



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**DESCRIPCIÓN DE LA MICROBIOTA SUBGINGIVAL  
DE SUJETOS CON DIABETES TIPO 2 DE DIAGNÓSTICO  
TEMPRANO.**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**CIRUJANA DENTISTA**

P R E S E N T A:

KARLA MONSERRAT RAMÍREZ BAUTISTA

**TUTORA:** Dra. ADRIANA PATRICIA RODRÍGUEZ  
HERNÁNDEZ

Vo.Bo.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece al Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México, ya que, gracias al apoyo del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT-IA203622-2022 de la Dirección General del Personal Académico, se pudo desarrollar el presente proyecto.

Se agradece la colaboración al Centro de Atención Integral del Paciente con Diabetes (CAIPaDi) del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), bajo la coordinación del Dr. Sergio Hernández, para el desarrollo del presente proyecto.

Particularmente se agradece a las especialistas en Periodoncia e Implantología: Mtra. Sofía Ríos Villavicencio y Esp. Arely Hernández Jasso, del área dental de CAIPaDi y académicas de la Facultad de Odontología de la UNAM, por su colaboración en la captura de expediente clínico y muestras microbiológicas para el desarrollo del presente proyecto.

Un especial agradecimiento a la Laboratorista Leticia Cruz Fonseca, por su invaluable colaboración para la elaboración de la técnica de Checkerboard en el Laboratorio de Genética Molecular.

Mi más sincero agradecimiento a la Dra. Adriana Patricia Rodríguez Hernández, por apoyarme en la realización de este trabajo, por su paciencia y dedicación. Que sin su ayuda no sería posible este proyecto, por ayudarme a desarrollar mis capacidades en el laboratorio e investigación.



## **DEDICATORIA**

A mí mamá Raquel, por siempre estar a mi lado y creer en mí, por ser mi aliada en la vida, por ser una mamá amorosa y justa.

A mí tía Blanquita y mamá Leo, por enseñarme la importancia de la familia, por siempre estar atentas a mis necesidades y cuidarme. Gracias por que a través de tus cuidados he llegado hasta esta etapa de mi vida.

A mis hermanas, Cynthia y Ximena, gracias por todo lo que hemos vivido juntas, por ser pacientes conmigo y mostrarme su amor cuando más lo necesito.

A mi amor Lenin, por siempre protegerme y expandir mi conocimiento de la vida y la filosofía, por brindarme el amor y la compañía en momentos buenos y malos, por tu paciencia.

A mi papá Jesús, por enseñarme la resiliencia ante las adversidades y las personas que me rodean, a ser una mujer con carácter, me enseñaste a perdonar.



<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>II. ANTECEDENTES .....</b>	<b>4</b>
2.1 Diabetes Mellitus (Generalidades) .....	4
2.1.1 Patogenia de Diabetes Mellitus Tipo 2 .....	5
2.2 Periodontitis (Generalidades) .....	6
2.2.1 Clasificación actual de las enfermedades periodontales.....	7
2.2.2 Patogenia de la periodontitis.....	9
2.3 Relación bidireccional entre DMT2 y periodontitis .....	10
2.4 Microbiota subgingival.....	11
2.5 Microbiota subgingival en sujetos de estudio con DMT2.....	12
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>14</b>
<b>IV. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>14</b>
<b>V. HIPÓTESIS.....</b>	<b>15</b>
<b>VI. OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
6.1 Objetivo general .....	15
6.1 Objetivos específicos .....	15
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
7.1 Diseño experimental .....	16
7.2 Población de estudio .....	16
7.2.1 Criterios de selección.....	17
7.3 Evaluación clínica .....	18
7.4 Evaluación microbiológica.....	19
7.4.1 Recolección y procesamiento de muestras.....	20
7.4.2 Especies bacterianas y condiciones de cultivo para “Checkerboard” .....	21
7.4.3 Purificación de DNA y preparación de sondas .....	21
7.4.4 Hibridaciones DNA-DNA. ....	22
7.4.5 Detección y cuantificación de microorganismos .....	23



<b>VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS.....</b>	<b>24</b>
<b>IX. RESULTADOS .....</b>	<b>27</b>
9.1 EVALUACIÓN CLÍNICA .....	27
9.1.1 Descripción de datos generales y periodontales.....	27
9.2 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA.....	29
9.2.1 Niveles bacterianos individuales.....	29
9.2.2 Prevalencia bacteriana individual.....	30
9.2.3 Proporción bacteriana individual.....	30
9.2.4 Proporción por complejos bacterianos.....	30
9.3 Comparación de sujetos con distinto estado metabólico .....	31
9.3.1 Hemoglobina glicosilada (HbA1c).....	31
9.3.2 Obesidad .....	32
9.3.3 Perfil Lipídico (Triglicéridos, colesterol, HDL, LDL, no-HLD, Índice Aterogénico).....	32
9.3.4 Riesgo a Neuropatía Autónoma Periférica y Relación Albúmina Creatinina .....	34
9.3.5 Características nutricionales y de actividad física de sujetos diabéticos. ....	34
9.3.6 Características clínicas metabólicas de sujetos que padecieron COVID-19	36
<b>X. DISCUSIÓN .....</b>	<b>37</b>
<b>XI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>44</b>
<b>XII. REFERENCIAS.....</b>	<b>46</b>
<b>XIII. TABLAS .....</b>	<b>52</b>
<b>XIV. FIGURAS .....</b>	<b>72</b>
<b>XV. ANEXOS.....</b>	<b>79</b>
ANEXO 1. Oficio de aceptación de la ENMIENDA (REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627).....	79
ANEXO 2. Carta de consentimiento informado para participar en el proyecto.....	80
ANEXO 3. Historia clínica para paciente de periodoncia.....	81
ANEXO 4. Ficha periodontal .....	82
ANEXO 5. Ficha para el registro de muestras y de antropometría. ....	83

---



## RESUMEN

En la actualidad existe poca información sobre las características de la microbiota subgingival de los sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, tomando en cuenta sus condiciones periodontales y los distintos factores endógenos que contribuyen al incremento de su severidad. **Objetivo:** Describir la microbiota subgingival de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, con diagnóstico de periodontitis y distintos grados de severidad, por medio de hibridaciones DNA-DNA. **Métodos:** 16 sujetos clasificados en periodontitis localizada (PL  $n=2$ ) y periodontitis generalizada (PG  $n=14$ ), sub agrupados en Perio 1 (PL, estadio II); Perio 2 (PG, estadio I y II); y Perio 3 (PG, estadio III y IV), fueron evaluados clínica, nutricional y microbiológicamente. Muestras de placa subgingival se evaluaron mediante la técnica de Checkerboard, para determinar niveles, cuentas y prevalencia de 40 bacterias y muestras de sangre periférica para determinar Hemoglobina glucosilada, obesidad (I-IV) y perfil lipídico (triglicéridos, colesterol, lípidos de alta densidad (HDL), lípidos de baja densidad (LDL), lípidos no-HDL, índice aterogénico (IA)), Riesgo de Neuropatía Autónoma Periférica (RNAP), Relación Albúmina Creatinina (RAC). **Resultados:** Para los sujetos con agrupación Perio 1 ( $n=2$ ), Perio 2 ( $n=7$ ) y Perio 3 ( $n=7$ ), el colesterol ( $p<0.05$ ) y el LDL ( $p<0.05$ ) mostraron una media mayor en Perio 3 y entre grupos Perio 1 vs. 3 y Perio 2 vs. 3, los  $NI\geq 5$  fueron mayores en Perio 3 ( $p<0.05$  y  $p<0.01$ ). El complejo verde predominó en grupos Perio 1 (7.4) y Perio 2 (11.4,  $p<0.05$ ) contra el grupo Perio 3 (4.4). La HbA1c  $<6.5\%$  se asocia con severidad III-IV, grado C de la periodontitis ( $p<0.05$  y  $p<0.001$ ) y Sangrado al sondeo ( $p<0.05$ ). Especies patógenas putativas se asocian al pobre control

lipídico: *F. alocis*: cuentas (Col.  $p<0.05$ ), prevalencia (Col. y no-HDL  $p<0.05$ ) y proporción (Col. y no-HDL  $p<0.001$ ), a RAC  $>30\text{mg/mg}$ : *P. intermedia*\_cuentas y *P. endodontalis*\_prevalencia ( $p<0.05$ ) y a consumo de grasas  $>45\%$ : *C. rectus* (Cuentas y prevalencia  $p<0.05$  y  $p<0.01$ ), *A. actinomycetemcomitans* stp. b (prevalencia y proporción  $p<0.05$ ), *P. loesheii*\_prevalencia ( $p<0.05$ ) y *S. constellatus*\_proporción ( $p<0.05$ ).

**Conclusión:** Los sujetos evaluados con DMT2 de diagnóstico temprano y periodontitis, presentaron mayor extensión y severidad principalmente en el grupo Perio 3 asociado a un Pobre control de Hemoglobina glucosilada. Adicionalmente, el pobre control de colesterol, no-HDL y consumo de grasas, se asocia a especies patógenas putativas, mientras que la menor severidad de la periodontitis y un adecuado control metabólico se asocia a especies del complejo de amarillo y verde. Finalmente, los pacientes con DMT2 que padecieron COVID en los últimos 24 meses, presentaron un mejor control metabólico y equilibrio bacteriano subgingival, posiblemente derivado de los cuidados en el hogar.

## I. INTRODUCCIÓN

La periodontitis es considerada la sexta de las principales complicaciones causada por la diabetes. Adicionalmente, existe una relación manifiesta entre las infecciones bucales severas como la periodontitis y la DMT2. Diversos estudios han demostrado que la DMT2 incrementa la prevalencia, incidencia y severidad de la periodontitis.

En la actualidad existe poca información sobre las características de la microbiota subgingival de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, tomando en cuenta sus condiciones periodontales y los distintos factores endógenos que contribuyen al incremento de su severidad.

La literatura sugiere que las variantes microbiológicas podrían ser utilizadas como marcadores de riesgo tanto para la periodontitis como para la diabetes tipo 2 (DMT2), sin embargo, existen escasos reportes que describan la microbiota subgingival de sujetos mexicanos con diabetes tipo 2 de reciente diagnóstico. Se han identificado perfiles microbiológicos subgingivales asociadas a modificadores endógenos, cuyas propiedades microbiológicas no han sido explicadas, por lo tanto, en el presente estudio se pretende describir la microbiota subgingival de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, con diagnóstico de periodontitis y distintos grados de severidad, por medio de la técnica de Checkerboard para hibridaciones DNA-DNA.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 DIABETES MELLITUS (GENERALIDADES)

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) se desarrolla por la pérdida progresiva de la secreción de insulina, de las células  $\beta$  del páncreas, generando resistencia a la insulina. La DMT2 es una enfermedad crónica cuyo manejo requiere tratamientos conductuales y farmacológicos para prevenir o retrasar las complicaciones y mantener la calidad de vida. Un sujeto con diabetes puede presentar un perfil con las siguientes características: familiar en primer grado con DMT2, sobrepeso u obesidad, dislipidemia, hipertensión arterial sistémica, síndrome de ovario poliquístico, acantosis *nigricans* o acrocordones y esteatosis hepática. Según los lineamientos internacionales, el diagnóstico de diabetes se establece bajo las siguientes condiciones: glucemia en ayunas  $\geq 126$  mg/dl, glucemia de 200 mg/dl en cualquier momento, asociada a síntomas de hiperglucemia (polidipsia, polifagia, poliuria, pérdida de peso) y hemoglobina glucosilada  $>6.5\%$  siempre y cuando se diagnostique con un método estandarizado (1, 2).

La DM se puede clasificar en las siguientes categorías generales (3):

- Diabetes Mellitus tipo 1 (DMT1): Cuando existe una destrucción de las células  $\beta$  y esto conduce a la ausencia de la producción de insulina.
- Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2): Debido a la producción deficiente de insulina o resistencia de las células a la insulina.
- Diabetes Mellitus gestacional: Se diagnostica durante el segundo o tercer trimestre del embarazo.

- Diabetes mellitus por otras causas: Por ejemplo, uso de fármacos o químicos como glucocorticoides, medicamentos para VIH/SIDA, e inmunosupresores.

La diabetes es una enfermedad epidémica mundial. Se estima que actualmente existen más de medio millón de niños de 14 años o menos que viven con diabetes tipo 1, se calcula que hay 415 millones de adultos entre 20 y 79 años con diabetes tipo 2 en todo el mundo, incluidos 193 millones que no están diagnosticados. Se estima que otros 318 millones de adultos presentan alteraciones de la tolerancia a la glucosa, lo que los pone en alto riesgo de desarrollar la enfermedad. A finales del 2015 la diabetes causó 5 millones de muertes. Si no se frena este aumento, en el 2040 habrá 642 millones de personas que viven con la enfermedad (4).

### ***2.1.1 Patogenia de Diabetes Mellitus Tipo 2***

En la diabetes mellitus tipo 2, la secreción de insulina es inadecuada debido a que se desarrolla resistencia a la insulina. La resistencia hepática a la insulina inhibe la supresión de la producción de la glucosa hepática y la resistencia periférica a la insulina afecta la absorción periférica de la glucosa, esto da como resultado la hiperglucemia en ayunas y posprandial. Cuando la enfermedad se encuentra más avanzada, la exacerbación de la hiperglucemia aparece, porque la secreción de insulina falla y no puede compensar la resistencia de la insulina (5).

La obesidad y el aumento de peso son determinantes sustanciales de la resistencia a la insulina. La incapacidad para suprimir la lipólisis en el tejido adiposo incrementa las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres, que pueden comprometer el transporte

de glucosa estimulado por la insulina y la actividad del glucógeno sintasa muscular. Tomando en cuenta que el tejido adiposo puede funcionar como un órgano endocrino que libera múltiples factores como la adiponectina, capaz de influir de manera favorable o producir factores desfavorables como el factor de necrosis tumoral-alfa, interleucina-6, leptina y resistina sobre el metabolismo de la glucosa (6).

## **2.2 PERIODONTITIS (GENERALIDADES)**

La periodontitis se refiere a la enfermedad que afecta el periodonto y que han sido considerada como una enfermedad inflamatoria crónica de origen multifactorial (7, 8). Esta presenta como factor etiológico primario la placa dentobacteriana o biofilm altamente organizada en un nicho ecológico favorable para su crecimiento y desarrollo (**figura 1**), la cual se ve potencializada por factores ambientales como falta de higiene oral y sistémicos o endógenos como son: diabetes, hipertensión, síndrome metabólico etc., provocando la disbiosis de la biopelícula y a su vez, el incremento en la respuesta inmunológica, que lleva a la destrucción de los tejidos de soporte del diente. Las principales manifestaciones clínicas de la periodontitis son: sangrado gingival, movilidad dental, recesión gingival, formaciones de bolsas periodontales y pérdida dentaria (7). Las enfermedades periodontales afectan hasta un 50% de la población mundial. La gingivitis es la forma más leve de las enfermedades periodontales y se presenta en todas las poblaciones. La periodontitis afecta al 50% de los adultos en Reino Unido y en Estados Unidos y en estado avanzado afecta aproximadamente al 11% de la población mundial (9).

### ***2.2.1 Clasificación actual de las enfermedades periodontales***

Existe una nueva clasificación que permite realizar un diagnóstico periodontal más específico y que ayuda a un tratamiento periodontal integral, que además se extiende a aspectos preventivos y personalizados. Esta clasificación fue presentada en el año 2018 por la Academia Americana de Periodontología (AAP) y la Federación Europea de Periodontología (FEP), esta se centra en las características del sujeto de estudio y sus estadios, tomando en cuenta su situación sistémica e incluyendo las enfermedades periimplantarias. La nueva clasificación presentó cuatro grupos que se conforman por grupo 1: salud periodontal, enfermedades y condiciones gingivales; grupo 2: periodontitis; grupo 3: enfermedades sistémicas y condiciones que afectan el tejido de soporte periodontal; grupo 4: enfermedades y condiciones periimplantarias (7).

Todos los grupos presentan subclasificaciones que ayudan a un diagnóstico más certero. El grupo 1 se subclasifica en salud gingival y periodontal que incluye a sujetos con: (a) salud clínica gingival con un periodonto intacto y (b) sujetos con salud clínica gingival con un periodonto reducido, que presentan dos variantes que son: sujetos con periodontitis estable y sujetos sin periodontitis. Así mismo, el grupo 1 incluye la gingivitis inducida por biopelícula dental, que a su vez presenta tres divisiones que son: (a) asociada con biopelícula dental únicamente, (b) mediada por factores de riesgo locales o sistémicos, y (c) crecimiento gingival inducido por medicamentos. Por último, están las enfermedades gingivales no inducidas por biopelícula que se subdividen en: (a) desordenes genéticos y de desarrollo, (b) infecciones específicas, (c) condiciones inmunes e inflamatorias, (d) procesos reactivos, (e) neoplasias, (f) enfermedades endócrinas nutricionales y metabólicas, (g)

lesiones traumáticas, y (h) pigmentación gingival. En cuanto al grupo 2 que engloba tipos de periodontitis, tenemos 3 subclasificaciones, la primera comprende a las enfermedades periodontales necrotizantes que a su vez se subdividen en: (a) gingivitis necrotizante, (b) periodontitis necrotizante, y (c) estomatitis necrotizante. La siguiente subclasificación es la periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas. Y por último la tercera subclasificación que es la periodontitis que está subdividida por: (a) estadios que se basan en la severidad y complejidad de su manejo, existen 4 estadios: el estadio I, que es la periodontitis inicial; el estadio II, que es la periodontitis moderada; el estadio III, que se refiere a periodontitis severa con potencial pérdida adicional de dientes; y estadio IV, periodontitis severa con potencial pérdida de la dentición. (b) distribución y extensión que se refiere a si la periodontitis es localizada, generalizada o distribución inciso-molar, y (c) que es el grado de la periodontitis que describe la evidencia o riesgo para una rápida progresión y la respuesta a un tratamiento anticipado que se divide en tres grados: grado A, que es un ritmo lento de progresión; grado B, ritmo moderado de progresión; y grado C, ritmo rápido de progresión. El grupo 3 se refiere a las manifestaciones periodontales de enfermedades sistémicas y condiciones adquiridas y del desarrollo que se subclasifican en: (1) enfermedades sistémicas o condiciones que afectan los tejidos de soporte periodontal; (2) otras condiciones periodontales que engloban: (a) abscesos y (b) lesiones endoperiodontales; (3) deformidades mucogingivales y condiciones alrededor del diente que se dividen en: (a) fenotipo gingival, (b) recesión de tejidos gingivales suaves, (c) carencia gingival, (d) disminución de la profundidad vestibular, (e) frenillo aberrante/posición muscular, (f) exceso gingival, (g) color anormal, y (h) condición de la exposición de la

superficie radicular; (4) fuerzas oclusales traumáticas que incluyen: (a) trauma oclusal primario, (b) trauma oclusal secundario, y (c) fuerzas ortodónticas; (5) prótesis y factores relativo a los dientes que modifican o predisponen a la periodontitis/enfermedades gingivales inducidas por placa que se organizan en: (a) factores relacionados a la localización de los dientes y (b) factores relacionados a la localización de prótesis dentales. Y por último tenemos al grupo 4 que involucra 4 subclasificaciones que fueron: (1) salud periimplantaria; (2) mucositis periimplantaria; (3) peri-implantitis, y (4) peri-implantitis de tejidos blandos y deficiencias de tejidos duros (10).

Esta nueva clasificación es de suma importancia para la periodoncia ya que establece criterios de clasificación que permiten entender, comparar, ordenar y jerarquizar las enfermedades periodontales (8).

### ***2.2.2 Patogenia de la periodontitis***

El inicio de la periodontitis se da por una disbiosis de la microbiota oral comensal causando una respuesta inflamatoria no específicas por la producción de citocinas proinflamatorias en los tejidos periodontales. Si la respuesta del sistema inmunológico es efectiva puede restablecerse la salud periodontal, por el contrario, puede iniciarse una periodontitis si la respuesta inmunológica es inadecuada o está alterada. Por lo tanto, algunas especies de los géneros de las bacterias presentes en la biopelícula subgingival (*Eubacterium*, *Campylobacter*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella* y *Treponema*, entre otros géneros) son el primer factor etiológico en la periodontitis (11).

Existen algunos factores locales que aumentan el riesgo de padecer enfermedades periodontales, como son: la higiene bucal, lesiones de furca, sobreposiciones dentales, prótesis dentales o restauraciones desajustadas. Además, la severidad de la periodontitis también dependerá de factores de riesgo ambientales y propios del huésped, estos se clasifican en: (a) modificables, que engloba los siguientes factores; (1) los estilos de vida como tabaquismo y alcoholismo; (2) factores metabólicos como diabetes, síndrome metabólico y obesidad; (3) dietéticos como deficiencia en la dieta de calcio o vitamina D, y (4) socioeconómicos y estrés. Por último, (b) no modificables, que comprenden: (1) perfil genético; (2) sexo y edad, y (3) enfermedades sistémicas como la leucemia y osteoporosis (11).

### **2.3 Relación bidireccional entre DMT2 y periodontitis**

La periodontitis es considerada la sexta de las principales complicaciones causada por la diabetes. Existe una relación manifiesta entre las infecciones bucales severas y la DMT2. Diversos estudios han demostrado que la DMT2 incrementa la prevalencia, incidencia y severidad de la periodontitis. La asociación entre la periodontitis y la diabetes depende de la patogenicidad en donde las complicaciones de la diabetes pueden ser modificadores de la presentación de la enfermedad periodontal (12, 13).

Las infecciones crónicas alteran el estado metabólico endócrino dificultando el control glucémico. Las infecciones bacterianas producen resistencia de los tejidos a la insulina al estimular la secreción de citosinas, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interleucina-1b, que disminuyen la acción de la insulina sobre los tejidos. Las infecciones

provocan resistencia a la insulina y el pobre control de la diabetes favorece al estado de hiperglucemia, esto provoca complicaciones diabéticas. Los sujetos con DMT2 con periodontitis presentan una elevación de citosinas proinflamatorias que se traducen en un aumento a la resistencia insulínica provocando dificultad en el control de la glucemia. Se ha observado que la reducción en la inflamación periodontal ayuda a disminuir los niveles séricos de mediadores de la inflamación, esto disminuye los niveles glucémicos. La asociación bidireccional entre la DMT2 y la periodontitis nos indica que la prevalencia de diabetes es mayor en sujetos con enfermedad periodontal que en sujetos periodontalmente sanos (14, 15).

#### **2.4 MICROBIOTA SUBGINGIVAL**

La superficie dental provee un sustrato estable para la colonización bacteriana en la cavidad bucal. Hoy en día, se sabe que el microbioma oral humano comprende un poco más de 700 especies bacterianas, de las cuales 200 de ellas presentan una población dominante. La importancia de la presencia de las biopelículas en el ecosistema oral es su papel para mantener la homeostasis de la salud oral, ya que la presencia de enfermedades como la gingivitis y periodontitis son la manifestación patológica de la respuesta del huésped, en respuesta al incremento en la carga bacteriana de las biopelículas de la superficie dental y el espacio subgingival (16-18). La biopelícula dental se puede identificar agrupada por complejos bacterianos: (a) complejo amarillo, lo forman especies del género *Streptococcus* como: *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* y *Streptococcus intermedius*; (b) complejo verde, se encuentran especies como *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*,

*Campylobacter concisus*, *Eikenella corrodens* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* stp. A; (c) complejo morado, formado por especies como *Veillonella parvula* y *Actinomyces odontolyticus*; (d) complejo naranja, considerado el complejo que comprende colonizadores llamados puente o secundarios como especies *Fusobacterium* y subespecies, *Parvimonas micra*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter showae*, *Eubacterium nodatum* y *Streptococcus constellatus*; (e) complejo rojo, formado por los llamados periodonto patógenos como *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*. Existen otras especies que no pertenecen a ningún complejo como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* stp. b, *Selenomonas noxia*, *Actinomyces viscosus*. Cada complejo se encuentra fuertemente asociado entre sí de tal manera que, dentro de los complejos amarillo y de *Actinomyces*, se encuentran las especies pioneras de la superficie dental o colonizadores primarios, los complejos morados, verde y naranja están formados por especies llamadas colonizadores puente o secundarios, y finalmente el complejo rojo formado por especies llamadas colonizadores tardíos y que son patógenos periodontales (**figura 2**) (19).

