



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGIA**

**DESEQUILIBRIOS DE LA MICROBIOTA ORAL EN LA ESTOMATITIS
AFTOSA RECURRENTE: REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

Imbalances of the oral microbiota in recurrent aphthous stomatitis: a systematic review

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la Universidad de Talca
como parte de los requisitos científicos exigidos para la obtención del título
de Cirujano Dentista.

**ESTUDIANTES: JOAQUIN EDUARDO INZULZA CANALES
MARIO IGNACIO REYES CANALES
PROFESOR GUÍA: DR CÉSAR RIVERA MARTÍNEZ**

TALCA - CHILE

2021

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

INFORMACIONES CIENTÍFICAS

Nombre del profesor guía
César Rivera Martínez
ORCID del profesor guía
https://orcid.org/0000-0002-5491-4233
Google Scholar del profesor guía
https://scholar.google.com/citations?user=3fWOPJEAAAAJ&hl=es
Correo electrónico del profesor guía
cerivera@utalca.cl
Enlace al archivo SciELO <i>preprints</i>
https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.3162

DEDICATORIA

Al concluir una etapa con altos y bajos de mi vida quiero extender un profundo agradecimiento, a quienes hicieron posible este logro, aquellos que caminaron en todo momento y siempre fueron inspiración, apoyo y fortaleza.

Dedico de manera especial y muy afectuosa a mi madre Susan, pues ella es el principal cimiento para la construcción de quien soy, sentaste en mi las bases de la responsabilidad y deseos de superación. También, a mi padre, Marce, que si no fuera por su sacrificio y esfuerzo diario, por darme lo mejor día a día y creer en mis capacidades no sería lo mismo. Gracias por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; ustedes me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

A mi hermano Franco, de quien aprendo cada día, de tu sencillez, de tu carisma y tu entrega de cariño.

A mi mony, helo, nina, nino, vero y a toda la familia que han sido parte de este camino, los quiero y le agradezco por estar a mi lado apoyandome.

A Felipe, Tamara, Paz, Sofia, entre tantas otras personas mágicas que están y estuvieron en el proceso, gracias por estar ahí sin esperar nada a cambio, compartir su conocimiento, alegrías y tristezas

Por último, a todas aquellas personas que durante estos seis años estuvieron ahí confiaron en mí y me han dado una palabra de aliento, cariño durante este proceso.

Gracias infinitas...

Joaquin Inzulza Canales

Dedico este trabajo a mis padres, Carla y Mario por todo el esfuerzo y apoyo durante estos años

Mario Reyes Canales

12/noviembre/2021

AGRADECIMIENTOS

En estos tiempos difíciles, queremos agradecer a cada uno de nuestros docentes por su apoyo y confianza, por entregarnos las herramientas esenciales para ser profesionales.

Queremos agradecer a nuestros padres, familia, amigos y personal del centro de clínicas que ayudaron a sobrellevar las dificultades y a celebrar nuestros logros cada año.

También agradecer a nuestro tutor de Memoria, el Dr. César Rivera por sus enseñanzas, apoyo y disposición en este proceso, sin él esto no hubiese sido posible.

Gracias a todos por hacer esta etapa única e inolvidable.

Joaquin Inzulza Canales

Mario Reyes Canales

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1.1. Palabras clave.....	1
2. ABSTRACT.....	2
2.1. Keywords	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MÉTODOS	4
4.1. Diseño general.....	4
4.2. Estrategia de búsqueda.....	4
4.3. Extracción de datos	5
4.4. Criterios de inclusión y exclusión.....	5
4.5. Artículos incluidos en síntesis cualitativa	6
4.6. Evaluación de calidad	6
5. RESULTADOS	7
5.1. Selección de artículos.....	7
5.2. Característica de los artículos.....	8
5.3. La diversidad bacteriana de la microbiota oral es similar en casos y control	15
5.4. Diferencia entre la abundancia relativa de casos y controles.....	16
5.5. Calidad de los artículos seleccionados acorde a la escala Newcastle-Ottawa	19
6. DISCUSIÓN	20
7. REFERENCIAS.....	23
8. ANEXO	27

1. RESUMEN

Aún se desconoce la etiopatogenia de la estomatitis aftosa, no obstante, existen algunos estudios que reportan un probable rol de la presencia de algunas comunidades microbianas en la alteración de la microbiota oral. En esta revisión sistemática (registro PROSPERO #CRD42021259427), evaluamos si los desequilibrios en la microbiota oral están asociadas con la estomatitis aftosa recurrente. A partir de estudios de casos y controles determinamos que la diversidad bacteriana no cambia notablemente en personas enfermas, sin embargo esos cambios son evidentes en términos de abundancia relativa como el aumento del género *Prevotella* y la disminución del género *Streptococcus*.

1.1. Palabras clave

Estomatitis aftosa; Microbiota; Disbiosis.

2. ABSTRACT

The etiopathogenesis of recurrent aphthous stomatitis is still unknown, however, there are some studies that report a probable role of the presence of some microbial communities in the alteration of the oral microbiota. In this systematic review (PROSPERO registry # CRD42021259427), we evaluated whether imbalances in the oral microbiota are associated with recurrent aphthous stomatitis. From case-control studies we determined that bacterial diversity does not change notably in sick people, however these changes are evident in terms of relative abundance, such as the increase in the genus *Prevotella* and the decrease in the genus *Streptococcus*.

2.1. Keywords

Stomatitis, Aphthous; Microbiota; Dysbiosis.

3. INTRODUCCIÓN

La estomatitis aftosa recurrente, comúnmente conocida como aftas, es una de las patologías de la mucosa oral. Se caracteriza por la presencia de úlceras de forma ovalada, solitarias o múltiples, con un margen eritematoso bien definido y un centro pseudomembranoso amarillento (1).

