

Prevalencia de microorganismos periodonto patógenos en fluido gingival de pacientes gestantes con periodontitis

Prevalence of periodonto pathogenic microorganisms in gingival fluid of pregnant patients with periodontitis

Prevalência de microrganismos patogênicos do periodonto no fluido gengival de pacientes grávidas com periodontite

Fecha de Recepción: 04 noviembre 2024

Aceptado para su publicación: 27 noviembre 2024

Autores:

María Rosenda Britos^{1a}.

ORCID-ID 0000-0002-2159-1036

Andres Benetti^{2b}

ORCID-ID 0009-0000-2386-5574

1. Unidad Curricular Microbiología. Facultad de Odontología de Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes - Argentina.

2. Unidad Curricular Anatomía Patológica. Facultad de Odontología de Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes - Argentina.

a. Magíster en Investigación en Ciencias de la Salud (Facultad de Odontología -UNNE)

b. Doctor de la Universidad Nacional del Nordeste en Odontología (Facultad de Odontología -UNNE).

Correspondencia:

María Rosenda Britos.

Av. Libertad 5450, Corrientes. Argentina

Correo electrónico:

mariaosendab@gmail.com

mrbritos@odn.unne.edu.ar

Conflicto de intereses:

los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento:

Secretaría General de Ciencia y Técnica Universidad Nacional del Nordeste.

Resumen

La periodontitis es una enfermedad infecciosa compleja, asociada a una biopelícula subgingival disbiótica. En gestantes, podría representar un factor que afecta negativamente la salud materno-fetal. El objetivo de esta investigación fue establecer la prevalencia de microorganismos periodonto patógenos en gestantes con periodontitis. Se realizó un estudio descriptivo transversal con muestreo por conveniencia, en el que participaron 50 gestantes, del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Ángela Llano, quienes cumplieron los criterios de inclusión y dieron su consentimiento informado. Se clasificó la periodontitis según los criterios de Papanou y col. Las muestras de biopelícula se tomaron de los dos sitios mayor profundidad al sondaje. Se obtuvo la prevalencia de periodonto patógenos por PCR multiplex. El 56 % de las gestantes presentaron enfermedad periodontal. La prevalencia de *Prevotella intermedia* y *Fusobacterium nucleatum* fue del 100%, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola* 100% en periodontitis Grado III y Grado II. La prevalencia de *Porphyromonas gingivalis* de 75 % en periodontitis de Grado III y en el 20% en Grado II. El análisis estadístico mostró una diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de microorganismos según el grado de periodontitis. En conclusión, una proporción significativa de gestantes presentó enfermedad periodontal. La prevalencia de microorganismos del grupo naranja de Sokransky propicia la agregación del grupo rojo, con posibles efectos adversos en el embarazo. Es crucial ampliar la investigación para mejorar la prevención y tratamiento en esta población.

Palabras clave: sbiopelícula; embarazo; efectos adversos (fuente: DeCS BIREME).

Abstract

Periodontitis is a complex infectious disease associated with a dysbiotic subgingival biofilm. In pregnant women, it may represent a factor that negatively impacts maternal-fetal health. The objective of this research was to determine the prevalence of periodontal pathogens in pregnant patients with periodontitis. A cross-sectional descriptive study with convenience sampling was conducted, involving 50 pregnant women from the Gynecology and Obstetrics Service at Ángela Llano Hospital who met the inclusion criteria and provided informed consent. Periodontitis was classified based on Papapanou et al.'s criteria. Biofilm samples were collected from the two sites with the greatest probing depth. The prevalence of periodontal pathogens was determined using multiplex PCR.

Fifty-six percent of the pregnant participants were diagnosed with periodontal disease. The prevalence of *Prevotella intermedia* and *Fusobacterium nucleatum* was 100%, as was *Tannerella forsythia* and *Treponema denticola* in patients with Grade III and Grade II periodontitis. The prevalence of *Porphyromonas gingivalis* was 75% in Grade III periodontitis and 20% in Grade II periodontitis. Statistical analysis revealed a significant difference in the prevalence of microorganisms based on the grade of periodontitis.