## 2.5 MICROBIOTA SUBGINGIVAL EN SUJETOS DE ESTUDIO CON DMT2

Algunos autores sugieren que la composición de la microbiota periodontal de sujetos con DMT2 es similar a la encontrada en sujetos con periodontitis crónica, sin compromiso sistémico, siempre y cuando el control metabólico de estos sujetos sea adecuado. En algunos estudios de 1988 en el que se analizaron la placa dentobacteriana de sujetos con periodontitis sin compromiso sistémico y sujetos con DMT2 se presentaron una alta prevalencia y proporción de especies como *P. gingivalis* y *P. intermedia* (20, 21). En otros

estudios con sujetos que presentaron DMT2 especies como *C. ochracea* y *Capnocytophaga granulosa* se presentaron como principales patógenos (22). En estudio más recientes se reportó la identificación de altos niveles de especies patógenas putativas como *P. nigrescens* y altos niveles de especies relacionadas a la salud periodontal como *Streptococcus sanguinis*, *S. oralis* y *S. intermedius* (23). Algunos estudios por secuenciación de la fracción 16S rRNA, reportaron una prevalencia significativamente mayor en especie patógenas putativas como *Aggregatibacter* sp b., *Selenomonas*, *Fusobacterium nucleatum*, *E. corrodens*, y baja frecuencia de especies periodontopatógenas reconocidas como *Porphyromonas*, *Filifactor*, *Eubacterium*, *Synergistetes*, *Tannerella* y *Treponema* en sujetos con DMT2 (24). En un estudio con la técnica microbiológica de Checkerboard mostraron mayor número de cuentas bacterianas de patógenos putativos como *C. gracilis*, *P. micra*, *P. nigrescens*, *S. noxia*, *S. constellatus* y especies compatibles con salud periodontal como *Streptococcus anginosus*, *S. gordonii*, *S. intermedius*, *Streptococcus mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis* y *V. parvula*, esto se encontró en sujetos diabéticos con periodontitis crónica (25).

Las investigaciones sugieren que la baja proporción de especies patógenas periodontales y la alta proporción de especies putativas e inclusive de especies compatibles con salud periodontal, podrían considerarse un perfil microbiológico para sujetos con DMT2 (25, 26).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La diabetes mellitus y la periodontitis son patologías que presentan una bidireccionalidad, al asociarse por su patogenia de carácter inflamatorio. Por un lado, en diabetes mellitus tipo 2, los productos de glicosilación avanzada estimulan la activación de la inmunidad local desencadenando respuestas inflamatorias. Por otro lado, en la periodontitis existe disbiosis de la biopelícula. En la actualidad no se encuentran reportes que describan la disbiosis de la biopelícula dental en sujetos con DMT2 de reciente diagnóstico. Por esta razón es importante la descripción un perfil microbiológico y metabólico de sujetos con DMT2 en un diagnóstico temprano.

### **IV. JUSTIFICACIÓN**

En la actualidad existe poca información sobre las características de la microbiota subgingival de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, tomando en cuenta sus condiciones periodontales y los distintos factores endógenos que contribuyen al incremento de su severidad. Es importante estudiar las características microbiológicas de los sujetos con DMT2 previo a su control metabólico, para lograr dilucidar el estado metabólico que se encuentra presente, previo a cualquier tratamiento periodontal o su control glucémico. Lo que se desea en un futuro, es que se puedan mejorar las estrategias preventivas y clínicas específicas para sujetos con DMT2 conforme se modifica la evolución de su diabetes, tomando en cuenta sus características microbiológicas y metabólicas.

## **V. HIPÓTESIS**

La microbiota subgingival presentará disbiosis en sujetos con periodontitis, dónde las características de la microbiota dependerán del grado de severidad de la periodontitis y el control glucémico y lipídico de los sujetos evaluados.

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1 Objetivo general**

Describir la microbiota subgingival de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, con diagnóstico de periodontitis y distintos grados de severidad, por medio de la técnica de Checkerboard para hibridaciones DNA-DNA.

### **6.1 Objetivos específicos**

- Describir la características clínicas y periodontales de sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, con la finalidad de realizar una evaluación periodontal completa y así mismo dar un diagnóstico periodontal por medio de especialistas calibrados con fines de investigación periodontal.
- Describir las características metabólicas de sujetos del estudio con DMT2, con el objetivo de identificar los niveles de hemoglobina glucosilada y el perfil lipídico completo en las muestras de sangre plasmáticas.
- Describir las cuentas prevalencia y proporción de la microbiota subgingival de sujetos del presente estudio con periodontitis y distintos grados de severidad.
- Describir las características microbiológicas subgingivales del grupo de estudio mediante la técnica de Checkerboard para hibridaciones DNA-DNA, y relacionarlas con su estado periodontal y metabólico.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Estudio de tipo descriptivo, en el que se evaluaron muestras de placa subgingival para estudiar las cuentas, prevalencia y proporción microbiana, mediante la técnica de Checkerboard para hibridaciones DNA-DNA, en sujetos con Diabetes tipo 2 de diagnóstico temprano ( $\leq 5$  años), a quienes se les realizaron evaluaciones periodontales, radiográficas, metabólicas y microbiológicas completas.

### 7.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Los sujetos que se evaluaron en el presente estudio fueron sujetos del Centro de Atención Integral del Paciente con Diabetes (CAIPaDi) del Instituto nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ). Aprobado por el comité de Ética e Investigación del INCMNSZ (REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627) **(ANEXO 1)**

Un total de 16 sujetos que acudieron para su atención en CAIPaDi, se agruparon en sujetos con periodontitis y distintos grados de severidad. El propósito y naturaleza del estudio, incluyendo el tipo y procedimientos específicos para el registro de mediciones clínicas y recolección de muestras, fueron explicados a cada sujeto del estudio. Los sujetos recibieron una copia del consentimiento informado **(Anexo 2)** en el que se describió el protocolo del estudio que fue aprobado previamente por el comité de Ética del INCMNSZ **(Anexo 1)** y el convenio que se cuenta entre instituciones el sujeto de estudios en el proyecto. Se pidió a los sujetos que firmaran dicho documento, en el que se estableció su conocimiento del estudio y el deseo voluntario de participar. También, se le realizó una

historia clínica médica y dental (**Anexo 3**) y se le hizo de su conocimiento al sujeto, que no recibirían tratamientos adicionales al especificado en los protocolos previamente aprobados por CAIPaDi del INCMNSZ.

### ***7.2.1 Criterios de selección***

Se incluyeron en el estudio sujetos mexicanos de 18 a 70 años, con diagnósticos de diabetes mellitus tipo 2 ( $\leq 5$  años) estos sujetos presentaron mínimo 20 dientes naturales en su boca. Los criterios de selección para los sujetos sanos periodontales que se tomaron en cuenta eran la presencia  $< 10\%$  de sitios con sangrado al sondeo y la ausencia de sitios con profundidad al sondeo o de bolsa (PB)  $\geq 4$  mm y sitios con pérdida de inserción clínica o Niveles de Inserción (NI)  $< 2$  mm. Para los sujetos clasificados con periodontitis, se tomó en cuenta detección de pérdida de inserción clínica con PB (Profundidad de Bolsa)  $> 4$  mm en más del  $30\%$  de los dientes evaluados. Se describieron estadios (I, II, III y IV) y grados (A, B, C) de complejidad y severidad de la enfermedad periodontal, así como su distribución de acuerdo con la clasificación más actual.

Los criterios de exclusión fueron mujeres embarazadas o en lactancia, aquellos sujetos que consumieron antimicrobianos sistémicos de cualquier clase en los tres meses previos a su evaluación, los que presentaron condiciones sistémicas además de DMT2, que pudieran haber influido sobre el curso de severidad de la enfermedad periodontal tales como: hemofilia, enfermedades autoinmunes o inmunológicas, infecciones latentes, así como la presencia de complicaciones de la DMT2 como la pérdida de la visión, amputaciones, enfermedad renal terminal o infarto al miocardio. Se excluyeron, así mismo,

sujetos que presentaron oxigenación < 90 %, temperatura corporal > 37°C, con la finalidad de evitar riesgos en la salud general del sujeto y del especialista que lo atendió, o que hubieran padecido COVID-19 en los últimos 6 meses previos a su evaluación.

### **7.3 EVALUACIÓN CLÍNICA**

Un especialista clínico calibrado con fines de investigación periodontal que labora en el área odontológica de CAIPaDi evaluó a cada sujeto del estudio de manera periodontal en un periodontograma con fines de investigación clínica (**Anexo 4**). Todas las mediciones clínicas fueron tomadas en una sola visita y registradas de 6 sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, distolingual, lingual y mesiolingual), se tomaron en cuenta todos los dientes en la boca del sujeto, excluyendo los terceros molares. Los parámetros clínicos que se determinaron con medidas dicotómicas de ausencia (0) o presencia (1) fueron: 1. acumulación de placa (PLA\_0/1); 2. Enrojecimiento gingival (ENR\_0/1); 3. Sangrado al sondeo (SS\_0/1); 4. Supuración al sondeo (SUP\_0/1).

La acumulación de placa se evaluó sin revelador, con la punta de la sonda, calificando únicamente la placa supragingival presente por sitio. El enrojecimiento gingival se registró en el margen gingival considerando si el área interproximal pobre se encontraba inflamada, la valoración positiva la calificó el clínico evaluador con la comparación de los sitios sanos y no inflamados. El sangrado al sondeo y la supuración se evaluó al tiempo del sondeo, considerando la presencia positiva por cuadrante. Así mismo, se midió la profundidad de bolsa y el nivel de inserción, que se registró al milímetro más cercano utilizando una sonda periodontal “Carolina del Norte” (UNC) de 15mm de longitud con marcas en intervalos de

5 mm (Hu-Friedy, Chicago, IL). Estas medidas fueron registradas dos veces por el mismo clínico y el promedio de las dos mediciones se utilizó para el análisis de datos de acuerdo con la literatura (27).

#### **7.4 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA**

Un clínico capacitado realizó la recolección de muestras de placa subgingival en cada sujeto de estudio y llenó la Ficha para el registro de muestras y de antropometría (**Anexo 5**). Las muestras de placa supragingival se obtuvieron secando y aislando el área de muestreo con rollos de algodón, la muestra se recolectó con una cureta Gracey estéril, posteriormente se colocó en un tubo para microcentrífuga de 1.5 ml que contenía 100  $\mu$ L de buffer TE con un pH de 7.6 (10Mm Tris-HCl, 1Mm EDTA). Cuando se obtuvo la muestra de placa se le agregó 100 $\mu$ L de NaOH (0.5, Sigma) a cada tubo y las muestras fueron dispersadas. En el momento que las muestras llegaron al laboratorio se comenzó con el proceso de fijación de las membranas (membrana de Nylon de carga positiva de 15 X 15 cm), primero los tubos con muestra fueron hervidos durante 10 min y el pH se neutralizó con 800 $\mu$ L de acetato de amonio (5M, Sigma). Las muestras fueron depositadas en una membrana colocada previamente en un Minislot-30, tomando como guía los 30 carriles que este presentó, cada carril fue previamente asignado a cada muestra, tomando en cuenta que los carriles 29 y 30 fueron destinados para 2 estándares microbiológicos de mezclas ajustadas a  $10^5$  y  $10^6$  células de DNA puro de todas las cepas bacterianas que fueron analizadas. Posteriormente las membranas se fijaron mediante entrecruzamiento con luz ultravioleta seguido por una incubación a 120 °C durante 10 minutos.

La técnica de Checkerboard permitió la identificación de 40 especies bacterianas (**Tabla 1**) en cada una de las muestras de placa dentobacteriana de los sujetos en un mismo experimento. Así mismo fue posible cuantificar los niveles (cuentas bacterianas x 10<sup>5</sup>), proporción (porcentaje del total de las cuentas de las sondas de DNA) y prevalencia (porcentaje de sitios colonizados), de cada una de las 40 cepas de referencia empleadas para la elaboración de sondas de DNA.

El procesamiento y el análisis de datos microbiológicos de las muestras fueron realizados en el Laboratorio de Genética Molecular que se encuentra en la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la Facultad de Odontología UNAM, bajo el cargo de la Dra. Laurie Ann Ximénez- Fyvie y como responsable del procesamiento microbiológico y procesamiento de datos del proyecto, a la Dra. Adriana Patricia Rodríguez Hernández. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la certificación ISO: 9001: 2015 del área, en servicios de Diagnóstico e Identificación Microbiológica <https://labgenmol-fo-unam.com/quienes-somos/certificaciones/>.

#### ***7.4.1 Recolección y procesamiento de muestras***

El manejo de muestras microbiológicas se describió en la documentación interna del área, dónde se especificó que las muestras finales contenían únicamente células lisadas de dónde se obtuvo el DNA para el análisis molecular, por lo que no implica un riesgo biológico para su transporte, una vez procesadas de acuerdo con el protocolo.

#### **7.4.2 Especies bacterianas y condiciones de cultivo para “Checkerboard”**

Las bacterianas de referencia, utilizadas en el presente estudio para la preparación de sondas de DNA se encuentra en la **tabla 1**. Todas las cepas fueron adquiridas como cultivos liofilizados del American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA). Las cepas liofilizadas fueron rehidratadas en caldo para *Mycoplasma* (Becton Dickinton, Microbiology Systems, BBLTM, Sparks, MD, USA) y cultivadas en medio enriquecido que contenía agar base para *Mycoplasma* (Becton Dickinton), 5µl/ml de hemina (Sigma-Aldrich), 0.3 µg/ml menadione (Sigma-Aldrich) y 5% sangre de carnero desfibrilada (Laboratorios Microlab, México, D.F.) en una temperatura de 35°C con un tiempo estimado de 3 a 7 días. Únicamente *Neisseria mucosa* se cultivó bajo condiciones aerobias, el resto de las especies bacterianas se cultivaron dentro de una cámara de anaerobiosis con ambiente de 80% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> y 10% H<sub>2</sub>.

#### **7.4.3 Purificación de DNA y preparación de sondas**

El crecimiento después de tres a siete días de cultivo fue recolectado y colocado en tubos para micro centrifugación de 1.5 ml con 1 ml de amortiguador TE pH 7.6. Las células se lavaron dos veces mediante centrifugación en el mismo amortiguador a 3,500 rpm durante 10 min. Posteriormente, fueron resuspendidas mediante sonicación durante 15 seg. y lisadas a 37°C durante 1 h ya sea con 10% SDS (Sigma-Aldrich) y proteinasa K (20 mg/ml, Sigma-Aldrich) para las especies Gram negativas, o con una mezcla enzimática de 15 mg/ml de lisozima (Sigma-Aldrich) y 5 mg/ml de Achromopeptidasa (Sigma-Aldrich) en amortiguador TE (pH 8.0) para las especies Gram positivas. El DNA fue aislado y purificado utilizando una técnica de purificación por medio de la metodología extracción de DNA

modificada del Instituto Forsyth Cambridge, MA, con el kit Master Pure™ (Epicentre®). La concentración de DNA se determinó mediante mediciones espectrofotométricas de la absorbancia a 260 nm. La pureza de las preparaciones fue valorada mediante el cálculo de la relación entre las mediciones de las absorbancias a 260 nm y 280 nm. Las sondas de DNA genómico fueron preparadas para las 40 especies bacterianas mediante el marcaje con digoxigenina (Roche) de 1 µg de DNA purificado utilizando la técnica de primers aleatorios (random primer technique) previamente descrita (28).

#### ***7.4.4 Hibridaciones DNA-DNA.***

Las membranas fueron prehibridizadas a 42°C durante una hora en solución de prehibridación con 50% de formamida (Sigma-Aldrich), 5x citrato salino estándar (SSC) (1x SSC: 150 mM NaCl, 15 mM citrato de sodio, pH 7.0. Sigma-Aldrich), 1% de caseína (Sigma-Aldrich), 5x solución Denhardt, 25 mM fosfato de sodio (pH 6.5. Sigma-Aldrich) y 0.5 mg/ml de RNA de levadura (Roche). La membrana con DNA fijado de las muestras se colocó en un miniblatter-45 (Immuntics) con los canales de las muestras rotados 90° en relación con los canales de hibridación. Las sondas de DNA se diluyeron a una concentración de aproximadamente 20 ng/ml en solución de hibridación (45% formamida, 5x SSC, 1x solución Denhardt, 20mM fosfato de sodio (pH 6.5), 0.2mg/ml de RNA de levadura, 1% caseína y 10% sulfato de dextrano, Sigma-Aldrich), colocadas en canales de hibridación individuales del Miniblatter-45 e hibridizadas durante 16 horas a 42°C con el aparato sellado dentro de una bolsa de plástico para evitar evaporación de las sondas de DNA. La concentración de cada sonda se ajustó mediante pruebas preliminares de ensayo y error para que todas las sondas detecten un rango de células entre 10<sup>4</sup> y 10<sup>7</sup>. Las membranas

fueron lavadas dos veces a alta astringencia durante 20 minutos a 68°C en buffer de fosfato (0.1x SSC y 0.1 % SDS) utilizando un baño con circulación.

#### ***7.4.5 Detección y cuantificación de microorganismos***

Las membranas se bloquearon mediante su incubación durante una hora en amortiguador bloqueador de 1% de caseína en amortiguador de maleato (100 mM ácido bórico, 150 mM NaCl, pH 7.5. Sigma-Aldrich). Los híbridos se detectaron mediante la incubando las membranas en una dilución de 1: 50,000 de anticuerpo contra digoxigenina conjugado a fosfatasa alcalina (Roche) utilizando la modificación previamente descrita. Después de ser lavadas, las membranas se incubaron en un agente quimioluminiscente de detección (CDP-Star, Roche) a 37°C durante una hora y las señales se detectaron mediante la exposición de las membranas a películas autoradiográficas dentro de cassettes, a temperatura ambiente durante 35 minutos. Las películas fueron reveladas siguiendo procedimientos estándar y posteriormente se escanearon con impresora multifuncional. Las señales se analizaron mediante un software especializado (Quantity One <sup>TM</sup>. BioRad) para determinar las cuentas bacterianas absolutas de cada especie en cada muestra, con base a los estándares a  $10^5$  y  $10^6$  células.

## VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Un total de 16 sujetos de estudio fueron incluidos para su evaluación clínica y microbiológica, mismos que se clasificaron de acuerdo con su condición periodontal, resultando 16 sujetos con Periodontitis, posteriormente se agruparon de acuerdo con la extensión de su enfermedad periodontal en: periodontitis localizada (PL, Perio 1 n=2), estadio 2, grado B y en periodontitis generalizada (PG, n=14) sub agrupados de acuerdo con su severidad y grado en Perio 2 (n= 7): estadio I y II y grado A-C y Perio 3 (n= 7) en estadio III y IV y grado A-C.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de los parámetros generales y metabólicos: edad (años), genero(0/1 femenino %), presión arterial alta (0/1, %), presión arterial baja (0/1, %), COVID-19 (0/1, %), diagnóstico de DMT2 (meses), control farmacológico de DMT2 (meses), índice de Masa Corporal (IMC kg/ m<sup>2</sup>), glucosa rápida en sangre (mg/ dl), Hemoglobina glicosilada (HbA1c, %), triglicéridos (mg/ 100 ml), colesterol (mg/ 100 ml), Lipoproteína de Alta Densidad (HDL mg/ dl), Lipoproteína de Baja Densidad (LDL mg/dl), índice aterogénico (IA LDL/ HDL), No-HDL (mg/ dl), Relación Albumina Creatinina (RAC g/ mg) y de cada valor se representaron Media (M), Error Estándar de la Media (EEM), Rango mínimo (Min.) y máximo (Máx.), **ver tabla 2 A.**

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de las características nutricionales y de actividad física de sujetos diabéticos: consumo de carbohidratos (%), consumo de proteínas (%), consumo de grasas (%), consumo energético (Kcal), Grasa visceral (VFA %), Masa Libre

de Masa (LBM %), ejercicio aeróbico días/ semana, ejercicio aeróbico por minutos/día y actividad física (pasos/día) **(tabla 2 A)**.

Los parámetros clínicos periodontales tales como: dientes perdidos, estadio (1-4), grado (1-3), niveles de inserción (NI  $\geq 5$  mm, NI 3-4 mm, NI 3-2 mm y NI  $< 2$  mm), profundidad de bolsa (PB mm), nivel de inserción (NI mm), porcentajes de sitios con acumulación de placa (PLA 0/1), enrojecimiento gingival (ENR 0/1), sangrado al sondeo (SAS 0/1) y supuración (SUP 0/1) se describieron con Media (M), Error Estándar de la Media (EEM), Rango mínimo (Min.) y máximo (Máx.) **ver tabla 2 B**.

Los datos clínicos fueron comparados entre grupos Perio 1 n= 2, Perio 2 n= 7y Perio 3 n= 7, por medio de las pruebas estadísticas U de Mann Whitney (UM) y Kruskal Wallis (KW) **(tabla 3 A)**. Se realizaron las comparaciones entre características generales, periodontales y de las cuentas, prevalencia, proporción individual y de la proporción por complejos de las 40 especies bacterianas entre los dos grupos de periodontitis localizada (n=2) y periodontitis generalizada (n=14), **ver tablas 4, 5, 6, 7**, así como entre grupos Perio 1 n= 2, Perio 2 n= 7 y Perio 3 n= 7, por medio de las pruebas estadísticas U de Mann Whitney (UM) y Kruskal Wallis (KW), **ver tablas 8, 9,10 y 11**.

Por otro lado se realizó la comparación entre los parámetros metabólicos donde se compararon los parámetros clínicos generales, periodontales y la microbiota subgingival de sujetos con distintas condiciones metabólicas de acuerdo con los rangos de referencia de CAIPaDi acorde con la literatura (1, 6, 29): HbA1c (Buen control  $< 6.5\%$  n= 6/ pobre control  $> 6.5\%$ ), obesidad (sin obesidad IMC  $< 30\%$ / Obesidad I - IV  $\geq 30\%$ ), triglicéridos (adecuado

control  $\leq 150$  mg/ dl/ pobre control  $> 150$  mg/ dl), colesterol (adecuado control  $\leq 180$  mg/dl/ pobre control  $> 180$  mg/ dl), HDL (adecuado control  $> 40$  mg/dl / pobre control  $\leq 40$  mg/dl), LDL (adecuado control  $\leq 100$  mg/dl/ pobre control  $> 100$  mg/ dl), No-HDL (adecuado control  $\leq 130$  mg/dl/ pobre control), IA (adecuado control  $\leq 3$ / pobre control  $> 3$ ), Riesgo a Neuropatía Autonómica Periférica ( RNAP adecuado control  $\leq 1$ / pobre control  $> 1$ ), RAC (controlada  $< 30$  g/ mg / no controlada control  $> 30$  g/ mg) (**tabla 12 A, B, C, D, E, F, G, H, I y J. Respectivamente para cada parámetro**), con distinto consumo nutricional: consumo de carbohidratos (adecuado consumo 40%-46%/ inadecuado consumo  $< 40\%$  o  $> 46\%$ ), consumo de proteínas (adecuado consumo 10-20%/ inadecuado consumo  $< 10\%$  o  $> 20\%$ ), consumo de grasas (adecuado consumo  $\leq 30\%$ / inadecuado consumo  $> 45$ ); con distinta actividad física: ejercicio aeróbico en días por semana (Adecuado  $\geq 6$  días por semana/ inadecuado  $< 6$  días por semana) **ver tabla 13** y por último, entre los sujetos que padecieron COVID-19 en los últimos 24 meses y los que no padecieron COVID-19 por medio de la prueba estadística Kruskal Wallis (KW) (**tabla 14**).

## IX. RESULTADOS

### 9.1 EVALUACIÓN CLÍNICA

#### *9.1.1 Descripción de datos generales y periodontales*

Se evaluó un total de 16 sujetos de estudio, que se clasificaron de acuerdo con su severidad y grado en Perio 1: 2 sujetos con periodontitis localizada, estadio II (Grado B); y 14 sujetos con periodontitis generalizada sub agrupados en Perio 2 (n=7): 1 sujeto con severidad estadio I (Grado B), 6 sujetos con severidad estadio II, (Grado B y C), y Perio 3 (n=7): 6 sujetos con severidad estadio III, (Grado B y C), y 1 sujeto con severidad estadio IV (Grado C).

La **tabla 2 A** representa los datos generales de los sujetos evaluados, clasificados en Periodontitis localizada (n=2) y generalizada (n=14). Ambos grupos presentaron un mayor porcentaje del género femenino (PL, 50 % y PG, 71.4 %) con edad  $\geq 39$  años (PL) y  $\geq 40$  años (PG). Todos fueron de origen mexicano (n= 16, 100%), con un diagnóstico temprano de Diabetes Mellitus tipo 2 (n= 16, 100%), la mayoría recibió control farmacológico para la DMT2 (PL= 100%, PG= 92.9 %), y con un IMC de 34.0 % (PL) y 29.36 % (PG).

Los dos grupos de periodontitis localizada y generalizada presentaron una distribución heterogénea en los parámetros clínicos generales con excepción del perfil lipídico, dónde No-HDL presentó una media mayor en el grupo de periodontitis generalizada,  $p < 0.05$  y M: 135.5, así como en los parámetros clínicos periodontales, NI 3 - 4 mm con mayor promedio en periodontitis generalizada  $p < 0.05$  y M: 14.8, ver **tabla 2 B**.