Si bien, es una patología frecuente en la población, su etiología aún es desconocida, por lo que se dificulta su diagnóstico y tratamiento clínico temprano (2). En relación a la literatura, se han establecido posibles agentes causales, entre los que se encuentran factores nutricionales, inmunológicos, psicosociales e infecciosos (3). Existe evidencia que propone que una disbiosis microbiana oral podría gatillar episodios de la enfermedad. Entendiendo que una disbiosis, es una alteración de la flora comensal, dada por una pérdida de sus funciones benéficas o una alteración de su composición por la invasión de microorganismos patógenos (4), es decir, de la abundancia relativa y diversidad microbiana (5). Durante los últimos años, existen múltiples estudios que informan que cambios disbióticos en las comunidades de microorganismos orales tendrían un rol en gatillar los episodios de úlceras. Donde la disbiosis podría causar una disminución de las funciones metabólicas de la microbiota oral en la estomatitis aftosa recurrente, causando inflamación y respuesta inmunitaria en la mucosa oral (6). Considerando que existe esta evidencia creciente de un probable rol de las comunidades microbianas en la salud oral, el propósito de esta revisión sistemática fue evaluar si una disbiosis en la microbiota oral está asociada con la estomatitis aftosa recurrente.

4. MÉTODOS

4.1. Diseño general

En esta memoria, realizamos una revisión sistemática de la literatura (registro PROSPERO #CRD42021259427). La variable independiente fue la disbiosis microbiana informada por las investigaciones seleccionadas y la variable dependiente fue la presencia de estomatitis aftosa recurrente. Se estableció como disbiosis microbiana, a aquellas diferencias significativas en términos de diversidad o abundancia de microbiota (4).

4.2. Estrategia de búsqueda

La literatura en relación con la microbiota y estomatitis aftosa recurrente se buscó en las bases de datos científicos de MEDLINE, Scopus, Web of Science, Cochrane Library y metabuscador Google Scholar hasta el 05 de septiembre del 2021 en idioma inglés y español para identificar estudios relevantes (Tabla I).

TABLA I. Estrategia de búsquedas en base de datos

MEDLINE	(((((("Bacteria"[Mesh]) OR "Fungi"[Mesh]) OR "Viruses"[Mesh]) OR "Microbiota"[Mesh]) OR "Gastrointestinal Microbiome"[Mesh]) OR "Mycobiome"[Mesh]) OR "Virome"[Mesh]) AND ("Stomatitis, Aphthous"[Mesh])) NOT ("Behcet Syndrome"[Mesh] OR "PFAPA" [All fields])
Scopus	ALL (("bacteria" OR "fungi" OR "viruses" OR "microbiota" OR "gastrointestinal microbiome" OR "mycobiome" OR "virome") AND ("aphthous stomatitis") AND NOT ("behcet syndrome" AND NOT "pfapa"))
Web of Science	"aphthous stomatitis" (All Fields) and "Bacteria" (All Fields) or "Fungi" (All Fields) or "Viruses" (All Fields) or "Microbiota" (All Fields) or

	"gastrointestinal microbiome" (All Fields) or "mycobiome" (All Fields) and "virome" (All Fields) not "Behcet syndrome" (All Fields) not "PFAPA" (All Fields)
Cochrane Library	(((((((((ALL=(bacteria)) OR ALL=(fungi)) OR ALL=(viruses)) OR ALL=(microbiota)) OR ALL=("gastrointestinal microbiome")) OR ALL=(mycobiome)) OR ALL=(virome)) AND ALL=("aphthous stomatitis")) NOT ALL=("behcet syndrome")) NOT ALL=("PFAPA"))
Google Scholar	Bacteria OR Fungi OR Viruses OR Microbiota OR Mycobiome OR Virome OR "Gastrointestinal Microbiome" "Stomatitis Aphthous" -"Behcet Syndrome" -PFAPA

4.3. Extracción de datos

Los metadatos de los artículos obtenidos los importaremos a la aplicación Rayyan (<https://rayyan.qcri.org>) (7) donde se analizarán los títulos y resúmenes por 2 revisores de forma independiente; los desacuerdos los resolverá un tercer revisor (tutor de memoria).

4.4. Criterios de inclusión y exclusión

Seleccionamos los artículos en idioma inglés, estudios observacionales que investigan la disbiosis en la estomatitis aftosa recurrente. Excluimos artículos donde no se analizan los desequilibrios de la microbiota oral, aquellos que no presentan resumen, estudios cuyos textos completos no estaban disponibles, estudios que no informan claramente los resultados. Posterior a la evaluación de texto completo excluimos artículos que no realizaron análisis de múltiples microorganismos.

4.5. Artículos incluidos en síntesis cualitativa

De los artículos que seleccionamos obtuvimos la siguiente información: referencia, año de publicación, diseño del estudio, métodos, tamaño de la muestra, región, criterios de inclusión y exclusión, características de las úlceras, medidas de asociación entre los desequilibrios (diversidad o abundancia relativa) en la microbiota oral y estomatitis aftosa recurrente y conclusiones principales.

4.6. Evaluación de calidad

Realizamos la evaluación de calidad de acuerdo a la escala de Newcastle-Ottawa, que es una herramienta recomendada por la Colaboración Cochrane para la evaluación del riesgo de sesgo para estudios observacionales (8). Se evaluó en función a los grupos de estudios, comparabilidad de los grupos y determinación de la exposición o resultados de interés para estudios de casos y controles. En nuestra investigación, utilizamos una adaptación, donde asignamos 3 puntos por categoría cuando el mejor criterio de la escala se cumplió, 2 puntos cuando le faltaba información y 1 punto cuando no cumplía con el requisito.

5. RESULTADOS

5.1. Selección de artículos

La búsqueda preliminar identificó un total de 2.759 artículos, de los cuales se incluyeron 9 artículos a la revisión (Fig. 1). Respecto a la exclusión, las principales razones estuvieron dadas por no relacionarse con el tópico de la investigación. Por ejemplo, muchas investigaciones se referían a enfermedades sistémicas, que son mediadas por un sistema inmunológico como lo es el síndrome de Behcet, que es una enfermedad que está relacionada a la estomatitis aftosa recurrente. Agregar que otros artículos, hacían referencia a la variación de un sólo microorganismo, por lo tanto, también fueron excluidos.