In conclusion, a significant proportion of pregnant women presented with periodontal disease. The high prevalence of microorganisms from Socransky's orange complex facilitates the aggregation of the red complex, potentially leading to adverse pregnancy outcomes. Expanding research in this area is essential to improve prevention and treatment strategies for this population.

Key words: biofilm; pregnancy; adverse effects (source: MeSH NLM).

Resumo

A periodontite é uma doença infecciosa complexa, associada a um biofilme subgingival disbiótica. Em gestantes, pode representar um fator que afeta negativamente a saúde materno-fetal. O objetivo desta pesquisa foi estabelecer a prevalência de microorganismos periodontopatogênicos em gestantes com periodontite. Foi realizado um estudo transversal descritivo com amostragem de conveniência, no qual participaram 50 gestantes do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Ángela Llano, que atenderam aos critérios de inclusão e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. A pe-

riodontite foi classificada de acordo com os critérios de Papapanou et al. As amostras da biopelícula dois sítios com maior profundidade à sondagem. A prevalência de periodontopatogênicos foi obtida por PCR multiplex. Cinquenta e seis por cento das gestantes apresentaram doença periodontal. A prevalência de *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* foi de 100%, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* 100% na periodontite Grau III e Grau II. A prevalência de *Porphyromonas gingivalis* foi de 75% na periodontite Grau III e 20% na periodontite Grau II. A análise estatística mostrou uma diferença estatisticamente significativa na prevalência de microrganismos de acordo com o grau de periodontite. Conclui-se que uma proporção significativa de gestantes apresentou doença periodontal. A prevalência de microrganismos do grupo laranja Socransky promove a agregação do grupo vermelho, com possíveis efeitos adversos na gravidez. É crucial ampliar as pesquisas para melhorar a prevenção e o tratamento dessa população.

Palavras-chave: biofilme; gravidez; efeitos adversos (fonte: DeCS BIREME).

Introducción

La periodontitis es una enfermedad infecciosa multifactorial compleja, asociada a una biopelícula subgingival periodontopatogéna compuesta por un microbiota disbiótica. Clínicamente se caracteriza por la pérdida de inserción y formación de bolsas periodontales. Esta condición induce una respuesta inmunoinflamatoria crónica persistente en el huésped contra los microorganismos de la biopelícula bacteriana y sus factores de virulencia^{1,2}. Los factores de virulencia son moléculas que los microorganismos producen y liberan durante su ciclo de vida, capaces de dañar los tejidos del huésped, causando inflamación y promoviendo la disbiosis³.

El factor etiológico indispensable para que se desarrolle la periodontitis es la "biopelícula subgingival". Bacterias como *P. gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*), *P. intermedia* (*Prevotella intermedia*), *P. nigrescens* (*Prevotella nigrescens*), *P. loescheii* (*Prevotella loescheii*), *F. nucleatum* (*Fusobacterium nucleatum*), *T. forsythia* (*Tannerella forsythia*), *C. rectus* (*Campylobacter rectus*), *E. corrodens* (*Eikenella corrodens*) y *T. denticola* (*Treponema denticola*), que conforman la

biopelícula subgingival han sido relacionadas con la periodontitis crónica y son consideradas como indicadores de riesgo para la progresión de dicha enfermedad^{1,4}. Asimismo, cabe destacar que la presencia de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola*, está directamente relacionada con el aumento de la profundidad de la bolsa periodontal y del índice de sangrado^{5,6,7}.

Estos microorganismos y sus factores de virulencia estructurales y no estructurales, como lipopolisacáridos (LPS), toxinas y enzimas inician y sostienen en el tiempo la respuesta inmunológica del huésped que, ante la imposibilidad de resolver la infección, se vuelve crónica y destructiva, liberándose gran cantidad de mediadores proinflamatorios causando la pérdida de tejido conectivo y hueso alveolar⁸.

La periodontitis materna podría representar una fuente de microorganismos que, en determinadas condiciones, pueden ingresar a la circulación sistémica, afectando negativamente la salud materno-fetal provocando efectos sistémicos adversos y resultados perjudiciales durante el embarazo, con graves consecuencias para el recién nacido^{9,10,11}. Entre los resultados desfavorables del embarazo se incluyen el PP (parto prematuro), que ocurre antes de la semana 37 de gestación; la hipertensión materna o PE (preeclampsia), una alteración multisistémica caracterizada por proteinuria después de la semana 20 de gestación; y el BPN (bajo peso al nacer), cuando el peso del niño es inferior a 2500 gramos.