En la **tabla 3 A** se realizó una segunda agrupación de los sujetos de estudio, para que presentaran una distribución más homogénea en la “n”, donde se agruparon de acuerdo con su extensión y estadio (basándose en la clasificación de la periodontitis 2018) (10), en 3 grupos principales: Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n= 7) y Perio 3 (n= 7). Las diferencias significativas que se presentaron al comprar los grupos fueron: colesterol en Perio 1 (M: 134) vs. Perio 2 (M: 189.4),  $p<0.05$ ; LDL Perio 1 (M: 62.5) vs. Perio 2 (M: 114.6),  $p<0.05$ ; y el porcentaje de consumo de carbohidratos: Perio 1 (M: 39.5) vs. Perio 2 (M: 48.9),  $p<0.05$ . Los tres parámetros previos presentaron una media mayor en el grupo Perio 2. Se obtuvieron diferencias significativas en colesterol en Perio 1 (M: 134) vs. Perio 3 (M: 146),  $p<0.05$ ; y LDL Perio 1 (M: 62.5) vs. Perio 3 (M: 78),  $p<0.05$ , ambos con una media mayor en el grupo Perio 3. Al comprar el grupo Perio 2 (M: 134) vs. Perio 3 (M: 146),  $p<0.05$ ; se encontró la única diferencia en género.

En la **tabla 3 B**, se describen los datos clínicos periodontales. Las diferencias significativas que se presentaron en estadio ( $p<0.01$  KW), grado ( $p<0.05$  Perio1 vs. Perio 3) y extensión ( $p<0.001$  KW), denotando la distribución heterogénea de los tres grupos Perio, ya que fueron clasificados según su extensión y estadio. Los NI  $\geq 5$  mm no presentaron diferencias en la comparación entre los grupos Perio 1 y Perio 2, sin embargo, en las comparaciones entre grupos Perio 1 (M:0.50) vs. 3 (M:0.29),  $p< 0.05$ ; y Perio 2 (M:0.29) vs. 3 (M: 12.86),  $p< 0.01$ , la media fue mayor en el grupo Perio 3, denotando una mayor severidad de la Periodontitis en este grupo, muy similar a como se presentaron las diferencias en los NI entre grupos ( $p<0.05$ ), dónde el grupo con mayor severidad fue el grupo Perio 3 (NI= 1.88).

## 9.2 EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA

### 9.2.1 Niveles bacterianos individuales

En la **tabla 4 y figura 3 A** al comparar los grupos de periodontitis localizada y periodontitis generalizada se observó que las cuentas totales fueron de una distribución homogénea y no se presentaron diferencias significativas en las cuentas totales promedio. Por otro lado, en la **tabla 5** en la que se presenta la prevalencia de los dos grupos de periodontitis, se observó una diferencia significativa de la especie *Propionibacterium acnes* ( $p < 0.05$ ), con la media mayor en el grupo de periodontitis localizada (66.1%) en comparación del grupo de periodontitis generalizada (24.32 %). Por último en la **tabla 6 y 7** que presentó la proporción promedio de las 40 especies bacterianas y la proporción promedio de los complejos bacterianos respectivamente, no se observó ninguna diferencia significativa, sin embargo se destaca que en la **tabla 7** de complejos bacterianos, se observan las medias aumentadas de los complejos *Actinomyces* sp (M: 10.9 PL vs. M: 6.3 PG); amarillo (M: 9.5 PL vs. M: 9.1 PG); morado (M: 7.3 PL vs. M: 4.0 PG); y naranja (M: 28.2 PL vs. M: 25.8 PG), en Periodontitis localizada, y la media del complejo verde (M: 7.9 PG vs M: 7.4 PL); y rojo (M: 12.7 PG vs. M: 11.2) fue mayor en periodontitis generalizada.

Derivado de la sub agrupación por grupos Perio 1, 2 y 3, se describe en la **tabla 8** las cuentas bacterianas totales  $\times 10^5$ , donde no se presentaron diferencias significativas, sin embargo, en la **figura 3 B y figura 4** se puede observar que el grupo Perio 3 presenta un mayor número de cuentas totales (Perio 1 M: 122.6, Perio 2 M: 112.4, y Perio 3 M: 127.9).

### **9.2.2 Prevalencia bacteriana individual**

La prevalencia entre los grupos Perio 1, 2 y 3; las pudimos observar en la **tabla 9 y figura 5**, donde se presentaron algunas diferencias significativas en la comparación del grupo Perio 1 (M: 85.7) vs. 3 (M: 41.2),  $p < 0.05$  en la especie del complejo verde *Capnocytophaga sputigena*, con una media mayor en el grupo Perio 1; de la especies colonizadoras tempranas *Gemella morbillorum* Perio 1 (M: 80.4) vs. Perio 3 (M: 21.4),  $p < 0.05$ , con una media mayor en el grupo Perio 1; y *Streptococcus gordonii* Perio 1 (M: 58.8) vs. Perio 3 (M: 21.4),  $p < 0.05$ , con una media mayor en el grupo Perio 3.

### **9.2.3 Proporción bacteriana individual**

Los datos de la proporción promedio por especies individuales, se observan en la **tabla 10 y figura 6**, donde se obtuvieron diferencias significativas nuevamente en Perio 1 (M: 9.5) vs. Perio 3 (M: 0.4),  $p < 0.05$  de *Gemella morbillorum*, con una media mayor en el grupo Perio 1; y en Perio 1 (M: 0.5) vs. Perio 3 (M: 2.7),  $p < 0.05$  de la especie patógena putativa del complejo naranja *Streptococcus constellatus*, con una media mayor en el grupo Perio 3.

### **9.2.4 Proporción por complejos bacterianos**

En la **tabla 11 y figura 7** se presentan las proporciones promedio de los complejos bacterianos, dónde se encontró una diferencia significativa en Perio 2 (M: 11.4) vs. Perio 3 (M: 4.4),  $p < 0.05$  del complejo verde, con una media superior en el grupo Perio 1. Por otra parte, pudimos observar que a pesar de que el resto de los complejos no presentaron diferencias significativas, se puede observar que la media del complejo de *Actinomyces* sp. (Perio 1 M: 10.9, Perio 2 M: 7.2 y Perio 3 M: 5.4); complejo morado (Perio 1 M: 7.3, Perio 2

M: 4.0 y Perio 3 M: 3.9); y complejo Naranja (Perio 1 M: 28.2, Perio 2 M: 24.2 y Perio 3 M: 27.3), predominaron en el grupo Perio 1. Las medias que dominan el grupo Perio 2 fueron los complejos amarillo (Perio 1 M: 9.5, Perio 2 M: 10.4 y Perio 3 M: 7.8), y verde (Perio 1 M: 7.4, Perio 2 M: 11.4 y Perio 3 M: 4.4). Por último, se puede observar que el complejo rojo (Perio 1 M: 11.2, Perio 2 M: 9.3 y Perio 3 M: 16.1), presentó una media mayor en el grupo Perio 3.

### 9.3 COMPARACIÓN DE SUJETOS CON DISTINTO ESTADO METABÓLICO

#### 9.3.1 Hemoglobina glicosilada (HbA1c)

En la **tabla 12 A** se muestran las diferencias significativas entre sujetos con adecuado (HbA1c < 6.5 %, n= 10), y pobre control metabólico (HbA1c > 6.5 %, n= 6). Se observaron diferencias significativas dónde la agrupación de Perio 1, 2 y 3 ( $p < 0.05$ ) y el grado ( $p < 0.05$ ), presentaron mayor severidad en el grupo de pobre control de HbA1c > 6.5 %. Las diferencias encontradas en los parámetros periodontales fueron mayores sitios con NI < 2 mm en el grupo de buen control para la hemoglobina glucosilada ( $p < 0.05$  y HbA1c < 6.5 %, y HbA1c > 6.5 %) y mayor % de sitios con SAS en el grupo de pobre control hiperglucémico ( $p < 0.05$  y HbA1c < 6.5 %, y HbA1c > 6.5 %). Dentro de las diferencias microbiológicas, la proporción de las bacterias compatibles con salud periodontal como *A. georgiae*; *S. anginosus*; *S. oralis* y *S. sanguinis* ( $p < 0.05$ ) presentaron mayor proporción en el grupo de adecuado control hiperglucémico (HbA1c < 6.5 %).

### **9.3.2 Obesidad**

Comparando a los sujetos sin obesidad (n= 6) y los que presentaron obesidad (n= 10), se observan diferencias significativas en el peso ( $p < 0.05$ ); y en grasa visceral (VFA,  $p < 0.05$ ) con mayor porcentaje en sujetos con obesidad. Además de que pudimos observar mayor proporción de *S. constellatus* ( $p < 0.05$ ) en el grupo de sujetos sin obesidad, ver **tabla 12 B**.

### **9.3.3 Perfil Lipídico (Triglicéridos, colesterol, HDL, LDL, no-HDL, Índice Aterogénico)**

En la **tabla 12 C** se muestran las diferencias significativas del perfil lipídico con parámetros de adecuado control ( $T \leq 150$  mg/ dl, n= 9) y pobre control de triglicéridos ( $T > 150$  mg/ dl n= 7). En sujetos con pobre control de Triglicéridos se presentaron diferencias en RNAC ( $p < 0.05$ ,  $T \leq 150$  mg/ dl y  $T > 150$  mg/ dl); y RAC ( $p < 0.05$ ,  $T \leq 150$  mg/ dl y  $T > 150$  mg/ dl) con una media mayor para el pobre control de triglicéridos

En la **tabla 12 D** se muestran las diferencias significativas del perfil lipídico con parámetros de adecuado control (Col.  $\leq 180$  mg/ dl, n= 9) y pobre control de colesterol (Col.  $> 180$  mg/ dl n= 7). En sujetos con pobre control de colesterol, se presentaron diferencias con medias mayores para triglicéridos ( $p < 0.05$ ); LDL ( $p < 0.05$ ); IA ( $p < 0.05$ ); No-HDL ( $p < 0.01$ ); cuentas de *F. alocis*; prevalencia de *F. alocis* ( $p < 0.05$ ), proporción de *F. alocis* ( $p < 0.01$ ) y *N. mucosa* ( $p < 0.05$ ). En el adecuado control de colesterol se presentó una media mayor para HDL ( $p < 0.05$ ), contra el pobre control.

En la **tabla 12 E** las diferencias significativas observadas entre sujetos con adecuado control para HDL ( $HDL \geq 40$  mg/ dl, n= 11) contra el pobre control de HDL ( $HDL < 40$  mg/ dl,

n= 5) fueron en Glucosa rápida en sangre ( $p < 0.05$ ); e IA ( $p < 0.05$ ) con medias mayores para el pobre control. Y una mayor prevalencia de *C. gingivalis* ( $p < 0.05$ ) en sujetos con control de HDL.

En sujetos con LDL con buen control (LDL  $\leq 100$  mg/ dl, n= 8) contra sujetos con LDL de pobre control metabólico (LDL  $> 100$  mg/ dl: n= 8), se presentaron diferencias significativas en Colesterol ( $p < 0.01$ ), IA ( $p < 0.001$ ), no-HDL ( $p < 0.001$ ) y NI $<3$  ( $p < 0.05$ ) con medias mayores para el pobre control de LDL. Por otro lado, las cuentas y/o prevalencia de especies colonizadoras tempranas de la placa dental *C. showae*, *C. sputigena*, *E. nodatum*, *G. morbillorum* (cuentas y/o prevalencia  $p < 0.05$ ) presentaron mayor porcentaje en adecuado control metabólico de LDL (**tabla 12 F**).

Al realizar comparaciones entre sujetos con adecuado control (no-HDL  $\leq 130$  mg/ dl, n= 9) contra sujetos con pobre control de No-HDL (no-HDL  $< 130$  mg/ dl, n= 7), se presentaron medias significativamente mayores en colesterol ( $p < 0.01$ ), LDL ( $p < 0.01$ ), IA ( $p < 0.001$ ), alta prevalencia ( $p < 0.05$ ) y/o proporción de *F. alocis* ( $p < 0.01$ ), elevada proporción de *N. mucosa* ( $p < 0.05$ ) y medias significativamente menores para HDL ( $p < 0.05$ ) en sujetos con pobre control de no-HDL. En el buen control de no-HDL se presentó alta prevalencia de *C. showae* ( $p < 0.05$ ) **ver tabla 12 G**.

Al comparar sujetos con adecuado control de IA (IA  $\leq 3$ , n= 13) contra sujetos con pobre control de IA (IA  $> 3$ , n= 3), se presentaron medias significativamente mayores en presión arterial baja ( $p < 0.05$ ) y LDL ( $p < 0.05$ ) de sujetos con índice de riesgo aterogénico y medias significativamente mayores para buen control de IA en HDL ( $p < 0.05$ ), alta

prevalencia de *S. mitis* ( $p < 0.05$ ), elevada proporción de *C. ochracea* ( $p < 0.05$ ) y *S. intermedius* ( $p < 0.05$ ) (**tabla 12 H**).

#### **9.3.4 Riesgo a Neuropatía Autónoma Periférica y Relación Albúmina Creatinina**

Al comparar sujetos con adecuado control de RNAP ( $IA \leq 1$ ,  $n = 10$ ) contra sujetos con pobre control de RNAP ( $IA > 1$ ,  $n = 6$ ), se presentaron mayores cuentas de especies colonizadoras tempranas tales como *C. sputigena* ( $p < 0.05$ ) y *E. nodatum* ( $p < 0.05$ ) en el bajo índice de Riesgo Neurológico Autónomo Periférico (**ver tabla 12 I**).

En la Relación Albúmina Creatinina controlada ( $RAC \leq 30$  g/ mg,  $n = 13$ ) contra RAC no controlada ( $RAC > 30$ ,  $n = 3$ ) se presentaron mayores cuentas de especies patógenas putativas *C. gracilis* ( $p < 0.05$ ); *P. intermedia* ( $p < 0.05$ ); y mayor prevalencia de *P. endodontalis* ( $p < 0.05$ ) en el alto índice de RAC **tabla 12 J**.

#### **9.3.5 Características nutricionales y de actividad física de sujetos diabéticos.**

En la **tabla 13** se pueden observar las características nutricionales de sujetos diabéticos separados por un adecuado e inadecuado consumo de carbohidratos, proteínas, grasas y consumo total energético. En sujetos con consumo balanceado de carbohidratos (40-46%,  $n=4$ ), se pueden observar las diferencias significativamente menores en consumo de grasas ( $p < 0.05$ ) y en cuentas mayores de *A. a. b* ( $p < 0.05$ ), *C. rectus* ( $p < 0.05$ ), *C. matruchotii* ( $p < 0.05$ ) y *S. anginosus* ( $p < 0.05$ ). Por otro lado, se observan diferencias con mayor edad ( $p < 0.05$ ) y mayor proporción de *G. morbillorum* ( $p < 0.05$ ) en sujetos con un inadecuado consumo de carbohidratos (<40 % y >46 %,  $n=12$ ) **tabla 13**.

En el consumo inadecuado de proteínas (<10 y > 20 %, n=5), se observó una diferencia significativa de la proporción de *E. saburreum* ( $p < 0.05$ ). Y en los sujetos con un adecuado consumo de proteínas (10 – 20 %, n= 11), se presentaron mayores cuentas y prevalencia de *E. corrodens* ( $p < 0.05$ ) **tabla 13**.

En el consumo inadecuado de grasas (>45 %, n= 9), se observaron mayores cuentas bacterianas de *C. rectus* ( $p < 0.05$ ); mayor prevalencia de *A. a. b* ( $p < 0.05$ ), *C. rectus* ( $p < 0.01$ ), *P. loescheii* ( $p < 0.05$ ); y elevada proporción de *A. a. b* ( $p < 0.05$ ), todas especies patógenas putativas. En sujetos con bajo consumo de grasas ( $\leq 30$  %, n= 7), se observó diferencias significativamente mayores en el consumo de carbohidratos ( $p < 0.05$ ) y en la proporción de *S. constellatus* ( $p < 0.05$ ) **tabla 13**.

En la **tabla 13** se puede observar la actividad física de los sujetos diabéticos separados por su ejercicio aeróbico  $\geq 6$  días por semana (como adecuado) y < 6 días por semana como inadecuado (como inadecuado). Cuando los sujetos presentaron una adecuada actividad física (n=6) se encontró un adecuado control farmacológico de diabetes ( $p < 0.01$ ); mayores cuentas de *F. alocis* ( $p < 0.05$ ), de cuentas y prevalencia de *F. periodonticum* ( $p < 0.01$  y  $p < 0.05$ ), de cuentas de *S. intermedius* ( $p < 0.05$ ), de *S. mitis* ( $p < 0.01$ ), de *T. forsythia* ( $p < 0.05$ ), y *T. denticola* ( $p < 0.05$ ), alta prevalencia de *C. ochracea* ( $p < 0.05$ ) y alta proporción de *C. gracilis* ( $p < 0.01$ ). Cuando la actividad fue inadecuada (< 6 días, n=10), se observaron mayores cuentas de *A. israelii* ( $p < 0.05$ ); mayor proporción de *C. showae* ( $p < 0.05$ ); y mayor proporción promedio del complejo Naranja ( $p < 0.05$ ).

### **9.3.6 Características clínicas metabólicas de sujetos que padecieron COVID-19**

En la **tabla 14** se observan las diferencias significativas entre sujetos que padecieron COVID-19 en los últimos 24 meses (n= 7) y sujetos que no padecieron COVID-19 (n= 9), se presentaron diferencias significativas en glucosa en sangre ( $p < 0.05$ ); Col. ( $p < 0.05$ ); LDL ( $p < 0.05$ ); IA ( $p < 0.05$ ); y No- HDL ( $p < 0.05$ ) con medias mayores para sujetos que no padecieron COVID-19. Por lo contrario, en sujetos que padecieron COVID-19 se presentaron diferencias significativas mayores en cuentas bacterianas de especies compatibles con salud periodontal como *N. mucosa* ( $p < 0.01$ ) y *S. gordonii* ( $p < 0.05$ ); alta prevalencia de *S. mitis* ( $p < 0.05$ ); y alta la proporción de *C. ochracea* ( $p < 0.05$ ) y *S. intermedius* ( $p < 0.05$ ).

## X. DISCUSIÓN

De la total población de estudio, la clasificación por extensión indica que la mayoría de los sujetos evaluados, presentaron periodontitis generalizada. Sin embargo, se pudieron sub agrupar de acuerdo con su severidad, dónde los resultados clínicos periodontales mostraron diferencias significativas entre grupos de Perio 2 y 3 evaluados con la actual clasificación de las enfermedades periodontales en severidad I - II; y III - IV respectivamente (10), indicando que a mayor severidad (Perio 3: estadio III - IV) la población evaluada muestra mayor severidad de la periodontitis y mayor riesgo metabólico, por el pobre control de HbA1c y un perfil microbiológico más patógeno periodontal.

Dentro de las características clínicas observadas de acuerdo con la agrupación de periodontitis localizada (PL, n= 2) y periodontitis generalizada (PG, n= 14), fueron en el perfil lipídico No-HDL que es un parámetro para evaluar un alto riesgo de muertes por enfermedad cardiovascular como sugieren Contreras F. y col (30), lo cual puede indicar que los sujetos con periodontitis generalizada y DMT2 de diagnóstico temprano, presentan un mayor riesgo de padecer un incidente cardiovascular.

Nuevamente, para la clasificación por extensión (PL vs. PG) los NI > 3 mm, presentan mayor porcentaje para el grupo de periodontitis generalizada, como se establece en la guía de diagnóstico clínico periodontal de Pimchanok y col. (31). Posteriormente, los sujetos sub agrupados en Perio 1, 2 y 3 tomado en cuenta la clasificación de 2018 (10), mostraron diferencias metabólicas en perfil lipídico de colesterol y LDL, mayormente en el grupo Perio 2, por lo que se sugiere que estos sujetos puedan presentar un mayor índice de riesgo

cardiovascular (32). En cuanto a la pérdida de inserción clínica el grupo Perio 3 presentó mayor severidad de la periodontitis, al presentar mayor número de sitios con NI  $\geq$  5 (5).

En lo que respecta del análisis microbiológico de los grupos de periodontitis localizada contra generalizada, no se observaron diferencias significativas con excepción de la alta prevalencia de la especie *P. acnes* en Periodontitis localizada. Contradictorio a los presentes resultados, dicha especie se asocia a periodontitis progresiva (33) y quien fue agrupada en “otras” especies, al no asociarse con el resto de los complejos bacterianos (34), por otro lado, es una especie observada con alta prevalencia en sujetos con altos índices de hiperglucemia (33). En periodontitis localizada, adicionalmente, se observó una media mayor en los complejos bacterianos, asociados con salud periodontal como: *Actinomyces*, amarillo, morado y verde (34), esto puede referirse a que el grupo de PL, se encuentra más asociado a salud periodontal, al tener un bajo número de sitios con periodontitis (< 30%) sin embargo, el complejo de especies patógenas putativas “naranja” también se encontró en altas proporciones en periodontitis localizada, por lo que se sugiere que es un grupo con alto riesgo de presentar mayor extensión y severidad de la periodontitis debido a la presente disbiosis de la biopelícula dental como lo aseguran Socransky y col., (34). Haciendo notar que el complejo “rojo” bacteriano se observó en una mayor proporción en periodontitis generalizada, aunque no presentara diferencias significativas, sugiere el establecimiento de la periodontitis, con especies patógenas reconocidas con mayor severidad de la periodontitis, como refieren Graves AC. y col., (33).

Respecto al análisis microbiológico de los grupos Perio 1, Perio 2 y Perio 3, no se observaron diferencias significativas en los niveles totales de los tres grupos de periodontitis, en dónde sugiere que los sujetos de los tres grupos presentan una alta carga de microorganismos en la biopelícula subgingival, como aseguran Graves AC. y col.; y Socransky y col., (33, 35).

En la alta prevalencia de *C. sputigena* y *G. morbillorum* en el grupo Perio 1, se sugiere nuevamente, una microbiota asociada a un estado de mayor salud periodontal, como refieren Abusleme L. y col. (36). Al observar las medias de cada uno de los complejos, se encontraron algunos datos a resaltar, los complejos relacionados con salud periodontal (*Actinomyces sp.*, morado y verde), se encuentran más presentes en el grupo Perio 1, que es el de menor severidad. Por otro lado, la alta prevalencia de *S. gordonii*, y del complejo amarillo en el grupo Perio 3, es consistente con la literatura, donde predominan especies sacarolíticas en sujetos con DMT2, independientemente de su estado periodontal, como se observó en estudios previos de nuestro grupo de trabajo (25) y como asegura literatura previa con alta prevalencia de especies de *Streptococcus* (23) y *Capnocytophaga* (22).

Por otro lado, en el grupo Perio 3, se observó en mayor proporción a la especie *S. constellatus*, con altas proporciones del complejo naranja, especies patógenas putativas (34). Concordante con la literatura, dónde la presencia de especies putativas se asocian en mayor proporción a grupos de periodontitis con un estadio avanzado, como aseguran Abusleme L. y col. (36) y en grupos de sujetos con DMT2 y periodontitis(24).

En lo que respecta a las características metabólicas, los sujetos con adecuado control Hemoglobina glicosilada, del presente estudio, se asocian a menor pérdida de inserción clínica ( $NI < 2$ ), concordante con la literatura (37), así como con la alta proporción de especies de *A. georgiae*, *S. anginosus*, *S. oralis* y *S. sanguinis*, que son especies presentes en salud periodontal y colonizadores tempranos, como establece Socransky. y col. (35, 38). Por otro lado, los sujetos con pobre control de hemoglobina glucosilada se asocian a los grupos con mayor severidad periodontal Perio 2 y 3, al grado C y al sangrado al sondeo, esto nos puede indicar que a mayor severidad de la periodontitis, peor control de HgA1c, como refiere Philip M. y col. (37) y Pérez C. y col., este último en su estudio sobre la asociación de los parámetros de glucosa con el sangrado al sondeo (39).

Respecto al peso y el porcentaje de VFA con valores mayores en los sujetos con obesidad del presente estudio, estos dos parámetros se encuentran aumentados en sujetos con obesidad, como lo refieren Campos Mayoral y Reyes-Castillo, en su estudio sobre los subtipos de obesidad y biomarcadores (40) (41).

En cuanto a las características del perfil lipídico de los sujetos evaluados, únicamente los que presentaron un pobre control de triglicéridos tuvieron diferencias significativas en Riesgo de Neuropatía Autónoma Cardíaca y Relación Albumina Creatinina, por lo tanto, podemos sugerir que estos sujetos pueden presentar riesgo de enfermedades cardíacas (32, 42) y renales (43), como lo sugiere la literatura.