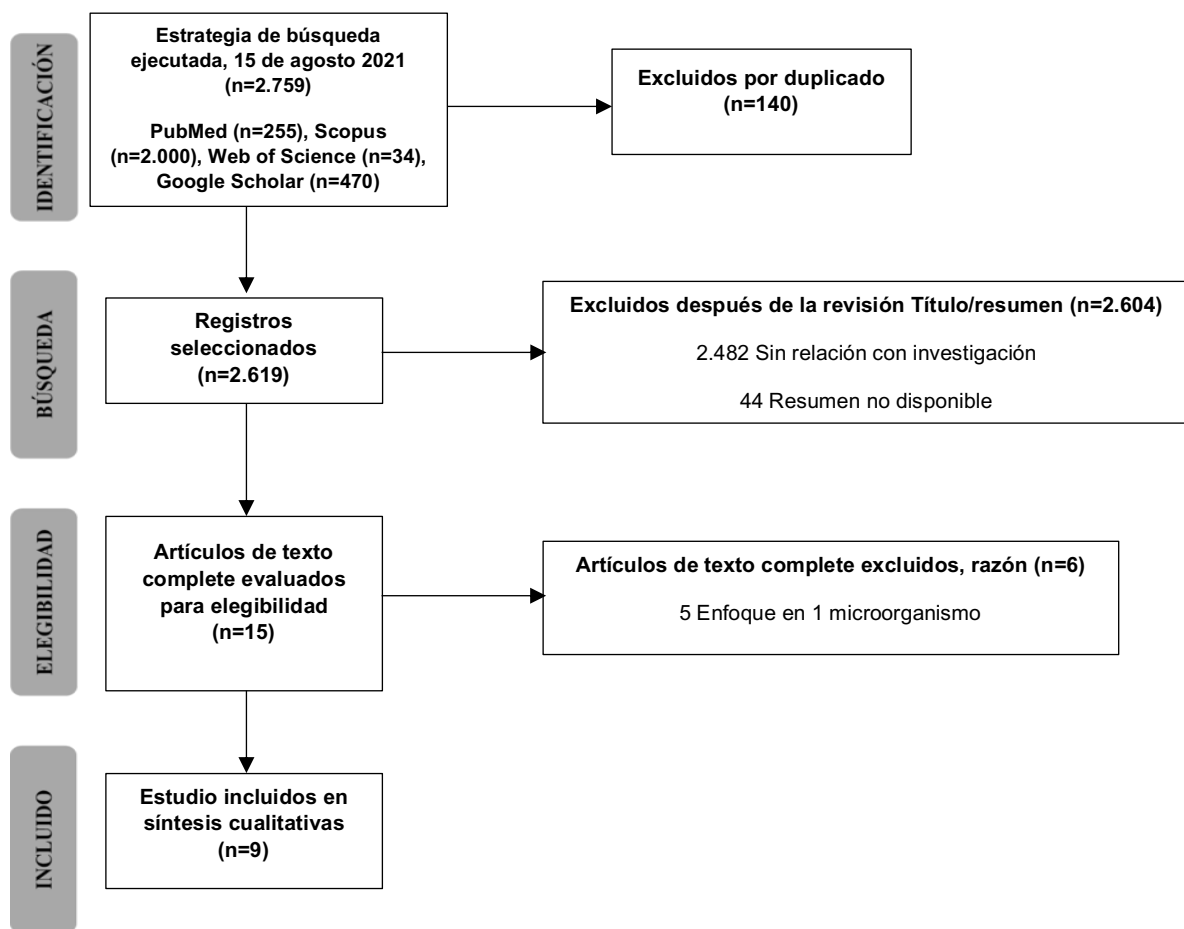


Figura 1. Flujograma PRISMA. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la bibliografía sobre la disbiosis microbiana relacionada con la estomatitis aftosa recurrente.

5.2. Característica de los artículos

Todas las investigaciones incluidas correspondieron a estudios de casos y controles. Siete artículos, compararon sujetos con estomatitis aftosa recurrente versus personas sanas (9-15) artículos compararon sujetos con la enfermedad activa (presencia de lesiones) versus la ausencia de lesiones (enfermedad pasiva o fase de remisión) (16, 17).

Los criterios de inclusión y exclusión de las 9 investigaciones fueron diversos, siendo en su mayoría pacientes que presenten episodios de estomatitis aftosa recurrente en el período de un mes y que hayan presentado lesiones en el momento del muestreo en el caso de los criterios de inclusión. Por otra parte, los criterios de exclusión de las investigaciones fueron: pacientes con enfermedades sistémicas, pacientes que tomaron antibióticos en al menos tres meses previo al muestreo, pacientes fumadores, entre otras condiciones.

De los artículos incorporados, en los 9 estudios de casos y control, se identificó como técnica de evaluación, principalmente, la secuenciación de alto rendimiento (16S rRNA gene sequencing), a excepción de un estudio que utilizó desorción/ionización mediante láser asistida por matriz (MALDI-TOF). Los tamaños de la muestra variaron entre 6 a 60 participantes. A excepción de un estudio, todas las investigaciones incluyeron a ambos sexos, pero las edades medias difirieron (Tabla II).

Tabla II Características de los artículos incluidos.

Referencia	Criterio diagnóstico	Criterios de exclusión	Grupos (casos vs controles) (número de casos)	Técnica	Muestra
Stehlikova et al. Czech Republic, 2019(16)	Pequeñas lesiones redondas u ovoides con base crateriforme, rodeados por un halo elevado y	1. Pacientes con síntomas orales como alergia alimentaria, enfermedad celíaca o trastornos	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=10) vs B: Paciente con historia	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos de la mucosa labial inferior (muestras de mucosa)

	eritematoso. Presentan una pseudomembrana grisácea. Diámetro menor a cinco milímetros.	autoinmunes .	de estomatitis aftosa recurrente, pero en remisión (n=11)		
Yang et al. China, 2020(17)	Úlceras redondas u ovaladas menor a 5 milímetros de diámetro con una pseudomembrana gris-blanca y un halo eritematoso.	1. Sujetos con enfermedades sistémicas. 2. Pacientes que tomaron antibióticos en al menos 3 meses previo al muestreo.	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente con lesión activa (n=24) vs B: Paciente con estomatitis aftosa recurrente con lesión pasiva (n=24)	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos (muestras de mucosas)
Kim et al. Republic of Korea, 2016 (9)	No reporta	1. Consumo de antibióticos o esteroides en el último mes. 2. Pacientes con xerostomía 3. Sujetos con otras enfermedades de la mucosa oral (recuento de Cándida > 1000 unidades formadoras	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=20) vs B: Paciente sano (n=20)	16S rRNA gene sequencing	Polyvinylidene difluoride membrane (muestras de mucosa), Saliva entera no estimulada

