

Estado:

Desequilibrios de la microbiota oral en la estomatitis aftosa recurrente: revisión sistemática

Joaquín Inzulza, Mario Reyes, César Rivera

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.3162>

Enviado en: 2021-11-09

Postado en: 2021-11-12 (versión 1)

(AAAA-MM-DD)

Desequilibrios de la microbiota oral en la estomatitis aftosa recurrente: revisión sistemática

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

Joaquín Inzulza¹, Mario Reyes², César Rivera³

¹Escuela de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Chile.

Email jinzulza16@alumnos.otalca.cl. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1554-1139>.

²Escuela de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca, Chile.

Email mareyesc17@gmail.com. ORCID <https://orcid.org/0000-0001-9243-8568>.

³Departamento de Estomatología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca,

Chile. Email cerivera@otalca.cl. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-5491-4233>

Correspondencia: Dr. César Rivera, DDS, MSc, PhD, Departamento de Estomatología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Talca Campus Norte, Edificio de Ciencias Biomédicas, Avenida Lircay S/N, Oficina 8, Talca, Región del Maule 3460000, Chile. Tel +56 71 2418855. Fax +56 71 2418855. Email cerivera@otalca.cl.

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*.

Palabras clave: Estomatitis aftosa; Microbiota; Disbiosis.

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*.

Keywords: Stomatitis, Aphthous; Microbiota; Dysbiosis.

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. 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. La disbiosis podría causar una disminución de las funciones metabólicas de la microbiota oral en la estomatitis aftosa recurrente, causando inflamación y respuestas 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.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño general

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 aquellas diferencias significativas en términos de diversidad o abundancia de microbiota (4).

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)

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).

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. Luego de la evaluación de texto completo excluimos artículos que no realizaron análisis de múltiples microorganismos.

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.

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.

RESULTADOS

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). Las principales razones de exclusión 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 Bechcet, que es una enfermedad que esta relacionada a la estomatitis aftosa recurrente. Agregar que otros artículos, hacían referencia a la variación de un sólo microorganismo.

Características 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 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).

La diversidad bacteriana de la microbiota oral es similar en casos y controles

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.

Diferencia entre la abundancia relativa de casos y controles

La mayoría de los estudios incluidos informaron que existe un desequilibrio microbiano representada 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).

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

De los nueve artículos evaluados son de alta calidad, lo que indica que todos los estudios son adecuados para su inclusión. De los artículos incluidos el mayor sesgo fue en la etapa de selección que disminuyó su puntaje por el tipo de representación de casos y controles. El resumen de la evaluación global de los artículos se presenta en la Figura 2.

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.

Conflictos de interés

Todos los autores declaran que no tienen conflictos de interés-

Contribuciones de los autores

Conceptualización, J.I., M.R. y C.R.; metodología, J.I., M.R. y C.R.; validación, J.I., M.R. y C.R.; investigación, J.I., M.R. y C.R.; recuperación de datos, J.I., M.R. y C.R.; redacción-preparación del borrador original, J.I., M.R. y C.R.; redacción, revisión y edición, J.I., M.R. y C.R.; supervisión, C.R.; administración de proyectos, C.R. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Disponibilidad de datos y materiales

Todos los conjuntos de datos generados o analizados durante el estudio se incluyen en el preprint publicado.

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, Drobniewski 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 Sjöstrom 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.

TABLAS

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

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 eritematoso. Presentan una pseudomembrana grisácea.	1. Pacientes con síntomas orales como alergia alimentaria, enfermedad celíaca o trastornos autoinmunes .	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=10) vs B: Paciente con historia de estomatitis aftosa recurrente, pero en	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos de la mucosa labial inferior (muestras de mucosa)

	Diámetro menor a cinco milímetros.		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 de colonias / ml) 4. Enfermedades relacionadas	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>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 antibióticos en los tres meses anteriores.</p> <p>9. Terapia para RAS en</p>	<p>A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=16)</p> <p>vs</p> <p>B: Paciente sano (n=16)</p>	<p>16S rRNA gene sequencing</p>	<p>Muestras de hisopos (muestras de mucosas)</p>

