



Casa abierta al tiempo

**Universidad Autónoma Metropolitana
Xochimilco**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE ATENCIÓN A LA SALUD

LICENCIATURA EN ESTOMATOLOGÍA

***“Identificación molecular de bacterias en la
saliva de pacientes con Enfermedad
Periodontal y Sanos”***

**“Evaluación de nanopartículas de plata (AgNPs) sobre bacterias del microbioma aisladas de
pacientes con enfermedad periodontal”**

INFORME DE SERVICIO SOCIAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA XOCHIMILCO

Emerson García Martínez

Matrícula: 2183071438

01-febrero-2023 al 31-enero-2024

ASESOR INTERNO: DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA

ASESOR EXTERNO: M. CO VERÓNICA GASGA TAPIA



M. CO VERÓNICA GASGA TAPIA
ASESOR DEL SERVICIO SOCIAL

SERVICIO SOCIAL DE LA UAM-XOCHIMILCO



DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA
ASESORA INTERNA



COMISIÓN DE SERVICIO SOCIAL DE ESTOMATOLOGÍA

RESUMEN DEL INFORME

La presente revisión sistemática se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco (UAM-X) en la Ciudad de México, así como en el Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X.

Introducción: El microbioma humano incluye un gran número de especies que han experimentado una evolución adaptativa que les permite colonizar de manera permanente a un individuo. Sin embargo, a nivel de cavidad oral, el microbioma puede ser variable y cambiante debido a un proceso denominado sucesión microbiana. La Enfermedad Periodontal (EP) es un factor determinante para que esta sucesión microbiana se lleve a cabo en la cavidad oral y en la saliva^{1,2}.

Objetivo general: Identificar las bacterias presentes en los diferentes estadios de pacientes con enfermedad periodontal

Metodología: Tipo de investigación: Se realizó una investigación transversal, observacional, descriptiva, comparativa y experimental. Se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco (UAM-X) en la Ciudad de México. Población: Se realizó un muestreo por conveniencia. Se seleccionaron pacientes de 19-75 años con previo diagnóstico de enfermedad periodontal del Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X y pacientes de 19-75 años sin diagnóstico de gingivitis ni enfermedad periodontal.

Resultados: Basándonos en el análisis realizado de las bacterias encontradas en los diferentes estadios de enfermedad periodontal de las muestras recolectadas, se encontraron bacterias más patógenas que pertenecen al complejo rojo en el grupo III y IV, en comparación con los grupos I y II. Se encontró que los pacientes que tienen una enfermedad sistémica como diabetes o hipertensión presentan un mayor número de bacterias patógenas, estos pacientes se encuentran en estados avanzados de la enfermedad periodontal (estadio III y IV).

Conclusión: Pacientes que presentan alguna enfermedad sistémica como diabetes o hipertensión presentaron bacterias más patógenas las cuales se relacionan directamente con la enfermedad sistémica que padecen. Esto nos dará un enfoque individual para tratar a estos pacientes, que además de conocer en que estadio de enfermedad periodontal se encuentran, debemos de relacionar las enfermedades sistémicas que presentan y en conjunto con el conocimiento de las bacterias presentes en estas condiciones brindar antisépticos y antibióticos específicos contra estas bacterias, brindando un tratamiento más específico.

Palabras clave:

Bacterias, Enfermedad periodontal, microbioma, saliva

ÍNDICE

RESUMEN DEL INFORME	2
ESTRUCTURA DEL INFORME	6
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL	6
CAPÍTULO II: INVESTIGACIÓN.....	6
Marco Teórico	7
Enfermedad periodontal.....	7
Epidemiología mundial	8
Epidemiología en México	8
Clasificación.....	10
Saliva	14
Papel de las proteínas salivales en algunas enfermedades bucales.....	16
Microbioma salival en enfermedad periodontal	18
Microbioma salival en pacientes con diabetes mellitus.	19
Microbioma salival en pacientes con hipertensión	20
Objetivos	21
General.....	21
Específicos.....	21
Metodología.....	21
Procedimientos	22
Resultados.....	24
Conclusiones	34
Referencias bibliográficas.	35
CAPÍTULO III: DESCRIPCIÓN DE LA PLAZA.....	36
CAPÍTULO IV: INFORME NUMÉRICO NARRATIVO	41
CAPÍTULO V: ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	44
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....	44
ANEXOS	45

ESTRUCTURA DEL INFORME

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

El servicio social se llevó a cabo en el periodo del 01-febrero-2023 al 31-enero-2024 en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco (UAM-X) en la Ciudad de México., así como en el Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X.

La primera parte de este informe se centró en una revisión sistémica acerca del microbioma salival presente en pacientes con EP y pacientes que no presenten EP ni gingivitis, una vez teniendo la información sistemática, la metodología consistió en una revisión de la literatura internacional de los últimos 10 años, con ayuda del diagrama de flujo PRISMA e inclusión de los artículos, en donde las fuentes de información utilizadas fueron: PubMed, ScienceDirect, EMBASE, LILACS y Cochrane Library, BIDIUAM.

Posteriormente se procedió a la recolección de muestra salival, se realizó un muestreo por conveniencia. Se seleccionaron pacientes de 19-75 años con previo diagnóstico de EP del Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X y pacientes de 19-75 años sin diagnóstico de gingivitis ni EP.

Una vez teniendo las muestras de saliva fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco (UAM-X) en la Ciudad de México, donde primeramente fueron sembradas en medio de cultivo Agar Sangre, una vez procesadas, se realizó tinción de Gram donde las colonias aisladas fueron identificadas microscópicamente. Posteriormente se realizó extracción de DNA, se utilizó el kit de extracción de DNA Wizard (Promega), siguiendo el protocolo del fabricante, una vez realizado la extracción de DNA de las muestras aisladas se realizó la amplificación del gen del 16S RNAr. Finalmente se lleva a cabo una extensión a 72° C durante 7 min, se utilizó como control positivo de bacteria el ADN de *S. aureus* (ATCC 43300), los amplicones se purificarán usando el kit de ExoProstar Ilustra, posteriormente se mandarón a secuenciar a MacroGen Korea. Las secuencias recibidas serán comparadas usando la base de datos BLAST del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

CAPÍTULO II: INVESTIGACIÓN

El microbioma humano incluye un gran número de especies que han experimentado una evolución adaptativa que les permite colonizar de manera permanente a un individuo. Sin embargo, a nivel de cavidad oral, el microbioma puede ser variable y cambiante debido a un proceso denominado sucesión microbiana. La enfermedad periodontal es un factor determinante para que esta sucesión microbiana se lleve a cabo en la cavidad oral y en la saliva^{1,2}.

Actualmente las enfermedades periodontales son consideradas un problema de salud pública debido a que afectan a la mayoría de la población adulta en el mundo, siendo los países en vías de desarrollo los que presentan mayor incidencia y de acuerdo con la Organización Mundial de la salud (OMS) estos padecimientos son la segunda causa de

enfermedades en la cavidad bucal después de la caries. La enfermedad periodontal con su base microbiológica desencadena una respuesta inflamatoria inicialmente local, la susceptibilidad del paciente a bacterias patógenas juega un rol muy importante en la destrucción del ligamento periodontal y el hueso alveolar y el cambio en el microbiota salival. Las bacterias relacionadas con la periodontitis están presentes en el biofilm, y producen una alteración en la cavidad oral y el microbioma salival³. La presente investigación tiene como objetivo la identificación de bacterias presentes en la saliva de pacientes con enfermedad periodontal y una comparación con pacientes que no presentan enfermedad periodontal ni gingivitis. Enfocando principalmente en identificar estas bacterias en los distintos estadios de la enfermedad periodontal y relacionar la presencia de bacterias patógenas y la alteración en el microbioma salival.

Marco Teórico

Enfermedad periodontal

El término enfermedad periodontal o periodontopatías se refiere a un conjunto de enfermedades que afectan los tejidos que componen al periodonto de protección y de inserción del diente, o sea, la encía, el hueso, el cemento dentario y el ligamento periodontal. Las afecciones que con más frecuencia se presentan en estos tejidos son las inmunoinflamatorias crónicas (gingivitis crónica y periodontitis)¹.

La gingivitis se caracteriza por la inflamación de la encía sin afectación del ligamento periodontal, del cemento o del hueso alveolar y está asociada a la placa bacteriana dental².

La periodontitis una inflamación crónica de los tejidos que sostienen los dientes, y se inicia con la placa bacteriana. Esta enfermedad puede causar inflamación de las encías, pérdida de hueso alveolar, formación de bolsas periodontales y eventualmente, la pérdida de dientes. La periodontitis se caracteriza, principalmente, por cambios inflamatorios de los tejidos circundantes al diente que se traducen en la bolsa periodontal y la pérdida de soporte óseo. La periodontitis puede evolucionar episódicamente y seguir desde una forma inicial a una avanzada, tener un carácter crónico o agresivo y ser localizada o generalizada. Las enfermedades periodontales inflamatorias crónicas (EPIC) son un conjunto de enfermedades de etiología multifactorial que comienzan y se mantienen por bacterias y que están significativamente moduladas por la respuesta del huésped a la agresión microbiana. Representan la ruptura del equilibrio entre los factores de virulencia de los microorganismos y la capacidad de respuesta del huésped. Esta respuesta está condicionada por la competencia inmunológica del huésped, la presencia de múltiples afecciones generales y los factores medio ambientales de acción local y sistémica considerados como factores influyentes que pueden comprometerla; se destacan las variaciones genéticas de cada individuo. Los factores sistémicos más importantes para las afecciones periodontales son las enfermedades hematológicas, las afecciones del sistema inmune, los trastornos nutricionales y la diabetes mellitus (DM), entre otras².

Epidemiología mundial

La enfermedad periodontal comienza con una gingivitis (inflamación crónica de las encías), la cual es muy común y es reversible para la mayoría de los pacientes. Puede progresar hacia una periodontitis, una situación más seria en la que se produce una destrucción del hueso de soporte. En el 15% de la población la enfermedad puede progresar a una periodontitis severa que puede terminar en la pérdida dentaria³.

El proceso de la enfermedad continúa sin ser bien entendido, pero tiende a progresar a través de fases de rápida destrucción de tejidos de modo irreversible. A la edad de 65 a 74 años, alrededor del 30% de los sujetos han perdido todos sus dientes siendo las enfermedades periodontales la causa principal. La periodontitis severa tiene serias consecuencias para los afectados, incluyendo problemas de masticación y del habla, afectando el bienestar y la calidad de vida.

El proceso representa una carga global en las enfermedades bucodentales con impacto significativo a nivel social, económico y en los sistemas sanitarios³. De acuerdo con la OMS, alrededor del 15% de los adultos en todo el mundo tienen enfermedad periodontal avanzada (profundidad de bolsa periodontal de 6 mm o más). Pero según diversos estudios las enfermedades periodontales (EP) afectan al 48% de la población adulta, con una prevalencia que varía según las condiciones culturales, sociales, económicas y políticas³. Las EP son consideradas como un tema de gran importancia en la odontología y en la salud pública, pues aparte de ser la principal causa de pérdida de dientes en adultos (aproximadamente un 35% de todas las extracciones dentarias), aproximadamente 3 de cada 4 adultos de más de 35 años se ven afectados, pues su comienzo puede presentarse desde edades tempranas³.

En comparación con los países desarrollados, los países en desarrollo tienen una mayor prevalencia de cálculos y sangrado al sondeo entre los adolescentes. La proporción de adolescentes con depósitos de cálculo dental osciló entre el 35% y el 70% en los países en desarrollo, mientras que osciló entre el 4% y el 34% en los países desarrollados. Entre el 14% y el 47% de las poblaciones adultas en los países desarrollados se encuentran depósitos de cálculo en comparación con el 36% al 63% de los adultos en los países en desarrollo. Sin embargo, los países desarrollados tienen un mayor porcentaje de individuos con bolsas periodontales de 4-5 mm, una mayor proporción de personas mayores (65-74 años) exhiben bolsas periodontales de 6 mm o más⁴.

Epidemiología en México

La Enfermedad Periodontal en México se ha reportado hasta en 70 por ciento de la población (según la Academia Americana de Periodoncia) y se presenta principalmente en adultos mayores (de 65 años en adelante). Al afectar el tejido periodontal o de soporte del diente, ocasiona infecciones en la cavidad oral, que van desde una inflamación gingival (de las encías) hasta la destrucción de dicho tejido, lo que conduce a la pérdida del hueso alveolar y, finalmente, del diente⁵.