		<p>de colonias / ml)</p> <p>4. Enfermedades relacionadas con deficiencias hematológicas.</p> <p>5. Enfermedades sistémicas que implican úlceras orales.</p>			
Hijazi et al. UK, 2015(10)	<p>Úlcera de dos a cinco milímetros de diámetro. Duración de la lesión una o dos semanas. Úlcera que se presenta en mucosa no queratinizada. Edad máxima de aparición diez a veinte años</p>	<p>1. Persona \leq 16 años, historia y apariencia clínica no sugerencia de RAS</p> <p>2. Enfermedades sistémicas</p> <p>3. Toma medicamentos con regularidad</p> <p>4. Fumadores</p> <p>5. Pruebas hematológicas y bioquímicas fuera del rango normal.</p> <p>6. Tasa de flujo salival total <1 ml / min</p> <p>7. Recuento de <i>Candida</i> >1000 UFC / ml,</p> <p>8. Uso de</p>	<p>A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=16) vs</p> <p>B: Paciente sano (n=16)</p>	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos (muestras de mucosas)

		<p>antibióticos en los tres meses anteriores.</p> <p>9. Terapia para RAS en los seis meses anteriores.</p> <p>10. Enfermedad periodontal</p> <p>11. Otra enfermedad de la mucosa oral</p> <p>12. Dieta rica en azúcar</p> <p>13. D3MFT > 2</p> <p>14. Índice de placa > 30%.</p>			
Zhu et al. China, 2021(11)	No reporta	<p>1. Consumo de antibióticos o enjuagues bucales antibacterianos o fármacos en el plazo de un mes</p> <p>2. Lesiones de la mucosa oral</p> <p>3. Tabaquismo en el plazo de un mes</p> <p>4. Consumo de alcohol en el plazo de un mes.</p>	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=24) vs B: Paciente sano (n=21)	16S rRNA gene sequencing	Saliva entera no estimulada

Marchini et al. Brazil, 2007(12)	No reporta	1. Sujetos con enfermedad sistémicas 2. Consumo de antibióticos en los últimos tres meses 3. Alcohólicos.	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=10) vs B: Paciente sano (n=10)	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos (muestras de mucosas)
Bankvall et al. Seeden, 2014(13)	Las úlceras de los pacientes fueron agrupadas en dos categorías; RAS menor: diámetro menor a diez milímetros y RAS mayor: diámetro mayor o igual diez milímetros. (13)	1. Consumo de antibióticos o enjuagues bucales antibacterianos durante el mes anterior 2. Consumo de fármacos para el tratamiento de úlceras en los seis meses anteriores 3. Lesiones en la mucosa oral 4. Tabaquismo 5. Consumo excesivo de alcohol.	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=60) Vs B: Paciente sano (n=60)	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos (muestras de mucosas)
Hijazi et al. UK, 2020(14)	No reporta	1. Sujetos con enfermedades sistémicas. 2. Perfiles bioquímicos y hematológicos alterados. 3. Signos	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=15) vs B: Paciente sano (n=13)	16S rRNA gene sequencing	Saliva entera no estimulada

		vital anormal. 4. IMC>30 ó <20 5. Embarazo y lactancia. 6. Uso de antibióticos en los tres meses anteriores. 7. Flujo salival disminuido. 8. Recuento de candida > 1000 UFC/ml. 9. Portador de prótesis removible. 10. Consumo cualquier tipo de fármaco. 11. Tratamiento para la úlceras en los tres meses anteriores. 12. Presencia de otras enfermedade s de la mucosa oral. 13. Enfermedad periodontal. 14. Lesiones de caries. 15. D3MFT>3 16. Índice de			
--	--	---	--	--	--

		placa >30% 17. Dieta rica en azúcar.			
Seoudi et al. UK, 2015(15)	No reporta	<p>1. No cumplir con los criterios de ISG</p> <p>2. Embarazo</p> <p>3. <18 años</p> <p>4. Tratamiento con agentes antibacterianos sistémicos o tópicos durante las seis semanas anteriores a la recolección de la muestra</p> <p>5. Enfermedad sistémica</p> <p>6. Uso de fármacos</p> <p>7. En el caso de los pacientes controles no haber sufrido de episodios de úlceras aftosas.</p> <p>En el caso de los controles</p> <p>1. Enfermedad sistémica</p> <p>2. Uso de fármacos</p>	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=6) vs B: Paciente sano (n=10)	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis	Muestras de hisopos (muestras de mucosas), muestras de saliva entera no estimuladas

5.3. La diversidad bacteriana de la microbiota oral es similar en casos y control

La mayoría de los estudios incluidos, informaron que no existe una diferencia entre los diferentes grupos de casos y controles según los índices que utilizaron. No obstante, 2 de los 9 estudios (11, 14) reportaron que el índice Chao1 fue más bajo que los controles. Los principales resultados se evidencian en la Tabla III.

Tabla III Diversidad bacteriana de la microbiota oral.