Uno de los primeros en señalar que "la enfermedad periodontal representa un desafío infeccioso microbiano suficiente para causar efectos negativos en la gestante y el feto" fue Galloway en 1931¹². Por otro lado, autores como Offenbacher et al.¹³ sugirieron también que las bacterias implicadas en la enfermedad periodontal al estimular la liberación de prostaglandinas E1 (PGE1) y E2 (PGE2), constituyen un factor de riesgo para el PP, la PE y el BPN. La incidencia de la enfermedad periodontal aumenta con la edad, la falta de higiene, el tabaquismo y también por factores hormonales como los que ocurren durante la adolescencia y el embarazo.

En el pasado, se consideraba que la placenta estaba libre de microorganismos durante un embarazo normal; no obstante, hoy en día se postula que

incluso en embarazos saludables, la placenta posee su propio microbiota residente. Es probable que el riesgo para la unidad fetomaterna aumente cuando coexisten microorganismos y una respuesta inflamatoria¹¹. Además, la presencia de bacterias disbióticas como *P. gingivalis* se asocia con un mayor riesgo de resultados desfavorables^{14,15}. Esta bacteria posee proteasas de gingipainas, que juegan un papel esencial en su capacidad para colonizar los tejidos subgingivales, obtener nutrientes, evadir la inmunidad y contribuir a la destrucción del tejido periodontal^{16,17}. También, se ha encontrado *F. nucleatum* en el líquido amniótico de pacientes que experimentaron parto prematuro¹⁸, considerando este hecho como otra evidencia que sugiere una posible translocación de bacterias orales hacia la placenta¹⁹. Es probable que factores ecológicos y ambientales compartidos entre la cavidad oral y la placenta favorezcan la colonización de esta última por bacterias periodontales²⁰.

Algunos investigadores²¹ encontraron un aumento de *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans* (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) en biopelícula subgingival de mujeres japonesas durante el primer y segundo trimestre de gestación. También observaron que durante el segundo trimestre del embarazo aumenta *P. intermedia*, coincidiendo con niveles elevados de estrógeno y progesterona²². Además, hay que destacar que existen factores sistémicos involucrados en la evolución de la enfermedad periodontal durante el embarazo, como la disminución significativa de la capacidad inmunitaria de los tejidos periodontales, puesto que, en este período, la respuesta inmune experimenta una inmunosupresión fisiológica, principalmente dirigida a preservar al nuevo ser en desarrollo²³. En vista a todo lo expuesto, se debería considerar que la presencia de estos microorganismos estaría relacionada con un mayor riesgo de complicaciones durante el embarazo. Por consiguiente, el objetivo de este estudio fue establecer la prevalencia de microorganismos periodontal patógenos en fluido gingival de pacientes gestantes con periodontitis.

Materiales y Métodos

Se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo transversal. El muestreo fue por conveniencia conformado por 50 gestantes del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Ángela Llano de Co-

rrientes que cumplieron los criterios de inclusión. El estudio fue realizado en el marco del proyecto PI20J020, acreditado por la Secretaría General de Ciencia y Tecnología, y aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UNNE, siguiendo los principios de Helsinki. Las participantes fueron informadas y firmaron un consentimiento aprobado por dicho Comité (Resolución 245/16 C.D.). Criterios de inclusión: Gestantes de 18 a 40 años, presencia al menos de 20 piezas dentarias, con periodontitis, que no hayan recibido tratamiento antibiótico tópico ni sistémico en los últimos 6 meses y sin compromiso sistémicos. Criterios de exclusión: presencia de diabetes u otra enfermedad sistémica que altera el curso de la enfermedad periodontal, terapia periodontal en el último año y utilización de antimicrobianos en forma sistémica o tópica en los seis meses previos al examen clínico y a la toma de muestras microbiológicas y edéntulas totales.