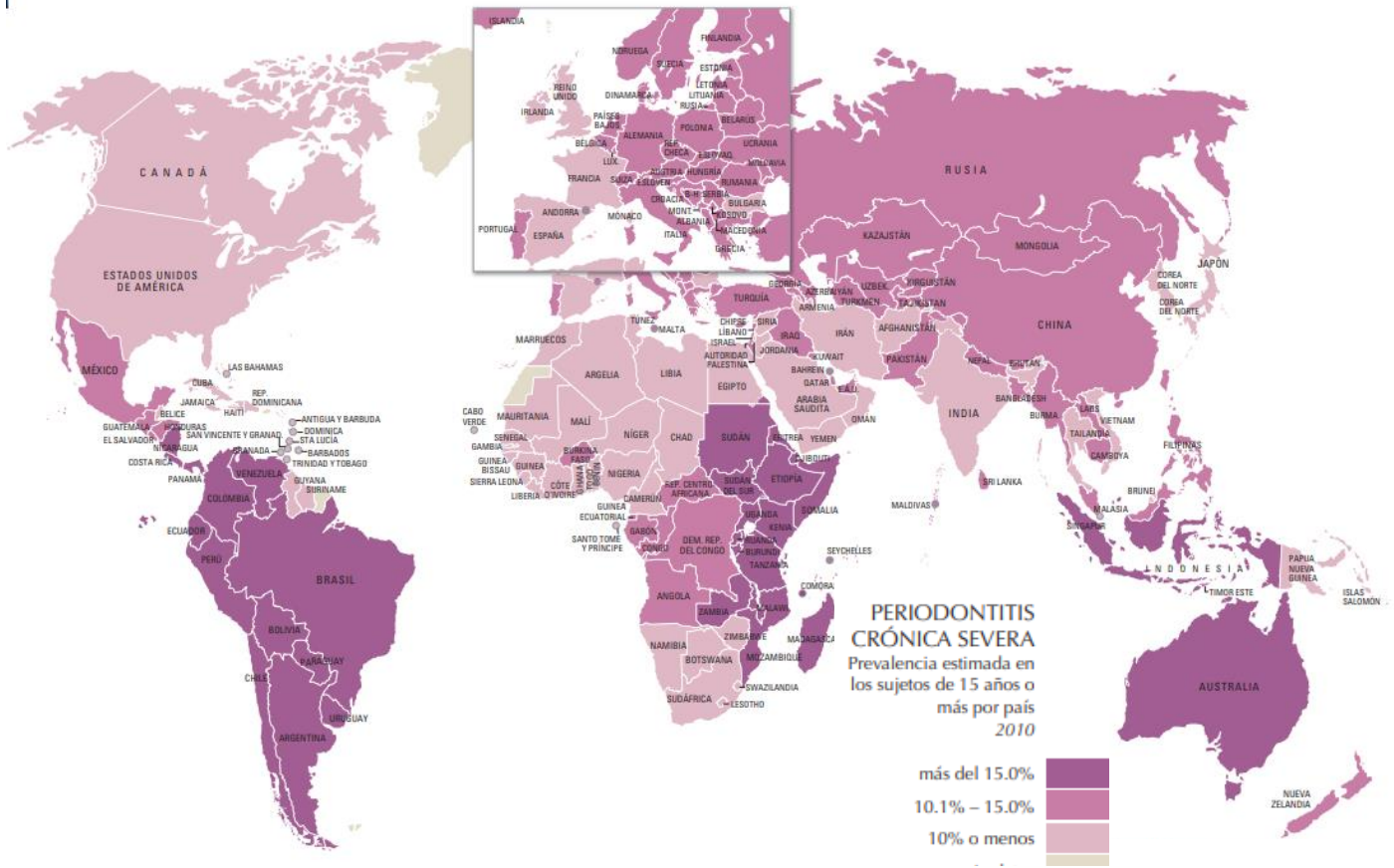


Figura 1. Porcentaje de periodontitis crónica severa en todo el mundo. Imagen tomada de: El Desafío de las Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. 2ª ed. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015.

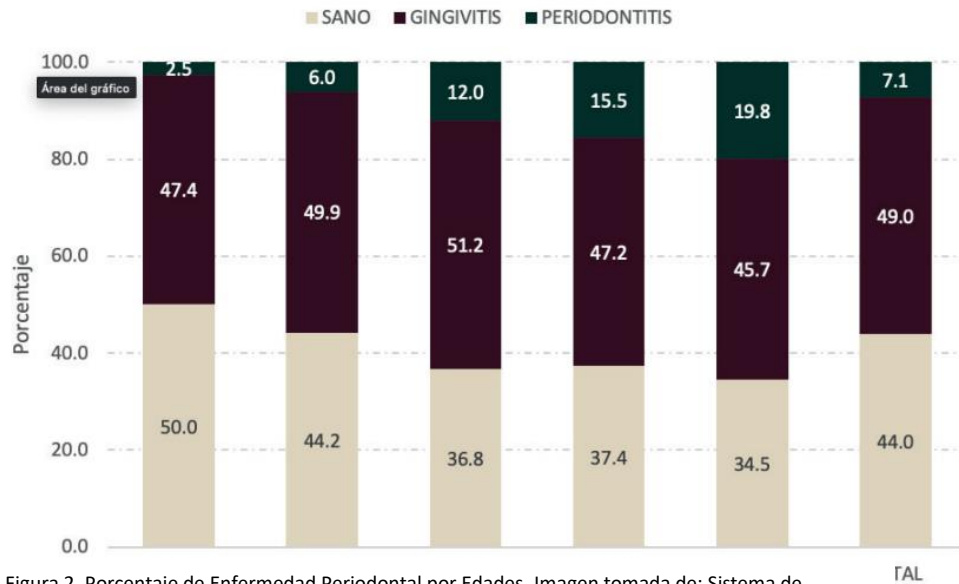


Figura 2. Porcentaje de Enfermedad Periodontal por Edades. Imagen tomada de: Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB).

Clasificación

Salud periodontal

Después de dos años de investigación, en el año 2017, la Academia Americana de Periodoncia junto con la Federación Europea de Periodoncia se reunieron para la consolidación de la nueva clasificación de las enfermedades periodontales y periimplantarias después de 20 años de la última clasificación que fue realizada en el año 1999. Para un adecuado diagnóstico de la enfermedad periodontal, se toma de base la clasificación de esta según el estadio y el grado de la enfermedad según el último consenso mundial de periodoncia realizado en el año 2017⁶.

En la última clasificación se divide la enfermedad en estadio I, II, III y IV, lo cual va a determinar la gravedad, la extensión y la complejidad del tratamiento desde el primer estadio. Adicionalmente, junto a cada estadio se destina un grado que dependerá de los factores biológicos y la evidencia directa e indirecta de la enfermedad.

Debido a esto, se tomarán en cuenta tres características principales como lo son:

1. La tasa de progresión de la periodontitis.
2. Factores de riesgo reconocidos de la progresión de la periodontitis.
3. El riesgo de que el caso de una persona pueda afectar a su salud sistémica.

Hay dos factores importantes al momento de asignar el estadio y son la gravedad y la complejidad. La gravedad hace referencia a determinar el daño y extensión de las partes más afectadas del periodonto, esto se realiza midiendo la pérdida de inserción clínica por medio del sondaje y la pérdida ósea solicitando un examen radiográfico. Es importante tener en cuenta si el paciente ha tenido pérdida de las piezas dentales por periodontitis.

En cuanto a la asignación de los estadios, el índice de gravedad estará determinado por la presencia de pérdida de inserción clínica y pérdida ósea marginal, en el cual se tomará en cuenta el diente más afectado, la pérdida vertical, la furca afectada, la movilidad, pérdidas en la cresta ósea y de la función masticatoria en general. En el consenso de la nueva clasificación se pudo hacer referencia a los nuevos estadios con la clasificación de 1999 y se acordó:

- Estadio I: Es el estadio en el que se presenta una periodontitis inicial.
- Estadio II: Es el estadio en que se presenta una periodontitis moderada.
- Estadio III: Estadio en el que se presenta una periodontitis grave con riesgo potencial de pérdida dentaria adicional.
- Estadio IV: Estadio en el que se presenta una periodontitis avanzada con extensas pérdidas dentarias y riesgo potencial de la dentición.

Se define a la salud periodontal como el estado libre de enfermedad periodontal inflamatoria. Esto, a su vez, significa la ausencia de inflamación asociada con la gingivitis, periodontitis u otra condición periodontal, con base o diagnosticado clínicamente^{5,6}.

- Gingivitis inducida por biopelícula dental: Gingivitis asociada sólo con biopelícula dental. La gingivitis inducida únicamente por biopelícula dental es una lesión inflamatoria resultante de las interacciones entre la biopelícula dental y la respuesta inmune-inflamatoria del hospedero, abarca sólo a la encía sin afectar la inserción periodontal (cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar)⁵.
- Gingivitis mediada por factores de riesgo locales y sistémicos. Aunque la biopelícula dental es el factor etiológico de esta enfermedad, las manifestaciones clínicas de la gingivitis varían según factores predisponentes y modificadores que pueden exacerbar los signos clínicos de la inflamación.
 - Factores predisponentes: se definen como cualquier agente o condición local que contribuye a la acumulación de biopelícula dental (anatomía dental, posición del diente, restauraciones).
 - Factores modificadores: se definen como cualquier agente o condición que altera la manera en la cual un individuo responde a la presencia de biopelícula subgingival (enfermedades sistémicas, tabaquismo, medicamentos).

La periodontitis se define como una enfermedad inflamatoria multifactorial, crónica, asociada con biopelículas dentales disbióticas. Sus características principales incluyen la pérdida de soporte de tejido periodontal, que se manifiesta a través de la pérdida de inserción clínica y la pérdida ósea alveolar evaluada radiográficamente, así como de la presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival. La nueva clasificación categoriza tres formas de periodontitis⁷.

1. Enfermedades periodontales necrosantes.
2. Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas.
3. Periodontitis.

Enfermedades periodontales necrosantes

Estas enfermedades presentan tres características clínicas típicas: necrosis en las papilas interproximales, sangrado y dolor, también están asociadas a una menor resistencia sistémica a la infección bacteriana.⁷

- Gingivitis necrosante: Es un proceso inflamatorio agudo de los tejidos gingivales caracterizado por la presencia de necrosis o úlcera de las papilas interdentes, sangrado gingival y dolor. Otros signos o síntomas asociados con esta condición pueden incluir halitosis, pseudomembrana, linfadenopatía regional, fiebre y sialorrea en niños^{5,7}.
- Periodontitis necrosante. Es un proceso inflamatorio del periodonto caracterizado por la presencia de necrosis o úlcera de las papilas interdentes, sangrado gingival, dolor y rápida pérdida ósea. Otros signos o síntomas asociados con esta condición pueden incluir halitosis, formación de pseudomembrana, linfadenopatía y fiebre^{5,6,7}.

- Estomatitis necrosante. Es una afección inflamatoria grave del periodonto y la cavidad oral en la que la necrosis de los tejidos blandos se extiende más allá de la encía y puede producirse exposición ósea a través de la mucosa alveolar, con grandes áreas de osteítis y formación de sequestro óseo. Por lo general, se produce en pacientes comprometidos sistémicamente de forma severa^{7,6}.



Figura 3. Diferentes estadios de la Enfermedad Periodontal. Imagen tomada de: Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention.

Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas

Existen enfermedades y condiciones sistémicas que pueden afectar los tejidos periodontales, ya sea por influir en el inicio o progresión de la periodontitis o afectar los tejidos de soporte periodontal, independientemente de la inflamación inducida por la biopelícula dental. Las enfermedades y condiciones sistémicas que influyen en el inicio o progresión de la periodontitis incluyen:

- Enfermedades y condiciones sistémicas raras que afectan el curso de la periodontitis como el síndrome de Papillon-Lefevre, deficiencia de adhesión de leucocitos o hipofosfatasa, las cuales tienen un gran impacto, ya que favorecen la aparición temprana de una periodontitis severa.
- Enfermedades y condiciones sistémicas comunes que afectan el curso de la periodontitis, siendo la más representativa la diabetes mellitus. Todas ellas

favorecen la presencia y severidad de la periodontitis; sin embargo, su efecto es variable en el inicio o progresión de la periodontitis⁷.

Etiología de la enfermedad periodontal

Según Socransky, la enfermedad periodontal es causa de la acción de las bacterias patógenas presentes en el biofilm; actualmente se sabe que los principales microorganismos relacionados son:

- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Este es el miembro más importante del género *Actinobacillus* que forma parte del microbiota bucal. Posee factores inmunosupresores (activan a los linfocitos T8 o (supresores), factor activador policlonal de linfocitos B (una interleucina), factores inhibidores de fibroblastos, de células epiteliales y endoteliales, y otros factores que juegan algún papel en la génesis de las infecciones periodontales.⁸
- *Porphyromonas gingivalis*: Estos son cocobacilos capsulados, inmóviles, fimbriados, Gram negativos, anaeróbicos estrictos, asacarolíticos (no fermentan carbohidratos), productores de un pigmento negro característico en agar-sangre y su crecimiento es favorecido por la protoporfirina. Como factores de virulencia, se pueden citar: las fimbrias, la cápsula, la endotoxina, la hemaglutinina (aglutina glóbulos rojos para obtener de ellos hemina, el cual es un factor de crecimiento), colagenasas, inmunoglobulinasas, queratinasas, complementasas, condroitinsulfatasas, fosfolipasas A, y otras enzimas líticas, factor degradador del fibrinógeno, y otros.⁸
- *Prevotellas*, *Treponema* y otros anaerobios facultativos: Como factores de virulencia poseen endotoxinas, cápsula, fimbrias, producir adhesinas, complementasas, IgGasa, IgAasa, e IgMasa, que son inmunoglobulinasas, es decir, proteasas. También producen factores supresores de linfocitos B, de fibroblastos, y otro factor con acción fibrinolítica, pero en general, estos factores son menos potentes que los que presentan *Porphyromonas*. Los géneros de bacterias como *Prevotellas*, *Treponema* y otros anaerobios facultativos, están muy elevadas en periodontitis crónicas.⁸

Es importante resaltar que no siempre existe una relación causal directa; es decir, las bacterias son fundamentales, pero no son el único aspecto para considerar para el desarrollo de la enfermedad periodontal, en el desarrollo de la afección periodontal también influyen otros factores relacionados y que frecuentemente son modificadores de la enfermedad como los genéticos, ambientales y sistémicos y enfermedades del paciente.^{7,8}

Extensión y distribución

Se considera dentro de la extensión de la periodontitis a la cantidad de tejido destruido y dañado atribuible. Se determina a partir de los dientes afectados periodontalmente como: localizada cuando presenta menos de 30% de los dientes involucrados, y generalizada cuando presenta más de 30%. Se le asigna una distribución molar/incisivo cuando se ven afectados el primer molar y los incisivos⁷.

Grados

El grado es un indicador de la velocidad o tasa de progresión de la periodontitis. Se categoriza en un grado de progresión lenta (A), moderada (B) y rápida (C). Para asignar el grado, el criterio principal puede ser obtenido a través de

- Evidencia directa de progresión: los datos archivados a través del tiempo en radiografías que muestran la pérdida ósea o de la inserción clínica del paciente.
- Evidencia indirecta de progresión: al carecer de datos previos de la pérdida ósea radiográfica o de inserción clínica, se puede determinar el grado por el porcentaje de pérdida ósea presente en el diente más afectado dividida entre la edad del paciente. El grado A corresponde cuando el resultado es menor de 0.25, el grado B abarca de 0.25 a 1.0, y el grado C corresponde a más de 1.0^{6,7}.