Referencia	Índice de diversidad bacteriana	Conclusión(es) del estudio
Stehlikova et al. 2019 (16)	- OTU - Índice Chao1 - Act_A / LDA effect size	No existe diferencia significativa entre los índice Chao1, índice de Shannon e índice de uniformidad.
Yang et al. 2020(17)	- OTU - Índice Shannon - Índice Simpson - NMDS	La diversidad alfa de la microbiota de la mucosa oral y las úlceras aftosas son similares.
Kim et al. 2016(9)	- PCoA Unifrac ponderada	La diversidad microbiana no fue significativamente diferente en controles de la mucosa ni saliva en los índice de Chao1 y Shannon.
Hijazi et al. 2015(10)	- Índice de Shannon - Índice de Simpson - Chao 1 - Especies observadas - Árbol completo de PD	No se observaron diferencias significativas en la diversidad bacteria en relación a controles sanos y sitios ulcerados.
Zhu et al. 2021(11)	- Chao 1 - ACE - Índice Shannon - Índice Simpson	Los índices de Chao1 y ACE fueron significativamente más bajos que controles sanos, pero los índices de Shannon y Simpson no fueron estadísticamente diferente. La diferencia de la diversidad beta sugirió una microbiota oral única en RAS.
Marchini et al. 2007(12)	No reporta	No reporta
Bankvall et al. 2014(13)	- Índice de Shannon	No se mostro diferencia significativa entre grupos RAS y control

Hijazi et al. 2020 (14)	- OTU - Índice de Shannon - Índice de Simpson - Chao 1 - Distancia filogenética	El índice Chao1 fue significativamente más bajo. Los índices de Shannon, Simpson, distancia filogenética, OTU no mostraron diferencia entre grupos.
Seoudi et al. 2015(15)	No reporta	No reporta

Análisis de los artículos incluidos en relación a la diversidad alfa y/o beta entre grupos con estomatitis aftosa recurrente y grupo control.

*OTU: Unidad taxonómica operativa

*NMDS Análisis multidimensional no métrico

*RAS estomatitis aftosa recurrente

5.4. Diferencia entre la abundancia relativa de casos y controles

La mayoría de los estudios incluidos informaron que existe un desequilibrio microbiano representado por la variabilidad de la abundancia relativa de la muestra (Tabla IV). Por ejemplo, varios artículos muestran una disminución en el phylum *Firmicutes* lo que se relaciona en su taxonomía con la disminución del género *Streptococcus* (9, 17) y a nivel de especies *Streptococcus salivarius* (9), *Streptococcus mitis* (15), *Streptococcus oralis* (16). Se evidencia, que existe un aumento de phylum *Proteobacteria* en los sitios ulcerados (9-11, 17) específicamente la especie *Acinetobacter johnsonii* (9) En particular, un artículo reportó la presencia de *Prevotella* solamente en muestras de la lesión ulcerosa (12) que se complementa con la información aportada por Zhu et al. que aumenta su género en la mucosa de pacientes con estomatitis aftosa recurrente (11).

Tabla IV Abundancia relativa de la microbiota oral de los estudios incluidos.

Referencia	Grupos	Microorganismo/agente	Conclusión(es) del estudio
Stehlikova et al. 2019 (16)	A: 10 B:11	Bacteria microbiota: g_ <i>Lachnoanaerobaculum</i> (+) g_ <i>Cardiobacterium</i> (+) g_ <i>Leptotrichia</i> (+) g_ <i>Fusobacterium</i> (+) c_ <i>Clostridia</i> (+) s_ <i>Streptococcus oralis</i> (-) Fungal microbiota: g_ <i>Malassezia</i> sp.	Los microorganismos más abundantes en pacientes con RAS fueron <i>Lachnoanaerobaculum</i> , <i>Cardiobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Clostridia</i> y existe una disminución de <i>S. oralis</i> en comparación a control.

Yang et al. 2020(17)	A: 24 B: 24	Bacteria microbiota: o <i>Enterobacteriales</i> (+) f <i>Enterobacteriaceae</i> (+) g <i>Escherichia shigella</i> (+) g <i>Alloprevotella</i> (+) s <i>Escherichia coli</i> (+) p <i>Firmicutes</i> (-) c <i>Bacilli</i> (-) o <i>Lactobacillales</i> (-) f <i>Streptococcaceae</i> (-) g <i>Streptococcus</i> (-)	El aumento de <i>E. coli</i> y la disminución de <i>Streptococcus</i> se asocia significativamente con las úlceras aftosas.
Kim et al. 2016(9)	A: 20 B: 20	Bacteria microbiota: p <i>Streptophyta</i> (+) g <i>Veillonella</i> (-) g <i>Streptococcus</i> (-) s <i>Acinetobacter johnsonii</i> (+) s <i>Streptococcus salivarius</i> (-)	La disminución de <i>S. salivarius</i> y el aumento de <i>A. johnsonii</i> en la mucosa se asociaron con riesgo de EAR
Hijazi et al. 2015(10)	A: 16 B:16	Bacteria microbiota g <i>Firmicutes</i> (-) g <i>Proteobacteria</i> (+) f <i>Porphyromonadaceae</i> (+) f <i>Veillonellaceae</i> (+) f <i>Streptococcaceae</i> (-)	Las comparaciones revelaron una disminución de <i>Firmicutes</i> y un aumento de <i>Proteobacteria</i> en los sitios ulcerados. Por otra parte, sitios ulcerados mostraron un aumento de <i>Porphyromonadaceae</i> y <i>Veillonellaceae</i> en comparación con los controles sanos, junto con una disminución de <i>Streptococcaceae</i> .
Zhu et al. 2021(11)	A: 24 B:21	Bacteria microbiota: p <i>Proteobacteria</i> (+) c <i>Gammaproteobacteria</i> (+) o <i>Pasteurellales</i> (+) g <i>Actinobacillus</i> (+) g <i>Haemophilus</i> (+) o <i>Vibrionales</i> (+) f <i>Pseudoalteromonadaceae</i> (+) g <i>Vibrio</i> (+) f <i>Paraprevotellaceae</i> (+) g <i>Prevotella</i> (+) p <i>Firmicutes</i> (-) c <i>Bacilli</i> (-) o <i>Gemellales</i> (-) f <i>Gemellaceae</i> (-)	A nivel de phylum las <i>Proteobacterias</i> fueron significativamente más abundantes en la microbiota oral de RAS. También se observó un aumento del género <i>Prevotella</i> . Por el contrario, <i>Firmicutes</i> disminuyó significativamente en la microbiota oral de RAS