En los sujetos con un buen control de colesterol total, se observó una asociación con altos niveles de HDL, este parámetro representa parte del llamado colesterol “Bueno”, por

lo tanto, relacionado con salud cardio vascular. En el caso contrario, los sujetos con pobre control del colesterol total y no-HDL presentaron altos niveles de triglicéridos, LDL, IA, No-HDL, y altas cuentas totales de patógenos periodontales como *F. alocis*, con lo que se sugiere que los sujetos con pobre control de colesterol, presentan un mayor riesgo cardio vascular, como refieren Carr S. y col. (32) y predominó de una flora patogénica periodontal por la presencia de *F. alocis* (44).

Por otro lado, para el buen control de HDL se puede observar una asociación con *C. gingivalis*, especie colonizadora temprana del complejo verde (35) a menor control de HDL se observa un aumento de HbA1c y mayor riesgo cardiaco como asegura la literatura (45).

El adecuado control de parámetros como LDL se asoció con el tratamiento farmacológico adecuado y con adecuado control de colesterol, evaluados en los sujetos con DMT2 del presente estudio, concordante con la literatura (46). Por otro lado, el predominio de especies benéficas del complejo verde tanto en el buen control de LDL como de no-HDL, sugiere una flora menos patogénica, aunque sea sacarolítica, por la presencia de DMT2 (22). Así mismo se corroboró que el pobre control de LDL tendrá como resultado la alteración de perfiles lipídicos y un mayor índice aterogénico y cardiovascular como se asegura en la literatura (32) similar al alto índice aterogénico, asociado a un mayor riesgo cardiaco (47).

El Riesgo de neuropatía autonómica periférica (RNAP), referente a la probabilidad de sufrir daños en los nervios que controlan las funciones corporales autónomas periféricas, es común en sujetos con síndrome metabólico (con DMT2, obesidad e hipertensión),(42). Sin embargo, en los sujetos diabéticos del presente estudio, que presentaron índice de

RNAP alto, no se presentó ninguna alteración metabólica o microbiológica, únicamente la disminución de cuentas de *C. sputigena* y *E. nodatum*, lo cual no indica asociación con una microbiota patógena periodontal (44).

La relación albumina/ creatinina (RAC) es un marcador importante del daño renal, cuando sus valores se presentan aumentados, por lo que existe un mayor riesgo de sufrir una enfermedad renal (43). Los sujetos con DMT2 y alto índice de RAC presentaron predominio de especies patógenas putativas periodontales *C. gracilis* y *P. intermedia*, del complejo naranja, por lo tanto, podemos sugerir que, entre mayor riesgo a sufrir un daño renal, aumentara la presencia de especies patógenas putativas, por lo tanto, la periodontitis tiende a ser más severa (48).

En cuanto al consumo nutricional de los sujetos evaluados, el consumo desequilibrado de carbohidratos se asocia a una mayor edad, al aumento de *G. morbillorum*, sin embargo, esto no indica severidad de las enfermedades periodontales. Por otro lado, la disminución especies patógenas periodontales *A. a. b.*, y *C. rectus* asociadas a un consumo moderado de carbohidratos y el aumento de especies sacarolíticas *C. matruchotii* y *S. anginosus* (35) nos puede indicar que el consumo de carbohidratos puede asociarse a una flora más criogénica que patógena periodontal (49)

Por otro lado, el consumo inadecuado de proteínas y/o grasas, si se asocia a una microbiota más patogénica periodontal, por el aumento de especies putativas como *E. saburreum*, *C. rectus*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. loescheii* y *S. constellatus*. Sugiriendo

que principalmente el alto consumo de grasas está relacionado a un desequilibrio lipídico en nuestro organismo, esto conlleva a una disbiosis en la biopelícula (50).

Respecto a la actividad física, en sujetos con actividad aeróbica < 6 días, el complejo naranja presentó un aumento significativo. Sin embargo, no podemos explicar por qué los sujetos que realizan ejercicio  $\geq 6$  días por semana, presentan en general una alta presencia de especies patógenas del complejo rojo, patógenas putativas del complejo naranja y del complejo amarillo, quizá se tendría que investigar más a fondo sobre el consume energético y de grasas de sujetos con actividad física alta (51). Así mismo, se sugiere clasificar nuevamente a los sujetos evaluados de una manera menos estricta, como se hace para su tratamiento integral en CAIPaDi en el área de Nutrición, con ejercicio aeróbico moderado (3-5 días a la semana) y con actividad nula (0 días a la semana) (52).

Respecto a las características metabólicas y microbiológicas de los sujetos que padecieron COVID- 19, se observó un resultado poco esperado en que en general, la glucosa en sangre, el perfil lipídico y la microbiota subgingival, presentaron mayor equilibrio en sujetos que presentaron COVID-19 en los últimos 24 meses presentaron desequilibrio, esto es contradictorio a lo que sugiere la literatura en el que asociaron a la Periodontitis en sujetos con DMT2 y COVID-19 (53, 54). En los sujetos que padecieron COVID-19 del presente estudio, se observó la presencia de especies bacterianas compatibles con salud periodontal.

## **XI. CONCLUSIONES**

Los sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano y periodontitis, se pudieron clasificar de acuerdo con sus características clínicas y periodontales de acuerdo con la nueva clasificación en Periodontitis localizada y generalizada y posteriormente de acuerdo con su severidad y grado, sin embargo, se tuvieron que sub agrupar en Severidad I, II, III y IV, debido a la muestra obtenida en el presente estudio (N= 16).

A pesar de que sujetos con periodontitis localizada presentaron menor severidad en comparación con los sujetos con periodontitis generalizada, las diferencias microbiológicas presentadas fueron mínimas, no así para los parámetros clínicos como pérdida de inserción clínica y metabólicos como no-HDL que se asociaron al grupo de periodontitis generalizada.

Los sujetos evaluados con DMT2 de diagnóstico temprano y periodontitis, presentaron mayor extensión y severidad principalmente en el grupo Perio 3 asociado a un Pobre control de Hemoglobina glucosilada. Adicionalmente, el pobre control de colesterol, no-HDL y consumo de grasas, se asocia a especies patógenas putativas, mientras que la menor severidad de la periodontitis y un adecuado control metabólico se asocia a especies del complejo de amarillo y verde.

Las características nutricionales y actividad física influyeron en las características microbiológicas de los sujetos con DMT2 de diagnóstico temprano, dónde, el consumo alto de grasas se asocia a especies patógenas putativas, mientras que el bajo consumo de carbohidratos y proteínas se asocia a especies colonizadoras tempranas del complejo amarillo y verde.

Particularmente para el análisis metabólico y microbiológico de los sujetos que padecieron COVID-19, contra los sujetos que no padecieron COVID-19 en los últimos 24 meses de su evaluación, los sujetos que padecieron COVID-19 presentaron mejor control metabólico de glucosa rápida en sangre y perfil lipídico y aumento en especies compatibles con salud periodontal o colonizadoras tempranas, lo cual puede indicar que, la modificación nutricional durante el padecimiento de la enfermedad, y los cuidados en casa que llevaron todos los sujetos que padecieron COVID-19 del presente estudio, pudo mejorar el metabolismo y modificar la microbiota a una menos patogénica. Sin embargo, es un tema particular para estudiar a mayor profundidad en futuros estudios.

## XII. REFERENCIAS

1. Davies M, Aroda V, Collins B, Gabbay R, Green J, Maruthur N, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2022. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2022;1-42.
2. Nathan DM, Lachin JM, Balasubramanyam A, Burch HB, Buse JB. Glycemia Reduction in Type 2 Diabetes - Glycemic Outcomes. 2022;387(12):1063-74.
3. Association AD. Professional Practice Committee: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes Care*. 2021;45(Supplement\_1):S3-S.
4. Sanz M, Ceriello A, Buysschaert M, Chapple I, Demmer R, Graziani F, et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *Diabetes research and clinical practice*. 2018;137:231-41.
5. Papapanou P, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine D, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of periodontology*. 2018;89:S173-S82.
6. Blonde L, Umpierrez GE, Reddy SS, McGill JB, Berga SL, Bush M, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline: Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan-2022 Update. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*. 2022;28(10):923-1049.
7. Zerón A. La nueva clasificación de enfermedades periodontales. *Revista ADM*. 2018;75(3):122-4.
8. García San Juan CM, García Núñez RD, San Juan Bosch MA. Clasificación de las condiciones y enfermedades periodontales y perimplantares desde una perspectiva evolutiva. *MediSur*. 2021;19(4):642-55.

9. Korytkowski MT, Muniyappa R, Antinori-Lent K, Donihi AC, Drincic AT, Hirsch IB, et al. Management of hyperglycemia in hospitalized adult patients in non-critical care settings: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2022;107(8):2101-28.
10. Caton JG, Armitage G, Berglundh T, Chapple IL, Jepsen S, Kornman KS, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions—Introduction and key changes from the 1999 classification. *Wiley Online Library*; 2018. p. S1-S8.
11. Moore WE, Moore LV. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1994;5:66-77.
12. Ship JA, Mohammad AR, Medicine AAO. *Clinician's Guide to Oral Health in Geriatric Patients: American Academy of Oral Medicine*; 1999.
13. Löe H. Periodontal disease. The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1993;16(1):329-34.
14. Kanety H, Feinstein R, Papa MZ, Hemi R, Karasik A. Tumor necrosis factor alpha-induced phosphorylation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1). Possible mechanism for suppression of insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of IRS-1. *J Biol Chem*. 1995;270(40):23780-4.
15. Mealey BL, Moritz AJ. Hormonal influences: effects of diabetes mellitus and endogenous female sex steroid hormones on the periodontium. *Periodontol* 2000. 2003;32:59-81.
16. Seneviratne CJ, Zhang CF, Samaranayake LP. Dental plaque biofilm in oral health and disease. *Chin J Dent Res*. 2011;14(2):87-94.
17. Krishnan K, Chen T, Paster B. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral diseases*. 2017;23(3):276-86.
18. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu W-H, et al. The human oral microbiome. *Journal of bacteriology*. 2010;192(19):5002-17.
19. Almaguer-Flores A. *Biopelículas en el medio ambiente oral*. 2018. *Ecología Oral: Manual Moderno*; [229].

20. Zambon J, Umemoto T, De Nardin E, Nakazawa F, Christersson L, Genco R. Actinobacillus actinomycetemcomitans in the pathogenesis of human periodontal disease. *Advances in Dental Research*. 1988;2(2):269-74.
21. Junior N. The effect of subinhibitory concentrations of metronidazole and tetracycline on the ultrastructure of periodontopathic bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1991;28:151-4.
22. Ciantar M, Gilthorpe MS, Hurel SJ, Newman HN, Wilson M, Spratt DA. Capnocytophaga spp. in periodontitis patients manifesting diabetes mellitus. *Journal of periodontology*. 2005;76(2):194-203.
23. Hintao J, Teanpaisan R, Chongsuvivatwong V, Ratarasan C, Dahlen G. The microbiological profiles of saliva, supragingival and subgingival plaque and dental caries in adults with and without type 2 diabetes mellitus. *Oral Microbiol Immunol*. 2007;22(3):175-81.
24. Casarin R, Barbagallo A, Meulman T, Santos V, Sallum E, Nociti F, et al. Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of periodontal research*. 2013;48(1):30-6.
25. Rodríguez-Hernández A-P, Márquez-Corona MdL, Pontigo-Loyola AP, Medina-Solís CE, Ximenez-Fyvie L-A. Subgingival microbiota of Mexicans with type 2 diabetes with different periodontal and metabolic conditions. *International journal of environmental research and public health*. 2019;16(17):3184.
26. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(5):1111-9.
27. Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal disease activity. *Journal of clinical periodontology*. 1983;10(3):257-65.
28. Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radiolabeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Analytical biochemistry*. 1983;132(1):6-13.

29. Aguilar-Salinas C, Alonso-de la Vega Z, Bolado-García V, Bourges-Rodríguez H, Cetina-Canto J, Del Razo-Olvera F, et al. Nutrición y Endocrinología. Barcelona, España.: PERMANYER; 2020 [cited 2022 1/11/22].
30. Contreras F, Lares M, Castro J, Velasco M, Magali L. Determinación del colesterol no-HDL, en pacientes diabéticos e hipertensos. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2008;27:76-8.
31. Sutthiboonyapan P, Wang HL, Charatkulangkun O. Flowcharts for Easy Periodontal Diagnosis Based on the 2018 New Periodontal Classification. Clinical advances in periodontics. 2020;10(3):155-60.
32. Carr SS, Hooper AJ, Sullivan DR, Burnett JR. Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. Pathology. 2019;51(2):148-54.
33. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA. The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. Journal of dental research. 2019;98(2):148-56.
34. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL, Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. Journal of clinical periodontology. 1998;25(2):134-44.
35. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. Periodontol 2000. 2005;38:135-87.
36. Abusleme L, Hoare A, Hong BY, Diaz PI. Microbial signatures of health, gingivitis, and periodontitis. Periodontol 2000. 2021;86(1):57-78.
37. Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis and diabetes. British dental journal. 2019;227(7):577-84.
38. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. 2018;16(12):745-59.
39. Pérez CM, Muñoz F, Andriankaja OM, Ritchie CS, Martínez S, Vergara J, et al. Cross-sectional associations of impaired glucose metabolism measures with bleeding on probing and periodontitis. 2017;44(2):142-9.

40. Mayoral LP, Andrade GM, Mayoral EP, Huerta TH, Canseco SP, Rodal Canales FJ, et al. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. *The Indian journal of medical research*. 2020;151(1):11-21.
41. Reyes-Castillo P-A, González-Vázquez R, Gutiérrez-Nava A, Mendoza-Pérez F, Navarro-González M-d-C, Salgado-Aguayo A, et al. Anthropometric measure and adipokine levels of a young undergraduate population with a usual diet. *Nutrición Hospitalaria*. 2019;36:80-6.
42. Kazamel M, Stino AM, Smith AG. Metabolic syndrome and peripheral neuropathy. *Muscle & nerve*. 2021;63(3):285-93.
43. Becerra DS, Mata PC, Mejía MAD, Castro ED, Álvarez MAD. Prevalencia de daño renal en pacientes diabéticos y/o hipertensos mediante prueba tamiz (RAC) en una clínica de Guanajuato. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2012;59(1):28-34.
44. Curtis MA, Diaz PI, Van Dyke TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):14-25.
45. Kjeldsen EW, Nordestgaard LT, Frikke-Schmidt R. HDL Cholesterol and Non-Cardiovascular Disease: A Narrative Review. 2021;22(9).
46. Neumiller JJ, Setter SM, Gates BJ, Sonnett TE, Dobbins EK, Campbell K. Pharmacological management of glycemic control in the geriatric patient with type 2 diabetes mellitus. *The Consultant pharmacist : the journal of the American Society of Consultant Pharmacists*. 2009;24(1):45-63.
47. Lechner K, von Schacky C, McKenzie AL, Worm N, Nixdorff U, Lechner B, et al. Lifestyle factors and high-risk atherosclerosis: Pathways and mechanisms beyond traditional risk factors. *European journal of preventive cardiology*. 2020;27(4):394-406.
48. Kitamura M, Mochizuki Y, Miyata Y. Pathological Characteristics of Periodontal Disease in Patients with Chronic Kidney Disease and Kidney Transplantation. 2019;20(14).

49. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Journal of clinical microbiology*. 2002;40(3):1001-9.
50. Jiménez-Corona M, Falcón-Flores J, Borges-Yáñez A, Castrejón-Pérez R, Jiménez-Corona A. Dyslipidemia and severe periodontitis among patients with type 2 diabetes. *Salud publica de Mexico*. 2021;63(3 May-Jun):331-2.
51. Genco RJ, Graziani F, Hasturk H. Effects of periodontal disease on glycemic control, complications, and incidence of diabetes mellitus. *Periodontol 2000*. 2020;83(1):59-65.
52. Roberts CK, Hevener AL, Barnard RJ. Metabolic syndrome and insulin resistance: underlying causes and modification by exercise training. *Comprehensive Physiology*. 2013;3(1):1-58.
53. Lima-Martínez MM, Carrera Boada C, Madera-Silva MD, Marín W, Contreras M. COVID-19 and diabetes: A bidirectional relationship. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*. 2021;33(3):151-7.
54. Campisi G, Bizzoca ME, Lo Muzio L. COVID-19 and periodontitis: reflecting on a possible association. *Head & face medicine*. 2021;17(1):16.

### XIII. TABLAS

**Tabla 1.** Listado de las 40 cepas de referencia empleadas para la elaboración de sondas de DNA.

Nombre completo	ATCC	Complejo	Nombre completo	ATCC	Complejo
<i>Actinomyces georgiae</i>	49285	Azul	<i>Neisseria mucosa</i>	19696	Otros
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	Azul	<i>Parvimonas micra</i>	33270	Naranja
<i>Actinomyces naeslundii</i>	12104	Azul	<i>Porphyromonas endodontalis</i>	35406	Otros
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929	Morado	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277	Rojo
<i>Actinomyces viscosus</i>	43146	Azul	<i>Prevotella intermedia</i>	25611	Naranja
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> stp. b	43718	No-agrupado	<i>Prevotella loescheii</i>	15930	Otros
<i>Campylobacter gracilis</i>	33236	Naranja	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845	Otros
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	Naranja	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563	Naranja
<i>Campylobacter showae</i>	51146	Naranja	<i>Propionibacterium acnes</i>	6919	Otros
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	Verde	<i>Selenomonas noxia</i>	43541	No-agrupado
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	27872	Verde	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397	Amarillo
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612	Verde	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823	Naranja
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	14266	Otros	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558	Amarillo
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	Verde	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335	Amarillo
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099	Naranja	<i>Streptococcus mitis</i>	49456	Amarillo
<i>Eubacterium saburreum</i>	33271	Otros	<i>Streptococcus oralis</i>	35037	Amarillo
<i>Filifactor alocis</i>	35896	Otros	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556	Amarillo
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. <i>nucleatum</i>	25586	Naranja	<i>Tannerella forsythia</i>	43037	Rojo
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	Naranja	<i>Treponema denticola</i>	35405	Rojo
<i>Gemella morbillorum</i>	27824	Otros	<i>Veillonella parvula</i>	10790	Morado

Las especies se presentaron en orden alfabético. **ATCC:** Número de referencia del American Type Culture Collection (Rockville, MD, EU). **Complejo:** Las especies fueron agrupadas lo más similarmente posible a la descripción de complejos microbianos en la placa dentobacteriana subgingival (35). con la siguiente excepción: *C. matruchotii*, *E. saburreum*, *F. alocis*, *G. morbillorum*, *N. mucosa*, *P. endodontalis*, *P. loescheii*, *P. melaninogenica* y *P. acnes* se encuentran agrupados como "Otros".

**Tabla 2 A.** Datos generales y periodontales de los sujetos evaluados clasificados en Periodontitis localizada ( $n=2$ ) y generalizada ( $n=14$ ).

A. Datos generales	Periodontitis localizada n= 2				Periodontitis generalizada n= 14				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Edad (años)	50.00	11.00	39.00	61.00	48.79	1.72	40.00	59.00	1.000
Género (1=Femenino, %)	50	0.50	0	1	71.43	0.13	0	1	0.55
Presión arterial alta (0/1, %)	100	0.00	0	1	35.71	0.13	0	1	0.097
Presión arterial baja (0/1, %)	0	0.00	0	1	7.14	0.07	0	1	0.705
COVID (0/1, %)	100	0.00	0	1	35.71	0.13	0	1	0.097
Diagnóstico de Diabetes (meses)	43	0	43	43	24	6	2	67	0.203
Control farmacológico diabetes (0/1, %)	100	0	1	1	92.86	0.07	0	1	0.705
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	34.00	0.40	33.60	34.40	29.36	1.57	17.50	36.70	0.551
Glucosa rápida en sangre (mg/dl)	147.50	23.50	124.00	171.00	176.07	25.69	92.00	395.00	0.202
Hemoglobina glicosilada (%)	6.20	0.30	5.90	6.50	8.25	0.81	5.30	15.00	0.377
Triglicéridos (mg/100ml)	304.50	109.50	195.00	414.00	161.00	26.24	74.00	343.00	0.204
Colesterol (mg/100ml)	134.00	7.00	127.00	141.00	181.71	7.76	146.00	226.00	0.302
HDL (mg/dl)	42.50	12.50	30.00	55.00	46.07	2.30	34.00	61.00	0.271
LDL (mg/dl)	62.50	0.50	62.00	63.00	109.79	6.09	77.00	147.00	0.398
IA (LDL/HDL)	1.57	0.43	1.15	2.00	2.49	0.24	1.20	4.00	0.059
No-HDL (mg/dl)	91.00	5.00	86.00	96.00	135.57	9.18	94.00	189.00	0.026
RAC (g/ mg)	0.50	0.50	0.00	1.00	0.14	0.10	0.00	1.00	0.112
Consumo de carbohidratos (%)	39.50	0.50	39.00	40.00	49.07	2.12	30.00	62.00	1.000
Consumo de proteínas (%)	19.50	3.50	16.00	23.00	19.71	0.68	15.00	25.00	0.257
Consumo de grasas (%)	41.00	3.00	38.00	44.00	31.21	1.99	21.00	47.00	0.482
Consumo energético (Kcal)	1154.00	44.00	1110.00	1198.00	1536.79	102.21	998.00	2254.00	0.197
VFA (%)	247.00	11.00	236.00	258.00	162.07	19.08	29.00	260.00	0.241
LBM (%)	50.90	9.40	41.50	60.30	47.29	1.73	34.10	58.60	0.398
Ejercicio aeróbico (días/ semana)	5.50	0.50	5.00	6.00	3.50	0.82	0.00	7.00	0.095
Ejercicio aeróbico (min/día)	47.50	2.50	45.00	50.00	121.43	40.76	0.00	420.00	0.153
Actividad física (pasos/ día)	2176.00	2176.00	0.00	4352.0	2879.71	1055.20	0.00	10000.00	0

**IMC:** Índice de Masa Corporal; **HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **RAC:** Relación Albumina/Creatinina; **VFA:** Grasa Visceral; **LBM:** Masa Libre de Grasa; **Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 2 B.** Datos generales y periodontales de los sujetos evaluados clasificados en Periodontitis localizada ( $n=2$ ) y generalizada ( $n=14$ ).