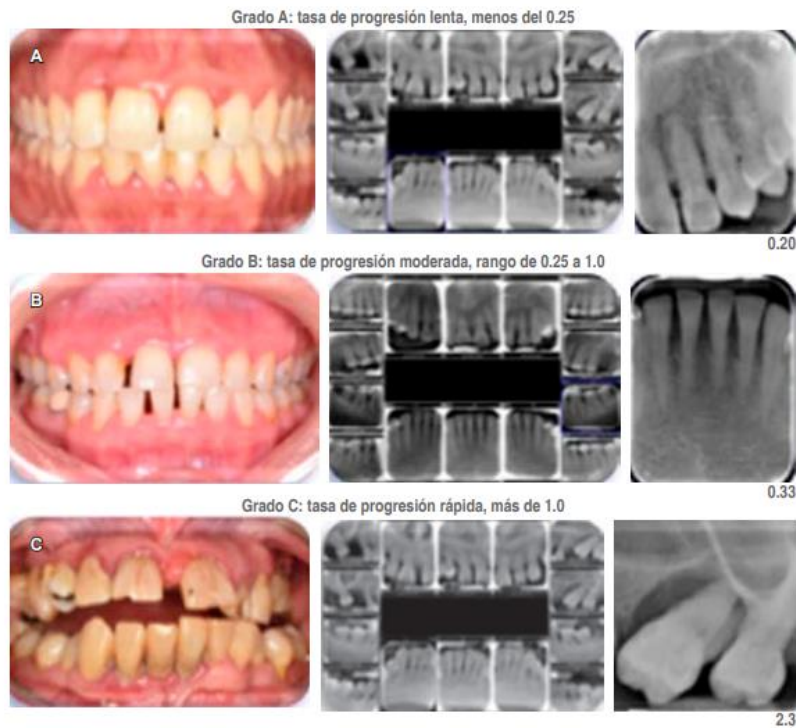


Figura 4. Estadios de la enfermedad periodontal y tasa de progresión radiográfica. Imagen tomada de: Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention

Saliva

La saliva es un líquido biológico de alta complejidad por su composición y sus diferentes funciones. El concepto de saliva total representa la combinación de componentes derivados de las secreciones de las glándulas salivales, del líquido crevicular, restos de alimentos y de los microorganismos bucales con sus productos metabólicos. Es una mezcla de agua, electrolitos y componentes orgánicos disueltos en ella⁹.

Componentes orgánicos

Mucinas: Las mucinas son una familia de proteínas altamente glicosiladas, secretadas por las glándulas exocrinas de todo el organismo. Las de origen salival son sintetizadas por las células de los acinos mucosos de las glándulas submandibulares, labiales y sublinguales. También participan en la producción de mucinas las glándulas salivales menores distribuidas por la mucosa palatina y yugal. Las mucinas tienen una elevada viscosidad debido a su alto contenido de glúcidos; esta propiedad le otorga un papel principalmente mecánico, emulsionando y facilitando el deslizamiento del bolo alimenticio por el tracto digestivo. Otro papel de las mucinas es el de participar en la composición de la PA, una capa altamente hidratada que protege el epitelio contra enzimas secretadas por los microorganismos y a los elementos dentarios de los daños mecánicos propios de la masticación¹⁰.

- **α -amilasa salival:** La α -amilasa salival (α AS) es la enzima más abundante en la saliva, producida principalmente por los acinos serosos de la glándula parótida, pero también por las glándulas sublinguales, submaxilar y las menores. Es un buen indicador de la función de las glándulas salivales y de la salud general de un individuo. El principal sustrato de la α AS son los almidones y los productos finales de la digestión son glucosa, maltosa y dextrinas¹¹.
- **Inmunoglobulinas:** La saliva contiene una gran variedad de agentes con función antimicrobiana, entre ellos las inmunoglobulinas (Igs). Estas glucoproteínas se encuentran en diferentes concentraciones en la sangre y en la saliva y forman parte de la inmunidad adquirida. Las Igs salivales componen aproximadamente entre el 5-15% de las proteínas salivales totales. La IgA secretoria (IgAs) es la principal inmunoglobulina salival; el resto pertenece a los isotipos IgG y IgM. La IgAs, sintetizada por las glándulas salivales mayores y menores, constituye alrededor del 60% de las Igs de la saliva, juega un papel crítico en la inmunidad de las mucosas ya que son capaces de aglutinar a las bacterias e impedir su adhesión a los diferentes tejidos de la boca¹⁰.
- **Peroxidasas:** existen tres subgrupos principales de peroxidasas: lactoperoxidasa (hLPO), la cual es segregada por las glándulas salivales, mieloperoxidasa (hMPO) la cual proviene de gránulos de neutrófilos y catalasa, que proviene de eritrocitos y es capaz de catalizar la conversión del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua (H_2O). Dichas enzimas han demostrado tener un papel importante en lo que supondría el inicio de la disbiosis en la biopelícula dental⁹.
- **Cistatinas:** Corresponden a una familia heterogénea de fosfoproteínas, sintetizadas en las glándulas submandibulares y parótidas, con un sitio activo evolutivamente conservado con una abundante cantidad del aminoácido azufrado cisteína. Las cistatinas poseen acción antimicrobiana e inmunomoduladora¹¹.
- **Lisozima:** La lisozima (Lis) es secretada por las glándulas salivales y los neutrófilos. Es un componente abundante en varias secreciones como lágrimas, saliva, leche, líquido crevicular y moco, y también está presente en los gránulos citoplasmáticos de los neutrófilos. La Lis también conocida como muraminidasa es una enzima con función bactericida, ya que su acción enzimática daña la pared celular bacteriana por catalizar la hidrólisis del enlace β -1,4 del ácido N-

acetilmurámico con residuos de N-acetil-D-glucosamina en el péptidoglicano de la pared de las bacterias y de hongos.¹⁰

- **Histatinas:** Las histatinas (Hst) son una familia de pequeños péptidos (de 7 a 38 aminoácidos) sintetizados en las glándulas parótidas y submandibulares. Esta familia de péptidos tiene función antimicrobiana y son un importante componente del sistema de defensa innata de la cavidad bucal. Diferentes estudios *in vitro* demuestran que las Hst exhiben propiedades tanto antibacterianas como antifúngicas ya que pueden inhibir el crecimiento de microorganismos como *S. mutans* y *Candida albicans*¹¹.
- **Defensinas:** Las defensinas son péptidos antimicrobianos de carácter catiónico, de bajo peso molecular (4–5 kDa) con alto contenido de aminoácidos básicos capaces de elevar el pH del biofilm cariogénico e impedir el desarrollo de caries. Son expresadas principalmente por células epiteliales y neutrófilos, y secretadas en fluidos biológicos como orina, fluidos bronquiales, secreciones nasales, saliva y fluido gingival. La acción antimicrobiana de las defensinas se sustenta en las interacciones electrostáticas entre estos péptidos catiónicos con la pared celular de bacterias, hongos y virus que presentan cargas negativas, lo que conducen a la formación de poros que generan la fuga de componentes intracelulares y la muerte de los microorganismos¹².
- **Estaterina:** Es un péptido ácido que está involucrado en la homeostasis del calcio, de 43 aminoácidos, no glicosilado, que contiene residuos de fosfoserina en las posiciones 2 y 3, rico en tirosina y prolina. Este péptido tiene el segmento N-terminal cargado negativamente que le permite unirse a la HAp. La estaterina es secretada por las glándulas salivales mayores y menores; al igual que la Hst y las PRP, los niveles de estaterinas son sustancialmente más bajos en la saliva total debido a la degradación proteolítica que sucede en la boca. Es el péptido salival más potente para inhibir la precipitación tanto del calcio como del fosfato y por lo tanto se cree que es un componente esencial en el mantenimiento de estos iones de la saliva en un estado sobresaturado. Esta sobresaturación salival proporciona importantes mecanismos para prevenir las etapas iniciales de caries dental como así también de regular la formación de cálculos dentales, que contribuyen como un factor local en el desarrollo de las enfermedades periodontales¹².

Papel de las proteínas salivales en algunas enfermedades bucales

Caries

La saliva colabora de diversas maneras en prevenir la caries, tanto por el lavado mecánico como por su función antimicrobiana, de remineralización y de regulación del pH mediante la acción de sus amortiguadores. Los sistemas amortiguadores restituyen el pH al rango normal tan rápido como sea posible cuando la cavidad bucal se expone a alimentos o bebidas que difieren del pH fisiológico (6,5-7,5). A valores muy bajos de pH (4,0-4,5) las proteínas son el principal agente regulador mientras que, en estado de reposo, lo es el fosfato inorgánico. Éstos son provistos por la fosfatasa alcalina por desfosforilación de nucleótidos, proteínas y alcaloides. Las variaciones de los niveles de esta enzima producen cambios en los niveles salivales de fosfatos, lo que conduce a la iniciación y progresión de caries.

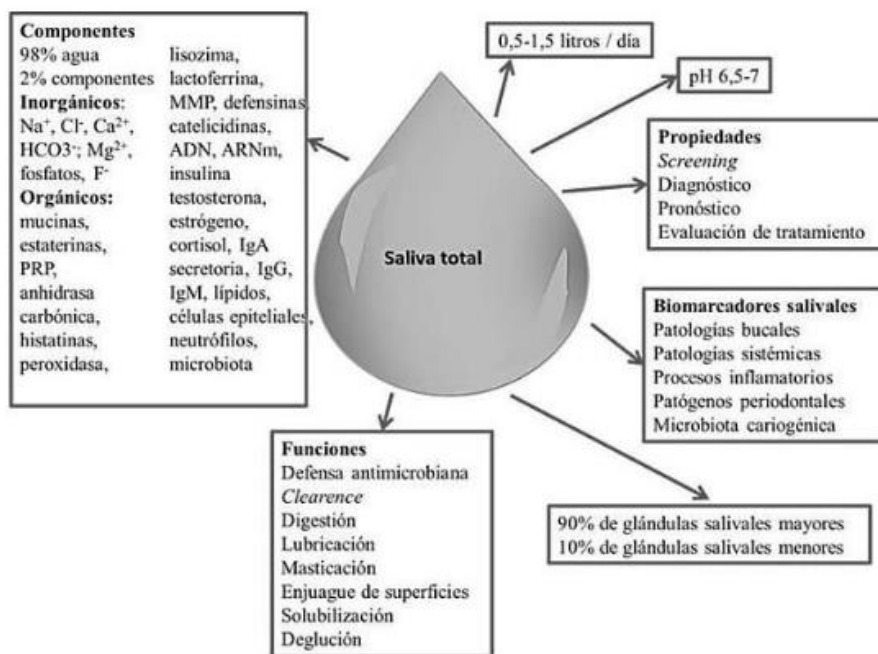


Figura 5. Composición de la Saliva. Imagen tomada de: Barembaum Silvina R. La saliva: una potencial herramienta en la Odontología.

Las mucinas, junto con la IgAs, ayudan a modular tanto el número como el tipo de microorganismos que colonizan los diferentes tejidos de la cavidad bucal, mediante la adhesión y proliferación de ciertos microorganismos en detrimento de otros. Específicamente, la mucina salival MUC5B disminuye significativamente la unión de *S. mutans* a las superficies dentales e impide la colonización del biofilm bucal por esta bacteria, aún en un medio rico en sacarosa, permaneciendo principalmente esta bacteria en estado planctónico. Sin embargo, esta mucina no altera el crecimiento de *S. mutans*, por lo que carece de poder bactericida. La adsorción selectiva de las mucinas sobre las superficies dentales contribuye a la formación de una barrera semipermeable que protege a los tejidos duros del efecto desmineralizante que tienen los diferentes ácidos formados por la microflora bacteriana adyacente⁹.

Otro componente salival, la estaterina reduce la colonización bacteriana y fúngica, por agregación de los microorganismos, al reducir la capacidad de adhesión sobre los tejidos duros y blandos bucales. Algunos autores han observado que la estaterina reduce la adhesión de *S. mutans* a HAp y también encontraron una fuerte correlación entre los niveles salivales de estaterina y la ausencia de caries. Dentro de las PRP, las PRP básicas se han asociado con la resistencia a caries dental en niños, por inactivación de los ácidos bacterianos en el biofilm dental⁹.

Enfermedades periodontales

Las enfermedades periodontales (EP) se inician y se propagan a través de un desequilibrio de las interacciones entre el microbiota bucal y el sistema inmune del hospedador. El diagnóstico de estas patologías se hace principalmente por indicadores

clínicos como la profundidad de bolsa, sangrado de encía, pérdida de hueso alveolar e imágenes radiográficas, acompañado muy rara vez por estudios microbiológicos.⁹

Entre las bacterias específicas relacionadas con las EP, el complejo rojo de Socransky constituido por *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia*, han probado ser biomarcadores de estas enfermedades a través de estudios genómicos. Estas bacterias Gram negativas producen LPS, que pueden identificarse tanto en el fluido crevicular como en la saliva. Los LPS son endotoxinas bacterianas y se comportan como un importante factor de virulencia de este tipo de bacterias. Diversos estudios han correlacionado la concentración de LPS salival con la actividad del LPS en suero, y esta correlación aumenta cuando la enfermedad periodontal está presente^{9,10}.

Este hallazgo apoya la lógica de que un aumento en la abundancia de bacterias Gram negativas bucales aumenta los niveles locales de LPS, de mediadores proinflamatorios y del riesgo de enfermedades cardiovasculares. La saliva contiene grandes cantidades de LPS y su efecto biológico es 10.000 veces mayor que la del suero. Por lo tanto, el LPS es considerado un biomarcador de la relación entre el microbioma y los trastornos cardiometabólicos. Se han propuesto numerosos biomarcadores salivales de las EP, tales como enzimas arginasa, dipeptidil peptidase IV, β glucuronidasa y mieloperoxidasa, fosfatasa alcalina, proteínas antimicrobianas lactoferrina y calprotectina, citoquinas inflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-18, IFN- γ y MIP-1a y proteínas que median la inflamación quemerina, CRP, TLR4, CD14 soluble, RANK-L y procalcitonina. Particularmente, la IL-1 β , MIP-1a (que degrada colágeno tipos I y III) y la arginasa son biomarcadores que se correlacionan con el índice gingival y el de sangrado gingival mientras que el incremento de los biomarcadores la IL-8 y la mieloperoxidasa aumentan los índices de riesgo de pérdida dentaria, profundización de bolsas periodontales y signos de inflamación periodontal^{8,9}.

