2006). Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions. *Journal of Medical Microbiology*, 55(5). doi: 10.1099/jmm.0.46417-0
- Whittle, E., Leonard, M., Harrison, R., Gant, T., & Tonge, D. (2019). Multi-method characterization of the human circulating microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 10(JAN). doi: 10.3389/fmicb.2018.03266
- Wolochow, H., Hildebrand, G., & Lamanna, C. (1966). Translocation of microorganisms across the intestinal wall of the rat: Effect of microbial size and concentration. *Journal of Infectious Diseases*, 116(4). doi: 10.1093/infdis/116.4.523
- Yilmaz, Ö., Jungas, T., Verbeke, P., & Ojcius, D. (2004). Activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway contributes to survival of primary epithelial cells infected with the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 72(7). doi: 10.1128/IAI.72.7.3743-3751.2004
- Zhao, X., Liu, J., Zhang, C., Yu, N., Lu, Z., et al. (2021). *Porphyromonas gingivalis* exacerbates ulcerative colitis via *Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase. *International Journal of Oral Science*, 13(1). doi: 10.1038/s41368-021-00136-2
- Zhou, J., & Windsor, L. (2006). *Porphyromonas gingivalis* affects host collagen degradation by affecting expression, activation, and inhibition of matrix metalloproteinases. *Journal of Periodontal Research*, 41(1). doi: 10.1111/j.1600-0765.2005.00835.x

Zhou, Y., Sztukowska, M., Wang, Q., Inaba, H., Potempa, J., et al. 2015). Noncanonical activation of β -catenin by *Porphyromonas gingivalis*. *Infection and Immunity*, 83(8). doi: 10.1128/IAI.00302-15

ANEXOS:

Anexo 1: Consentimiento informado

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto:

"Señales de translocación bacteriana en periodontitis: un nuevo paradigma para la asociación de la microbiota periodontal-intestinal y enfermedades crónicas no transmisibles".

Nombre del Investigador: Patricia Hernández Ríos
 Servicio o Departamento: Departamento de Odontología Conservadora
 Institución patrocinadora: Facultad de Odontología, Universidad de Chile
 Dirección: Olivos 943, Independencia, Santiago
 Teléfonos: 229781839, 988299380

Invitación a participar: Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "*Señales de translocación bacteriana en periodontitis: un nuevo paradigma para la asociación de la microbiota periodontal-intestinal y enfermedades crónicas no transmisibles*", debido a que usted cumple con los criterios necesarios para ser parte de él.

Antes de tomar la decisión de participar lea atentamente este documento.

Introducción: La periodontitis es una enfermedad que produce inflamación en las encías y destrucción en los tejidos que insertan los dientes debido a la presencia de microorganismos (bacterias) sus encías. Esta enfermedad también podría afectar la salud general, e incluso intestinal.

En este estudio evaluaremos la presencia de bacterias intestinales y bacterias que causan la periodontitis en sangre y encía, y su relación con la presencia de inflamación en la circulación sanguínea general.

Se invitará a participar a personas con y sin periodontitis (sanos), haremos un examen clínico y radiográfico por especialistas, tomaremos muestras de bacterias de encía y de sangre. El estudio no involucra intervención alguna más allá del examen y muestras, por lo tanto no implica riesgo para los participantes, y permitirá explorar de manera internacional el conocimiento de la interrelación y rol de las enfermedades bucales sobre otras enfermedades médicas.

Objetivos: Esta investigación tiene por objetivo determinar la asociación entre la inflamación presente en la circulación general y presencia de bacterias del intestino y encía en sangre. Para esto, se incluirá a un número mínimo de 60 sujetos provenientes del Centro de salud de San Bernardo, Clínica Universidad de los Andes, Pontificia Universidad Javeriana, y Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología Universidad de Chile, donde usted será reclutado (20 personas en cada centro universitario).



Procedimientos: Si Ud. acepta participar, sea del grupo con periodontitis o sin ella, usted será sometido a los siguientes procedimientos, por una única vez: entrevista y registro de datos generales y médicos, examen clínico odontológico (de encías y caries) y radiografías dentales de todos los dientes. Además, se tomarán muestras de placa bacteriana (bacterias bucales), mediante instrumentos específicos, desde el surco presente en su encía. Un técnico especializado registrará su índice de masa corporal (calculado en base al peso y la altura), y tomará una muestra sanguínea de su brazo (aprox. 45 ml).

Sus muestras serán utilizadas para determinar la presencia de bacterias o sus componentes, y respuesta inflamatoria general, mediante el examen de laboratorio clínico de niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad en sangre.