		o <i>Bacillales</i> (-) f <i>Paenibacillaceae</i> (-) g <i>Anaerovorax</i> (-) g <i>Xanthomonadacea</i> (-)	
Marchini et al. 2007(12)	A: 10 B: 10	Bacteria microbiota: g <i>Actiniobacillus</i> (+) s <i>Granulicatella elegans</i> (+) s <i>Haemophilus quentini</i> (+) s <i>Haemophilus segnis</i> (+) s <i>Streptococcus anginosus</i> (+) s <i>Streptococcus mitis</i> (+) s <i>Streptococcus pneumoniae</i> (+) s <i>Streptococcus salivaris</i> (+) s <i>Veillonella ratti</i> (+) g <i>Prevotella</i> (+) g <i>Veillonella</i> (-)	<i>Prevotella</i> es un género que aparece sistemáticamente solo en muestras de úlceras aftosas recurrentes y corresponde al 16% de todos los clones derivados de lesiones.
Bankvall et al. 2014(13)	A: 60 B: 60	No reporta	No reporta
Hijazi et al. 2020 (14)	A: 15 B: 13	Bacteria microbiota: g <i>Streptococcus</i> (-) g <i>Haemophilus</i> (+) g <i>Gemella</i> (+) g <i>Veillonella</i> (+) g <i>Prevotella</i> (+)	No hubo diferencias significativas en la abundancia de ningún género o especie entre casos y controles.
Seoudi et al. 2015(15)	A: 6 B: 10	Bacteria microbiota: s <i>Bifidobacterium dentium</i> (+) s <i>Prevotella histicola</i> (+) g <i>Staphylococcus</i> (+) s <i>Streptococcus sanguinis</i> (+) s <i>Streptococcus mitis</i> (-) s <i>Rothia mucilaginosa</i> (+)	<i>Rothia dentocariosa</i> se aisló con mayor frecuencia de la mucosa no ulcerada de RAS y <i>S. mitis</i> fue significativamente más probable que colonizara la mucosa no ulcerada de RAS.

Análisis de los artículos incluidos en relación a la abundancia relativa entre grupos con estomatitis aftosa recurrente y grupo control. A: Casos B: Control p_ nivel phylum, c_ nivel clase, o_ nivel orden, f_ nivel familia, g_ nivel género, s_ nivel especie; (+) aumenta en casos (-) disminuye en casos.

*RAS estomatitis aftosa recurrente

5.5. Calidad de los artículos seleccionados acorde a la escala Newcastle-Ottawa

La búsqueda preliminar identificó un total de 2.759 artículos, de los cuales se incluyeron 9 artículos a la revisión (Fig. 2). Respecto a la exclusión, las principales razones estuvieron dadas fueron por no relacionarse con el tópico de la investigación. Por ejemplo, muchas investigaciones se referían a enfermedades sistémicas, que son mediadas por un sistema inmunológico como lo es el síndrome de Behcet, que es una enfermedad que está relacionada a la estomatitis aftosa recurrente. Agregar que otros artículos, hacían referencia a la variación de un sólo microorganismo, por lo tanto, también fueron excluidos.

Referencia	Selección (4)	Comparación (2)	Exposición- desenlace (3)	Puntaje total
Stehlikova et al. 2019	+	+	+	8
Yang et al. 2020	+	+	+	8
Kim et al. 2016	+	+	+	8
Hijazi et al. 2015	+	+	+	8
Zhu et al. 2021	+	+	+	8
Marchini et al. 2007	+	+	+	7
Bankvall et al. 2014	+	+	+	9
Hijazi et al. 2020	+	+	+	9
Seoudi et al. 2015	+	+	+	8

Figura 2. Calidad de los artículos incluidos. Mediante la escala de Newcastle-Ottawa. La puntuación total es de 9 puntos donde la puntuación más alta indica menor riesgo de sesgo. En el diagrama, se visualizan en la primera columna los ítem de las preguntas que se deben realizar para el check list. Para ello cada ítem tiene un número de pregunta, se visualiza en el paréntesis, las preguntas que le otorgan puntaje a la investigación están determinadas por protocolo. Para visualizar el contenido para realizar el check list visualizar [archivo suplementario S1](#). Se evidencia que las preguntas a realizar se categorizan en 3 ítem y cada uno de ellos tienen diferentes preguntas para determinar su riesgo. En este caso una investigación con una puntuación menor a 7 puntos sugeriría un posible sesgo en la investigación, lo que influiría en la calidad de investigación. Para la categorización tenemos el círculo de color verde se le asigna 3 puntos, el color amarillo: 2 puntos y el círculo rojo: 1 punto.

6. DISCUSIÓN

En los últimos años, se ha estudiado la estomatitis aftosa recurrente para conocer su etiología, como prevenirlas y su mejor tratamiento. En esta investigación, determinamos que la abundancia relativa de la microbiota oral de pacientes con estomatitis aftosa recurrente difiere de pacientes sanos.

La cavidad oral humana esta fuertemente colonizada por microorganismos, donde predominan los phylum: *Firmicutes* (sobre todo los géneros *Streptococcus* y *Veillonellas*), *Proteobacterias* (en su mayoría de *Neisseria*), *Bacteroides* (*Prevotella*) y *Actinobacteria* (*Micrococcineae*) (18). En la actualidad, se han identificado más de 750 especies bacterianas (19) lo que expresa lo amplio que es el microbioma oral. Para ello, se han utilizado diferentes técnicas que han cuantificado e identificado, a la población en salud y enfermedad en la cavidad oral. Una de ellas, es 16S rRNA gene sequencing, que se basa en codificar un segmento que está presente en todas las bacterias y se conserva en el tiempo de la especie que se compara con una base de datos para detectar e identificar organismos (20).