En el progreso de la destrucción de los tejidos periodontales, también pueden identificarse en la saliva metaloproteinasas de la matriz periodontal, como MMP-8 y MMP-9, la enzima LDH y la aspartatoaminotransferasa y el TIMP-2. Además de estas proteínas, otros metabolitos salivales como el óxido nítrico, la 8- hidroxideoxguanosina, el factor de activación plaquetario y metabolitos de los ácidos grasos (neopterina, docosapentaenoato, linoleato, lisolípidos, monoacilglicerol y araquidonato) han sido asociados a los procesos inflamatorios. Se ha observado que estos marcadores se encuentran aumentados en los pacientes con enfermedad periodontal respecto a controles sanos, en correlación directa con la carga bacteriana periodontopática, e inclusive se ha reportado su disminución luego de 6 a 12 semanas de terapias profilácticas^{9,10}.

Microbioma salival en enfermedad periodontal

La cavidad oral al ser un gran reservorio de colonias bacterianas es propensa a sufrir bacteriemia, al verse comprometido el sistema inmunológico del huésped, existe una gran variedad de patógenos sistémicos que al estar encapsulados en la bolsa periodontal pueden exacerbarse. Sus productos, además de afectar a los tejidos de soporte periodontal son capaces de invadir otros sistemas mediante el torrente sanguíneo¹².

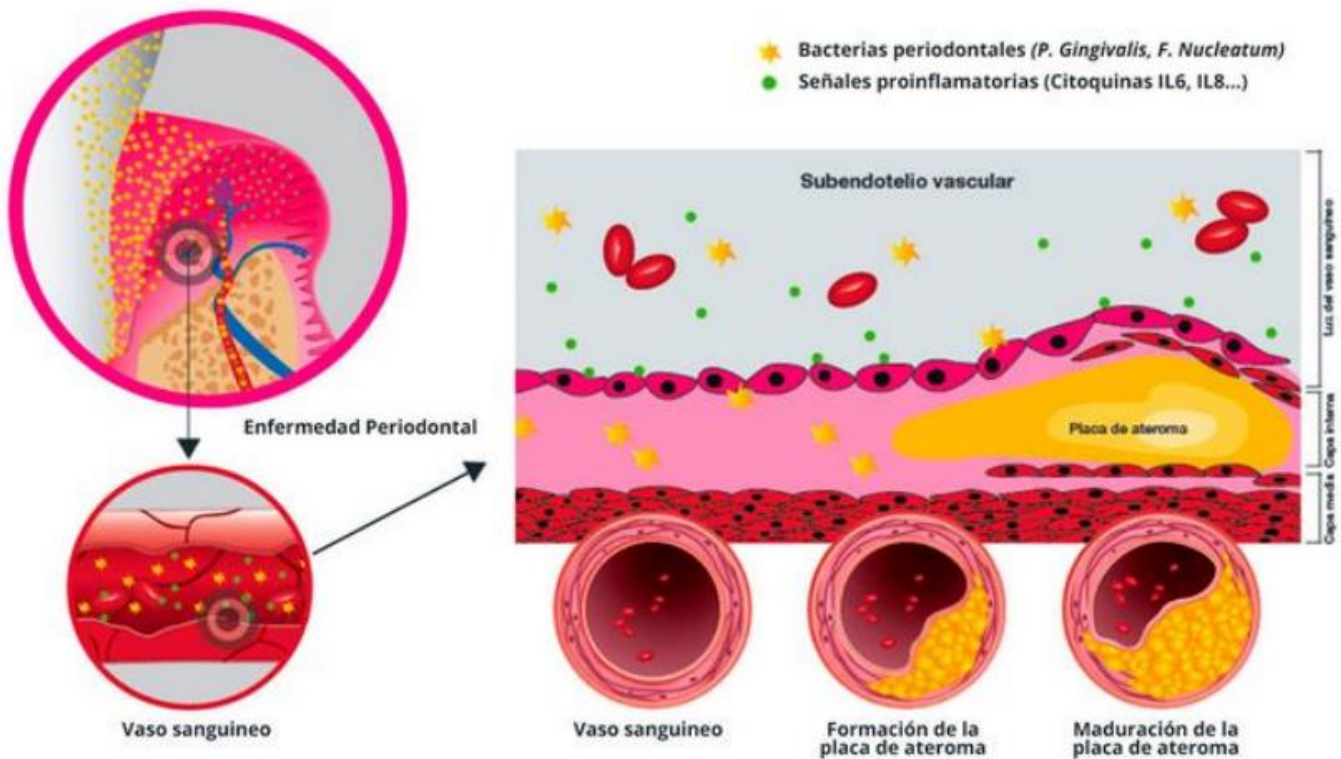


Figura 6. Progresión de enfermedad Periodontal. Imagen tomada de: Asociación entre enfermedad periodontal, hipertensión arterial y diabetes mellitus en un grupo de personas de la tercera edad en la ciudad de México.

La enfermedad periodontal inmunoinflamatoria crónica resulta de la interacción del hospedero y el microbiota del surco gingival, en especial las biopelículas constituidas por conglomerados de bacterias anaerobias Gram negativas. La gran superficie de epitelio ulcerado en las bolsas periodontales permite que los microorganismos se difundan al resto del organismo y causen daño a diferentes niveles. Se sabe que las biopelículas subgingivales presentes en las periodontitis crónicas representan una carga microbiana grande y continua, principalmente por la presencia de *Porphyromonas gingivalis*, bacteria altamente virulenta. Los propios microorganismos pueden "viajar" a sitios distantes y colonizar en paredes de grandes y medianos vasos. Procedimientos dentales sencillos como el cepillado dental pueden facilitar estas bacteriemias, participando así en el fenómeno aterotrombótico y la génesis de alguna de sus enfermedades consecuentes^{13, 14}.

Microbioma salival en pacientes con diabetes mellitus.

La EP se encuentra asociada al microbiota denominado «complejo rojo», que está integrada por *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*, cuya sinergia y disbiosis altera la homeostasis a nivel oral y extraoral de individuos susceptibles contribuyendo al desarrollo de patologías como: diabetes mellitus (DM), enfermedad cardiovascular, neoplasias malignas, hipercolesterolemia, enfermedad renal crónica y síndrome metabólico¹⁵.

En los pacientes con Diabetes Mellitus, el descontrol glucémico aumenta la permeabilidad vascular y los niveles de metaloproteinasas de la matriz, citocinas y moléculas de adhesión, lo cual genera un medio subgingival anaeróbico rico en glucosa y proteínas, que da lugar al desarrollo de periodontitis. La EP en los pacientes con DM se considera una complicación frecuente y de alto impacto en la vida del paciente, ya que es común que se manifieste como abscesos gingivales y periodontales, además de estomatitis aftosa recurrente y gingivitis ulcerosa. Además, cuando existe pobre control glucémico en los pacientes con DM tipo 2 (hemoglobina glucosilada [HbA1c] \geq 8%) existe un perfil microbiano subgingival más patógeno, detectándose altos niveles de *P. gingivalis*, lo cual es probable que empeore la periodontitis y ocasione mayor riesgo de desarrollar otras infecciones sistémicas^{15,16}.

Se aprecian otros cambios en el medio subgingival que favorecen el crecimiento de ciertas especies en pacientes diabéticos. Los microorganismos predominantes varían de unos estudios a otros: bacterias Gram positivos, en general, *Staphylococcus* (fundamentalmente *epidermidis*), *Capnocytophaga* y vibrios anaerobios, *Acetivobacillus actinomycetemcomitans* y bacteroides pigmentados, *Prevotella intermedia* o también *Porphyromonas gingivalis* y *Wolinella* recta. La frecuencia de *P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitans* es menor en los pacientes diabéticos con enfermedad periodontal cuando se comparan con los no diabéticos con enfermedad periodontal¹⁷.

Microbioma salival en pacientes con hipertensión

La respuesta inflamatoria o inmune sistémica a la infección periodontal puede aumentar las enfermedades cardiovasculares y riesgo. Además, los patógenos de la boca pueden atravesar la barrera epitelio-conjuntiva gingival como como el endotelio vascular e ingresan a las placas ateroscleróticas a través del torrente sanguíneo, lo que podría promover una respuesta inflamatoria o inmune dentro de la placa aterosclerótica¹⁸.

A. actinomycetemcomitans y *Aggregatibacter aphrophilus* pertenecen al HACEK (*Haemophilus*, *Aggregatibacter*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, *Kingella*) grupo de bacterias Gram negativas y se reconoció la causa de endocarditis infecciosa. Los organismos HACEK son parte del microbiota normal del tracto respiratorio oral y superior en humanos. Sin embargo, estas bacterias están implicadas en 1% para 3% de todas las endocarditis infecciosas. *A. actinomycetemcomitans* también está implicado en la etiología de periodontitis agresiva y genera muchos factores de virulencia, como la leucotoxina (repeticiones en toxina proteína), que mata las células inmunes humanas¹⁸.

P. gingivalis puede intensificar la aterosclerosis después de la diseminación oral-hematógena debido a bacteriemia. En su presencia, las células endoteliales activan ciertas moléculas de adhesión, aumentando así la probabilidad de diapédesis de los macrófagos y la posterior conversión en células espumosas y una mayor progresión del ateroma. La PGE₂, el TNF- α y la IL-1 β producidas localmente en las bolsas periodontales en respuesta a las bacterias de la EP terminarán en el torrente sanguíneo, provocando un aumento desproporcionado en la respuesta inmune innata del tejido local. Sin embargo, el mecanismo de invasión activa de las células endoteliales por *P. gingivalis*, que probablemente ajuste la respuesta inflamatoria de estas células, sigue sin estar

claro. *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*), una bacteria comensal, abundante en la periodontitis, se reconoce como el origen de la endocarditis infecciosa. Sus fimbrias y adhesinas facilitan su fijación inicial sobre el diente. Luego, la producción de glucanos y ADN promueve la maduración de la biopelícula de *S. sanguinis*. Después de acceder al corazón, *S. sanguinis* debe adherirse al endocardio. Teniendo en cuenta el impacto de la formación de biopelículas sobre la adhesión en la cavidad bucal, sería concebible que la formación de biopelículas también fuera importante para la adhesión a las superficies endocárdicas. De hecho, la endocarditis se considera frecuentemente como un modelo de enfermedad mediada por biopelículas¹⁸.

Objetivos

General

- Identificar las bacterias presentes en los diferentes estadios de pacientes con enfermedad periodontal.

Específicos

- Conocer las bacterias presentes en saliva de pacientes con enfermedad periodontal en los diferentes estadios.
- Conocer las bacterias presentes en saliva de pacientes que no presentan enfermedad periodontal ni gingivitis.
- Identificación molecular de las bacterias en la saliva de pacientes con Enfermedad Periodontal y Sanos.
- Comparar las bacterias presentes en la saliva de los pacientes con Enfermedad Periodontal y sanos.
- Comparar la carga bacteriana de pacientes con alguna enfermedad sistémica que presenten enfermedad periodontal.
- Relacionar la edad con las bacterias presentes en pacientes con enfermedad periodontal.

Metodología

Tipo de investigación: Se realizó una investigación transversal, observacional, descriptiva, comparativa y experimental. Se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Xochimilco (UAM-X) en la Ciudad de México.

Población: Se realizó un muestreo por conveniencia. Se seleccionaron pacientes de 19-75 años con previo diagnóstico de enfermedad periodontal del Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X y pacientes de 19-75 años sin diagnóstico de gingivitis ni enfermedad periodontal

Grupo experimental:

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes que acudan a la LDC Nezahualcóyotl
 - Ambos sexos
 - Pacientes de 14-80 años

- Pacientes con previo diagnóstico de enfermedad periodontal en cualquier estadio
- Pacientes clínicamente sanos o ASA 2 (Enfermedades sistémicas controladas)
- Criterios de exclusión:
 - Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal que hayan iniciado tratamiento antibiótico, limpieza dental profesional o de curetaje en los últimos 3 meses.
 - Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal necrosante.
- Criterios de eliminación:
 - Pacientes que no acepten la participación mediante la firma (aceptación) del consentimiento informado.

Grupo Control:

- Criterios de inclusión:
 - Pacientes que acudan a la LDC Nezahualcóyotl
 - Ambos sexos
 - Pacientes de 19-75 años
 - Pacientes sin diagnóstico de enfermedad periodontal ni gingivitis
 - Pacientes clínicamente sanos o ASA 2 (Enfermedades sistémicas controladas)
- Criterios de exclusión:
 - Pacientes con pérdida excesiva a cusa de caries
 - Pacientes que presentan condiciones de hiposalivación.
- Criterios de eliminación:
 - Pacientes que no acepten la participación mediante la firma (aceptación) del consentimiento informado.

Procedimientos

Confección de la hoja de datos: Se completó la información por medio de un interrogatorio de los datos generales del paciente en un cuestionario predeterminado, donde se incluyó el nombre completo del paciente, sexo, edad, fecha de nacimiento, estado civil, nacionalidad. Y los datos clínicos de los pacientes como diagnóstico de enfermedad periodontal identificando el estadio y grado de progresión que presentaron, si presentaron alguna enfermedad sistémica.

Selección del paciente: Los sujetos de investigación fueron seleccionados de acuerdo con la valoración en el LDC Nezahualcóyotl conforme al cumplimiento de los criterios de inclusión. Una vez que el sujeto de investigación ha sido informado de la necesidad de su tratamiento, fue invitado a participar en la investigación, para lo cual firmó una Carta de Consentimiento Informado donde se le explicaron los objetivos de la investigación, los riesgos, beneficios y los aspectos que deberá cumplir para poder participar en el estudio.

Conformación de los grupos de estudio: Una vez obtenido los datos clínicos se conformaron los grupos de estudio:

- Grupo I: Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal en estadio 1.
- Grupo II: Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal en estadio 2.
- Grupo III: Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal en estadio 3.
- Grupo IIII: Pacientes con diagnóstico de enfermedad periodontal en estadio 4.
- Grupo control: Pacientes que no presentan diagnóstico de gingivitis ni enfermedad periodontal.