Riesgos: Durante la extracción de sangre, usted podría experimentar ligeras molestias, tales como dolor leve, mareos o sensación de debilidad general, así como hematomas o "moretones" ocasionales en la zona de punción. La toma de muestras sanguíneas, así como el resto de los procedimientos, serán realizados por personal calificado y acreditado, de manera de disminuir los riesgos para usted.

Las radiografías dentales poseen un nivel muy bajo de irradiación, por lo que se consideran seguras. De todos modos, para limitar la exposición, se le cubrirá el resto del cuerpo con un delantal del plomo. La radiación puede ocasionar alteraciones en el feto, por lo que si usted está embarazada o sospecha de embarazo, por favor informe y absténgase de participar en el estudio.

El examen bucal y la toma de muestras de placa bacteriana, por su parte, no conllevan mayores molestias ni riesgos propios de su obtención.

Cualquier otro efecto que Ud. considera que puede derivarse de la toma de muestras sanguíneas o del estudio, deberá comunicarlo a la Dra. Patricia Hernández Ríos, en el teléfono 988299380 o mail phernandezrios@gmail.com

Costos: Los insumos, exámenes clínico-radiográficos, exámenes sanguíneos y microbiológicos, con sus técnicas de muestreo y análisis, serán aportados por la investigación y su financiamiento (Proyecto IADR Regional Development), sin costo alguno para Ud. durante el desarrollo de este proyecto. Su participación no le representará gastos adicionales.

Beneficios: Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, como beneficios, cada voluntario obtendrá un examen dental clínico bucal y diagnóstico periodontal gratuito, derivación a tratamiento dental, así como set de radiografías dentales gratuitas y cepillos y pastas dentales sin costo. Adicionalmente, podrá conocer los resultados del análisis de sus niveles de proteína C reactiva sin costo, si usted lo desea.



Alternativas: Si Ud. decide no participar en esta investigación recibirá la evaluación que se aplica habitualmente en forma particular y con los costos normalmente asociados, sin existir ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la intervención y/o participación.

Compensación: Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio. Sin embargo, se le otorgará una colación inmediatamente después de haber donado sangre.

Confidencialidad: Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

Información adicional: Ud. o su médico tratante serán informados si durante el desarrollo de este estudio surgen nuevos conocimientos o complicaciones que puedan afectar su voluntad de continuar participando en la investigación.

Voluntariedad y Revocación: Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador (mediante un formulario de revocación del consentimiento opcional) y a su médico tratante, sin que ello signifique sanciones o pérdida de beneficios en nuestra institución o modificaciones en el tratamiento habitual de su enfermedad. De igual manera su médico tratante o el investigador podrán determinar su retiro del estudio si consideran que esa decisión va en su beneficio.

Complicaciones: En el improbable caso de que Ud. presente complicaciones directamente dependientes de la toma de muestras o del estudio mismo, Ud. recibirá el tratamiento médico completo de dicha complicación, financiado por el equipo de investigación, y sin costo alguno para Ud. o su sistema previsional. Esto no incluye las complicaciones propias de su enfermedad y de su curso natural.

Derechos del participante: Usted recibirá una copia de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio puede comunicarse con la investigadora Dra. Patricia Hernández (988299380), o la Sra. Bernarda Parada (999699428).

Otros Derechos del participante:

En caso de duda sobre sus derechos comunicarse con el Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico Universidad de Chile, Teléfono: 229789008, Email: comiteetica@hcuch.cl, ubicado en Santos Dumont N° 999, 4 Piso Sector D,

Comuna de Independencia, Santiago.

Conclusión:

Después de haber leído y comprendido la información de este documento, de haber podido aclarar todas mis dudas, entiendo que me puedo retirar cuando lo desee. Otorgo mi consentimiento libre, informado y voluntario para participar en el proyecto mencionado, "IADR Regional Development Program".

_____ Nombre del sujeto Run.	_____ Firma	_____ Fecha y Hora
------------------------------------	----------------	-----------------------

_____ Nombre del Investigador Run.	_____ Firma	_____ Fecha y Hora
--	----------------	-----------------------

_____ Nombre del Director o Delegado Run.	_____ Firma	_____ Fecha y Hora
---	----------------	-----------------------

Si se trata de un sujeto iletrado, no vidente u otra situación, registrar nombre del sujeto y de su apoderado (Testigo).

_____ Nombre del Testigo Run.	_____ Firma	_____ Fecha y Hora
-------------------------------------	----------------	-----------------------

Anexo 2: Certificado del comité institucional de bioseguridad



Comité Institucional de Bioseguridad
Administración Conjunta Campus Norte
FDO N° 144

Santiago, 08 de Septiembre de 2020.