		<p>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>	<p>A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=24)</p> <p>vs</p> <p>B: Paciente sano (n=21)</p>	16S rRNA gene sequencing	Saliva entera no estimulada
Marchini et al. Brazil, 2007(12)	No reporta	<p>1. Sujetos con enfermedad sistémicas</p> <p>2. Consumo de antibióticos en los</p>	<p>A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=10)</p> <p>vs</p>	16S rRNA gene sequencing	Muestras de hisopos (muestras de mucosas)

		últimos tres meses 3. Alcohólicos.	B: Paciente sano (n=10)		
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 vitales anormales. 4. IMC >30 ó <20 5. Embarazo y lactancia. 6. Uso de antibióticos	A: Pacientes con estomatitis aftosa recurrente (n=15) vs B: Paciente sano (n=13)	16S rRNA gene sequencing	Saliva entera no estimulada

		<p>en los tres meses anteriores.</p> <p>7. Flujo salival disminuido.</p> <p>8. Recuento de candida > 1000 UFC/ml.</p> <p>9. Portador de prótesis removible.</p> <p>10. Consumo cualquier tipo de fármaco.</p> <p>11. Tratamiento para la úlceras en los tres meses anteriores.</p> <p>12. Presencia de otras enfermedades de la mucosa oral.</p> <p>13. Enfermedad periodontal.</p> <p>14. Lesiones de caries.</p> <p>15. D3MFT>3</p> <p>16. Índice de placa >30%</p> <p>17. Dieta rica en azúcar.</p>			
Seoudi et al. UK, 2015(15)	No reporta	1. No cumplir con los criterios de ISG	A: Pacientes con estomatitis aftosa	Matrix-assisted laser desorption/ionization	Muestras de hisopos (muestras de mucosas),

		<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>	<p>recurrente (n=6)</p> <p>vs</p> <p>B: Paciente sano (n=10)</p>	<p>time-of-flight analysis</p>	<p>muestras de saliva entera no estimuladas</p>
--	--	---	--	--------------------------------	---

Resumen de las características de los estudios observacionales de casos y controles seleccionados de los sujetos con y sin estomatitis aftosa recurrente. A: Casos, B: Controles

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

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 sp.</i>	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> (+)	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

		<p>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> (-) o_ <i>Bacillales</i> (-) f_ <i>Paenibacillaceae</i> (-) g_ <i>Anaerovorax</i> (-) g_ <i>Xanthomonadaceae</i> (-)</p>	<p>contrario, <i>Firmicutes</i> disminuyó significativamente en la microbiota oral de RAS</p>
<p>Marchini et al. 2007(12)</p>	<p>A: 10 B: 10</p>	<p>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> (-)</p>	<p><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.</p>
<p>Bankvall et al. 2014(13)</p>	<p>A: 60 B: 60</p>	<p>No reporta</p>	<p>No reporta</p>
<p>Hijazi et al. 2020 (14)</p>	<p>A: 15 B: 13</p>	<p>Bacteria microbiota: g_ <i>Streptococcus</i> (-) g_ <i>Haemophilus</i> (+) g_ <i>Gemella</i> (+) g_ <i>Veillonella</i> (+) g_ <i>Prevotella</i> (+)</p>	<p>No hubo diferencias significativas en la abundancia de ningún género o especie entre casos y controles.</p>
<p>Seoudi et al. 2015(15)</p>	<p>A: 6 B: 10</p>	<p>Bacteria microbiota: s_ <i>Bifidobacterium dentium</i> (+) s_ <i>Prevotella histicola</i>(+) g_ <i>Staphylococcus</i> (+)</p>	<p><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.</p>

	<p>s_ <i>Streptococcus sanguinis</i> (+)</p> <p>s_ <i>Streptococcus mitis</i> (-)</p> <p>s_ <i>Rothia mucilaginosa</i> (+)</p>	
--	--	--