Se realizó identificación radiográfica y en el periodontograma del diente que presente mayor profundidad al sondaje y mayor pérdida ósea para realizar la toma de muestra.

- **Toma de muestra:** Se realizó la recolección de saliva en reposo con ayuda de una micropipeta de 0-1000 µl marca Science Med, puntas estériles, pidiéndole al paciente que almacene esta saliva en el piso de boca, se toma directamente del paciente y se coloca en tubo eppendorf de 1.5 ml, posteriormente se etiqueta la muestra y se almacena a una temperatura de 4-6°C.
- **Procesamiento de la muestra:** Las muestras obtenidas se sembraron en agar Sangre, agar MacConkey y agar MRS con ayuda de un hisopo estéril y un asa bacteriológica, se incubaron a 37°C durante 5 días.
- **Identificación y aislamiento de colonias:** Se realizó la identificación y aislamiento de las diferentes colonias encontradas.

Identificación microscópica: Se realizó tinción de Gram a todas las bacterias aisladas para determinar si eran Gram positivas o Gram negativas, para esto, se siguió el siguiente protocolo:

- Se recolectaron las muestras directamente de las colonias aisladas y se fijaron en calor con ayuda de una gota de agua destilada en un portaobjetos de vidrio.
- Se procedió a realizar la tinción de Gram adicionando una gota que cubra toda la superficie de la muestra de violeta de genciana durante un minuto, posteriormente se enjuagó el portaobjetos a chorro de agua.
- Se adicionó un fijador (Lugol) durante un minuto y posteriormente se enjuagó el portaobjetos a chorro de agua. El Lugol y el violeta de genciana forman un complejo insoluble en agua capaz de penetrar en la pared de las células bacterianas.
- Se adicionó alcohol cetona durante 15 segundos y se enjuaga el portaobjetos a chorro de agua.
- Como último paso se agregó safranina durante un minuto y de igual forma se enjuagó el portaobjetos al chorro de agua, se dejó secar a temperatura ambiente y se observaron en el microscopio para determinar si eran bacterias Gram positivas o negativas, cocos o bacilos.
- **Preservación de colonias:** Se siembran en caldos Brain Heart Infusion (BHI)

Extracción de DNA: Se utilizó el kit de extracción de DNA Wizard (Promega), siguiendo el protocolo del fabricante: Se inicia adicionando 1 ml de cultivo de 24 horas a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml, se centrifuga a 13 000 rpm durante 2 min. se descarta el sobrenadante. Si son bacterias Gram positivas, proceder del paso 1, para bacterias Gram negativas ir directamente al paso 2. Paso 1, resuspender el paquete celular en 480 µl de solución de EDTA 50 mM, adicionar 60 µl de solución de lisozima (10 mg/ml) y 5 µl de sol. de lisostafina (0.5mg/ml) se incubaron a 37° C durante 45 min, se centrifugaron durante 2 min a 13 000 rpm se remueve el sobrenadante. Paso 2: adicionar 600 µl de solución de núcleo lisis, se resuspendió el total de las células, se incubó a 80 °C en baño maría durante 5 minutos. Se agregaron 3 µl de solución de RNAsa se incubaron a 37°C por 45 min, se adicionaron 200 µl de solución de proteínas de precipitación y se disolvió en vortex 1 min, se incubaron en baño de hielo durante 5 min, se centrifugaron a 13 000 rpm durante 2 min, transferir el sobrenadante que contiene el DNA a un tubo de microcentrífuga de 1.5 ml que contiene 600 µl de isopropanol, mezclar, hasta la aparición de una masa visible de DNA. (Manejar con hielo para una más rápida precipitación del DNA.) Se centrifugaron a 13 000 rpm durante 2 min y se descartó el sobrenadante, se adicionaron 600 µl de etanol al 70% a temperatura ambiente y se mezcló invirtiendo el tubo varias veces para lavar el botón de DNA, se centrifugó a 13 000 rpm durante 2 min, se retiró el etanol, se deja secar el tubo durante 15 min. Posteriormente se rehidrató el botón de DNA con 100 µl de solución rehidratante y se almacenó a una temperatura de -20°C.

- Para confirmar la integridad de DNA de las muestras se realizó una electroforesis, en un gel de agarosa al 1% se cargaron 5 µl de cada muestra más 1 µl de buffer de carga en cada carril, el gel se correrá a 90 V durante 40 min, posteriormente el gel se teñirá con Bromuro de etidio (0.3 mg/ml) durante 15 min y se observará en el transiluminador marca BIORAD.

Amplificación del gen del 16S RNAr: Para la amplificación de los genes del 16S del RNAr se utilizó el kit PCR Máster mix de Promega siguiendo el protocolo del fabricante, las condiciones de normalización para una reacción de 20 µl fueron: 10 µl de solución PCR Máster mix PROMEGA, 0.5 µl primer 8 forward, 0.5 µl primer 1492 revers, 2 µl ADN templado, 6.5 µl de H₂O. La reacción de amplificación se realizó en un termociclador marca BIO-RAD bajo las siguientes condiciones: una desnaturalización inicial de 5 min a 94° C, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 94° C por 30 s, alineamiento a 52° C por 30 s y extensión a 72° C por 40 s. Finalmente se lleva a cabo una extensión a 72° C durante 7 min, se utilizó como control positivo de bacteria el ADN de *S. aureus* (ATCC 43300), los amplicones se purificarán usando el kit de ExoProstar Ilustra y se mandarán a secuenciar a Macrogen Korea. Las secuencias recibidas serán comparadas usando la base de datos BLAST del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Resultados

Se incluyeron 49 pacientes, 10 pacientes sin enfermedad periodontal y 39 pacientes con enfermedad periodontal; 47%(23) mujeres 53% (26) hombres, con un promedio de edad de 14-80 años. El 21% de los pacientes eran diabéticos, el 13% de los pacientes eran hipertensos, el 13% de los pacientes diabéticos e hipertensos y el 51% eran sanos

Tabla 1: Distribución de parámetros evaluados en pacientes.

Parámetros	Grupo Control (n= 10)		Grupo I (n= 6)		Grupo II (n= 5)		Grupo III (n=16)		Grupo IV (n=12)		Total (n=49)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Sexo												
Masculino	6	(12)	2	(4)	4	(6)	7	(16)	7	(16)	26	(53)
Femenino	4	(6)	4	(5)	1	(3)	9	(23)	5	(9)	23	(47)
Mediana de edad años (min-máx)	(18-47)		54 (22-78)									
Estado de salud												
Sano	10		4	(10)	2	(5)	10	(25)	4	(10)	20	(51)
Hipertensión	-----		1	(2)	-----		3	(8)	2	(5)	5	(13)
Diabetes	-----		-----		2	(5)	2	(5)	4	(10)	8	(21)
Hipertenso y Diabético	-----		-----		-----		3	(8)	2	(5)	5	(13)
Otro	-----		-----		1	(2)	-----		-----		1	(2)

En la Figura 7 se observa la distribución por sexo, donde la presencia de enfermedad periodontal se presentó más en hombres (53%) que en mujeres (47%).

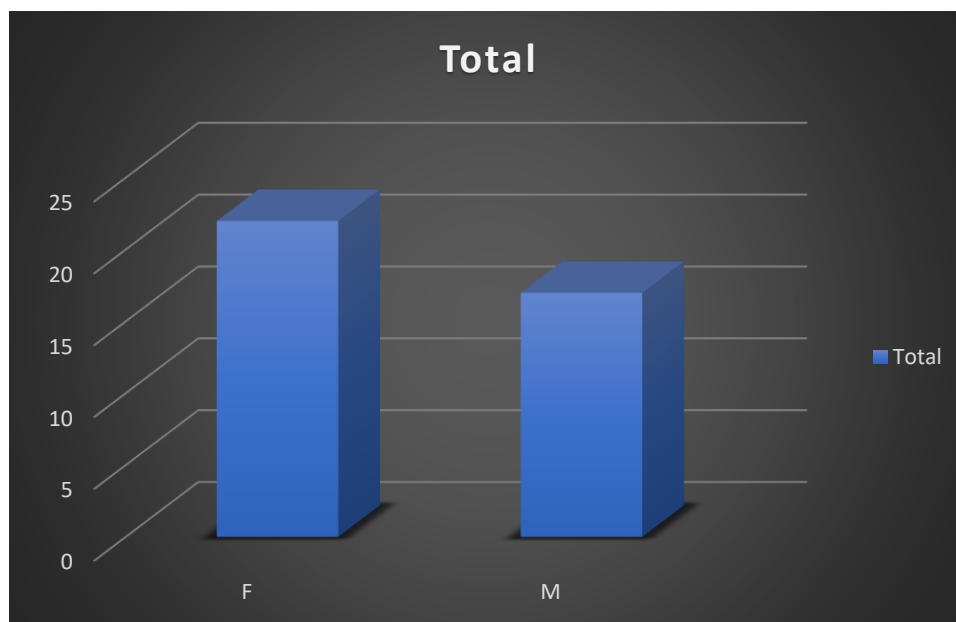


Figura 7. Distribución de pacientes con enfermedad periodontal por sexo. F: Femenino M: Masculino

La distribución de edad se observa en la Figura 8, donde se observa una tendencia variable entre los grupos de edad, que van desde los 20-80 años. La edad más frecuente con diagnóstico de enfermedad periodontal fue a partir de los 50 años.

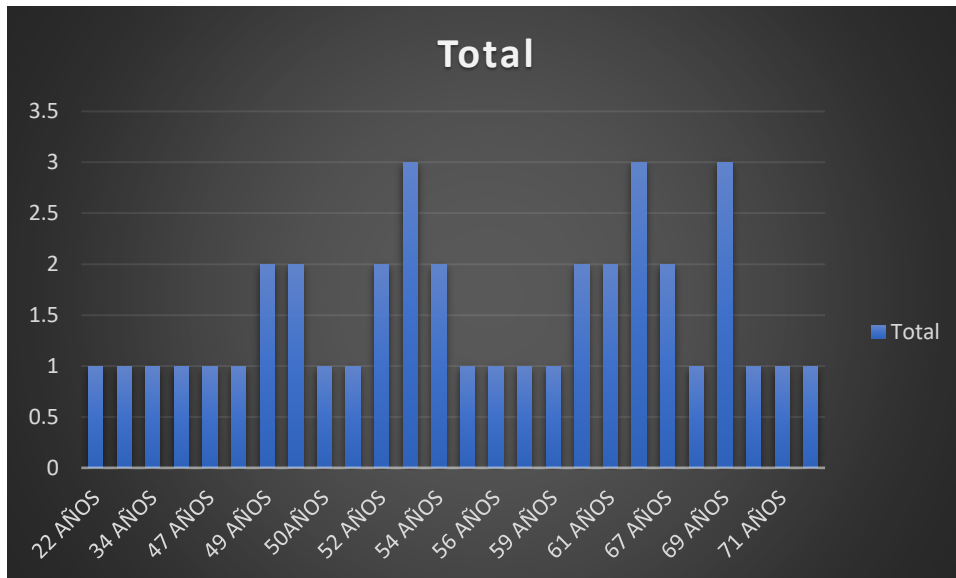


Figura 8. Distribución por edad de pacientes con enfermedad periodontal.

En la figura 9, se observan la relación de pacientes con enfermedad periodontal que padecen una enfermedad sistémica. Las enfermedades más frecuentes en pacientes con enfermedad periodontal fueron diabetes e hipertensión (34%). Mientras que el porcentaje de pacientes que no padecen alguna enfermedad sistémica (sanos) fue mayor (51)

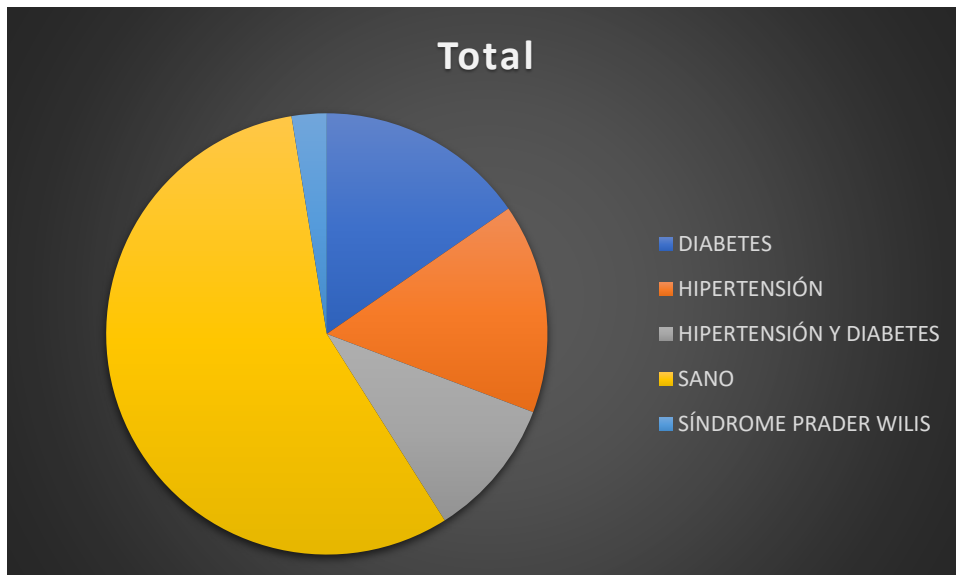


Figura 9: Distribución de enfermedades sistémicas en pacientes que presentaron enfermedad periodontal

El análisis por estadios de los pacientes con enfermedad periodontal se distribuyó de la siguiente manera. En donde se identificó que la mayoría de los pacientes presentan una enfermedad periodontal generalizada en estadios III Y IV.