Examen odontológico: Se realizó el examen odontológico y odontograma para evaluar la presencia de periodontitis. Para clasificar la periodontitis se utilizaron los criterios de Papapanou et al.²⁴, grado I: pérdida de inserción clínica 1 a 2 mm, pérdida del tercio coronal < 15%, sin pérdida de órganos dentarios; grado II: pérdida de inserción clínica 3 a 4 mm, pérdida del tercio coronal entre 15 y 33%, sin pérdida de órganos dentarios; grado III: pérdida de inserción > 5 mm, pérdida coronal hasta la mitad del tercio y de raíz y más allá, órganos dentarios perdidos ≤ 4; grado IV: pérdida de inserción > 5 mm, pérdida coronal hasta la mitad del tercio y de raíz y más allá, órganos dentarios perdidos ≥ 5. Las piezas dentarias inexistentes se tacharon de la respectiva ficha. Se tomaron los valores de PD y CAL en seis sitios por diente (mesiobucal, bucal, distobucal, mesiolingual, lingual y distolingual). Para medir la profundidad de sondaje se utilizó la sonda periodontal Sonda MM PC-15 COLOR-UNC, maniobra ejecutada para medir la profundidad de bolsa empleando la sonda periodontal mencionada.

Toma de muestra de fluido gingival: la inspección clínica odontológica y la prueba de sondaje fue realizada por un solo operador. En cada paciente, se seleccionaron dos sitios de muestreo, uno en la arcada superior y otro en la arcada inferior (con mayor profundidad de sondaje). La zona se aisló con

algodón, se removió la biopelícula supragingival con torunda de algodón estéril. Se introdujeron puntas de papel absorbente en el surco gingival del sitio elegido durante 60 segundos, se colocaron en tubos Eppendorf, que se transportaron bajo refrigeración, almacenándose a -20°C hasta su procesamiento a análisis por PRC multiplex.

Extracción de DNA: se realizó la extracción de DNA, utilizando el método de extracción con CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) según Stewart & Vía²⁵.

Reacción de PCR: se utilizaron iniciadores específicos para el gen que codifica una región conservada del rRNA (RNA ribosomal) 16S o DNA 16S (gen-housekeeping). En la detección del grupo rojo se emplearon cebadores descritos en el protocolo de PCR según Quintero et al.²⁶ cuya banda se visualiza para *P. gingivalis* a 197 pb (pares de bases), 745 pb *T. forsythia* y 316 pb *T. denticola*. En la identificación de *F. nucleatum* y *P. intermedia* se utilizaron cebadores cuyas bandas se visualizaron a 214pb y 369pb²⁷. Para comprobar la presencia de DNA bacteriano en las muestras de fluido gingival, se realizó una PCR de ARNr 16S (procariotas). Se utilizaron los cebadores BAK4 y BAK11, para la detección de RNA ribosomal 16S en procariotas.

Electroforesis: los productos PCR se separaron por electroforesis horizontal en gel de agarosa 1.8% en buffer TBE1X más GelGreen 10,000x (Biotium, USA).

Análisis estadístico: se empleó la prueba de independencia mediante el estadístico χ^2 con 5% de significancia a fin de comprobar si existe relación entre las frecuencias con que se presentan los valores de las variables cualitativas. El análisis estadístico fue realizado mediante el software InfoStat²⁸.

Resultados

El 56 % de las pacientes que integraron la población en estudio presentaron enfermedad periodontal, 30% Grado I, 10% Grado II, 16% Grado III, mientras que un 44% se clasificaron como Grado 0 sin periodontitis. La edad promedio de las pacientes evaluadas fue de 30 ± 8.87 años y la edad promedio de las pacientes con periodontitis fue de 34 ± 5.25 años.

La distribución de prevalencia de los microorganismos según la severidad de la enfermedad periodontal se expone en la *Figura 1*. Se obtuvo una prevalencia de *P. intermedia* y *F. nucleatum* del 100% en las gestantes con periodontitis. Mientras que *T. forsythia* y *T. denticola* se detectaron en el 100% de los casos de periodontitis Grado III y Grado II y se obtuvo una prevalencia de 75 % en periodontitis de Grado III y en el 20% de los casos de Grado II de *P. gingivalis*.