C E R T I F I C A D O

El Comité Institucional de Bioseguridad (CIB) ha analizado el Proyecto IADR's Regional Development Program 2020 titulado "**Bacterial translocation signatures in periodontitis: a new paradigm for the relationship between periodontal-gut microbiota and non-communicable diseases**". La Investigadora Responsable de este proyecto es la Dra. Patricia Hernández Ríos, Académica del Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.

Los ensayos propuestos en este Proyecto se realizarán en la Unidad Académica mencionada anteriormente e involucran el manejo de:

- o **Sustancia Químicas Peligrosas:**
-Se utilizarán agentes químicos de riesgo de tipo corrosivos, inflamables, tóxicos agudos y peligros (graves) para la salud y medio ambiente.
- o **Material Biológico:**
-Muestras Humanas: piezas dentarias (muestras de placa subgingival), sangre periférica y muestras subgingivales.
- o **Patógenos:**
-La bacteria Gram negativo *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (grupo de riesgo 2); bacterias Gram negativo (si fuera necesario cultivar): *Porphyromonas endodontalis* ATCC 35406, *Tannerella forsythia* ATCC 43037, *Prevotella melaninogenica* ATCC 25845, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 43718, *Prevotella nigrescens* ATCC 33563 y *Eikenella corrodens* ATCC 23834, todas las anteriores pertenecientes al grupo de riesgo 2; *Treponema denticola* ATCC 35405, *Filifactor alocis* ATCC 35896 (Gram positivo) y *Veillonella parvula* ATCC 10790, todas las anteriores pertenecientes al grupo de riesgo 1.

o **Radiaciones ionizantes:**

-Se utilizará radiación ionizante del tipo rayos X para la toma de radiografías convencionales.

Los ensayos se realizarán principalmente en el Laboratorio de Biología Periodontal (a cargo de la Dra. Marcela Hernández) y también en el Laboratorio de Microbiología Bucal (a cargo de la Dra. Anilei Hoare) ambas Co-investigadoras del presente proyecto. Además, los sujetos a enrolar en el estudio se examinarán y se realizarán sus seguimientos en la Clínica Odontológica.

El CIB certifica que la Facultad de Odontología cuenta con las facilidades para el manejo y desecho del material biológico y químico a utilizar en el proyecto de acuerdo al Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados, Conicyt 2018. Además, el investigador se compromete a velar por el cumplimiento de las normas de bioseguridad junto al Manual de Procedimientos para el Manejo y Desechos de Residuos biológicos y RESPEL de la Facultad, durante el desarrollo del proyecto.

Se extiende el presente certificado a solicitud de la Dra. Hernández para ser presentado al Concurso IADR's Regional Development Program 2019, en el que fue adjudicado el presente proyecto.




Dra. Carla Lozano M.
Presidenta

Anexo 3: Acta de aprobación del Comité Ético Científico de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile



ACTA DE APROBACION N° 05

Santiago, 13 de enero de 2021.

El Comité Ético Científico de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, integrado por los siguientes miembros:

Dra. Teresa Massardo Vega. Especialista en Medicina Nuclear. Presidenta
 Sr. Mauricio Venegas Santos. Bioquímico. Vicepresidente.
 Dra. Aida Verónica Araya Quintanilla. Médico Endocrinóloga. Secretaria de actas.
 Dr. Sergio Valenzuela Puchulu. Médico Gineco-Obstetra. Integrante.
 Dr. Juan Carlos Prieto Domínguez. Médico Farmacología Clínica. Integrante.
 Dra. Ana María Madrid Silva. Gastroenteróloga. Integrante.
 Srta. Rina Sepúlveda Alfaro. Abogado. Integrante.
 Dra. Gloria López Stewart. Médico Endocrinóloga. Integrante.
 Dr. Juan Jorge Silva Solís. Médico Cirujano. Integrante.
 Dr. Melchor Lemp Miranda. Médico Neurocirujano. Integrante.
 Sra. Ginette Zúñiga Navarrete. Miembro de la comunidad.

Ha analizado el Proyecto: **"Bacterial translocation signatures in periodontitis: A new paradigm for the relationship between periodontal-gut microbiota and non-communicable diseases"**, cuya **Investigadora Principal es la Dra. Patricia Hernández Ríos, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Participa como Investigadora Responsable, la Dra. Marcela Hernández Ríos, del Servicio Dentomaxilofacial.** El proyecto será desarrollado en de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Para estos efectos se tuvo a la vista los siguientes documentos:

- Carta de presentación de proyecto.
- Carta de compromiso de la investigadora principal.
- Carta de compromiso de los co-investigadores.
- Curriculum vitae de la investigadora principal.
- Formulario de solicitud de evaluación de proyecto.
- Proyecto en extenso.
- Documento de Consentimiento Informado Versión 2.0, fechado 11 de enero de 2020.
- Revocación del Consentimiento Informado Versión 1.0, fechado 10 de diciembre de 2020.
- Ficha de registro clínico.