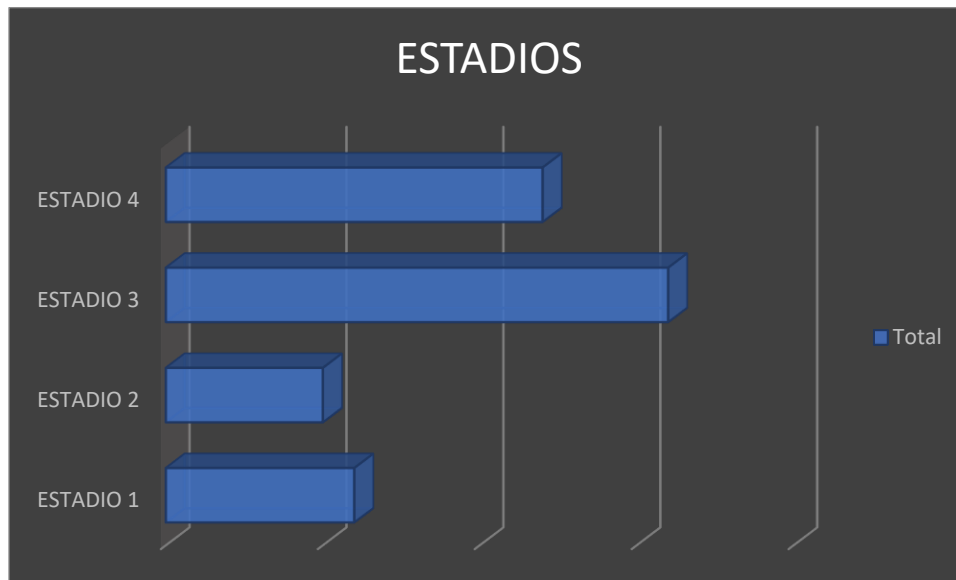


Figura 10: Distribución de los estadios presentes en las muestras obtenidas.

Identificación de las colonias después de la inoculación de las muestras

Las colonias tuvieron un crecimiento en un tiempo de 5-7 días, este crecimiento fue variado en número y características de estas colonias de las diferentes muestras tomadas, el medio de cultivo agar sangre fue el único que mostro características ideales para el crecimiento de bacterias de saliva en comparación con el medio agar MacConkey. En el cuadro número 2 se observa las características de las colonias.

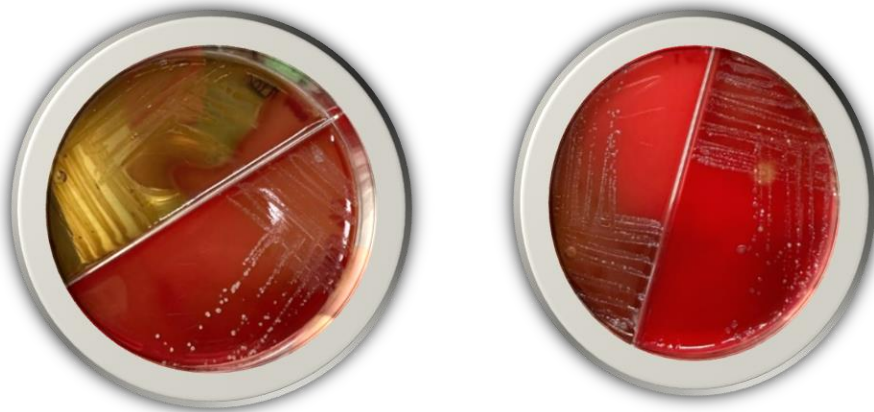
Aislamiento de bacterias

Tabla 2: características de las colonias encontradas en las muestras de pacientes con enfermedad periodontal.

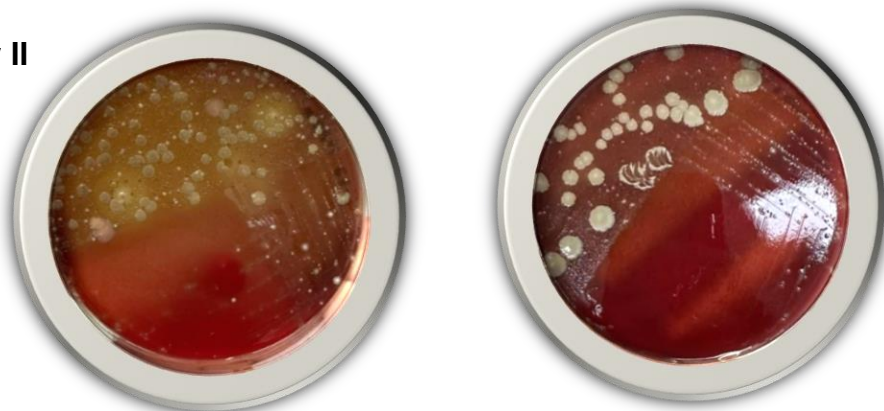
Numero de muestra	Características de las colonias
3.4.A	Irregular, consistencia cremosa, grande color blanquecino
4.2	Irregular, transparente, consistencia cremosa y rugosa
4.1.B	Regular, mediana, circular, consistencia cremosa, color blanquecino
5.1	Circular con halo pequeño, consistencia cremosa color blanquecino
5.2	Irregular, color café, consistencia lisa
10.1	Circular, color blanco, consistencia rugosa tamaño pequeño
10.2	Irregular, grande, consistencia cremosa
11.1	Circular tamaño grande, color gris, consistencia cremosa
11.2	Transparente, mediana, circular consistencia cremosa

11.3	Irregular, color gris, consistencia rugosa
21.1	Transparente, consistencia lisa, tamaño grande
21.2	Color café, tamaño grande, consistencia cremosa
21.3	Regular, transparente, lisa, tamaño mediano
22.4	Regular, color blanquecino, consistencia lisa
23.1.A	Pequeña, transparente, consistencia lisa
25.1	Grande, circular, consistencia cremosa con halo
3.2.C	Irregular, rugosa y seca, café
8.1	Transparente, pequeña con halo pequeño
4.1.B	Pequeña, circular, blanquecina
23.2.A	Pequeña, lisa, irregular, cremosa, verde oscuro
4.2	Pequeña, circular, cremosa, blanquecina
3.6+	Pequeña, circular, transparente
22.2	Grande, blanca, cremosa
3.2.B	Irregular, rugosa, blanquecina de tamaño grande
25.1	Mediana, lisa, con halo, café
23.1	Pequeña, irregular, cremosa, café oscuro
4.1.A	Circular, cremosa, blanquecina
5SA.A	Pequeña, café
22.1	Marrón, pequeña, con halo
3.4.A	Blanquecina, irregular
27.5	Pequeña, café

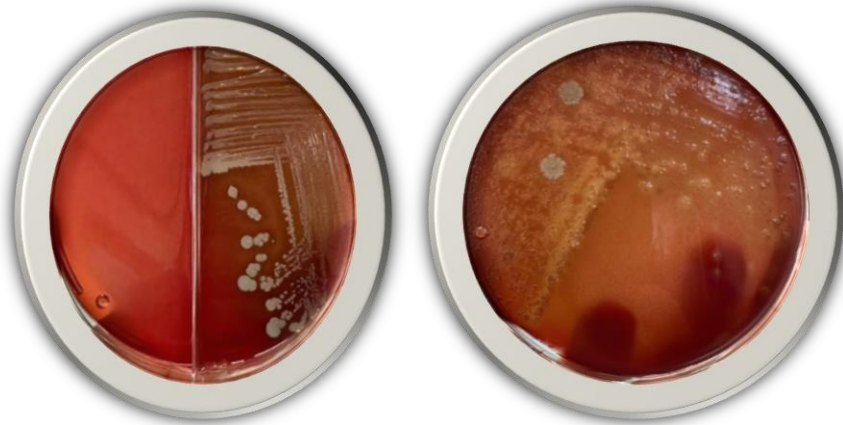
- **Grupo control**



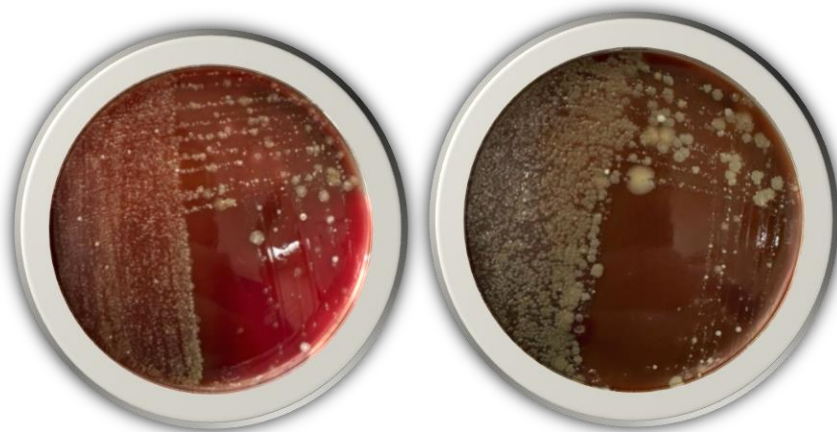
- **Grupo I y II**



- **Grupo III**



- **Grupo IV**



Tinción de Gram

Se aislaron 53 colonias en el medio Agar Sangre al 5%, de las cuales:

- 23 fueron Coco bacilos Gram (+), de estas, 4 pertenecen al grupo control, 4 al grupo I, 5 al grupo II, 7 al grupo III y 3 al grupo IV.
- 9 fueron Bacilos Gram (+), de estas, 1 pertenece al grupo control, 3 al grupo I, 2 al grupo III Y 3 al grupo IV.
- 11 fueron Coco bacilos Gram (-), de estas, 6 pertenecen al grupo III y 5 al grupo IV.
- 10 fueron Bacilos Gram (-), de estas 2 pertenece al grupo control, 1 al grupo I, 2 al grupo II, 1 al grupo III y 4 al grupo IV

Tabla número 3: Identificación microscópica de las colonias aisladas (Gram + O Gram -).

Numero de muestra aislada	Gram (+) / Gram (-)		Clasificación por grupo
5SA.A	Bacilos Gram (+)	<i>Granulicatella adiacens</i>	GRUPO CONTROL
9SA.2	Cocos Gram (+)	<i>Bacillus sp</i>	
9SA.3	Bacilos Gram (-)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
3.2.B	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus epidermis</i>	GRUPO I
3.2.C	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	
3.4.A	Bacilos Gram (+)	<i>Staphylococcus epidermis</i>	
3.5.A	Bacilos Gram (-)	<i>Neisseria sicca</i>	GRUPO II
30.3	Cocos Gram (+)	<i>Enterococcus faecium</i>	
31.1	Bacilos Gram (-)	<i>Enterococcus faecium</i>	
3.6+	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	GRUPO III
4.1.A	Cocos Gram (-)	<i>Streptococcus rubneri</i>	
4.1.B	Cocos Gram (-)	<i>Neisseria mucosa</i>	
4.2	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus sp</i>	
4.2.B	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	
21.2	Bacilos Gram (+)	<i>Bacillus pumilus</i>	
22.1	Cocos Gram (+)	<i>Staphylococcus capitis</i>	
22.2	Cocos Gram (-)	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	
23.2.A	Cocos Gram (+)	<i>Bacillus pumilus</i>	
29.4	Cocos Gram (-)	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	
29.3	Cocos Gram (-)	<i>Streptococcus paransanguis</i>	GRUPO IV
8.1	Bacilos Gram (+)	<i>Lactobacillus paracasei</i>	
25.1	Cocos Gram (-)	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	
26.3	Cocos Gram (+)	<i>Enterococcus faecium</i>	
27.3	Bacilos Gram (-)	<i>Stenotrophomonas sp</i>	
27.1	Bacilos Gram (-)	<i>Stenotrophomonas sp</i>	
28.1	Bacilos Gram (-)	<i>Stenotrophomonas sp</i>	
27.2	Cocos Gram (-)	<i>Bacillus paralicheniformis</i>	
28.5	Bacilos Gram (-)	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	

Basándonos en el análisis realizado de las bacterias encontradas en los diferentes estadios de enfermedad periodontal de las muestras recolectadas, se encontraron bacterias más patógenas que pertenecen al complejo rojo en el grupo III y IV, en comparación con los grupos I y II. Se encontró que los pacientes que tienen una enfermedad sistémica como diabetes o hipertensión presentan un mayor número de bacterias patógenas, estos pacientes se encuentran en estados avanzados de la enfermedad periodontal (estadio III y IV).

Géneros de *Staphylococcus* se encontraron en todos los grupos, pero se encontraron especies más patógenas en estadios III y IV. En la identificación molecular, se encontraron bacterias como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus capitis*, *Neisseria sicca* que no estaban identificadas en el complejo rojo de la pirámide de Socransky, esto podría ser por las nuevas técnicas de identificación molecular, que

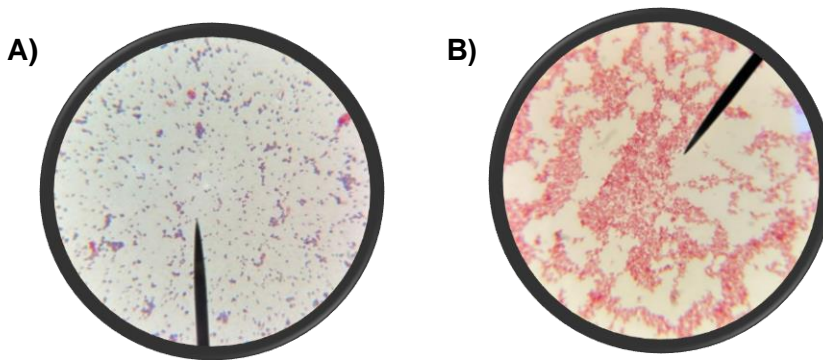
permiten identificar bacterias que pertenecen al microbioma salival de pacientes con enfermedad periodontal y que no estaban identificadas.

Gómez P y col. 2016, en su trabajo describen el microbioma oral: variabilidad entre regiones y poblaciones menciona que pacientes con diabetes e hipertensión tienen alto riesgo de presentar bacterias como *Neisseria*, *Gemella*, *Eikenella*, *Stenotrophomonas*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Streptococcus*, con los resultados obtenidos, se encontraron especies de *Streptococcus* en pacientes que presentaban diabetes e hipertensión, además de *Stenotrophomonas maltophilia* en estadios III y IV.