B. Datos periodontales	Periodontitis localizada $n=2$				Periodontitis generalizada $n=14$				
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	KW
Dientes perdidos	1.00	0.50	1.00	1.00	3.09	0.61	1.00	8.00	1.000
Estadio (1-4)	2.00	0.00	2.00	2.00	2.50	0.20	1.00	4.00	1.000
Grado (1-3)	2.00	0.00	2.00	2.00	2.71	0.13	2.00	3.00	0.705
NI $\geq$ 5 mm	0.50	0.50	0.00	1.00	6.57	4.05	0.00	58.00	0.580
NI 3 - 4 mm	3.00	1.00	2.00	4.00	14.79	3.34	0.00	37.00	0.026
NI 3 - 2 mm	3.50	3.50	0.00	7.00	18.14	4.15	5.00	55.00	0.515
NI $<$ 2 mm	158.00	8.00	150.00	166.00	114.36	10.18	14.00	152.00	0.114
PB (mm)	2.23	0.11	2.12	2.35	2.71	0.13	2.00	3.76	0.195
NI (mm)	0.47	0.16	0.32	0.63	1.35	0.29	0.50	4.73	0.294
PLA (0/1)	75.04	22.57	52.47	97.62	84.23	4.69	0.40	100.00	0.176
ENR (0/1)	49.60	28.17	21.43	77.78	72.75	5.72	0.20	100.00	0.112
SAS (0/1)	10.85	3.44	7.41	14.29	29.70	5.85	0.10	76.19	0.081
SUP (0/1)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.27	0.18	0.00	2.50	0.874

**NI:** Nivel de Inserción; **PB:** Profundidad de Bolsa; **PLA:** Placa; **ENR:** Enrojecimiento; **SAS:** Sangrado; **SUP:** Supuración; **Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 3A.** Datos generales de los sujetos evaluados clasificados en agrupaciones de Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

A. Datos generales	Perio 1 n= 2				Perio 2 n= 7				UM Perio 1 vs.		Perio 3 n= 7				UM Perio 1 vs.		UM Perio 2 vs.	
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3	Perio 3	KW	
Edad (años)	50.00	11.00	39.00	61.00	45.57	2.10	40.00	53.00	1.000	52.00	2.23	42.00	59.00	1.000	0.062	0.263		
Género (1=Femenino, %)	50	0.5	0	1	100	0	0	1	0.061	43	0	0	1	0.866	0.023	0.069		
Presión arterial alta (0/1, %)	100	0.0	0	1	43	0	0	1	0.176	29	0	0	1	0.091	0.591	0.220		
Presión arterial baja (0/1, %)	0	0.0	0	1	0	0	0	1	1.000	14	0	0	1	0.593	0.317	0.526		
COVID (0/1, %)	100	0.0	0	1	43	0	0	1	0.176	29	0	0	1	0.091	0.591	0.220		
Diagnóstico de Diabetes (meses)	43	0.0	43	43	21	9	4	67	0.142	28	7	2	55	0.378	0.701	0.401		
Control farmacológico diabetes (0/1, %)	100	0.0	0	1	100	0	0	1	1.000	86	0	0	1	0.593	0.317	0.526		
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	34.0	0.4	33.6	34.4	30.0	2.7	17.5	36.7	0.770	28.7	1.9	20.8	34.4	0.106	0.406	0.362		
Glucosa rápida en sangre (mg/dl)	147.5	23.5	124.0	171.0	139.9	19.7	92.0	219.0	0.770	212.3	45.1	92.0	395.0	0.770	0.250	0.532		
Hemoglobina glicosilada (%)	6.2	0.3	5.9	6.5	6.9	0.6	5.3	9.8	0.557	9.6	1.4	5.5	15.0	0.143	0.064	0.107		
Triglicéridos (mg/100ml)	304.5	109.5	195.0	414.0	186.0	47.8	74.0	343.0	0.242	136.0	22.1	85.0	255.0	0.079	0.949	0.280		
Colesterol (mg/100ml)	134.0	7.0	127.0	141.0	189.4	13.2	149.0	226.0	0.040	174.0	8.2	146.0	214.0	0.040	0.482	0.070		
HDL (mg/dl)	42.5	12.5	30.0	55.0	46.3	3.9	36.0	61.0	0.558	45.9	2.7	34.0	56.0	0.769	0.848	0.887		
LDL (mg/dl)	62.5	0.5	62.0	63.0	114.6	11.1	77.0	147.0	0.040	105.0	5.5	78.0	117.0	0.039	0.481	0.069		
IA (LDL/HDL)	1.6	0.4	1.1	2.0	2.6	0.4	1.2	4.0	0.143	2.3	0.3	1.5	3.4	0.143	0.655	0.262		
No-HDL (mg/dl)	91.0	5.0	86.0	96.0	143.1	15.9	94.0	189.0	0.143	128.0	9.6	95.0	174.0	0.079	0.701	0.209		
RAC (g/ mg)	0.5	0.5	0.0	1.0	0.1	0.1	0.0	1.0	0.312	0.1	0.1	0.0	1.0	0.312	1.000	0.503		
Consumo de carbohidratos (%)	39.5	0.5	39.0	40.0	48.9	2.2	41.0	54.0	0.039	49.3	3.8	30.0	62.0	0.143	0.898	0.162		
Consumo de proteínas (%)	19.5	3.5	16.0	23.0	19.6	1.1	16.0	25.0	0.883	19.9	0.9	15.0	23.0	0.878	0.513	0.876		
Consumo de grasas (%)	41.0	3.0	38.0	44.0	31.6	2.7	21.0	41.0	0.104	30.9	3.2	22.0	47.0	0.143	0.848	0.246		
Consumo energético (Kcal)	1154.0	44.0	1110.0	1198.0	1397.0	86.8	1033.0	1665.0	0.242	1676.6	176.7	998.0	2254.0	0.143	0.338	0.241		
VFA (%)	247.0	11.0	236.0	258.0	155.1	31.9	29.0	236.0	0.056	169.0	23.3	102.0	260.0	0.242	0.565	0.202		
LBM (%)	50.9	9.4	41.5	60.3	44.8	2.3	34.1	53.4	0.770	49.8	2.4	42.8	58.6	1.000	0.180	0.461		
Ejercicio aeróbico (días/ semana)	5.5	0.5	5.0	6.0	3.6	1.2	0.0	7.0	0.657	3.4	1.3	0.0	7.0	0.543	0.843	0.833		
Ejercicio aeróbico (min/día)	47.5	2.5	45.0	50.0	172.9	72.9	0.0	420.0	0.769	70.0	31.6	0.0	210.0	0.766	0.396	0.694		
Actividad física (pasos/ día)	2176.0	2176.0	0.0	4352.0	951.4	614.1	0.0	3334.0	0.384	4808.0	1791.2	0.0	10000.0	0.445	0.120	0.248		

**IMC:** Índice de Masa Corporal; **HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **RAC:** Relación Albumina/Creatinina; **VFA:** Grasa Visceral; **LBM:** Masa Libre de Grasa; **Media:** % de sitios con cuentas totales x10<sup>5</sup> de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Walis; **Color verde:** p< 0.05.

**Tabla 3B.** Datos periodontales de los sujetos evaluados clasificados en agrupaciones de Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

B. Datos periodontales	Perio 1 n=2				Perio 2 n=7				UM Perio 1 vs.		Perio 3 n=7				UM Perio 1 vs.		UM Perio 2 vs.	KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3			
Dientes perdidos	1.00	0.50	1.00	1.00	3.00	0.71	1.00	4.00	0.264	3.14	0.91	1.00	8.00	0.261	0.697	0.457		
Estadio (1-4)	2.00	0.00	2.00	2.00	1.86	0.14	1.00	2.00	0.593	3.14	0.14	3.00	4.00	0.014	0.0007	0.001		
Grado (1-3)	2.00	0.00	2.00	2.00	2.57	0.20	2.00	3.00	0.176	2.86	0.14	2.00	3.00	0.033	0.254	0.095		
Extensión	1.00	0.00	1.00	1.00	2.00	0.00	2.00	2.00	0.005	2.00	0.00	2.00	2.00	0.005	1.000	0.0006		
NI ≥ 5 mm	0.50	0.50	0.00	1.00	0.29	0.18	0.00	1.00	0.593	12.86	7.61	2.00	58.00	0.040	0.001	0.003		
NI 3 - 4 mm	3.00	1.00	2.00	4.00	10.71	4.63	0.00	36.00	0.303	18.86	4.63	3.00	37.00	0.142	0.223	0.205		
NI 3 - 2 mm	3.50	3.50	0.00	7.00	16.14	6.63	5.00	55.00	0.184	20.14	5.42	5.00	48.00	0.079	0.442	0.186		
NI < 2 mm	1.58	0.08	1.50	1.66	1.31	0.09	0.77	1.51	0.079	0.97	0.16	0.14	1.52	0.079	0.110	0.061		
PB (mm)	2.23	0.11	2.12	2.35	2.56	0.22	1.97	3.76	0.242	2.85	0.15	2.27	3.38	0.079	0.142	0.106		
NI (mm)	0.47	0.16	0.32	0.63	0.87	0.18	0.49	1.84	0.242	1.84	0.50	0.74	4.73	0.040	0.035	0.028		
PLA (0/1)	75.04	22.57	52.47	97.62	85.80	3.93	68.35	100.00	0.770	82.66	8.90	40.38	100.00	1.000	0.443	0.816		
ENR (0/1)	49.60	28.17	21.43	77.78	73.64	2.65	64.29	83.33	0.380	71.86	11.60	22.44	100.00	0.242	0.482	0.430		
SAS (0/1)	10.85	3.44	7.41	14.29	28.40	8.86	6.41	76.19	0.242	31.00	8.30	10.67	66.05	0.143	0.749	0.340		
SUP (0/1)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.000	0.54	0.35	0.00	2.50	0.297	0.062	0.111		

**NI:** Nivel de Inserción; **PB:** Profundidad de Bolsa; **PLA:** Placa; **ENR:** Enrojecimiento; **SAS:** Sangrado; **SUP:** Supuración; **Media:** % de sitios con cuentas totales x10<sup>5</sup> de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color naranja:**  $p < 0.01$ ; **Color rojo:**  $p < 0.001$ .

**Tabla 4.** Niveles promedio (cuentas bacterianas x 10<sup>5</sup> ± EEM) de las 40 especies bacterianas evaluadas en sujetos con Periodontitis localizada (n=2) y Periodontitis generalizada (n= 14).

Cuentas	Periodontitis localizada n= 2				Periodontitis generalizada n= 14				
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	KW
<i>Actinomyces georgiae</i>	0.85	0.83	0.02	1.67	0.70	0.79	0.21	2.72	0.266
<i>Actinomyces israelii</i>	0.84	0.54	0.30	1.38	1.97	2.05	0.55	5.95	0.874
<i>Actinomyces naeslundii</i>	1.26	0.51	0.75	1.78	1.46	1.23	0.33	3.48	0.634
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.24	0.07	0.16	0.31	0.64	0.61	0.16	1.69	0.153
<i>Actinomyces viscosus</i>	4.02	0.10	3.92	4.12	3.12	3.11	0.83	7.81	0.153
<i>A. actinomycetemcomitans</i> stp. b.	2.00	0.54	1.47	2.54	2.53	2.11	0.56	6.52	0.112
<i>Campylobacter gracilis</i>	2.44	2.44	0.00	4.89	1.65	3.65	0.97	13.74	0.485
<i>Campylobacter rectus</i>	1.16	0.46	0.69	1.62	2.10	1.92	0.51	5.58	0.485
<i>Campylobacter showae</i>	2.34	1.76	0.58	4.10	1.99	2.47	0.66	7.17	0.485
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.07	0.07	0.00	0.14	2.89	3.00	0.80	10.08	1.000
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.78	0.70	0.07	1.48	0.76	0.74	0.20	2.11	0.525
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	3.21	0.66	2.54	3.87	3.35	8.02	2.14	30.83	0.874
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	2.62	0.33	2.29	2.94	5.07	5.33	1.42	15.80	0.427
<i>Eikenella corrodens</i>	4.47	4.39	0.08	8.86	1.33	1.69	0.45	6.29	0.751
<i>Eubacterium nodatum</i>	4.42	0.74	3.68	5.17	3.99	4.04	1.08	14.51	1.000
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.44	0.42	0.02	0.86	1.87	1.51	0.40	4.72	0.807
<i>Filifactor alocis</i>	1.53	1.53	0.00	3.05	2.84	2.50	0.67	8.21	0.634
<i>Fusobacterium nucleatum</i> subsp. nuc.	1.54	1.54	0.00	3.08	2.97	2.78	0.74	9.98	0.427
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	3.28	2.21	1.07	5.48	4.40	3.77	1.01	14.39	0.095
<i>Gemella morbillorum</i>	11.70	10.25	1.45	21.95	2.01	4.76	1.27	18.00	0.751
<i>Neisseria mucosa</i>	5.18	4.93	0.25	10.11	3.75	3.52	0.94	13.10	0.112
<i>Parvimonas micra</i>	2.09	2.05	0.04	4.14	4.73	5.55	1.48	16.23	0.525
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	5.86	2.81	3.05	8.67	5.88	5.29	1.41	16.63	0.633
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2.39	0.99	1.41	3.38	5.95	7.29	1.95	26.93	0.427
<i>Prevotella intermedia</i>	4.43	3.51	0.92	7.93	8.38	14.79	3.95	57.19	0.153
<i>Prevotella loescheii</i>	1.46	1.19	0.28	2.65	2.48	1.66	0.44	5.02	0.427
<i>Prevotella melaninogenica</i>	3.31	2.43	0.88	5.75	1.72	1.55	0.41	3.70	0.341
<i>Prevotella nigrescens</i>	1.05	0.48	0.57	1.53	3.71	4.79	1.28	16.00	0.874
<i>Propionibacterium acnes</i>	2.70	2.41	0.28	5.11	0.53	0.91	0.24	3.11	0.107
<i>Selenomonas noxia</i>	2.04	2.04	0.00	4.09	0.64	1.15	0.31	4.09	0.751
<i>Streptococcus anginosus</i>	1.54	1.07	0.47	2.61	1.62	2.19	0.58	8.51	0.427
<i>Streptococcus constellatus</i>	1.23	0.64	0.59	1.87	2.02	1.25	0.33	4.37	0.634
<i>Streptococcus gordonii</i>	7.60	4.84	2.75	12.44	5.71	6.93	1.85	24.47	0.525
<i>Streptococcus intermedius</i>	1.86	1.12	0.74	2.98	2.74	3.80	1.02	14.87	0.874
<i>Streptococcus mitis</i>	4.21	3.40	0.81	7.61	1.11	0.92	0.25	2.45	0.341
<i>Streptococcus oralis</i>	1.48	1.48	0.00	2.96	0.43	0.48	0.13	1.83	0.341
<i>Streptococcus sanguinis</i>	2.45	2.27	0.17	4.72	1.38	1.10	0.29	2.96	0.874
<i>Tannerella forsythia</i>	15.92	15.92	0.00	31.84	12.44	22.42	5.99	88.45	0.142
<i>Treponema denticola</i>	2.44	1.32	1.12	3.76	4.05	4.89	1.31	17.07	0.872
<i>Veillonella parvula</i>	4.17	2.27	1.90	6.43	3.26	2.57	0.69	7.66	0.634
Niveles totales	122.59	53.32	69.26	175.91	120.19	82.18	21.96	309.54	0.427

**Media:** % de sitios con cuentas totales x10<sup>5</sup> de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b.; **nuc:** nucleatum.

**Tabla 5.** Prevalencia promedio (% sitios colonizados  $\pm$  EEM) de las 40 especies bacterianas evaluadas en sujetos con Periodontitis localizada (n=2) y Periodontitis generalizada (n= 14).

Prevalencia	Periodontitis localizada n= 2				Periodontitis generalizada n= 14				
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	KW
<i>Actinomyces georgiae</i>	51.79	41.07	10.71	92.86	37.23	28.25	7.55	100.00	0.427
<i>Actinomyces israelii</i>	50.00	14.29	35.71	64.29	52.81	33.35	8.91	100.00	0.874
<i>Actinomyces naeslundii</i>	58.93	19.64	39.29	78.57	51.88	29.61	7.91	100.00	0.266
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	30.36	8.93	21.43	39.29	31.35	26.63	7.12	70.00	0.873
<i>Actinomyces viscosus</i>	71.43	10.71	60.71	82.14	46.82	33.57	8.97	100.00	0.751
<i>A. actinomycetemcomitans stp. b.</i>	42.86	7.14	35.71	50.00	46.06	31.69	8.47	100.00	0.937
<i>Campylobacter gracilis</i>	46.43	46.43	0.00	92.86	22.91	29.51	7.89	85.19	0.874
<i>Campylobacter rectus</i>	39.29	21.43	17.86	60.71	42.58	32.00	8.55	92.86	0.634
<i>Campylobacter showae</i>	71.43	28.57	42.86	100.00	45.48	38.99	10.42	100.00	0.751
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	12.50	12.50	0.00	25.00	52.64	30.53	8.16	100.00	0.874
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	58.93	37.50	21.43	96.43	36.58	33.93	9.07	100.00	0.937
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	85.71	14.29	71.43	100.00	46.37	35.44	9.47	100.00	0.578
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	39.29	3.57	35.71	42.86	51.82	29.80	7.97	100.00	0.874
<i>Eikenella corrodens</i>	58.93	41.07	17.86	100.00	33.95	33.96	9.08	96.15	0.341
<i>Eubacterium nodatum</i>	80.36	16.07	64.29	96.43	48.74	33.91	9.06	100.00	0.578
<i>Eubacterium saburreum</i>	30.36	26.79	3.57	57.14	46.47	29.69	7.94	100.00	0.683
<i>Filifactor alocis</i>	8.93	8.93	0.00	17.86	45.64	29.60	7.91	100.00	0.874
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nuc.</i>	37.50	37.50	0.00	75.00	46.56	30.22	8.08	100.00	0.265
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	62.50	12.50	50.00	75.00	63.10	29.17	7.79	96.30	0.094
<i>Gemella morbillorum</i>	80.36	19.64	60.71	100.00	25.41	30.66	8.19	100.00	0.427
<i>Neisseria mucosa</i>	48.21	33.93	14.29	82.14	58.54	31.05	8.30	95.83	0.128
<i>Parvimonas micra</i>	37.50	33.93	3.57	71.43	30.65	26.76	7.15	100.00	0.474
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	64.29	17.86	46.43	82.14	62.35	28.76	7.69	100.00	0.339
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	48.21	12.50	35.71	60.71	55.40	34.93	9.33	100.00	0.266
<i>Prevotella intermedia</i>	50.00	39.29	10.71	89.29	62.62	31.45	8.41	100.00	0.427
<i>Prevotella loescheii</i>	39.29	35.71	3.57	75.00	54.03	28.63	7.65	90.00	0.081
<i>Prevotella melaninogenica</i>	71.43	21.43	50.00	92.86	47.09	35.60	9.51	100.00	0.691
<i>Prevotella nigrescens</i>	48.21	8.93	39.29	57.14	44.81	35.81	9.57	100.00	0.812
<i>Propionibacterium acnes</i>	66.07	33.93	32.14	100.00	24.32	32.95	8.81	85.19	0.044
<i>Selenomonas noxia</i>	50.00	50.00	0.00	100.00	26.59	32.28	8.63	92.31	0.751
<i>Streptococcus anginosus</i>	58.93	16.07	42.86	75.00	45.95	30.94	8.27	100.00	0.937
<i>Streptococcus constellatus</i>	39.29	7.14	32.14	46.43	48.70	22.70	6.07	82.14	1.000
<i>Streptococcus gordonii</i>	19.64	5.36	14.29	25.00	58.44	30.97	8.28	100.00	0.874
<i>Streptococcus intermedius</i>	69.64	23.21	46.43	92.86	58.81	33.77	9.03	100.00	0.750
<i>Streptococcus mitis</i>	73.21	26.79	46.43	100.00	41.51	31.94	8.54	100.00	0.525
<i>Streptococcus oralis</i>	50.00	50.00	0.00	100.00	31.29	26.28	7.02	100.00	0.382
<i>Streptococcus sanguinis</i>	62.50	37.50	25.00	100.00	50.07	32.04	8.56	100.00	0.874
<i>Tannerella forsythia</i>	50.00	50.00	0.00	100.00	52.46	33.39	8.92	100.00	0.103
<i>Treponema denticola</i>	58.93	37.50	21.43	96.43	49.51	30.29	8.10	100.00	0.747
<i>Veillonella parvula</i>	69.64	30.36	39.29	100.00	54.04	31.20	8.34	100.00	0.475

**Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotipo b.; **nuc:** nucleatum; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 6.** Proporción promedio (porcentaje del total de las cuentas de las sondas DNA) de las 40 especies bacterianas evaluadas en sujetos con Periodontitis localizada (n=2) y Periodontitis

Proporción	Periodontitis localizada n= 2				Periodontitis generalizada n= 14				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
<i>Actinomyces georgiae</i>	0.4	0.4	0.0	0.8	0.8	1.2	0.3	3.91	0.095
<i>Actinomyces israelii</i>	0.4	0.1	0.3	0.5	1.5	1.7	0.5	6.18	0.633
<i>Actinomyces naeslundii</i>	2.1	1.8	0.2	3.9	1.4	1.4	0.4	4.71	0.266
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.3	0.1	1.13	0.936
<i>Actinomyces viscosus</i>	4.1	2.6	1.5	6.7	2.5	3.0	0.8	8.98	0.578
<i>A. actinomycetemcomitans stp. b.</i>	2.3	1.0	1.3	3.3	2.8	4.3	1.2	15.04	1.000
<i>Campylobacter gracilis</i>	3.7	3.7	0.0	7.4	1.6	3.6	1.0	13.74	0.691
<i>Campylobacter rectus</i>	0.8	0.3	0.6	1.1	1.5	1.6	0.4	4.81	0.578
<i>Campylobacter showae</i>	4.0	3.8	0.2	7.8	1.0	1.2	0.3	3.37	0.874
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.1	0.1	0.0	0.1	3.9	6.0	1.6	20.20	0.751
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.5	0.4	0.1	1.0	0.7	1.1	0.3	3.88	0.341
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	3.6	1.3	2.3	4.8	2.6	4.0	1.1	14.04	0.874
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1.3	0.4	0.9	1.7	2.8	2.4	0.6	7.61	0.340
<i>Eikenella corrodens</i>	3.3	3.2	0.1	6.5	1.3	2.3	0.6	8.46	0.427
<i>Eubacterium nodatum</i>	4.4	0.2	4.2	4.7	3.1	4.6	1.2	17.68	0.341
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.4	0.4	0.0	0.8	1.3	1.2	0.3	3.31	0.807
<i>Filifactor alocis</i>	0.9	0.9	0.0	1.9	3.5	6.4	1.7	24.67	0.874
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nuc.</i>	2.4	2.4	0.0	4.7	1.9	1.8	0.5	6.63	0.341
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	2.8	0.1	2.6	2.9	3.7	2.8	0.8	10.24	0.068
<i>Gemella morbillorum</i>	9.5	7.4	2.1	16.9	4.6	15.9	4.2	59.69	0.874
<i>Neisseria mucosa</i>	3.5	3.4	0.1	6.8	3.5	4.3	1.1	13.40	0.266
<i>Parvimonas micra</i>	2.6	2.3	0.2	4.9	1.7	1.7	0.5	5.10	0.751
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	3.9	0.7	3.2	4.6	5.0	4.9	1.3	17.44	0.524
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1.1	0.2	1.0	1.3	4.1	3.8	1.0	9.88	0.204
<i>Prevotella intermedia</i>	6.3	6.0	0.2	12.3	5.8	7.4	2.0	26.12	0.266
<i>Prevotella loescheii</i>	2.0	1.9	0.1	3.8	2.5	2.3	0.6	7.99	0.341
<i>Prevotella melaninogenica</i>	2.0	0.7	1.2	2.7	1.3	1.2	0.3	4.25	0.874
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.7	0.5	0.2	1.3	3.1	2.7	0.7	8.36	0.751
<i>Propionibacterium acnes</i>	2.0	1.8	0.2	3.8	0.4	0.8	0.2	2.35	0.053
<i>Selenomonas noxia</i>	1.7	1.7	0.0	3.3	0.9	2.6	0.7	9.99	0.751
<i>Streptococcus anginosus</i>	0.9	0.1	0.8	1.0	1.4	1.8	0.5	6.05	0.634
<i>Streptococcus constellatus</i>	0.5	0.0	0.5	0.5	2.7	2.4	0.6	8.04	0.751
<i>Streptococcus gordonii</i>	2.3	0.6	1.7	2.9	3.9	4.4	1.2	13.49	0.525
<i>Streptococcus intermedius</i>	1.1	0.5	0.6	1.6	1.7	1.8	0.5	7.40	0.751
<i>Streptococcus mitis</i>	2.7	1.9	0.7	4.6	0.8	0.8	0.2	2.37	0.634
<i>Streptococcus oralis</i>	1.1	1.1	0.0	2.2	0.5	0.7	0.2	1.93	0.266
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1.4	1.0	0.3	2.4	1.2	1.3	0.4	4.19	0.525
<i>Tannerella forsythia</i>	8.3	8.3	0.0	16.6	6.4	7.8	2.1	30.57	0.103
<i>Treponema denticola</i>	1.8	1.0	0.8	2.8	1.8	1.6	0.4	5.07	0.872
<i>Veillonella parvula</i>	7.2	5.4	1.8	12.6	3.5	3.0	0.8	9.52	0.634

**Media:** % de sitios con cuentas totales x10<sup>5</sup> de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b.*; **nuc:** *nucleatum*.

**Tabla 7.** Proporciones promedio (% de cuentas bacterianas totales) de las 40 especies bacterianas agrupada por complejos en sujetos con Periodontitis localizada (n= 2) y Periodontitis generalizada (n= 14).