Los criterios de inclusión y exclusión fueron diversos, lo que pudo impactar en los microorganismos identificados. Se definió estomatitis aftosa recurrente como la aparición de una o más úlceras que recurrieron con frecuencia, sin considerar la gravedad y duración, ya que no todos los artículos seleccionados lo informaron o consideraron. Otro de los aspectos a tener en cuenta, es que en la mayoría de las investigaciones, se excluyeron a participantes que consumieron antibióticos y que además, tuvieran una enfermedad sistémica con manifestaciones de úlceras en la cavidad oral. Estos últimos factores, pueden influir, en la presencia o ausencia de alguna especie bacteriana, dado que se puede modificar por cambios biológicos de la persona, mala higiene oral, hábitos alimentarios, tabaquismo, entre otros (21).

La diversidad bacteriana entre personas con y sin úlceras es similar (22), pudiendo clasificarse en dos subgrupos, según metagenomics. La diversidad alfa, mide la diferencia de microorganismos en una muestra, utilizando las siguientes escalas métricas: el índice de ace

y el de chao1, que permite conocer la riqueza de la especie, lo que hace referencia al número de microorganismos presentes. Mientras que, los índices de Simpson y de Shannon, indican la diversidad de bacterias y su distribución. Por otra parte, la diversidad beta muestra la variación entre los perfiles taxonómicos de diferentes muestras, utilizando los índices de Bray-Curtis, Unifrac y el índice de Jaccard.

La presencia o ausencia de lesiones, se acompaña de cambios en la abundancia de ciertos microorganismos. Estudios anteriores, han evidenciado que un predominio de bacterias gram positivas por sobre gram negativas, puede actuar como precursor de lesiones de la mucosa (23). Es así, como las bacterias y sus toxinas, inducen la producción de anticuerpos que generan susceptibilidad en las células del hospedero y alteran las vías de señalización, lo que afecta la proliferación celular y/o la supervivencia de las células epiteliales, produciéndose una pérdida de integridad del epitelio de la mucosa oral (24). Un ejemplo de ello, es la disminución de la abundancia de *Streptococcus* en la manifestación activa de la úlcera, alterándose el núcleo del microbioma oral saludable (25). Por el contrario, la formación de biopelículas orales robustas que se producen entre *Streptococcus* y *Veillonella*, buscan disminuir el riesgo para la evolución de una enfermedad (24).

La presente revisión, posee las siguientes limitaciones: los artículos incorporados eran casos y controles, por lo que no es posible determinar causalidad; los estudios en su gran mayoría utilizaron sólo la técnica molecular 16S rRNA gene sequencing y a pesar de ser de buena calidad los estudios utilizados, queda en manifiesto, su falta de claridad en la definición de los casos y controles. Por ello, en futuras investigaciones, es necesario que se perfeccione, hacia técnicas que permitan conocer con mejor detalle, las especies presentes en las lesiones, ya que, llama la atención que resultados a nivel de género de la taxonomía microbiana, no se utilicen por la falta de especificidad, y así, orientar de mejor manera, las medidas de prevención y tratamiento de estas lesiones.

En conclusión, en el presente estudio se demuestra un desequilibrio en la microbiota oral en pacientes con estomatitis aftosa recurrente, además de indicar que los cambios de bacterias orales en microbioma oral de zonas ulcerosas, pueden estar asociados a un aumento

de riesgo para la progresión de la lesión, es por ello que comprender el mecanismo de acción del microbioma oral y sus especies, nos puede orientar a buscar alternativas para prevenir o evitar su progresión, pudiendo aportar a mejorar la calidad de vida de las personas en el futuro.

7. REFERENCIAS

1. Akintoye SO, Greenberg MS. Recurrent aphthous stomatitis. *Dental clinics of North America*. 2014;58(2):281-97. doi: 10.1016/j.cden.2013.12.002.
2. Chiang CP, Yu-Fong Chang J, Wang YP, Wu YH, Wu YC, Sun A. Recurrent aphthous stomatitis - Etiology, serum autoantibodies, anemia, hematinic deficiencies, and management. *J Formos Med Assoc*. 2018. doi: 10.1016/j.jfma.2018.10.023.
3. Preeti L, Magesh K, Rajkumar K, Karthik R. Recurrent aphthous stomatitis. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*. 2011;15(3):252-6. doi: 10.4103/0973-029X.86669.
4. Gómez A. Microbioma, salud y enfermedad: probióticos, prebióticos y simbióticos. *Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud*. 2019;39(4):617-21.
5. Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AML, et al. The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. *British Dental Journal*. 2016;221(10):657-66. doi: 10.1038/sj.bdj.2016.865.
6. Zhu Z, He Z, Xie G, Fan Y, Shao T. Altered oral microbiota composition associated with recurrent aphthous stomatitis in young females. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(10):e24742. doi: 10.1097/md.00000000000024742.
7. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews*. 2016;5(1):210. doi: 10.1186/s13643-016-0384-4.
8. Lo CK-L, Mertz D, Loeb M. Newcastle-Ottawa Scale: comparing reviewers' to authors' assessments. *BMC medical research methodology*. 2014;14:45-. doi: 10.1186/1471-2288-14-45.

9. Kim YJ, Choi YS, Baek KJ, Yoon SH, Park HK, Choi Y. Mucosal and salivary microbiota associated with recurrent aphthous stomatitis. *BMC Microbiol.* 2016;16 Suppl 1:57. doi: 10.1186/s12866-016-0673-z.
10. Hijazi K, Lowe T, Meharg C, Berry SH, Foley J, Hold GL. Mucosal microbiome in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Journal of dental research.* 2015;94(3 Suppl):87S-94S. doi: 10.1177/0022034514565458.
11. Zhu Z, He Z, Xie G, Fan Y, Shao T. Altered oral microbiota composition associated with recurrent aphthous stomatitis in young females. *Medicine.* 2021;100(10):e24742-e. doi: 10.1097/MD.00000000000024742.
12. Marchini L, Campos MS, Silva AM, Paulino LC, Nobrega FG. Bacterial diversity in aphthous ulcers. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(4):225-31. doi: 10.1111/j.1399-302X.2006.00345.x.
13. Bankvall M, Sjöberg F, Gale G, Wold A, Jontell M, Östman S. The oral microbiota of patients with recurrent aphthous stomatitis. *Journal of Oral Microbiology.* 2014;6(1):25739. doi: 10.3402/jom.v6.25739.
14. Hijazi K, Morrison RW, Mukhopadhyaya I, Martin B, Gemmell M, Shaw S, et al. Oral bacterial diversity is inversely correlated with mucosal inflammation. *Oral Dis.* 2020;26(7):1566-75. doi: 10.1111/odi.13420.
15. Seoudi N, Bergmeier LA, Drobniowski F, Paster B, Fortune F. The oral mucosal and salivary microbial community of Behçet's syndrome and recurrent aphthous stomatitis. *J Oral Microbiol.* 2015;7:27150. doi: 10.3402/jom.v7.27150.
16. Stehlikova Z, Tlaskal V, Galanova N, Roubalova R, Kreisinger J, Dvorak J, et al. Oral Microbiota Composition and Antimicrobial Antibody Response in Patients with Recurrent Aphthous Stomatitis. *Microorganisms.* 2019;7(12). doi: 10.3390/microorganisms7120636.