Corona D. 2018 describen la identificación molecular de bacterias en salud y enfermedad periodontal encontrando las siguientes bacterias: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Pseudomonas sp.*, *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus sp.*, *Aggregatibacter sp.* y *Prevotella intermedia*, las cuales tuvieron una distribución diferente, encontrando mayor índice en estadios III y IV de enfermedad periodontal. En el presente trabajo, la mayoría de las bacterias encontradas en el complejo rojo, se encontraron en estadios III y IV en pacientes con enfermedad periodontal.

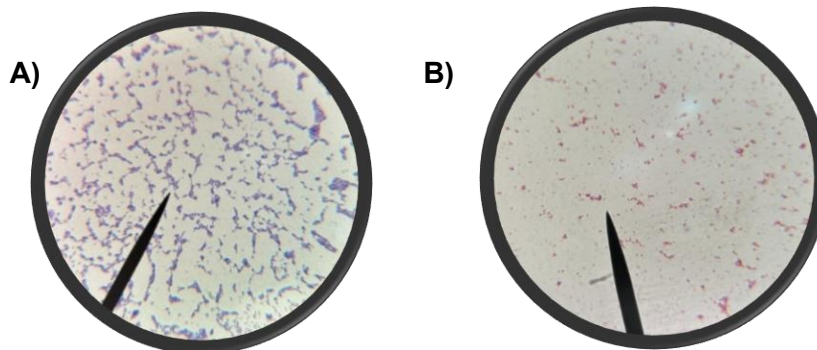
Imágenes microscópicas por grupo de estudio.

- **Grupo control**



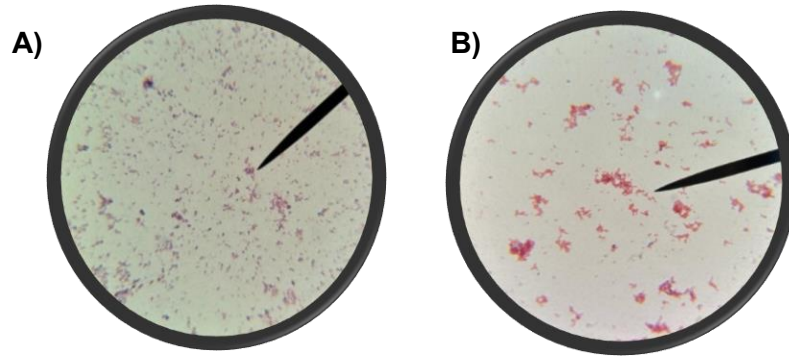
A): Coco bacilos Gram (+) B) Bacilos Gram (-).

- **Grupo I**



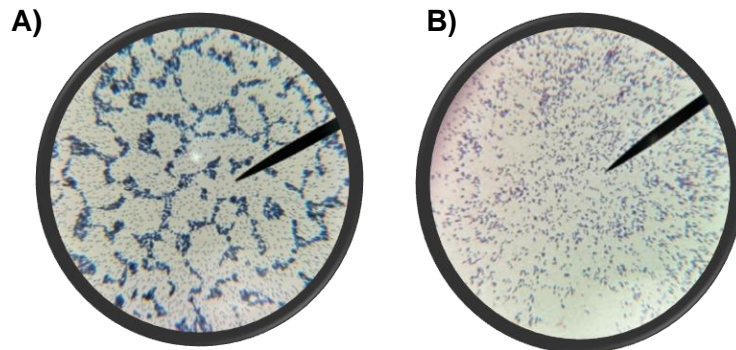
A): Coco bacilos Gram (+) B) Cocobacilos Gram (-).

- **Grupo II**



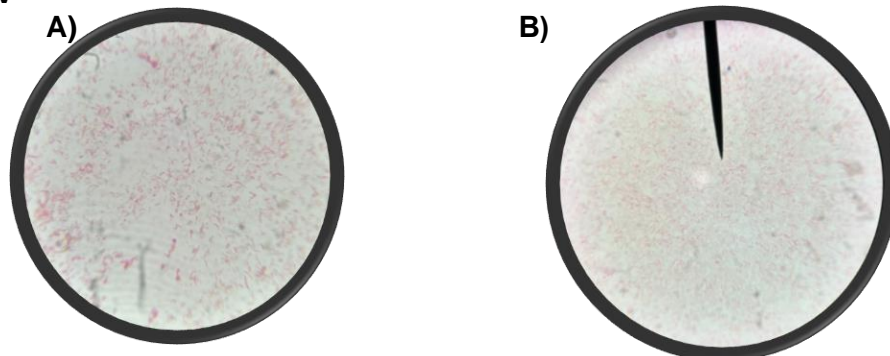
A): Coco bacilos Gram (+) B) Bacilos Gram (-).

- **Grupo III**



A): Coco bacilos Gram (+) B) Cocobacilos Gram (+)

- **Grupo IV**



A): Bacilos Gram (-) B) Bacilos Gram (-)

Extracción DNA de las cepas aisladas de la cavidad oral de pacientes con enfermedad periodontal.

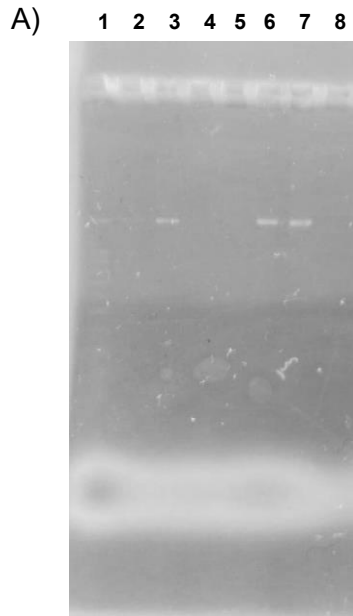


Figura 11. Gel de agarosa al 1% después de la electroforesis. Carril 1: 4.2. Carril 2: 4.8. Carril 3: 3.1. Carril 6: 3.2.C. Carril 7: 4.2.B

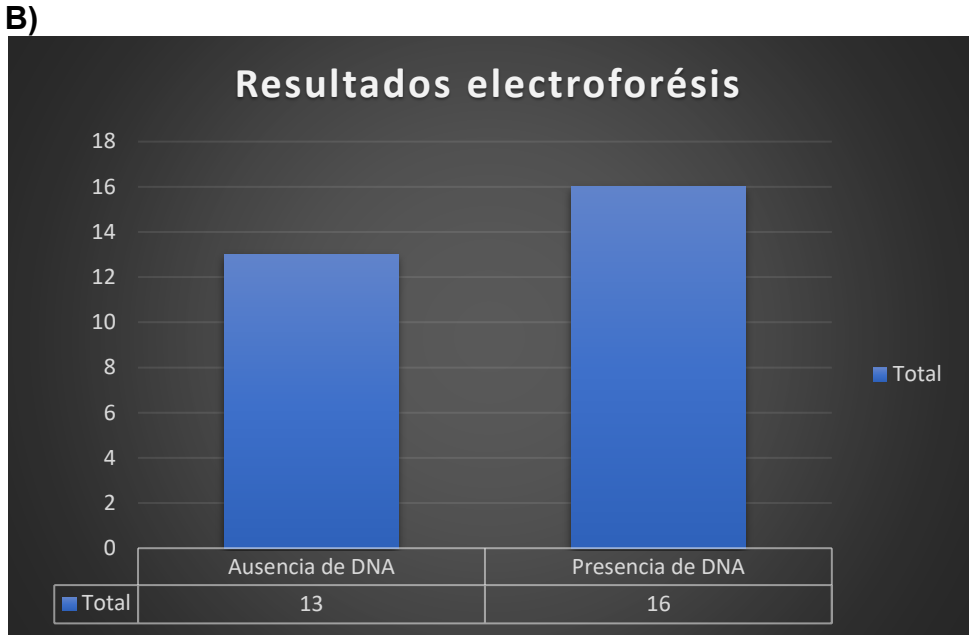


Figura 12. Distribución de la aparición de DNA de las muestras extraídas.

La figura 13 muestra la integridad de ADN de las muestras extraídas después de la electroforesis realizada.

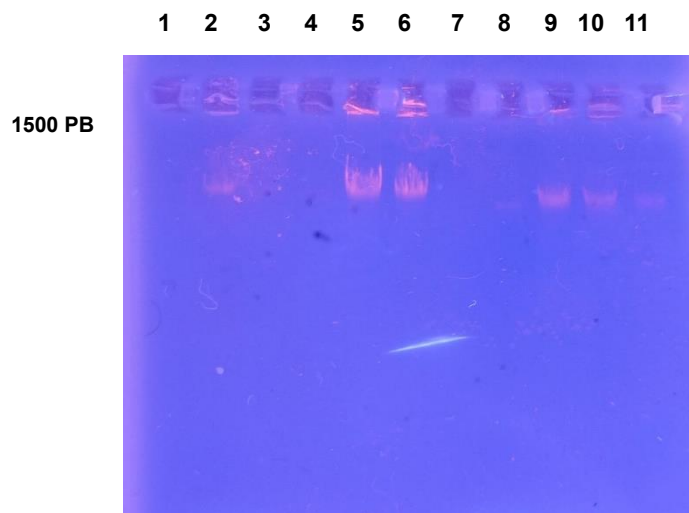


Figura 13. Gel de agarosa al 1% que exhiben la lectura de DNA de las muestras analizadas a 1500 pares de bases (PB). Los carriles corresponden a las muestras analizadas 2: 29.1L, 3: 30.2, 4: 29.2.B, 5: 28.2, 6: 26.2, 7: 29.2L, 8: 30.2L, 9: 29.1.A, 10: 25.2

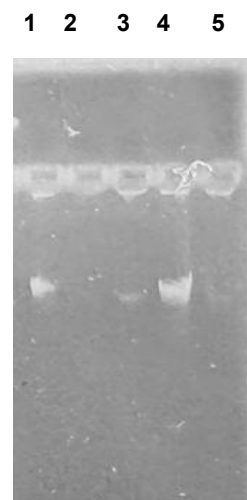


Figura 14. Gel de agarosa al 1% que exhiben DNA de las muestras analizadas. Carril 1: 27.2. Carril 2: 37.6. Carril 3: 30.1. Carril 4: 28.1. Carril 5: 28.6

Amplificación del gen 16 s DetECCIÓN del gen 16S del RNAR de las bacterias aisladas de enfermos con enfermedad periodontal (PCR)

Se realizó la amplificación del gen 16S RNAr, bajo la mezcla del protocolo Promega, de las 16 muestras amplificadas, solamente 11 (62%) amplificaron positivamente. La figura 15, muestra la aparición de una banda en las muestras amplificadas, lo que significa, presencia de DNA amplificado.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

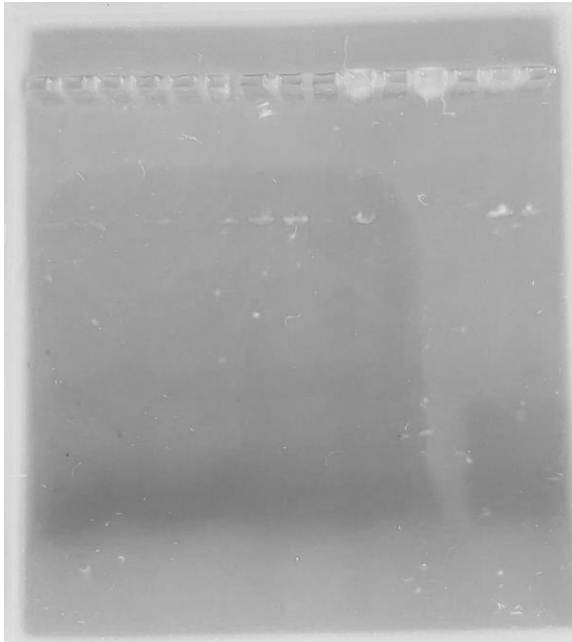


Tabla 4. Resultados de la presencia de DNA amplificado después de realizar PCR.

3.2.B	Presencia de DNA amplificado
3.2.C	Positivo
3.5.A	Positivo
4.1.B	Positivo
4.2	Positivo
23.1	Positivo
3.6+	Positivo
8.1	Positivo
22.2	Positivo
23.2.A	Positivo
25.1	Positivo

Figura 15. Gel de agarosa al 1.5% que exhiben la presencia del DNA amplificado de las muestras analizadas. Carril 1: 25.1. Carril 2: 8.1. Carril 3: 22.2. Carril 4: 4.1.B. Carril 5: 3.2.C. Carril 6: 4.2. Carril 7: 23.1. Carril 8: 23.2.A. Carril 9: 3.5.A. Carril 10: 7SA.1. Carril 11: 5SA.2. Carril 12: 3.2.A. Carril 13: 7SA.5. Carril 14: 4.2.A. Carril 15: 8.2.A.

Conclusiones

Se identificaron bacterias presentes en los diferentes estadios de pacientes con enfermedad periodontal. Los datos clínicos obtenidos permitieron realizar una agrupación por estadios de los pacientes con enfermedad periodontal, encontrando que los pacientes en estadios III y IV presentan bacterias más patógenas. La edad no fue un factor influyente en la identificación de bacterias patógenas en las muestras analizadas, la identificación de bacterias patógenas depende del estadio en el que se encuentre el paciente. Pacientes que presentan alguna enfermedad sistémica como diabetes o hipertensión presentaron bacterias más patógenas, las cuales se relacionan directamente con la enfermedad sistémica que padecen. Esto nos dará un enfoque individual para tratar a estos pacientes, que además de conocer en que estadio de enfermedad periodontal se encuentran, debemos de relacionar las enfermedades sistémicas que presentan y en conjunto con el conocimiento de las bacterias presentes en estas condiciones brindar antisépticos y antibióticos específicos contra estas bacterias, brindando un tratamiento más específico.

Referencias bibliográficas.