Complejos	Periodontitis localizada n= 2				Periodontitis generalizada n= 14				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
<i>Actinomyces sp.</i>	10.9	7.9	3.0	18.9	6.3	4.9	1.3	17.00	0.057
Amarillo	9.5	5.3	4.2	14.7	9.1	6.0	1.6	21.30	1.000
Morado	7.3	5.5	1.8	12.8	4.0	2.9	0.8	9.52	0.874
Verde	7.4	2.3	5.1	9.7	7.9	6.3	1.7	20.76	0.266
Naranja	28.2	19.1	9.1	47.4	25.8	10.9	2.9	45.77	0.873
Rojo	11.2	9.5	1.7	20.6	12.7	10.9	2.9	45.53	0.874
No agrupado	4.0	0.7	3.3	4.7	3.5	4.4	1.2	15.04	-
Otros	25.4	10.9	14.5	36.3	25.8	13.8	3.7	65.82	-

**Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis

**Tabla 8.** Niveles promedio (cuentas bacterianas x 10<sup>5</sup> ± EEM) de las 40 especies bacterianas evaluadas en sujetos clasificados en agrupaciones Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

Cuentas	Perio 1 n=2				Perio 2 n=7				UM Perio 1 vs.	Perio 3 n=7				UM Perio 1 vs.	UM Perio 2 vs.	KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3	
<i>Actinomyces georgiae</i>	0.8	0.8	0.0	1.7	0.7	0.4	0.0	2.7	1.000	0.7	0.2	0.0	1.6	1.000	0.565	0.880
<i>Actinomyces israelii</i>	0.8	0.5	0.3	1.4	2.0	0.9	0.0	5.6	0.770	2.0	0.8	0.2	6.0	0.380	0.565	0.675
<i>Actinomyces naeslundii</i>	1.3	0.5	0.7	1.8	1.0	0.2	0.3	1.9	0.558	1.9	0.6	0.3	3.5	0.770	0.482	0.725
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.2	0.1	0.2	0.3	0.5	0.2	0.0	1.3	0.769	0.8	0.2	0.0	1.7	0.242	0.337	0.437
<i>Actinomyces viscosus</i>	4.0	0.1	3.9	4.1	3.1	1.3	0.0	7.5	0.770	3.2	1.2	0.5	7.8	0.770	0.565	0.837
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans stp. b.</i>	2.0	0.5	1.5	2.5	2.1	0.7	0.6	5.7	0.770	3.0	0.9	0.0	6.5	0.770	0.406	0.702
<i>Campylobacter gracilis</i>	2.4	2.4	0.0	4.9	2.2	1.9	0.0	13.7	0.748	1.1	0.5	0.0	3.9	0.883	0.472	0.779
<i>Campylobacter rectus</i>	1.2	0.5	0.7	1.6	2.1	0.8	0.1	5.6	0.770	2.1	0.7	0.0	5.3	0.558	0.949	0.887
<i>Campylobacter showae</i>	2.3	1.8	0.6	4.1	2.0	1.0	0.0	7.2	0.380	2.0	0.9	0.1	7.2	0.558	0.565	0.623
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.1	0.1	0.0	0.1	2.9	1.3	0.0	10.1	0.106	2.9	1.1	0.0	6.7	0.143	0.848	0.246
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.8	0.7	0.1	1.5	0.8	0.3	0.0	2.1	0.769	0.7	0.2	0.1	1.6	0.770	0.848	0.937
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	3.2	0.7	2.5	3.9	5.2	4.3	0.0	30.8	0.143	1.5	0.6	0.0	5.1	0.143	0.949	0.283
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	2.6	0.3	2.3	2.9	4.4	2.0	0.1	15.8	0.770	5.7	2.1	0.3	14.3	0.380	0.749	0.757
<i>Eikenella corrodens</i>	4.5	4.4	0.1	8.9	1.5	0.8	0.0	6.3	0.770	1.2	0.4	0.0	2.6	0.557	0.949	0.892
<i>Eubacterium nodatum</i>	4.4	0.7	3.7	5.2	4.3	1.9	0.1	14.5	0.380	3.7	1.2	0.0	8.6	0.558	0.949	0.730
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.4	0.4	0.0	0.9	1.6	0.7	0.1	4.7	0.380	2.1	0.5	0.4	4.4	0.079	0.406	0.241
<i>Filifactor alocis</i>	1.5	1.5	0.0	3.1	2.9	1.1	0.0	8.2	0.380	2.7	0.8	0.1	5.7	0.558	0.848	0.725
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nuc.</i>	1.5	1.5	0.0	3.1	2.6	0.8	0.1	5.7	0.380	3.3	1.3	0.3	10.0	0.380	0.749	0.611
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	3.3	2.2	1.1	5.5	3.5	1.2	0.3	8.5	1.000	5.3	1.6	1.0	14.4	0.770	0.482	0.787
<i>Gemella morbillorum</i>	11.7	10.3	1.4	22.0	3.0	2.5	0.0	18.0	0.137	1.0	0.6	0.0	4.5	0.142	0.845	0.269
<i>Neisseria mucosa</i>	5.2	4.9	0.2	10.1	3.6	0.9	0.1	7.2	0.770	3.9	1.7	0.1	13.1	0.770	0.655	0.880
<i>Parvimonas micra</i>	2.1	2.1	0.0	4.1	4.0	1.9	0.0	14.3	0.380	5.5	2.4	0.0	16.2	0.558	0.565	0.660
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	5.9	2.8	3.0	8.7	5.2	2.2	0.3	16.6	0.380	6.6	1.9	1.8	14.3	1.000	0.406	0.596
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2.4	1.0	1.4	3.4	4.1	1.4	0.3	10.5	0.558	7.8	3.7	0.2	26.9	0.558	0.749	0.786
<i>Prevotella intermedia</i>	4.4	3.5	0.9	7.9	11.3	7.8	0.2	57.2	1.000	5.4	1.9	0.5	12.2	0.770	0.949	0.981
<i>Prevotella loeschii</i>	1.5	1.2	0.3	2.6	2.2	0.6	0.7	4.6	0.558	2.8	0.7	0.4	5.0	0.242	0.655	0.559
<i>Prevotella melaninogenica</i>	3.3	2.4	0.9	5.7	1.5	0.6	0.0	3.6	0.242	2.0	0.6	0.0	3.7	0.558	0.565	0.525
<i>Prevotella nigrescens</i>	1.1	0.5	0.6	1.5	2.0	1.0	0.0	6.6	0.770	5.4	2.3	0.5	16.0	0.558	0.142	0.340
<i>Propionibacterium acnes</i>	2.7	2.4	0.3	5.1	0.2	0.1	0.0	1.0	0.074	0.9	0.4	0.0	3.1	0.372	0.425	0.235
<i>Selenomonas noxia</i>	2.0	2.0	0.0	4.1	0.2	0.1	0.0	1.0	0.766	1.1	0.6	0.0	4.1	1.000	0.477	0.781
<i>Streptococcus anginosus</i>	1.5	1.1	0.5	2.6	1.3	0.4	0.0	3.2	0.770	1.9	1.1	0.3	8.5	0.558	0.949	0.887
<i>Streptococcus constellatus</i>	1.2	0.6	0.6	1.9	2.2	0.5	0.3	4.4	0.380	1.8	0.5	0.2	3.3	0.558	0.655	0.660
<i>Streptococcus gordonii</i>	7.6	4.8	2.8	12.4	6.2	3.3	0.0	24.5	0.380	5.3	2.0	0.5	14.8	0.558	0.949	0.730
<i>Streptococcus intermedius</i>	1.9	1.1	0.7	3.0	3.4	2.0	0.0	14.9	0.770	2.1	0.7	0.1	4.5	1.000	0.749	0.963
<i>Streptococcus mitis</i>	4.2	3.4	0.8	7.6	1.3	0.4	0.0	2.4	0.380	0.9	0.3	0.1	2.3	0.242	0.482	0.430
<i>Streptococcus oralis</i>	1.5	1.5	0.0	3.0	0.6	0.2	0.0	1.8	0.883	0.3	0.1	0.0	0.7	0.883	0.371	0.724
<i>Streptococcus sanguinis</i>	2.4	2.3	0.2	4.7	1.5	0.4	0.0	3.0	0.770	1.2	0.4	0.1	2.5	0.770	0.655	0.880
<i>Tannerella forsythia</i>	15.9	15.9	0.0	31.8	6.6	2.4	0.0	14.4	0.883	18.2	11.8	1.2	88.4	0.770	0.565	0.838
<i>Treponema denticola</i>	2.4	1.3	1.1	3.8	3.7	1.5	0.1	10.7	1.000	4.4	2.3	0.1	17.1	0.770	0.949	0.987
<i>Veillonella parvula</i>	4.2	2.3	1.9	6.4	2.9	0.8	0.0	5.9	0.558	3.6	1.2	0.3	7.7	0.770	0.565	0.763
Niveles totales	122.6	53.3	69.3	175.9	112.4	25.8	31.0	223.9	0.558	127.9	37.5	17.9	309.5	1.000	0.749	0.880

**Media:** % de sitios con cuentas totales x10<sup>5</sup> de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Wallis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b.*; **nuc:** *nucleatum*.

**Tabla 9.** Prevalencia promedio (% sitios colonizados  $\pm$  EEM) de las 40 especies bacterianas evaluada en sujetos clasificados en agrupaciones Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

Prevalencia	Perio 1 n=2				Perio 2 n=7				UM Perio 1 vs.		Perio 3 n=7				UM Perio 1 vs.		UM Perio 2 vs.	KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3			
<i>Actinomyces georgiae</i>	51.8	41.1	10.7	92.9	37.9	12.1	0.0	100.0	1.000	36.6	10.0	4.0	74.1	0.770	0.848	0.981		
<i>Actinomyces israelii</i>	50.0	14.3	35.7	64.3	49.6	13.1	7.7	91.7	0.883	56.0	13.0	8.0	100.0	0.770	0.654	0.889		
<i>Actinomyces naeslundii</i>	58.9	19.6	39.3	78.6	42.1	9.9	12.5	75.0	0.242	61.7	11.9	20.8	100.0	0.883	0.110	0.217		
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	30.4	8.9	21.4	39.3	26.7	11.1	0.0	66.7	0.769	36.0	9.5	4.0	70.0	1.000	0.277	0.592		
<i>Actinomyces viscosus</i>	71.4	10.7	60.7	82.1	40.7	13.9	0.0	83.3	0.380	53.0	11.9	17.9	100.0	0.380	0.406	0.487		
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans stp. b.</i>	42.9	7.1	35.7	50.0	41.0	10.4	17.9	100.0	0.301	51.1	13.9	0.0	100.0	1.000	0.608	0.695		
<i>Campylobacter gracilis</i>	46.4	46.4	0.0	92.9	15.6	11.8	0.0	85.2	0.521	30.3	10.6	0.0	77.8	0.883	0.116	0.312		
<i>Campylobacter rectus</i>	39.3	21.4	17.9	60.7	37.3	10.6	8.3	92.9	1.000	47.8	14.0	0.0	88.9	0.770	0.565	0.844		
<i>Campylobacter showae</i>	71.4	28.6	42.9	100.0	39.1	15.8	0.0	100.0	0.303	51.9	14.4	8.0	100.0	0.303	0.481	0.443		
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	12.5	12.5	0.0	25.0	54.0	13.5	0.0	100.0	0.184	51.3	10.3	4.0	85.2	0.079	0.748	0.242		
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	58.9	37.5	21.4	96.4	36.8	13.6	0.0	85.2	0.378	36.3	13.1	4.0	100.0	0.558	0.848	0.711		
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	85.7	14.3	71.4	100.0	51.5	17.6	3.6	100.0	0.445	41.2	8.3	8.3	69.2	0.040	0.847	0.288		
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	39.3	3.6	35.7	42.9	50.4	11.5	3.8	100.0	0.380	53.3	11.9	8.0	100.0	0.659	0.749	0.759		
<i>Eikenella corrodens</i>	58.9	41.1	17.9	100.0	32.9	15.3	0.0	96.2	0.240	35.0	11.0	0.0	80.0	0.557	0.847	0.608		
<i>Eubacterium nodatum</i>	80.4	16.1	64.3	96.4	49.4	14.6	7.1	100.0	0.378	48.1	12.0	4.2	82.1	0.242	0.749	0.509		
<i>Eubacterium saburreum</i>	30.4	26.8	3.6	57.1	36.6	9.1	7.1	64.3	0.770	56.4	12.5	14.3	100.0	0.242	0.225	0.340		
<i>Filifactor alocis</i>	8.9	8.9	0.0	17.9	42.7	10.9	7.1	83.3	0.143	48.6	12.3	16.0	100.0	0.079	0.848	0.212		
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nuc.</i>	37.5	37.5	0.0	75.0	41.0	10.4	3.6	71.4	1.000	52.1	12.8	4.0	100.0	0.462	0.482	0.693		
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	62.5	12.5	50.0	75.0	54.6	13.7	7.1	96.3	0.883	71.6	7.1	44.0	95.0	0.558	0.406	0.665		
<i>Gemella morbillorum</i>	80.4	19.6	60.7	100.0	29.4	14.9	0.0	100.0	0.100	21.4	8.0	0.0	50.0	0.040	0.948	0.131		
<i>Neisseria mucosa</i>	48.2	33.9	14.3	82.1	66.8	12.0	3.8	95.8	0.558	50.3	11.5	8.0	92.6	1.000	0.406	0.667		
<i>Parvimonas micra</i>	37.5	33.9	3.6	71.4	18.6	5.3	0.0	39.3	0.769	42.7	12.0	3.6	100.0	0.883	0.084	0.276		
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	64.3	17.9	46.4	82.1	49.0	12.1	3.6	83.3	0.558	75.7	7.0	55.6	100.0	0.557	0.159	0.344		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	48.2	12.5	35.7	60.7	53.0	13.4	10.7	100.0	1.000	57.8	14.0	4.0	100.0	0.770	0.798	0.949		
<i>Prevotella intermedia</i>	50.0	39.3	10.7	89.3	65.1	12.1	14.3	100.0	0.770	60.1	12.6	16.7	100.0	0.770	0.654	0.880		
<i>Prevotella loescheii</i>	39.3	35.7	3.6	75.0	49.8	10.4	7.7	78.6	0.770	58.3	11.8	8.0	90.0	0.380	0.406	0.573		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	71.4	21.4	50.0	92.9	44.7	12.9	3.6	88.9	0.303	49.5	15.0	0.0	100.0	0.558	0.848	0.661		
<i>Prevotella nigrescens</i>	48.2	8.9	39.3	57.1	35.0	14.5	3.6	95.8	0.380	54.6	12.4	12.0	100.0	0.558	0.225	0.398		
<i>Propionibacterium acnes</i>	66.1	33.9	32.1	100.0	16.4	11.2	0.0	81.5	0.074	32.2	13.7	0.0	85.2	0.234	0.506	0.208		
<i>Selenomonas noxia</i>	50.0	50.0	0.0	100.0	18.0	10.9	0.0	77.8	0.766	35.2	13.4	0.0	92.3	0.766	0.477	0.780		
<i>Streptococcus anginosus</i>	58.9	16.1	42.9	75.0	45.1	13.3	3.8	87.5	0.558	46.8	10.9	18.5	100.0	0.462	0.848	0.767		
<i>Streptococcus constellatus</i>	39.3	7.1	32.1	46.4	52.0	8.7	12.5	82.1	0.380	45.4	8.9	12.0	77.8	0.770	0.565	0.675		
<i>Streptococcus gordonii</i>	19.6	5.4	14.3	25.0	58.1	14.2	0.0	100.0	0.303	58.8	9.7	28.0	95.0	0.040	0.949	0.246		
<i>Streptococcus intermedius</i>	69.6	23.2	46.4	92.9	55.0	14.5	7.7	100.0	0.558	62.7	11.8	4.0	100.0	0.769	0.898	0.880		
<i>Streptococcus mitis</i>	73.2	26.8	46.4	100.0	49.8	14.6	0.0	100.0	0.462	33.2	8.9	4.0	65.4	0.186	0.406	0.377		
<i>Streptococcus oralis</i>	50.0	50.0	0.0	100.0	37.4	12.4	0.0	100.0	1.000	25.2	6.9	0.0	48.1	0.883	0.563	0.863		
<i>Streptococcus sanguinis</i>	62.5	37.5	25.0	100.0	53.2	11.9	7.7	95.8	0.558	46.9	13.2	4.0	100.0	0.659	0.798	0.840		
<i>Tannerella forsythia</i>	50.0	50.0	0.0	100.0	42.9	12.7	0.0	87.5	0.883	62.1	12.4	28.6	100.0	0.883	0.201	0.498		
<i>Treponema denticola</i>	58.9	37.5	21.4	96.4	46.8	10.3	7.7	79.2	0.659	52.2	13.3	8.0	100.0	0.770	0.749	0.881		
<i>Veillonella parvula</i>	69.6	30.4	39.3	100.0	46.1	9.8	7.7	91.7	0.558	62.0	13.5	3.6	100.0	0.659	0.277	0.528		

**Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Walis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b.*; **nuc:** *nucleatum*; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 10.** Proporción promedio (porcentaje del total de las cuentas de las sondas DNA) de las 40 especies bacterianas evaluada en sujetos clasificados en agrupaciones Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

Proporción	Perio 1 n= 2				Perio 2 n= 7				UM Perio 1 vs.		Perio 3 n= 7				UM Perio 1 vs.		UM Perio 2 vs.	KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3	Perio 3		
<i>Actinomyces georgiae</i>	0.4	0.4	0.0	0.8	0.8	0.4	0.0	3.1	0.770	0.8	0.5	0.0	3.9	0.770	0.655	0.880		
<i>Actinomyces israelii</i>	0.4	0.1	0.3	0.5	1.9	0.9	0.1	6.2	0.380	1.0	0.3	0.1	2.0	0.380	0.949	0.634		
<i>Actinomyces naeslundii</i>	2.1	1.8	0.2	3.9	1.2	0.6	0.1	4.7	1.000	1.5	0.5	0.2	3.9	0.770	0.406	0.725		
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	0.0	0.7	0.769	0.4	0.1	0.0	1.1	0.143	0.406	0.402		
<i>Actinomyces viscosus</i>	4.1	2.6	1.5	6.7	3.2	1.5	0.0	9.0	0.558	1.8	0.4	0.2	3.4	0.380	0.749	0.712		
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans stp. b.</i>	2.3	1.0	1.3	3.3	1.6	0.4	0.2	2.7	0.242	4.1	2.3	0.0	15.0	0.558	0.749	0.626		
<i>Campylobacter gracilis</i>	3.7	3.7	0.0	7.4	2.3	1.9	0.0	13.7	0.748	0.9	0.3	0.0	2.6	0.883	0.396	0.717		
<i>Campylobacter rectus</i>	0.8	0.3	0.6	1.1	1.4	0.6	0.1	4.8	1.000	1.6	0.6	0.0	4.3	0.770	0.749	0.933		
<i>Campylobacter showae</i>	4.0	3.8	0.2	7.8	1.2	0.6	0.0	3.4	0.242	0.8	0.3	0.1	2.1	0.558	0.848	0.611		
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	0.1	0.1	0.0	0.1	5.2	2.9	0.0	20.2	0.106	2.7	1.4	0.0	10.2	0.079	0.749	0.182		
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	0.5	0.4	0.1	1.0	0.6	0.3	0.0	1.6	1.000	0.9	0.5	0.0	3.9	0.770	0.749	0.963		
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	3.6	1.3	2.3	4.8	3.9	2.0	0.0	14.0	0.558	1.4	0.6	0.0	3.8	0.143	0.749	0.487		
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	1.3	0.4	0.9	1.7	2.4	1.0	0.3	7.6	1.000	3.2	0.9	0.2	5.8	0.558	0.565	0.786		
<i>Eikenella corrodens</i>	3.3	3.2	0.1	6.5	1.9	1.2	0.0	8.5	0.558	0.7	0.2	0.0	1.4	0.557	0.847	0.805		
<i>Eubacterium nodatum</i>	4.4	0.2	4.2	4.7	2.3	0.9	0.0	6.0	0.380	3.8	2.4	0.0	17.7	0.143	0.949	0.440		
<i>Eubacterium saburreum</i>	0.4	0.4	0.0	0.8	1.1	0.5	0.2	3.3	0.558	1.5	0.4	0.1	2.8	0.143	0.565	0.430		
<i>Fillifactor aloclis</i>	0.9	0.9	0.0	1.9	5.3	3.4	0.0	24.7	0.380	1.7	0.5	0.2	3.3	0.380	0.949	0.634		
<i>Fusobacterium nucleatum subsp. nuc.</i>	2.4	2.4	0.0	4.7	1.6	0.5	0.1	3.7	1.000	2.1	0.9	0.1	6.6	0.770	0.749	0.933		
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	2.8	0.1	2.6	2.9	2.8	0.9	0.1	5.3	0.770	4.6	1.2	1.3	10.2	0.770	0.142	0.413		
<i>Gemella morbillorum</i>	9.5	7.4	2.1	16.9	8.8	8.5	0.0	59.7	0.137	0.4	0.2	0.0	1.7	0.040	0.744	0.152		
<i>Neisseria mucosa</i>	3.5	3.4	0.1	6.8	4.3	1.7	0.2	13.4	0.770	2.7	1.6	0.2	12.4	0.770	0.277	0.603		
<i>Parvimonas micra</i>	2.6	2.3	0.2	4.9	1.3	0.6	0.0	4.0	0.380	2.0	0.7	0.0	5.1	1.000	0.406	0.596		
<i>Porphyromonas endodontalis</i>	3.9	0.7	3.2	4.6	3.7	1.6	0.1	12.4	0.380	6.2	2.0	1.6	17.4	0.770	0.142	0.301		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1.1	0.2	1.0	1.3	2.8	1.1	0.2	8.0	0.770	5.4	1.6	0.1	9.9	0.380	0.338	0.518		
<i>Prevotella intermedia</i>	6.3	6.0	0.2	12.3	6.4	3.5	0.6	26.1	0.770	5.2	2.2	0.8	17.5	0.770	0.848	0.937		
<i>Prevotella loescheii</i>	2.0	1.9	0.1	3.8	2.3	1.0	0.4	8.0	0.770	2.6	0.8	0.2	6.0	0.558	0.848	0.871		
<i>Prevotella melaninogenica</i>	2.0	0.7	1.2	2.7	1.1	0.3	0.0	2.0	0.242	1.5	0.6	0.0	4.2	0.380	0.848	0.526		
<i>Prevotella nigrescens</i>	0.7	0.5	0.2	1.3	2.0	1.0	0.0	5.9	0.770	4.1	1.0	0.2	8.4	0.143	0.085	0.147		
<i>Propionibacterium acnes</i>	2.0	1.8	0.2	3.8	0.1	0.1	0.0	0.8	0.074	0.7	0.4	0.0	2.4	0.234	0.425	0.191		
<i>Selenomonas noxia</i>	1.7	1.7	0.0	3.3	0.2	0.1	0.0	0.7	0.766	1.7	1.4	0.0	10.0	1.000	0.651	0.890		
<i>Streptococcus anginosus</i>	0.9	0.1	0.8	1.0	1.2	0.6	0.0	4.3	0.558	1.7	0.8	0.3	6.1	0.770	0.749	0.844		
<i>Streptococcus constellatus</i>	0.5	0.0	0.5	0.5	2.8	1.1	0.1	8.0	0.143	2.7	0.7	0.8	6.3	0.040	0.749	0.151		
<i>Streptococcus gordonii</i>	2.3	0.6	1.7	2.9	3.9	1.6	0.0	12.3	0.770	3.9	1.8	0.3	13.5	0.770	0.949	0.986		
<i>Streptococcus intermedius</i>	1.1	0.5	0.6	1.6	2.0	0.9	0.2	7.4	1.000	1.4	0.4	0.0	2.8	0.770	0.949	0.981		
<i>Streptococcus mitis</i>	2.7	1.9	0.7	4.6	0.9	0.3	0.0	2.3	0.558	0.7	0.3	0.0	2.4	0.143	0.482	0.396		
<i>Streptococcus oralis</i>	1.1	1.1	0.0	2.2	0.6	0.3	0.0	1.8	0.883	0.4	0.3	0.0	1.9	0.883	0.522	0.843		
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1.4	1.0	0.3	2.4	1.9	0.6	0.1	4.2	0.770	0.5	0.1	0.0	1.0	0.558	0.225	0.461		
<i>Tannerella forsythia</i>	8.3	8.3	0.0	16.6	4.5	1.6	0.0	10.1	0.883	8.4	3.9	0.6	30.6	0.770	0.565	0.838		
<i>Treponema denticola</i>	1.8	1.0	0.8	2.8	2.0	0.6	0.5	3.8	0.770	1.6	0.6	0.4	5.1	0.558	0.482	0.725		
<i>Veillonella parvula</i>	7.2	5.4	1.8	12.6	3.8	1.3	0.1	9.5	0.380	3.2	1.1	0.2	7.0	0.380	0.949	0.634		

**Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Walis; **A. actinomycetemcomitans stp. b.:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans serotipo b.*; **nuc:** *nucleatum*; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 11.** Proporciones promedio (% de cuentas bacterianas totales) de las 40 los complejos bacterianos evaluadas en sujetos clasificados en agrupaciones grupos Perio 1 (n= 2), Perio 2 (n=7) y Perio 3 (n=7).

Proporción de complejos	Perio 1 n=2				Perio 2 n=7				UM Perio 1 vs.		Perio 3 n=7				UM Perio 1 vs.		UM Perio 2 vs.		KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EE	Mínimo	Máximo	Perio 2	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Perio 3	Perio 3	Perio 3	Perio 3		
<i>Actinomyces</i> sp.	10.9	7.9	3.0	18.9	7.2	2.5	1.1	17.0	0.380	5.4	1.1	0.8	10.2	0.770	0.655	0.786			
Amarillo	9.5	5.3	4.2	14.7	10.4	2.4	1.0	21.3	1.000	7.8	2.2	2.1	19.3	0.770	0.277	0.593			
Morado	7.3	5.5	1.8	12.8	4.0	1.3	0.1	9.5	0.558	3.9	1.0	0.5	7.3	0.558	0.949	0.816			
Verde	7.4	2.3	5.1	9.7	11.4	2.4	4.0	20.8	0.558	4.4	1.6	0.8	12.5	0.242	0.035	0.087			
Naranja	28.2	19.1	9.1	47.4	24.2	4.4	11.8	40.8	1.000	27.3	4.0	15.2	45.8	1.000	0.482	0.826			
Rojo	11.2	9.5	1.7	20.6	9.3	2.4	0.9	19.5	0.770	16.1	5.2	2.4	45.5	0.770	0.277	0.566			
No agrupado	4.0	0.7	3.3	4.7	1.7	0.4	0.3	2.9	-	5.3	2.2	0.0	15.0	-	-	-			
Otros	25.4	10.9	14.5	36.3	29.2	7.0	11.9	65.8	-	22.5	2.3	14.2	30.8	-	-	-			

**Media:** % de sitios con cuentas totales  $\times 10^5$  de cada especie bacteriana; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba estadística de Kruskal Walis; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 12 A y B.** Características clínicas metabólicas entre sujetos con adecuado y pobre control metabólico de Hemoglobina glucosilada y sujetos con Obesidad.