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

FIGURAS

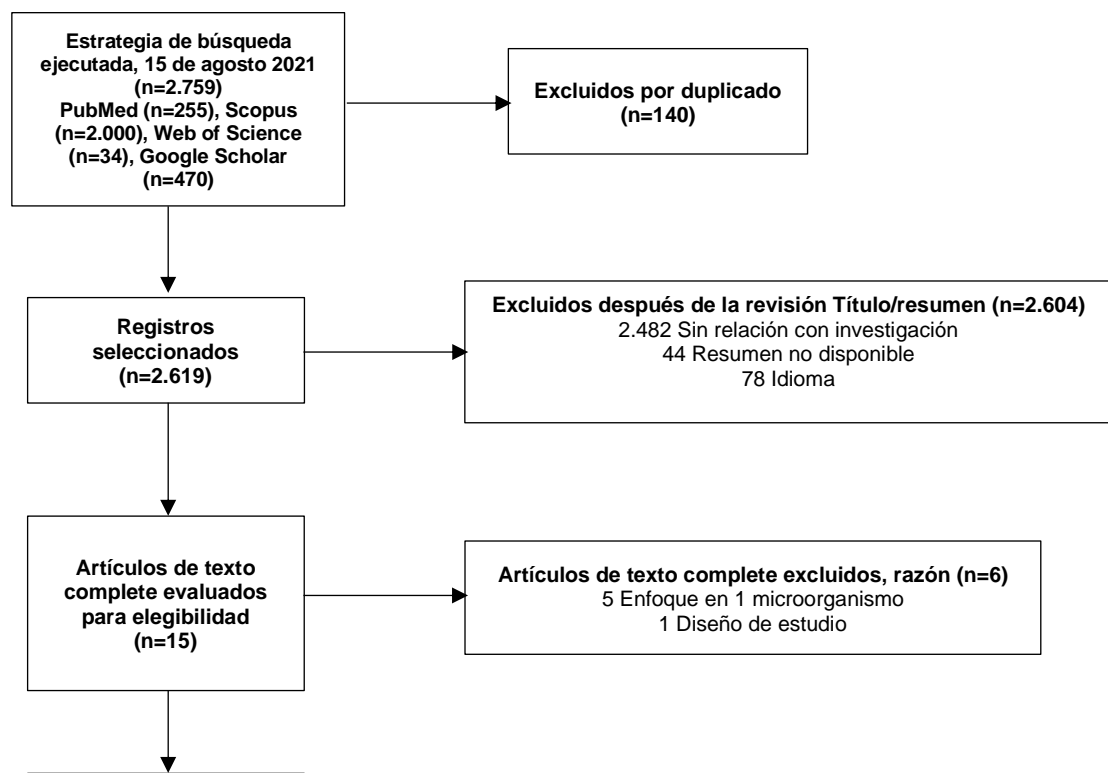




Figura 1. Flujograma PRISMA. Flujo que representa la búsqueda sistemática de la bibliografía sobre la disbiosis microbiana relacionada con la estomatitis aftosa recurrente.

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 influirá 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.

ARCHIVO SUPLEMENTARIO

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		
	Representividad 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 srian 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	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)	*

	significativas no son suficientes para 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.

Este preprint fue presentado bajo las siguientes condiciones:

- Los autores declaran que son conscientes de que son los únicos responsables del contenido del preprint y que el depósito en SciELO Preprints no significa ningún compromiso por parte de SciELO, excepto su preservación y difusión.
- Los autores declaran que se obtuvieron los términos necesarios del consentimiento libre e informado de los participantes o pacientes en la investigación y se describen en el manuscrito, cuando corresponde.
- Los autores declaran que la preparación del manuscrito siguió las normas éticas de comunicación científica.
- El manuscrito depositado está en formato PDF.
- Los autores aceptan que el manuscrito aprobado esté disponible bajo licencia [Creative Commons CC-BY](#).
- Los autores declaran que los datos, las aplicaciones y otros contenidos subyacentes al manuscrito están referenciados.
- El autor que presenta el manuscrito declara que las contribuciones de todos los autores y la declaración de conflicto de intereses se incluyen explícitamente y en secciones específicas del manuscrito.
- Los autores declaran que el manuscrito no fue depositado y/o previamente puesto a disposición en otro servidor de preprints o publicado en una revista.
- Si el manuscrito está siendo evaluado o siendo preparando para su publicación pero aún no ha sido publicado por una revista, los autores declaran que han recibido autorización de la revista para hacer este depósito.
- El autor que envía el manuscrito declara que todos los autores del mismo están de acuerdo con el envío a SciELO Preprints.
- Los autores declaran que la investigación que dio origen al manuscrito siguió buenas prácticas éticas y que las aprobaciones necesarias de los comités de ética de investigación, cuando corresponda, se describen en el manuscrito.
- Los autores aceptan que si el manuscrito es aceptado y publicado en el servidor SciELO Preprints, será retirado tras su retractación.