En la *Tabla I* se muestra la relación entre la frecuencia de detección de los microorganismos y los diferentes grados de severidad de la periodontitis. El análisis estadístico reveló una diferencia estadísticamente significativa entre la prevalencia de los microorganismos y los distintos grados de periodontitis.

En las *Figuras 2 y 3*, se observan las bandas de los perfiles electroforéticos que se visualizaron con foto documentador.

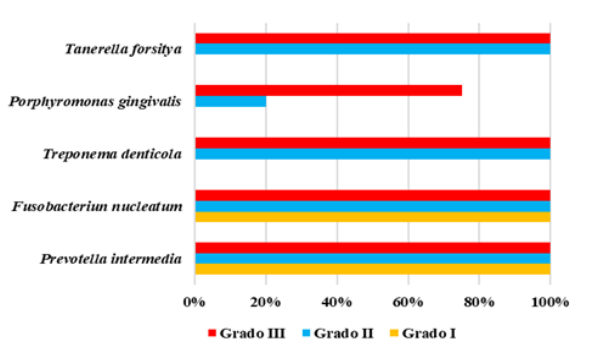


Figura 1. Frecuencia relativa de los microorganismos periodontal patógenos según los grados de periodontitis.

Tabla I. Relación entre la frecuencia de detección de los microorganismos y los diferentes grados de severidad de la periodontitis

Microorganismos	P. Grado I	P. Grado II	P. Grado III	p
<i>Prevotella intermedia</i>	15	5	8	<0.0001*
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	15	5	8	
<i>Treponema denticola</i>	0	5	8	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	0	1	6	
<i>Tannerella forsythia</i>	0	5	8	

P: Periodontitis * χ^2 de Pearson

Discusión

En el presente estudio se encontró que el 56% de las gestantes evaluadas presentaron algún grado de enfermedad periodontal. Estos resultados son cohe-

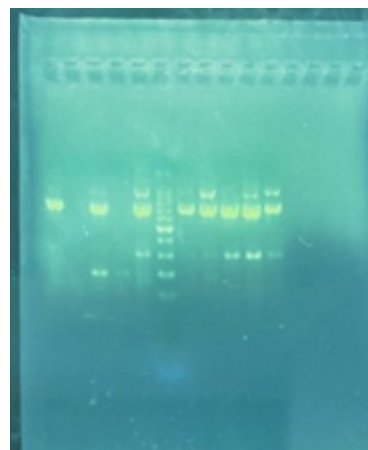


Figura 2. Perfil electroforético de amplicones PCR especie específica para *P. gingivalis* a 197 pb, *T. forsythia* y 316 pb *T. denticola*.

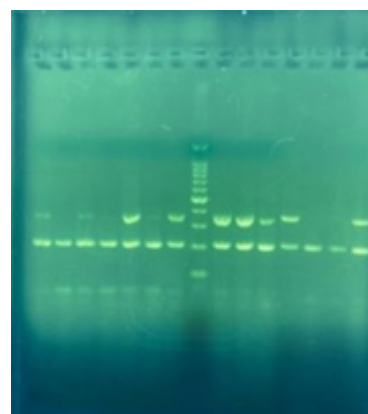


Figura 3. Perfil electroforético de amplicones PCR especie específica para *F. nucleatum* a 214 pb y *P. intermedia* a 369 pb.

rentes con lo reportado por Candina et al.²⁹, quienes realizaron un estudio con 116 embarazadas, de las cuales el 64% presentaron gingivitis y el 43% periodontitis. Asimismo, autores como, Escobar et al.³⁰ y Amaya et al.³¹ informaron una prevalencia de periodontitis del 50% y 59,3% respectivamente. En cuanto a la edad de las pacientes que presentaron periodontitis en nuestro estudio, la edad promedio fue de $34 \pm 5,25$ años. Este hallazgo concuerda con lo reportado por García et al.³², quienes observaron una relación significativa entre la edad y la severidad de la enfermedad periodontal. Considerando lo anterior, diversos estudios³³ han señalado que la edad es un factor determinante en el desarrollo y progresión de la enfermedad periodontal. A medida que las personas envejecen, se produce una mayor destrucción de los tejidos periodontales, observándose un incremento considerable en la etapa adulta y la tercera edad. Por lo tanto, a mayor edad, aumenta el riesgo de desarrollar esta enfermedad, especialmente en

mujeres embarazadas, quienes ya presentan cambios hormonales y fisiológicos que pueden predisponerlas a condiciones periodontales más severas.