A. Hemoglobina glicosilada		Hemoglobina glicosilada < 6.5% n= 6				Hemoglobina glucosilada > 6.5% n= 10				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo		
Perio 1, 2 y 3	1.83	0.31	1.00	3.00	2.60	0.16	2.00	3.00	0.043	
Grado	2.00	0.00	2.00	2.00	3.00	0.00	3.00	3.00	0.0001	
NI<2	1.44	0.07	1.14	1.66	1.06	0.13	0.14	1.52	0.030	
SAS	14.60	0.02	0.07	0.21	34.99	0.08	0.06	0.76	0.039	
<i>A. georgiae</i> _proporción	1.58	0.63	0.01	3.91	0.23	0.06	0.00	0.57	0.023	
<i>S. anginosus</i> _proporción	2.42	0.92	0.62	6.05	0.89	0.41	0.00	2.81	0.030	
<i>S. oralis</i> _proporción	1.20	0.37	0.00	2.18	0.20	0.10	0.00	0.97	0.039	
<i>S. sanguinis</i> _proporción	2.25	0.37	0.31	4.19	0.61	0.18	0.03	1.89	0.039	
B. Obesidad		Sin obesidad IMC < 30% n= 6				Con obesidad IMC ≥ 30% n= 10				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo		
Peso Kg	63.90	5.21	44.10	81.30	83.05	2.88	70.90	94.40	0.026	
VFA	110.67	29.30	29.00	244.00	209.90	13.52	145.00	260.00	0.026	
<i>S. constellatus</i> _cuentas	2.99	0.42	1.22	4.37	1.29	0.26	0.24	2.69	0.036	

**Obesidad:** Tipo 1-4; **VFA:** grasa visceral; **NI:** Nivel de inserción; **SAS:** sangrado; **DE:** Desviación estándar; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color rojo:**  $p < 0.001$ .

**Tabla 12 C y D.** Características clínicas metabólicas entre sujetos con adecuado y pobre control de Triglicéridos y Colesterol.

C. Triglicéridos		Triglicéridos ≤ 150 mg/ dl n=9				Triglicéridos > 150 mg/ dl n=7				KW
		Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
RNAC		0.00	0.00	0.00	0.00	0.429	0.20	0.00	1.00	0.035
RAC		0.00	0.00	0.00	0.00	0.429	0.20	0.00	1.00	0.035
D. Colesterol		Colesterol ≤ 180 mg/dl n= 9				Colesterol > 180 mg/ dl n= 7				KW
		Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Triglicéridos		111.33	13.35	74.00	195.00	265.86	43.24	88.00	414.00	0.013
HDL		50.44	2.95	34.00	61.00	39.43	2.14	30.00	47.00	0.017
LDL		91.11	5.81	63.00	116.00	120.29	10.78	62.00	147.00	0.026
IA= LDL/ HDL		1.87	0.24	1.15	3.40	3.02	0.28	2.00	4.00	0.013
No-HDL		107.22	5.44	86.00	134.00	159.29	12.00	96.00	189.00	0.005
<i>F. alocis_cuentas</i>		1.45	0.64	0.00	5.74	4.24	0.83	1.53	8.21	0.017
<i>F. alocis_prevalencia</i>		28.2	9.9	0.00	100.0	57.6	9.0	17.9	85.2	0.030
<i>F. alocis_proporción</i>		0.86	0.33	0.00	2.79	6.17	3.18	0.99	24.67	0.007
<i>N. mucosa_proporción</i>		2.27	1.33	0.14	12.37	5.08	156.4	1.37	13.40	0.023

**HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **RNAC:** Riesgo de Neuropatía Autónoma Cardíaca; **RAC:** Relación Albumina/Creatinina; **EEM** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color naranja:**  $p < 0.01$ .

**Tabla 12 E y F.** Características clínicas metabólicas entre sujetos con adecuado y pobre control metabólico del HDL y LDL.

E. HDL	HDL > 40 mg/dl n= 11				HDL ≤ 40 mg/dl n= 5				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Glucosa rápida en sangre	149.27	23.78	92.00	369.00	223.60	45.55	129.00	395.00	0.027
IA= LDL/ HDL	1.97	0.19	1.15	3.00	3.26	0.37	2.00	4.00	0.020
<i>C. gingivalis</i> _prevalencia	58.3	13.5	0.0	100.0	24.13	10.18	0.00	50.00	0.041
F. LDL	LDL ≤ 100 mg/dl n= 8				LDL > 100 mg/ dl n= 8				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Control farmacológico de diabetes	1.00	0.00	1.00	1.00	0.88	0.13	0.00	1.00	0.037
Colesterol	150.38	4.73	127.00	173.00	201.13	7.88	169.00	226.00	0.001
HDL	50.25	3.70	30.00	61.00	41.00	1.82	34.00	48.00	0.040
IA= LDL/ HDL	1.64	0.13	1.15	2.10	3.11	0.22	2.38	4.00	0.0008
No-HDL	100.00	3.62	86.00	117.00	160.00	8.15	127.00	189.00	0.0008
NI<3	12.50	6.19	0.00	55.00	20.13	4.55	6.00	48.00	0.035
<i>C. showae</i> _cuentas	3.15	0.99	0.04	7.17	0.92	0.44	0.00	3.00	0.046
<i>C. sputigena</i> _cuentas	5.52	3.63	0.61	30.83	1.15	0.62	0.02	5.09	0.046
<i>G. morbillorum</i> _cuentas	6.07	3.10	0.00	21.95	0.37	0.23	0.00	1.73	0.033
<i>C. showae</i> _prevalencia	69.92	13.08	3.85	100.00	27.52	10.19	0.00	77.78	0.035
<i>C. sputigena</i> _prevalencia	70.02	9.88	37.04	100.00	32.56	12.22	3.57	100.00	0.020
<i>E. nodatum</i> _prevalencia	72.15	9.23	22.22	100.00	33.22	10.68	4.17	82.14	0.027
<i>G. morbillorum</i> _prevalencia	50.75	13.03	0.00	100.00	13.81	7.69	0.00	59.26	0.033

**HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **NI:** Nivel de Inserción; **EEM** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color naranja:**  $p < 0.01$ ; **Color rojo:**  $p < 0.001$ .

**Tabla 12 G y H.** Características clínicas metabólicas entre sujetos con adecuado y pobre control metabólico del No-HDL e IA.

G. No-HDL	No-HDL ≤130 mg/dl n=9				No-HDL >130 mg/dl n=7				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Colesterol	153.11	4.99	127.00	175.00	204.86	8.01	169.00	226.00	0.002
HDL	50.00	3.27	30.00	61.00	40.00	1.76	34.00	47.00	0.023
LDL	85.11	5.69	62.00	114.00	128.00	5.08	114.00	147.00	0.0010
IA=LDL/HDL	1.72	0.14	1.15	2.38	3.22	0.22	2.50	4.00	0.0009
<i>C. showae_prevalencia</i>	66.3	12.1	3.8	100.0	26.1	11.6	0.00	77.8	0.038
<i>F. alocis_prevalencia</i>	28.4	9.9	0.0	100.0	57.3	9.2	16.0	85.2	0.039
<i>F. alocis_proporción</i>	1.05	0.34	0.00	2.79	5.93	3.24	0.15	24.67	0.007
<i>N. mucosa_proporción</i>	2.93	1.40	0.14	12.37	4.24	1.63	0.93	13.40	0.023
H. IA	IA ≤3 n=13				IA >3 n=3				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Presión arterial baja	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.33	0.00	1.00	0.037
HDL	47.92	2.43	30.00	61.00	35.67	0.88	34.00	37.00	0.026
LDL	96.54	6.37	62.00	130.00	135.67	9.87	116.00	147.00	0.026
<i>S. mitis_prevalencia</i>	46.9	8.3	0.0	100.0	39.4	30.4	4.0	100.0	0.023
<i>C. ochracea_proporción</i>	0.73	0.30	0.00	3.88	0.53	0.51	0.00	1.54	0.039
<i>S. intermedius_proporción</i>	1.84	0.51	0.16	7.40	0.64	0.40	0.03	1.38	0.030

**HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **EEM** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color naranja:**  $p < 0.01$ ; **Color rojo:**  $p < 0.001$ .

**Tabla 12 I y J.** Características clínicas metabólicas entre sujetos riesgo y ausencia de riesgo metabólico del RNAC y RAC.

I. RNAP	RNAP ≤1 n=10				RNAP >1 n=6				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
<i>C. sputigena_cuentas</i>	4.99	2.91	0.02	30.83	0.57	0.19	0.05	1.22	0.039
<i>E. nodatum_cuentas</i>	5.59	1.26	0.03	14.51	1.47	0.48	0.11	3.23	0.023
J. RAC	RAC ≤30 g/ mg n=13				RAC >30 g/ mg n=3				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
<i>C. gracilis_cuentas</i>	0.56	0.29	0.00	3.87	6.92	3.50	2.13	13.74	0.011
<i>P. intermedia_cuentas</i>	7.15	4.27	0.19	57.19	11.04	1.57	7.93	12.96	0.037
<i>P. endodontalis_prevalencia</i>	57.0	7.6	3.6	100.0	86.6	6.8	77.8	100.0	0.043

**DE:** Desviación estándar; **Error** estándar; **RNAP:** Riesgo de Neuropatía Autónoma Periférica; **RAC:** Relación Albúmina Creatinina.; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ .

**Tabla 13.** Características nutricionales y de actividad física de sujetos diabéticos.

	Consumo de Carbohidratos 40%-46% n= 4				Consumo de Carbohidratos <40% o >46% n= 12				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Edad	43.00	3.03	39.00	52.00	50.92	1.92	40.00	61.00	0.045
Consumo de grasas (%)	39.50	1.94	35.00	44.00	30.08	2.13	21.00	47.00	0.034
<i>A. a. b_cuentas</i>	4.23	0.87	2.54	5.74	1.87	0.50	0.00	6.52	0.039
<i>C. rectus_cuentas</i>	3.94	0.83	1.62	5.58	1.32	0.40	0.00	5.27	0.021
<i>C. matruchotii_cuentas</i>	9.63	3.19	2.94	15.80	3.15	1.00	0.06	13.11	0.039
<i>S. anginosus_cuentas</i>	3.62	1.65	1.36	8.51	0.94	0.28	0.01	3.17	0.029
<i>G. morbillorum_proporción</i>	4.42	4.17	0.00	16.92	5.46	4.94	0.00	59.69	0.043
	Consumo de Proteínas 10-20% n= 11				Consumo de Proteínas < 10% o > 20% n=5				
<i>E. corrodens_cuentas</i>	2.39	0.84	0.00	8.86	0.26	0.20	0.00	1.04	0.027
<i>E. corrodens_prevalencia</i>	49.7	11.0	0.00	100.0	9.3	5.1	0.00	25.0	0.031
<i>E. saburreum_proporción</i>	1.11	0.35	0.03	3.01	1.40	0.58	0.24	3.31	0.013
	Consumo de grasas ≤ 30 % n= 7				Consumo de grasas > 45% n= 9				
Consumo de carbohidratos (%)	51.57	3.82	30.00	62.00	45.00	1.63	39.00	52.00	0.020
<i>C. rectus_1_cuentas</i>	0.85	0.27	0.00	1.78	2.85	0.66	0.69	5.58	0.030
<i>A. a. b_prevalencia</i>	27.6	5.4	0.00	48.1	59.7	10.4	17.9	100.0	0.017
<i>C. rectus_prevalencia</i>	18.8	4.5	0.00	30.8	60.4	9.6	17.9	92.9	0.010
<i>P. loescheii_prevalencia</i>	38.6	9.1	7.7	66.7	62.7	10.4	3.6	90.0	0.039
<i>A. a. b_proporción</i>	0.86	0.32	0.00	2.48	4.27	1.65	0.67	15.04	0.017
<i>S. constellatus_proporción</i>	2.60	0.80	0.11	6.34	2.36	0.90	0.47	8.04	0.023
	Ejercicio aeróbico ≥ 6 días por semana n= 6				Ejercicio aeróbico < 6 días por semana n=10				
Control farmacológico de diabetes	1.00	0.00	1.00	1.00	0.90	0.10	0.00	1.00	0.008
<i>A. israelii_cuentas</i>	0.900	0.10	0.00	1.00	0.917	0.30	0.02	2.36	0.030
<i>F. alocis_cuentas</i>	4.247	0.94	2.12	8.21	1.728	0.66	0.00	5.29	0.023
<i>F. periodonticum_cuentas</i>	6.077	0.54	4.83	8.51	3.168	1.32	0.35	14.39	0.009
<i>S. intermedius_cuentas</i>	3.260	0.47	1.27	4.47	2.255	1.42	0.02	14.87	0.023
<i>S. mitis_cuentas</i>	3.015	0.93	1.58	7.61	0.593	0.19	0.00	1.94	0.002
<i>T. forsythia_cuentas</i>	26.958	12.94	1.19	88.45	4.420	1.25	0.00	11.47	0.013
<i>T. denticola_cuentas</i>	6.466	2.17	2.93	17.07	2.281	1.11	0.06	10.68	0.030
<i>C. ochracea_prevalencia</i>	66.182	16.2	7.1	100.0	23.291	6.5	0.00	53.8	0.039
<i>F. periodonticum_prevalencia</i>	84.164	4.8	67.9	96.3	50.338	8.4	7.1	92.6	0.013
<i>C. gracilis_proporción</i>	2.549	2.25	0.00	13.74	1.497	0.72	0.00	7.43	0.007
<i>C. showae_proporción</i>	1.263	0.53	0.08	3.06	1.503	0.77	0.00	7.82	0.037
C5	25.175	5.97	9.06	45.77	26.616	3.68	11.83	47.36	0.037

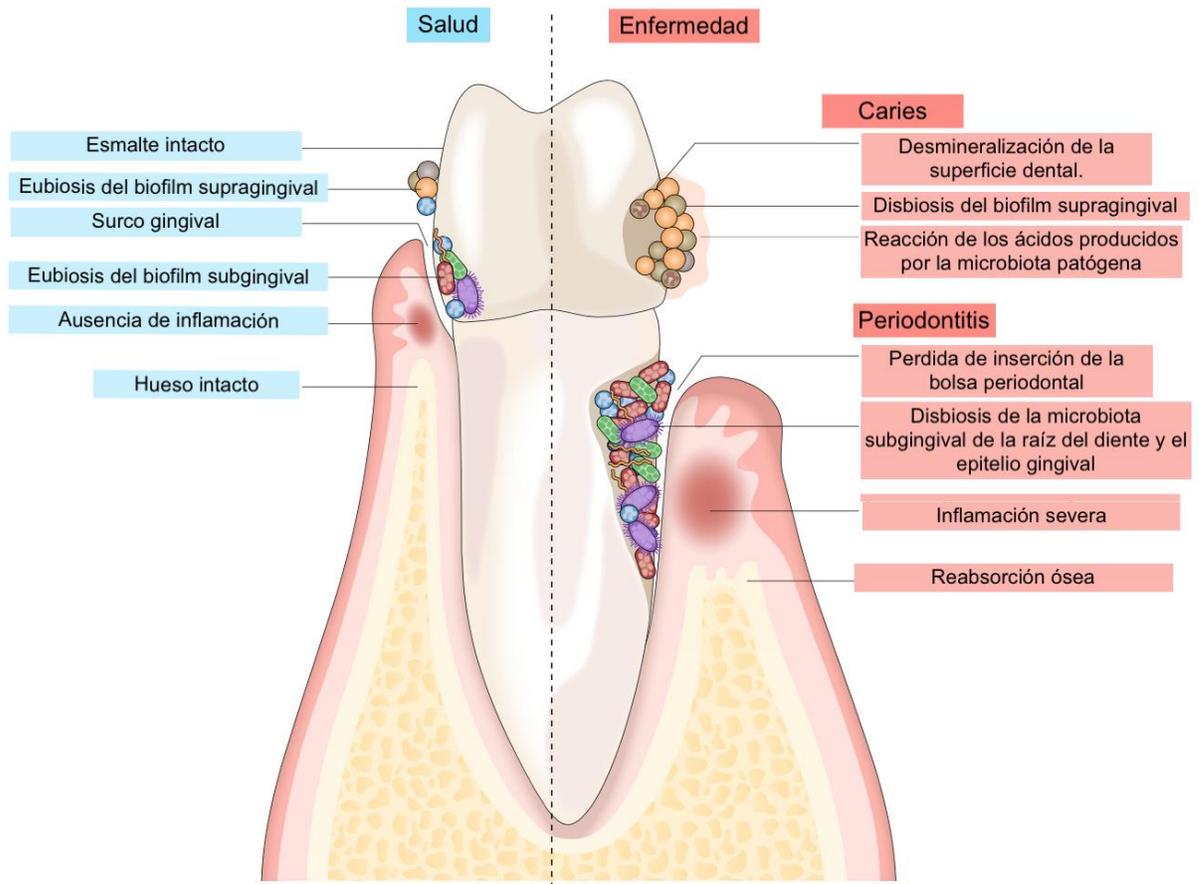
**EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Walis; **Color verde:**  $p < 0.05$ , **Color naranja:**  $p < 0.01$ .

**Tabla 14.** Características clínicas metabólicas de sujetos que padecieron COVID-19 en los últimos 24 meses.

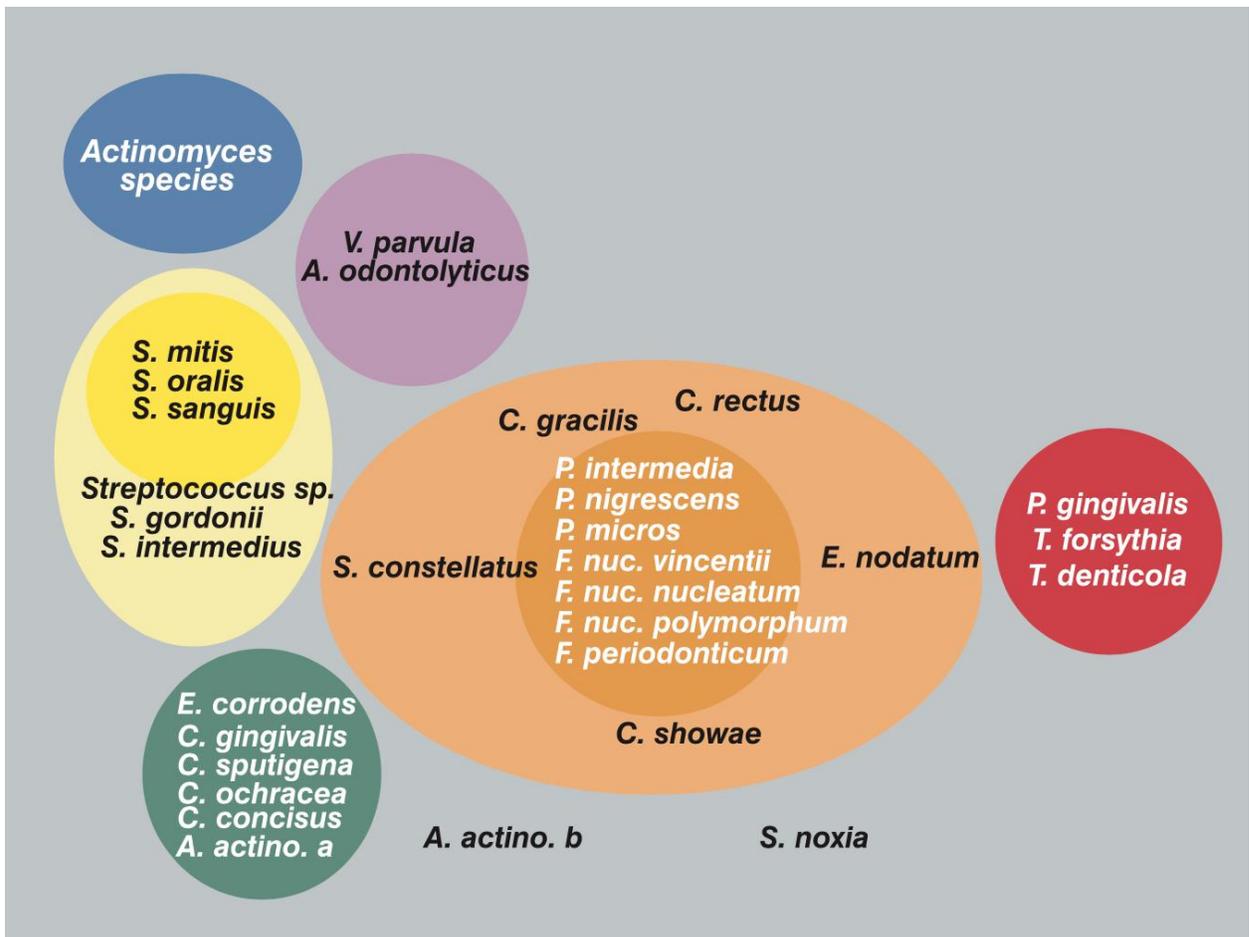
	COVID-19 (no padeció) n= 9				COVID-19 (padeció) n= 7				KW
	Media	EEM	Mínimo	Máximo	Media	EEM	Mínimo	Máximo	
Glucosa rápida en sangre	209.3	35.1	92.0	395.0	125.1	12.2	92.0	171.0	0.044
Colesterol	189.2	9.1	155.0	226.0	158.4	11.2	127.0	218.0	0.026
LDL	118.44	6.58	86.00	147.00	85.14	8.69	62.00	128.00	0.015
IA= LDL/ HDL	2.8	0.3	1.4	4.0	1.8	0.2	1.1	2.7	0.017
No-HDL	145.8	11.0	94.0	189.0	109.7	10.9	86.0	171.0	0.039
<i>N. mucosa_cuentas</i>	1.8	0.5	0.1	4.2	6.6	1.6	0.2	13.1	0.010
<i>S. gordonii_cuentas</i>	3.2	1.6	0.0	14.8	9.5	2.8	2.8	24.5	0.023
<i>S. mitis_prevalencia</i>	29.53	0.1	0.0	1.0	65.97	0.1	0.3	1.0	0.023
<i>C. ochracea_proporción</i>	0.3	0.2	0.0	1.5	1.2	0.5	0.1	3.9	0.039
<i>S. intermedius_proporción</i>	0.9	0.3	0.0	2.8	2.5	0.8	0.6	7.4	0.030

**HDL:** Lipoproteínas de Alta Densidad (Siglas en inglés); **LDL:** Lipoproteínas de Baja Densidad (Siglas en inglés); **IA:** Índice Aterogénico; **DE:** Desviación Estándar; **EEM:** Error Estándar de la Media; **KW:** Prueba de Kruskal Wallis; **Color verde:**  $p < 0.05$ ; **Color naranja:**  $p < 0.01$ .