17. Yang Z, Cui Q, An R, Wang J, Song X, Shen Y, et al. Comparison of microbiomes in ulcerative and normal mucosa of recurrent aphthous stomatitis (RAS)-affected patients. *BMC oral health*. 2020;20(1):128-. doi: 10.1186/s12903-020-01115-5.
18. Cruz Quintana SM, Díaz Sjostrom P, Arias Socarrás D, Mazón Baldeón GM. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Revista Cubana de Estomatología*. 2017;54:84-99.
19. Escapa IF, Chen T, Huang Y, Gajare P, Dewhirst FE, Lemon KP, et al. New Insights into Human Nostril Microbiome from the Expanded Human Oral Microbiome Database (eHOMD): a Resource for the Microbiome of the Human Aerodigestive Tract. *mSystems*. 2018;3(6):e00187-18. doi: doi:10.1128/mSystems.00187-18.
20. Reller LB, Weinstein MP, Petti CA. Detection and Identification of Microorganisms by Gene Amplification and Sequencing. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;44(8):1108-14. doi: 10.1086/512818.
21. Kilian M, Chapple IL, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AM, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *Br Dent J*. 2016;221(10):657-66. doi: 10.1038/sj.bdj.2016.865.
22. Patel V. Chapter 15 - The gut microbiome. In: Short E, editor. *A Prescription for Healthy Living*: Academic Press; 2021. p. 165-75.
23. Pushalkar S, Ji X, Li Y, Estilo C, Yegnanarayana R, Singh B, et al. Comparison of oral microbiota in tumor and non-tumor tissues of patients with oral squamous cell carcinoma. *BMC Microbiol*. 2012;12:144. doi: 10.1186/1471-2180-12-144.
24. Yuan H, Qiu J, Zhang T, Wu X, Zhou J, Park S. Quantitative changes of *Veillonella*, *Streptococcus*, and *Neisseria* in the oral cavity of patients with recurrent aphthous stomatitis: A systematic review and meta-analysis. *Archives of Oral Biology*. 2021;129:105198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105198>.

25. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett.* 2014;162(2 Pt A):22-38. doi: 10.1016/j.imlet.2014.08.017.

8. ANEXO

Archivo suplementario S1. Newcastle Ottawa scale: Evaluación de riesgo de sesgos en estudios observacionales

Categoría	Pregunta	Justificación	Indicador
Selección	¿Es la definición de caso adecuada?	Requiere alguna validación independiente	*
		Enlace de registro o autoinforme sin referencia al registro primario	
		Sin descripción	
	Representatividad de los casos	Todos los casos elegibles con resultado de interés durante un periodo de tiempo definido, todos los casos en un área de captación definida, todos los casos en un hospital o clínica definida, un grupo de hospitales, una organización de mantenimiento de la salud o una muestra apropiada	*
		No cumple con los requisitos de la parte o no se establece	
	Selección de casos	Controles comunitarios (es decir, la misma comunidad que los casos y serían casos si tuvieran resultados)	*
		Controles hospitalarios, dentro de la misma comunidad que los casos (es decir, no en otra ciudad),	

		pero derivados de una población hospitalizada	
		Sin descripción	
	Definición de los controles	Si, los casos son la primera aparición del resultado, entonces debe aclarar explícitamente que los controles no tienen un historial de este resultado. Si los casos tienen una nueva aparición (no necesariamente la primera) del resultado, no se deben excluir los controles con ocurrencias previas del resultado de interés.	*
		No hay mención de la historia del resultado, no hay descripción de la fuente	
Comparabilidad	Comparabilidad de casos y controles en base al diseño o análisis. Se puede asignar un máximo de 2 estrella esta categoría. Tanto los casos como los controles deben coincidir en el diseño y/o factores de confusión deben ajustarse en el análisis. Las declaraciones de que no hay diferencias entre los grupos o que las diferencias no fueron significativas no son suficientes para	Controles de estudio para ___ (seleccionar el factor más importante)	*
		Controles de estudio para cualquier factor adicional (este criterio podría modificarse para indicar un control específico para un segundo factor importante)	*

	establecer la comparabilidad.		
Exposición	Determinación de la exposición. Solo puede tener una estrella	Registro seguro	
		Entrevista estructurada donde se ciega al estado caso/control	*
		Entrevista no cegada al estado del caso/control	*
		Autoinforme escrito o registro médico solamente	
		Ninguna descripción	
	Mismo método de verificación de casos y controles	SI	*
		No	
	Tasa de no respuesta	La misma para ambos grupos	*
		No se describe encuestados	
		Tasa diferente y sin designación	

Archivo suplementario S1. Newcastle-Ottawa scale: Evaluación de riesgo de sesgos en estudios observacionales. En este caso se puede observar la tabla para realizar el *check list* de cada paper a evaluar. En el primer ítem de selección cada respuesta tiene una respuesta y si un artículo cumple con una celda sin estrella, indica que hay un posible sesgo, aunque se debe evaluar con las demás categorías. La categoría de comparabilidad puede tener 2 celdas marcadas y en exposición. En exposición, en la determinación de la exposición solamente se puede seleccionar una celda.