En relación con la detección de los microorganismos, *P. intermedia* y *F. nucleatum* se detectó en el 100% de las pacientes con periodontitis, nuestros hallazgos concuerdan con Tellapragada et al.³⁴, Borgo et al.³⁵ y Usin et al.³⁶. Esta situación estaría asociada al aumento de hormonas sexuales femeninas como estrógeno y progesterona, dado que el género *Prevotella* utiliza estas hormonas como fuente de nutrientes^{37,38}. También Amaya et al.³¹ informaron en gestantes con periodontitis una prevalencia de 80.2% para *F. nucleatum*. Igualmente, la detección de *T. forsythia* y *T. denticola* con una frecuencia del 100% tanto en periodontitis de Grado III como en Grado II coincide con lo reportado por Tellapragada et al.³⁴. Estos autores plantean que la elevada prevalencia de miembros del "complejo naranja", junto con *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola* pertenecientes al "complejo rojo" sugiere una posible coexistencia entre los miembros de ambos complejos, lo que refuerza su papel conjunto en la progresión de la enfermedad periodontal.

En este trabajo se observó un aumento de la prevalencia de *P. gingivalis* con relación al aumento de la severidad de la periodontitis, se obtuvo una mayor prevalencia de *P. gingivalis* en la periodontitis severa, análogamente, Kulkarni et al.³⁹ informaron un aumento significativo de la prevalencia de *P. gingivalis* en bolsas profundas, lo que sugiere que este microorganismo se comporta como un colonizador tardío, predominando en las etapas más avanzadas de la enfermedad. Comparando los resultados obtenidos con la literatura existente, se puede evidenciar que los microorganismos *T. forsythia*, *T. denticola*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, y *F. nucleatum* son consistentemente asociados con la enfermedad periodontal en gestantes, sin embargo, las diferencias en la prevalencia y distribución de estos patógenos en los distintos trabajos podrían estar influenciadas por factores como la metodología utilizada para la detección, la ubicación geográfica y al grupo racial y étnico^{40,41}.

Conclusiones

Una proporción significativa de mujeres gestantes presentó algún grado de enfermedad periodontal. La alta prevalencia de microorganismos del grupo naranja sugiere un entorno propicio para la colonización de microorganismos periodontopatógenos del grupo rojo y el desarrollo de una flora disbiótica, lo cual podría tener efectos adversos sobre el embarazo. Por ello, es fundamental continuar la investigación ampliando la muestra para fortalecer estas conclusiones y desarrollar estrategias de prevención y tratamiento adaptadas a esta población vulnerable.

Referencias bibliográficas

1. Socransky SS, Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol.* 1992; 63: 322-331. doi: 10.1902/jop.1992.63.4s.322
2. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012;27 (6): 409-419. doi: 10.1111/j.2041-1014.2012.00663.x
3. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol.* 2016; 7: 53. doi: 10.3389/fmicb.2016.00053
4. Sojod B, Périer JM, Zalberg A, Bouzegza S, El Halabi B, Anagnostou F. Enfermedad periodontal y salud general. *EMC - Tratado de Medicina.* 2022; 26(1):1-8. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(22\)46043-0](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(22)46043-0) Get rights and content
5. Socransky, SS. Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000. 2005; 38: 135-187. doi: 10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x
6. Christersson LA, Albin B, Zambon JJ, Wikesjö UME, Genco RJ. Dental bacterial plaques: nature and role in periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1991; 18:441-6. doi: 10.1111/j.1600-051x.1991.tb02314.x
7. Theilade E. The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 1986; 13:905-11. doi: 10.1111/j.1600-051x.1986.tb01425.x
8. Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ. Identificación de patógenos periodontales en placas de ateroma. *J Periodontol.* 2000;71(10):1554-60. doi: 10.1902/jop.2000.71.10.1554