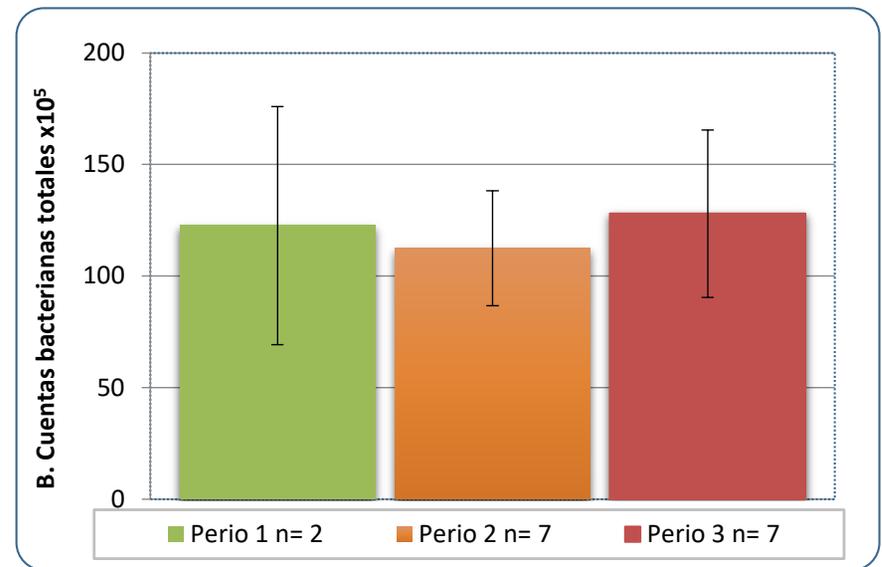
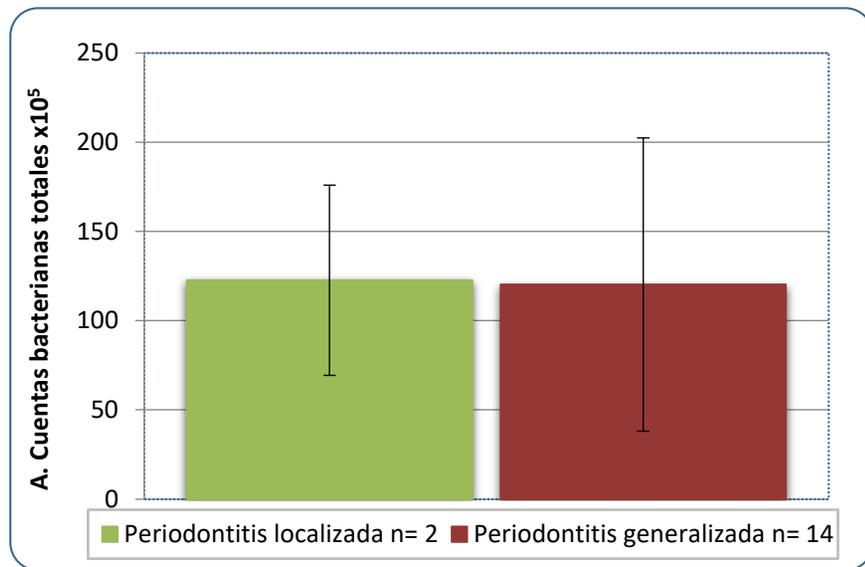
## XIV. FIGURAS



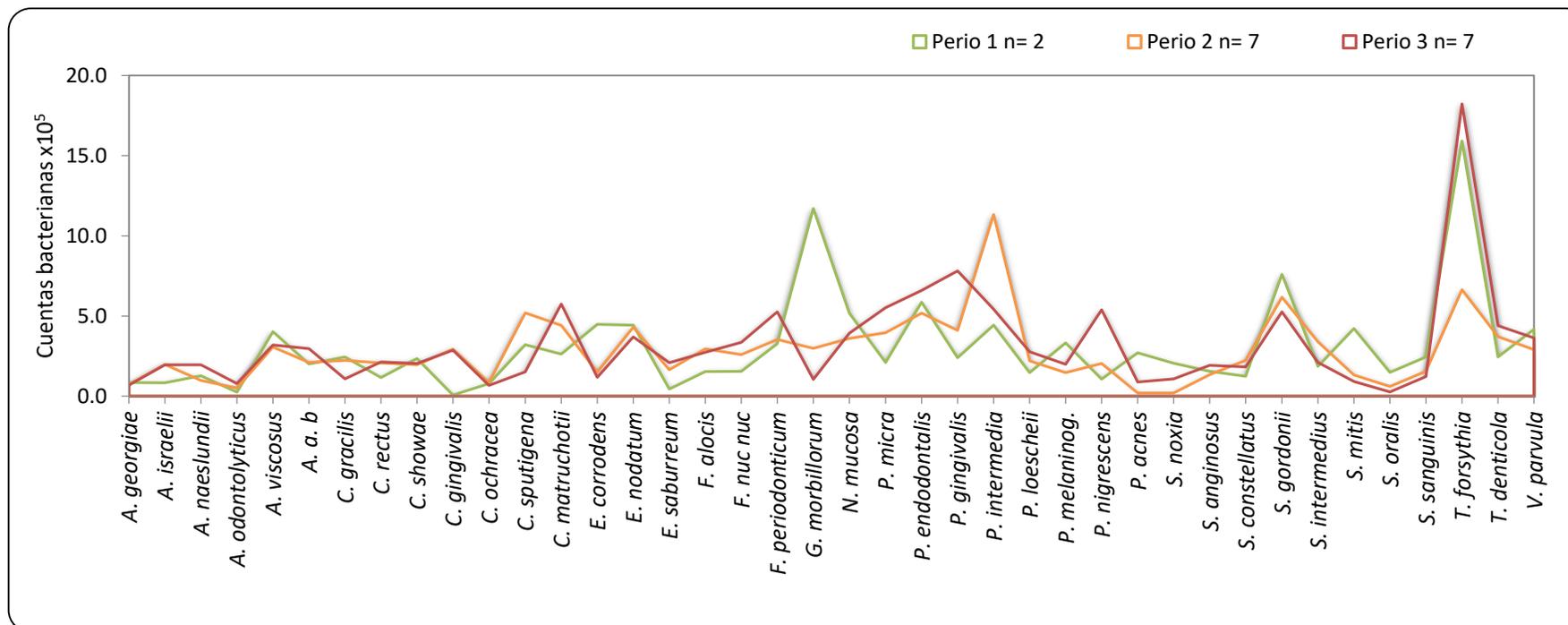
**Figura 1.** Biogeografía de la colonización de la microbiota bucal en los diversos hábitats de un diente. La colonización microbiana se produce en todas las superficies disponibles del diente. Algunos microorganismos pueden penetrar en el tejido epitelial. En salud (izquierda), las biopelículas eubióticas mantienen un equilibrio homeostático con el huésped. En la enfermedad (derecha) la caries y la periodontitis se producen cuando las biopelículas se vuelven disbióticas, lo que aumenta los niveles y la duración de la inflamación progresivamente (38).



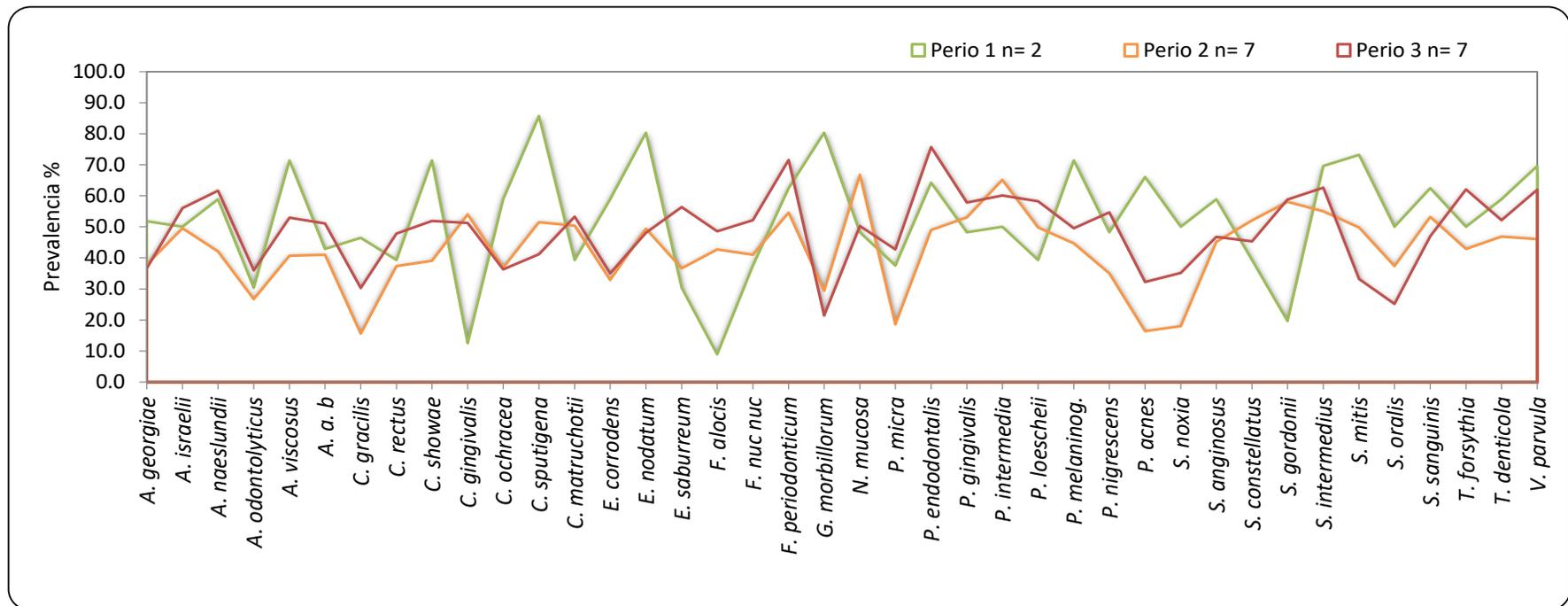
**Figura 2.** Diagrama representativo de las asociaciones entre especies bacterianas de la placa subgingival, agrupadas por complejos microbianos. Los complejos de Actinomyces, morado, amarillo y verde son especies consideradas como “colonizadoras primarias” o especies asociadas a salud periodontal. El complejo naranja se compone principalmente de especies “colonizadoras puente” o periodontopatógenas putativas, y el complejo rojo se compone por especies “colonizadoras tardías” o patógenas reconocidas, modificado de Socransky (35).



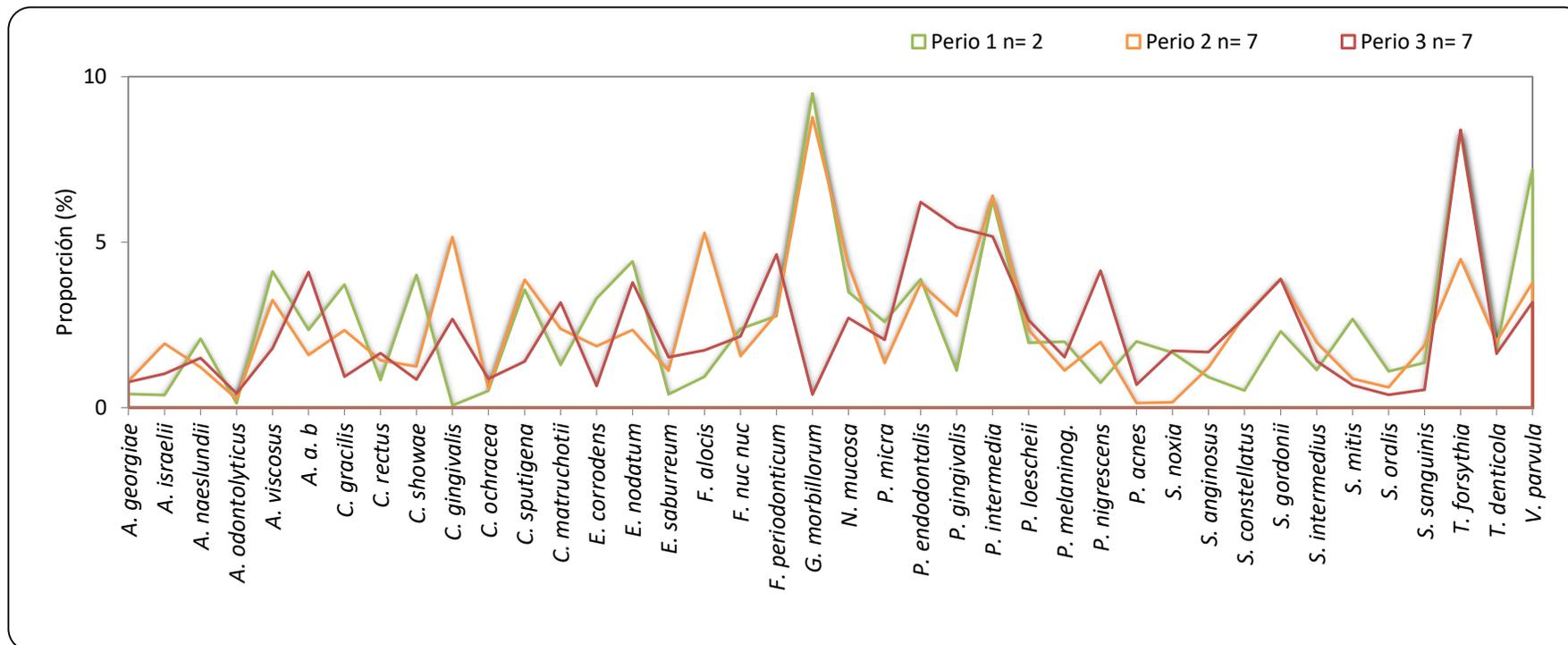
**Figura 3.** Cuentas totales bacterianas x 10<sup>5</sup> de las 40 especies individuales en las muestras de placa dentobacteriana subgingival de los sujetos de estudio **A.** Clasificados en sujetos con Periodontitis localizada (n=2) y Periodontitis generalizada (n= 14) y en **B.** Agrupaciones: Perio 1: Extensión 1 y Estadio II; Perio 2: Extensión 2, Estadios I y II; y Perio 3: Extensión 2, Estadio III y IV.



**Figura 4.** Niveles individuales (cuentas bacterianas x 10<sup>5</sup>) de las 40 especies individuales en las muestras de placa dentobacteriana subgingival de los sujeto de estudio. Los niveles totales fueron calculados determinando la concentración de cada especie en las muestras de placa, promediados entre las muestras de los sujetos de estudio. La significancia de las diferencias entre los grupos de Perio 1: Extensión 1 y Estadio II; Perio 2: Extensión 2, Estadios I y II; y Perio 3: Extensión 2, Estadio III y IV, no mostraron diferencias significativas.

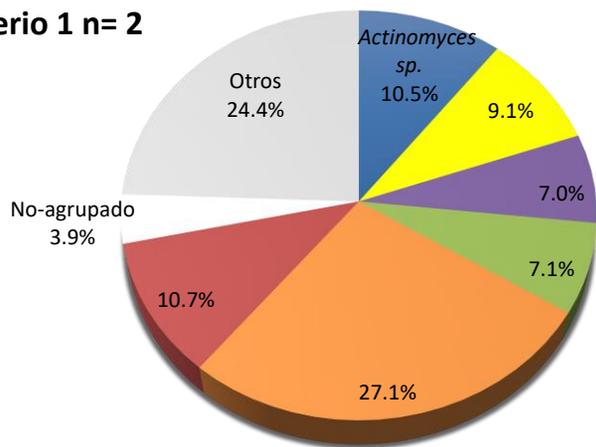


**Figura 5.** Prevalencia individual (% sitios colonizados) de las 40 especies individuales en muestras de placa dentobacteriana subgingival de los sujetos de estudio. La prevalencia fue calculada para cada especie en cada muestra de placa). La significancia de las diferencias ( $p < 0.05$ ), entre los grupos de Perio 1: Extensión 1 y Estadio II; Perio 2: Extensión 2, Estadios I y II; y Perio 3: Extensión 2, Estadio III y IV, se presentaron en la **tabla 9**.

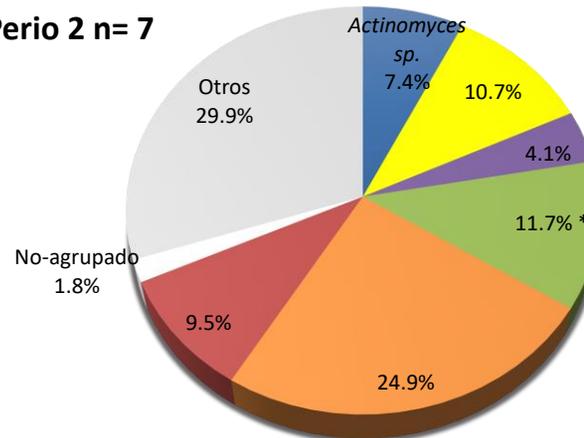


**Figura 6.** Proporción individual (% de cuentas bacterianas totales) de las 40 especies individuales en muestras de placa dentobacteriana subgingival de los **sujetos** de estudio. Las proporciones totales fueron calculadas determinando los niveles para cada especie en cada muestra de placa, promediados entre las muestras de los sujetos del estudio. La significancia de las diferencias ( $p < 0.05$ ), entre los grupos de Perio 1: Extensión 1 y Estadio II; Perio 2: Extensión 2, Estadios I y II; y Perio 3: Extensión 2, Estadio III y IV, se presentaron en la **tabla 10**.

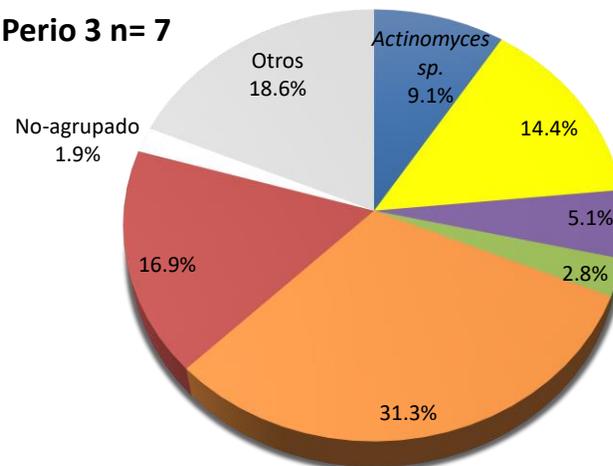
Perio 1 n= 2



Perio 2 n= 7



Perio 3 n= 7



**Figura 7.** Proporciones promedio (% de cuentas bacterianas totales  $\pm$  EEM) de complejos bacterianos en muestras de placa dentobacteriana subgingival de las 40 especies evaluadas fueron agrupadas en 8 complejos de acuerdo con la descripción de complejos bacterianos en la placa subgingival (las excepciones se describen en la Tabla 1.) Las proporciones fueron calculadas para cada complejo bacteriano en cada muestra de placa, promediadas entre las muestras de cada sujeto de estudio y posteriormente entre los diferentes grupos con las Prueba de U de Mann-Whitney Perio 2 vs. Perio 3  $p < 0.05$ , se muestran en **tabla 11**.

## XV. ANEXOS

### ANEXO 1. [Oficio de aceptación de la ENMIENDA \(REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627\)](#)

 **SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD

 INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN

CIUDAD DE MÉXICO, A 18 DE NOVIEMBRE DE 2021  
No. OFICIO MCONTROL-1835/2021  
REG. CONBIOÉTICA-09-CEI-011-20160627

**DRA. SOFIA RIOS VILLAVICENCIO**  
INVESTIGADORA PRINCIPAL  
CENTRO DE ATENCIÓN AL PACIENTE CON DIABETES (CAIPADI)  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN  
AV. VASCO DE QUIROGA No. 15  
COL. BELISARIO DOMÍNGUEZ SECCIÓN XVI  
CIUDAD DE MÉXICO, C.P. 14080  
**PRESENTE**

En respuesta a su oficio del pasado 17 de noviembre, en relación al Protocolo de Investigación Clínica, titulado:

**“Descripción de la microbiota subgingival y modificadores endógenos, de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico, previo y durante su control médico”**  
Ref. 3772

Le informamos que se **ha revisado y aprobado** la **ENMIENDA**, adecuaciones puntuales al título, al protocolo y al consentimiento descritas en la siguiente forma para los documentos:

- Cambio de título al proyecto:**

**Título actual:** “Descripción de la microbiota subgingival y su modificación según control metabólico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico”

**Título sugerido:** “Descripción de la microbiota subgingival y modificadores endógenos, de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico, previo y durante su control médico”
- Solicitud para la toma de una serie radiográfica periapical completa como auxiliar de diagnóstico periodontal, para poder valorar la pérdida ósea y así poder emitir un diagnóstico basado en la nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias 2018. Dicho procedimiento se realizaría en CAIPaDi en el área de dental usando un mandil de plomo con cuello así como un radiovisiografo que requiere de menos radiación para protección de los pacientes.

1.

Avenida Vasco de Quiroga No. 15, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Alcaldía Tlalpan  
C.P. 14080 Ciudad de México Tel. 55 54 87 09 00 www.incmnsz.mx



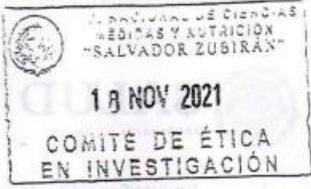
## ANEXO 2. [Carta de consentimiento informado para participar en el proyecto.](#)



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE  
CIENCIAS MÉDICAS  
Y NUTRICIÓN  
SALVADOR ZUBIRÁN



COMITÉ DE ÉTICA  
EN INVESTIGACIÓN  
18 NOV 2021

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:**

**Descripción de la microbiota subgingival y modificadores endógenos, de pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico, previo y durante su control médico**

(NOVIEMBRE 2021, VERSIÓN 1)

**Investigador principal:** Dra. Sofía Ríos Villavicencio  
**Dirección del investigador:** Vasco de Quiroga 15 Sección XVI Belisario Domínguez, Tlalpan 14080 Ciudad de México  
**Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas):** 55737378 / emergencias 5513977385 / 5554124791  
**Investigadores participantes:** Dr. Sergio Hernández Jiménez, Dra. Arely Hernández Jasso, Mtro. José Isaac Maldonado Noriega, Dra. Adriana Patricia Rodríguez Hernández, Dra. Laurie Ann Ximénez Fyvie.  
**Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación:** 1.0; mayo 19, 2021

**INTRODUCCIÓN:**

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar.** Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar con quien usted quiera, por ejemplo, un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

Avenida Vasco de Quiroga No. 15, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Alcaldía Tlalpan  
C.P. 14080 Ciudad de México Tel. 55 54 87 09 00 [www.incmnsz.mx](http://www.incmnsz.mx)



### ANEXO 3. Historia clínica para paciente de periodoncia

Laboratorio de Genética Molecular  
Facultad de Odontología  
Universidad Nacional Autónoma de México



#### HISTORIA CLÍNICA PARA PACIENTE DE PERIODONCIA

FE-GMLIFO-014 (2)

##### 1. DATOS GENERALES DEL PACIENTE

**Nombre:** \_\_\_\_\_  
Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno

**Dirección actual:** \_\_\_\_\_  
Calle Número Interior Colonia  
\_\_\_\_\_  
Ciudad Código Postal Estado/Municipio

**Teléfono(s):** \_\_\_\_\_  
Particular Trabajo Celular

**Ocupación:** \_\_\_\_\_ **RFC o CURP:** \_\_\_\_\_

**Ingresos mensuales:** \_\_\_\_\_ **Personas que dependen de usted:** \_\_\_\_\_  
(\$ MN) (número)

**Fecha de la visita:** \_\_\_\_\_ **Fecha de nacimiento:** \_\_\_\_\_  
día (00) - mes (letra) - año (0000) día (00) - mes (letra) - año (0000)

**Género:**  Masculino  Femenino **Edad:** \_\_\_\_\_  
Años

##### 2. LUGAR DE NACIMIENTO

**Paciente:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Padre:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Madre:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Abuelo paterno:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Abuela paterna:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Abuelo materno:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Abuela materna:** \_\_\_\_\_  
Ciudad Estado País

**Solic. no.:** \_\_\_\_\_ **Cód. G:** NA **Cód. I:** NA **Cód. PHD:** \_\_\_\_\_ **Cód. INO:** NA **Cód. INM:** NA **Cód. INH:** NA  
Asignar Asignar Asignar Asignar Asignar Asignar Asignar

**Cód. Check:** \_\_\_\_\_ **Cód. CAIPaDi:** \_\_\_\_\_ **Clínico:** \_\_\_\_\_ **Apuntador:** \_\_\_\_\_  
Asignar Asignar Nombre Firma Iniciales

SÓLO PARA USO INTERNO

Circuito de la Investigación Científica  
Cd. Universitaria 04510, CDMX.

FE-GMLIFO-005



## ANEXO 4. Ficha periodontal

Laboratorio de Genética Molecular  
 Facultad de Odontología  
 Universidad Nacional Autónoma de México



FE-GMLIFO-015(5)

### FICHA PERIODONTAL

<b>Paciente:</b>	Nombre(s)	Primer apellido	Segundo apellido	ID-Paciente
<b>Clínico:</b>	Nombre(s)	Primer apellido	Segundo apellido	Clave
<b>Asistente:</b>	Nombre(s)	Primer apellido	Segundo apellido	Clave

		PRIMER SONDEO - VESTIBULAR																															
	Cuadrante	1 (Derecho)														2 (Izquierdo)														Cuadrante			
	Diente	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	Diente			
	Sitio	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	Sitio
(Superior)	PLA																																PLA
	ENR																																ENR
	PB																																PB
	m (NI)																																m (NI)
	SAS																																SAS
	SUP																																SUP
(Inferior)	PLA																															PLA	
	ENR																																ENR
	PB																																PB
	m (NI)																																m (NI)
	SAS																																SAS
	SUP																																SUP
	Sitio	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	2	1	3	Sitio
	Diente	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	Diente			
	Cuadrante	4 (Derecho)														3 (Izquierdo)														Cuadrante			



Circuito de la Investigación Científica  
 Cd. Universitaria 04510, CDMX.

FE-GMLIFO-020  
 Página 1/3