El Proyecto y los documentos señalados en el párrafo precedente han sido analizados a la luz de los postulados de la Declaración de Helsinki, de las pautas Éticas Internacionales para la investigación Biomédica en Seres humanos CIOMS 2002, de las Guías de Buenas prácticas Clínicas de ICH y Normativa Nacional Vigente.

2

a) Carácter de la población estudiada

Terapéutica.

b) Utilidad del Proyecto

Adecuada.

c) Riesgos

Controlados.

d) Beneficios

Adecuados.

e) Confidencialidad del Estudio

La investigadora principal asegura la confidencialidad de todos los datos.

Por lo tanto, el Comité estima que el Estudio propuesto estuvo bien justificado y que no significa para los sujetos involucrados riesgos físicos, psíquicos o sociales mayores. El consentimiento informado es adecuado en forma y fondo.

En virtud de las consideraciones anteriores, el Comité otorga la Aprobación Ética del estudio propuesto, en sesión extraordinaria del 13 de enero de 2021, la que se extiende por un plazo de 12 meses a contar de esta fecha. Se adjunta Declaración de Cumplimiento de las Buenas Prácticas Clínicas.

Se debe tener presente que se debe realizar:

- Envío para aprobación o toma de conocimiento de nueva documentación relacionada al estudio.
- Cambio en los Delegados del Director de la Institución.
- Notificación de reacciones adversas serias o no serias, en que las serias deben ser notificadas en un plazo de 72 horas hábiles de ocurrido el evento.
- Enviar anualmente avances del Proyecto.
- Solicitud de Extensión de plazo de aprobación.
- Enviar Informe Final del Proyecto.

Los ítems mínimos que deben contener los informes semestrales y finales, son los siguientes:

- Cumplimiento de los objetivos.
- Numero de Sujetos enrolados.
- Número y motivo de los sujetos que abandonan o se retiran.

Saluda atentamente a Ud.



Teresa Massardo Vega
Presidenta del Comité Ético Científico
Hospital Clínico de la Universidad de Chile

Anexo 4: Documento de registro clínico

FICHA DE REGISTRO CLÍNICO Proyecto IADR-RDP

"Bacterial translocation signatures in periodontitis: A new paradigm for the relationship between periodontal-gut microbiota and non-communicable diseases" (Hernández-Ríos P, Hoare A, Hernández M, Chaparro A, Suárez L).

DATOS PERSONALES		N° Ficha:	
Nombre:		ID muestra suero:	
e-mail:		ID muestra PB:	
Fono:			
Fecha ingreso:		Fecha nacimiento:	
Género:	Femenino <input type="checkbox"/> Masculino <input type="checkbox"/>	Edad:	
Nivel educacional:	básica incompleta <input type="checkbox"/> básica completa <input type="checkbox"/> media completa <input type="checkbox"/> superior completa <input type="checkbox"/>		
ANAMNESIS Y EXAMEN FÍSICO			
Fumador (actual)	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	No cigarrillos:	
Consumo alcohol	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Promedio grs/día:	
Enfermedad sistémica actual	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Alergias	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Tratamiento médico los últimos 3 meses	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Tratamiento periodontal previo	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>	Especificar:	
Peso (kg):	IMC (kg/m2):	PCR-as (mg/ml):	
Talla (m):			
EXAMEN CLÍNICO INTRAORAL Y RADIOGRÁFICO			
Periodontitis	<input type="checkbox"/>	PS prom (mm):	Diagnóstico periodontal:
Sano	<input type="checkbox"/>	NIC prom (mm):	
LPA	No <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/>		Destartraje (fecha):
COPD	Cariados (N° de dientes):		
	Obturados (N° de dientes):		
	Perdidos (N° de dientes):		
	COPD Total:		
MUESTRAS DE PLACA BACTERIANA			
Fecha:	Diente (sitio):		
	Diente (sitio):		
	Diente (sitio):		
	Diente (sitio):		



13-01-2021

EXAMEN PERIODONTAL

Fecha:

V	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
Mov.														
Furca														
SS														
PE														
PS														
NIC														

L	1.7	1.6	1.5	1.4	1.3	1.2	1.1	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7
Mov.														
Furca														
SS														
PE														
PS														
NIC														

V	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
Mov.														
Furca														
SS														
PE														
PS														
NIC														

L	4.7	4.6	4.5	4.4	4.3	4.2	4.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7
Mov.														
Furca														
SS														
PE														
PS														
NIC														

 13-01-2021