9. Figuero E, Han YW, Furuichi Y. Periodontal diseases and adverse pregnancy outcomes: mechanisms. *Periodontology* 2000. 2020;83(1):175-88. doi: 10.1111/prd.12295
10. Chopra A, Radhakrishnan R, Sharma M. Porphyromonas gingivalis y resultados adversos del embarazo: una revisión sobre sus intrincados mecanismos patogénicos. *Crit Rev Microbiol.* 2020;46(2):213-36. doi: 10.1080/1040841X.2020.1747392
11. De Moraes Santos MP, Barbosa LM, da Fonseca ELG, de Lima CHR, da Silva TCL, dos Santos Souza TG, et al. Presença de patógenos periodontais em placentas de mulheres com preeclampsia: revisão de literatura. *Research, Society and Development.* 2020;9(9). doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7707>
12. Galloway CE. Focal infection. *Am J Surg.* 1931;14(3):643-5.
13. Offenbacher S, Lief S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CM, et al. Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2006;107:29-36. doi: 10.1097/01.AOG.0000190212.87012.96
14. García RC, Culqui SF, Benalcázar RQ, Raymi AC, Navarro MP, Vásquez ÓT. Enfermedad periodontal asociada al embarazo. *Rev Cient Odontol.* 2019;7(1):132-9. doi: 10.21142/2523-2754-0701-2019-132-139
15. Orrego-Cardozo M, Parra-Gil MA, Salgado-Morales YP, Muñoz-Guarín E, Fandiño-Henao V. Porphyromonas gingivalis y enfermedades sistémicas. *CES Odontol.* 2015;28(1):57-73. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v28n1/v28n1a6.pdf>
16. Reyes L, Phillips P, Wolfe B, Golos TG, Walkenhorst M, Progulske-Fox A, et al. Porphyromonas gingivalis y resultado adverso del embarazo. *Oral Microbiol.* 2017;9(1):1374153. doi: 10.1080/20002297.2017.1374153
17. Potempa J, Mydel P, Koziel J. El caso de la periodontitis en la patogenia de la artritis reumatoide. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13:606-20. doi: 10.1038/nrrheum.2017.132
18. Hill GB. Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora. *Ann Periodontol.* 1998;3:222-32. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.222
19. Cobb CM, Kelly PJ, Williams KB, Babbar S, Angolkar M, Derman RJ. The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *Int J Womens Health.* 2017; 9:551. doi: 10.2147/IJWH.S142730
20. Amir M, Brown JA, Rager SL, Sanidad KZ, Ananthanarayanan A, Zeng MY. Microbioma materno e infecciones en el embarazo. *Microorganisms.* 2020;8(12): 1996. doi: 10.3390/microorganisms8121996
21. Fujiwara N, Tsuruda K, Iwamoto Y, Kato F, Odaki T, Yamane N, et al. Significant increase of oral bacteria in the early pregnancy period in Japanese women. *J Investig Clin Dent.* 2017;8(1). doi: 10.1111/jicd.12189
22. Herane M, Godoy C, Herane P. Enfermedad periodontal y embarazo. *Rev Med Los Condes.* 2014; 25:936-43. Disponible en: file:///C:/Users/inspe/Downloads/Enfermedad_periodontal_y_embarazo_Revision_de_la_l.pdf
23. Avila YT, Montero JM, Pérez MLM. La enfermedad periodontal inflamatoria crónica en el contexto de la respuesta inmune en el embarazo. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 2022;48(1). Disponible en: <https://revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/article/view/9/8>
24. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol.* 2018;89(Suppl 1). doi: 10.1002/JPER.17-0721
25. Stewart CN Jr, Via LE. A rapid CTAB DNA isolation technique useful for RAPD fingerprinting and other PCR applications. *BioTechniques.* 1993;14(5):748-50. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/80909788/A-Rapid-CTAB-DNA-Isolation>
26. Quintero AJ, Prada P, Inostroza CM, Chaparro A, Sanz AF, Ramírez VL, et al. Presencia de Porphyromonas gingivalis, Tannerella forsythia, Treponema denticola y Aggregatibacter actinomycetemcomitans en el biofilm subgingival de pacientes diabéticos tipo 2: estudio transversal. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral.* 2011;4(2):54-8. doi: org/10.4067/S0719-01072011000200003
27. Ortega SM, Kremer Sendrós S, De la Cruz M, Sin C, Britos M, Fernández D. Diabetes y enfermedad periodontal. *Rev Ateneo Argent Odontol.* 2021;64(1):64-70. Disponible en: <https://www.ateneo-odontologia.org.ar/articulos/lxiv01/articulo10.pdf>

28. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina; 2011.
29. Candina H, Batista A, Fonte E. Enfermedad periodontal en gestantes del primer y tercer trimestre del embarazo. *Rev Cubana Investig Bioméd.* 2018;37(2):18-26. Disponible en: [://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002018000200003&lng=es](https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002018000200003&lng=es)
30. Escobar F, Latorre C, Velosa J, Roa N, Ruiz A, Arias E, et al. Inflammatory response in pregnant women with high risk of preterm delivery and its relationship with periodontal disease: A pilot study. *Rev Acta Odontol Latinoam.* 2021;13(0):53-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30056467>
31. Amaya S, Bolaños MF, Jaramillo A, Soto JE, Contreras A. Estado periodontal y microbiota subgingival en mujeres preeclámpticas. *Rev Estomatol.* 2004;12(2):44-56. doi: 10.25100/re.v12i2.5565
32. García G, Vega SP, Tolentino A. Prevalencia de enfermedad periodontal en embarazadas de una unidad de medicina familiar de Acapulco, Guerrero. *Rev Aten Fam.* 2016;23(3):75-9. doi: 10.1016/j.af.2016.05.001
33. Ribot B, Ruiz-Díez F, Abajo S, March G, Fargas F, Arija V. Prevalence of anaemia, risk of haemoconcentration and risk factors during the three trimesters of pregnancy. *Nutr Hosp.* 2018;35(1):123-30. doi: 10.20960/nh.1045
34. Tellapragada C, Eshwara VK, Acharya S, Bhat P, Kamath A, Vishwanath S, et al. Prevalence of clinical periodontitis and putative periodontal pathogens among South Indian pregnant women. *Int J Microbiol.* 2014;2014:420149.
35. Borgo PV, Rodrigues VA, Feitosa AC, Xavier KC, Avila-Campos MJ. Association between periodontal condition and subgingival microbiota in women during pregnancy: A longitudinal study. *J Appl Oral Sci.* 2014;22(6):528-33. doi: 10.1590/1678-775720140164
36. Usin MM, Tabares SM, Parodi RJ, Sembaj A. Periodontal conditions during pregnancy associated with periodontal pathogens. *J Investig Clin Dent.* 2013;4(1):54-9. doi: 10.1111/j.2041-1626.2012.00137.x
37. Jelihovschi I, Dorneanu S, Serban R, Badescu A, Ursu R, Martu A, et al. Increased detection rate of *Prevotella intermedia* among pregnant periodontitis patients in Romania. *J Biomed Sci Technol Res.* 2018;2(1):2150-4. doi: 10.1155/2014/420149
38. Adriaens LM, Alessandri R, Spörri S, Lang NP, Persson GR. Does pregnancy have an impact on the subgingival microbiota? *J Periodontol.* 2009;80(1):72-81. doi: 10.1902/jop.2009.080012
39. Kulkarni PG, Gosavi S, Haricharan PB, Malgikar S, Mudrakola DP, Turagam N, et al. Molecular detection of *Porphyromonas gingivalis* in chronic periodontitis patients. *J Contemp Dent Pract.* 2018;19(8):992-6. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/1a85/c9cd819ffe826d-dbe475b87e4eb637c57560.pdf>
40. Hurtado Camarena A, Bojórquez Anaya Y, Montaña Pérez MDL, López Mendoza JA. Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. *Oral.* 2017;17(54):1374-8. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654f.pdf>
41. Lafaurie GI, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayor-ga-Fayad I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: A multicenter study. *J Periodontol.* 2007;78(4):629-39. doi: 10.1902/jop.2007.060187