1. Herrera Olano Adarais, Veitia Cabarrocas Felisa, Broche Pombo Ada, Hernández Gutierrez Daymí, Valdés Sardiñas Sonia Amalia, Fernández Hernández Roberto Alfredo. Enfermedad periodontal inflamatoria crónica en pacientes diabéticos. Acta méd centro [Internet]. 2022 Jun; 16(2): 261-271. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S270979272022000200261&lng=es. Epub 30-Jun-2022.
2. Manzano Paucar Xiomara Viviana et al. Tratamiento de las infecciones periodontales. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 2023;42:e2926.
3. El Desafío de las Enfermedades Bucodentales – Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. 2ª ed. Ginebra: Federación Dental Internacional (FDI); 2015.
4. Villa Ocampo Paola. Enfoque salubrista de la enfermedad periodontal. Revista Iberoamericana de Ciencias. Vol. 2 No. 4. ISSN 2334-2501. Julio 2015. Disponible en: www.reibci.org
5. Lomeli G. Rodríguez K. Mejía A. Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB). Patologías bucales. Resultados 2018.
6. Caton, J, Armitage, G, Berglundh, T. Iain L Kenneth S. Kornman. Brian L Mealey. Panos N. Sanz M. Tonetti S. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(Suppl 20): S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>
7. Vargas Casillas, A. P., & Yáñez Ocampo, B. R. Clasificación de enfermedades y condiciones periodontales y periimplantarias 2018. Primera parte. *Revista Odontológica Mexicana Órgano Oficial De La Facultad De Odontología UNAM*, 25(1). <https://doi.org/10.22201/fo.1870199xp.2021.25.1.82268>
8. Daniel M. Importancia del estudio microbiológico para la determinación de la farmacoterapia en la periodontitis resistente a tratamiento. 2018. *Odontología Actual / año 15, núm. 185*.
9. Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017 Apr-Jun;11(2):72-80. PMID: 28539867; PMCID: PMC5426403.
10. Barembaum Silvina R. La saliva: una potencial herramienta en la Odontología. *Rev Fac Odont* 29(2), 2019. Internet. Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/RevFacOdonto/article/view/25250>
11. Reyna Flore Luis. A. et al. Proteoma salival: alcances y perspectivas para el diagnóstico y monitoreo de la enfermedad periodontal. Revisión de la literatura. *Revista Odontología mexicana*. 2022; 26 (1): 99-112.
12. Juárez RP, Celía, AC. Rol de la saliva en la homeostasis de la cavidad bucal y como medio de diagnóstico. *Rev Dent Chile* 2015;106(2):15-8.
13. Hemadi AS, Huang R, Zhou Y, Zou J. Salivary proteins, and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *Int J Oral Sci*. 2017 Nov 10;9(11):e1. doi: 10.1038/ijos.2017.35. PMID: 29125139; PMCID: PMC5775330.
14. Guevara S, Guevara Y, Chicaiza A, Altamirano G. Vínculo entre la inflamación periodontal y el riesgo cardiovascular. *Medisur*. 2023; 21(3) Disponible en: <https://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/5820>

15. González Díaz M. E. La plausibilidad biológica entre la periodontitis crónica y el infarto cerebral isquémico. *Revista Cubana de Estomatología* [Internet]. 2019;56(1):93-102. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=378661120011>
16. M. Cardiel-Ríos. Puente G. Rosas S. Pons A. Rosas J. Enfermedad periodontal y diabetes. *Rev ALAD*. 2019;9:141-9. (Internet). Disponible en: <https://edss.uam.elogim.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=12&sid=bd5f533a-3c4b-492a-8953-6468256aaa23%40redis>
17. Fajardo Puig M. E, Rodríguez Reyes O, Hernández Cunill M, , Mora Pacheco N. Diabetes mellitus y enfermedad periodontal: aspectos fisiopatológicos actuales de su relación. *MEDISAN* [Internet]. 2016;20(6):893-898. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=368446345014>
18. Febres F, ENFERMEDAD PERIODONTAL: ASOCIACIÓN CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y COMORBILIDADES INFLAMATORIAS, METABÓLICAS Y CARDIOVASCULARES. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* [Internet]. 2022;20(2):81-96. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375572965003>
19. Caton, J, Armitage, G, Berglundh, T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions – Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2018; 45(Suppl 20): S1–S8. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>

CAPÍTULO III: DESCRIPCIÓN DE LA PLAZA

La Unidad Xochimilco de la Universidad Autónoma Metropolitana (comúnmente abreviada UAM Xochimilco) es una unidad académica situada en Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, 04960, Ciudad de México.

De tipo publica, con una oferta académica de 18 licenciaturas y con un sistema educativo innovador (el sistema modular) que procura la formación de profesionales, especialistas e investigadores con una sólida base científica, humanística y técnica, una actitud crítica y un claro compromiso social que contribuyan a resolver los problemas nacionales.

Visión

Ser punto de referencia nacional e internacional por su modelo educativo –el Sistema Modular–, su participación en la generación y aplicación del conocimiento a la solución de problemas socialmente relevantes, su compromiso con la preservación y difusión de la diversidad cultural del país y el cuidado del medio ambiente.

Departamento de atención a la salud

El departamento de atención a la salud considera que existe un reto de conceptos y metodologías en la investigación en el campo de la salud, el cual consiste en identificar y delimitar los procesos particulares que subyacen al proceso Salud-Enfermedad, así como establecer las interrelaciones y las posiciones que deben ocupar tanto las ciencias biológicas como las sociales en sus diferentes campos de explicación y aplicación.

Ubicación

La UAM-Xochimilco se encuentra ubicada en Calzada del Hueso 1,100, Colonia Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán. Uno de sus Departamentos es el de Atención a la Salud, del cual forma parte es el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, es un espacio académico dedicado a realizar investigación, análisis e identificación de microorganismos a través de técnicas microbiológicas y de biología molecular y desde hace aproximadamente 20 años dedicado a la caracterización molecular de las cepas de *Staphylococcus aureus* y nanopartículas de plata en su diferente aplicación. Además, forma recursos humanos capaces de proponer y desarrollar investigaciones y cuya preparación se sustenta en un proceso docente que privilegia la formación de capacidades, al vincular la experiencia del aprendizaje con la investigación.

Título del proyecto universitario: Evaluación de las nanopartículas de plata (AgNPs) sobre el microbioma aislado de pacientes con enfermedad periodontal

Comité encargado:

- **Dr. Jaime Amadeo Bustos Martínez.**
- **DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA**
- **DRA. T. LEONOR SÁNCHEZ PÉREZ**

Objetivo: evaluar el efecto de las nanopartículas de plata (AgNPs) sobre el microbioma oral de pacientes con enfermedad periodontal y compararlo con la clorhexidina

Funciones: encontrar alternativas de tratamiento antimicrobiano como complemento al raspado y alisado radicular que tengan amplio espectro de acción contra las bacterias periodontopatogenas como la clorhexidina, pero sin sus efectos adversos.

Divisiones académicas

La unidad Xochimilco cuenta con tres divisiones académicas:

- Ciencias y Artes para el Diseño.
- Ciencias Biológicas y de la Salud.
- Ciencias Sociales y Humanidades.

La División de Ciencias y Artes está formada por

1. Consejo Divisional
2. Secretaría académica
3. Coordinaciones de licenciaturas
4. Coordinaciones de posgrados

Cuatro departamentos que son:

- Teoría y Análisis
- Métodos y Sistemas
- Síntesis Creativa
- Tecnología y Producción

La División de Ciencias Biológicas y de la Salud está formada por:

- El Consejo Divisional
- Secretaría académica
- Coordinaciones de licenciaturas
- Coordinaciones de posgrados
- Cuatro departamentos que son:

Atención a la Salud

- El Hombre y su Ambiente
- Producción Agrícola y Animal
- Sistemas Biológicos.

La División de Ciencias Sociales y Humanidades está formada por:

- El Consejo Divisional
- Secretaría académica
- Coordinaciones de licenciaturas
- Coordinaciones de posgrados

Cuatro departamentos que son:

- Educación y comunicación
- Relaciones sociales
- Política y cultura
- Producción económica

La Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco actualmente cuenta con 18 licenciaturas, dividida en 3 áreas que son:

División de Ciencias y Artes para el Diseño

- Licenciatura en Arquitectura
- Licenciatura en Diseño de la Comunicación Gráfica
- Licenciatura en Diseño Industrial
- Licenciatura en Planeación Territorial

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

- Licenciatura en Agronomía
- Licenciatura Biología
- Licenciatura en Enfermería
- Licenciatura en Estomatología
- Licenciatura en Medicina
- Licenciatura Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Licenciatura en Nutrición Humana
- Licenciatura Química Farmacéutica Biológica

División de Ciencias Sociales y Humanidades

- Licenciatura en Administración
- Licenciatura Comunicación Social
- Licenciatura en Economía
- Licenciatura en Política y Gestión Social
- Licenciatura en Psicología
- Licenciatura en Sociología

Posgrados

División de Ciencias y Artes para el Diseño

- Maestría en Ciencias y Artes para el Diseño
- Maestría en Diseño y Producción Editorial
- Maestría en Reutilización del Patrimonio Edificado
- Doctorado en Ciencias y Artes para el Diseño

División de ciencias Biológicas y de la Salud

- Maestría en Ciencias Agropecuarias
- Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud
- Doctorado en Ciencias en Salud Colectiva
- Especialización y Maestría en Patología y Medicina Bucal
- Maestría en Ciencias Farmacéuticas
- Maestría y especialización en Medicina Social
- Maestría en Rehabilitación Neurológica (Área de Salud Infantil y Prevención de Secuelas del Desarrollo)
- Especialización en Población y Salud (Área de Planificación Familiar)
- Maestría en Población y Salud (Área de Planificación Familiar)
- Maestría en Ciencias en Salud de los Trabajadores

División de Ciencias Sociales y Humanidades

- Maestría en Derecho Económico
- Especialización, Maestría y Doctorado en Desarrollo Rural
- Doctorado en Ciencias Sociales
- Maestría en Desarrollo Educativo y Planeación de la Educación
- Maestría en Economía y Gestión de la Innovación
- Maestría en Psicología Social de Grupos e Instituciones
- Maestría y Especialización en Estudios de la Mujer
- Maestría en Políticas Públicas
- Maestría en Comunicación y Política
- Maestría y Doctorado en Ciencias Económicas

Servicio Social

El Servicio Social como una obligación Constitucional del alumnado de educación superior se define como: el conjunto de actividades realizadas por el alumnado o egresados/as de la Universidad en beneficio de la sociedad y el Estado. El cumplimiento del servicio social es obligatorio y deberá ser realizado como requisito previo para obtener el título de licenciatura. Esta práctica favorece las actitudes reflexivas, críticas y de responsabilidad social, como respuesta a necesidades de creación y promoción de programas sociales, en los que el alumnado fortalece su formación académica, desarrolla liderazgos, demuestra las aptitudes que coadyuvan y apoyan actividades para responder a problemas socialmente relevantes del país.

Comisión de Servicio Social de la Licenciatura en Estomatología

Dra. Sandra Compeán Dardón
Dr. Enrique Darío Amarillas Escobar
Mtra. Denisse E. Durán Merino
CDE. Karla Miguelena Muro
CDE. Karla Ivette Oliva Olvera

Estomatología

En diciembre de 1973 fue aprobado el proyecto para la creación de la Universidad Autónoma Metropolitana, después de ser presentado al Poder Legislativo por el presidente de la República, Luis Echeverría Álvarez, con base a un estudio efectuado por la Asociación de Universidades e Institutos de Enseñanza Superior (ANUIES). La UAM Xochimilco inicia actividades el 11 de noviembre de 1974, incluyendo alumnos de la carrera de Odontología. El primer taller de diseño curricular de la Licenciatura en Estomatología se integró en enero de 1975. El cambio de nombre de Odontología por Estomatología se debió a que su ámbito de estudio abarca toda la boca y al individuo dentro del contexto social en que se desenvuelve.

En enero de 1976 se realiza el proyecto de los Laboratorios de Diseño y Comprobación de Sistemas Estomatológicos con asesoría de la OPS, de este modo el 1º de marzo de 1976 iniciaron actividades las Clínicas Estomatológicas de Tláhuac y Pirules de Ciudad Nezahualcóyotl; y el 26 de octubre de 1977 lo hicieron las de San Lorenzo Atemoaya y San Juan Tepepan. El 1º de junio de 2001 la Licenciatura en Estomatología fue acreditada por las autoridades del Consejo Nacional de Educación Odontológica (CONAEDO), distinción ratificada el 21 de noviembre de 2003, con respaldo del Consejo para la Acreditación de la Educación Superior (COPAES). En septiembre y noviembre de 2003 inician los trabajos de remodelación de los Laboratorios de Diseño y Comprobación (Clínicas Estomatológicas) y en febrero de 2004 fueron reinauguradas.

CAPÍTULO IV: INFORME NUMÉRICO NARRATIVO

Las actividades realizadas en el servicio social se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular en la Universidad Autónoma Metropolitana y en el Laboratorio de Diseño y Comprobación (LDC) Nezahualcóyotl de la UAM-X. Se realizó una investigación transversal, observacional, descriptiva, comparativa y experimental. Primeramente, se seleccionó el tema de elección, la elección de la metodología y la redacción del marco teórico, posteriormente se seleccionó el número de muestras requeridas y se realizó la toma de muestras de los pacientes seleccionados. Finalmente se procesaron estas muestras y se obtuvieron los resultados.

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE FEBRERO 2023	
ACTIVIDADES	Semana
Selección del tema	1
Selección de la metodología	2
Búsqueda de título del trabajo	2
Búsqueda de artículos referentes al tema en bases científicas	2
Realización de cartel para congreso UNAM 2023	1

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE MARZO 2023	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Recolección de datos de pacientes seleccionados para la toma de muestra	13
Búsqueda de artículos referentes a los temas del marco teórico	50
Llenado de base de datos en Excel de los pacientes con enfermedad periodontal	1
Avance de marco teórico	1

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE MAYO 2023

ACTIVIDADES	CANTIDAD
Búsqueda de artículos referentes al tema en bases científicas	20
Seguimiento de los pacientes seleccionados para la toma de muestra	13
Toma de muestra de pacientes seleccionados para la investigación	7

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE JUNIO 2023

ACTIVIDADES	CANTIDAD
Búsqueda de artículos referentes al tema en bases científicas	10
Toma de muestra de pacientes seleccionados para la investigación	6
Seguimiento de marco teórico en protocolo	

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE JULIO 2023

ACTIVIDADES	CANTIDAD
Búsqueda de artículos referentes al tema en bases científicas	10
Seguimiento de marco teórico en protocolo	4
Sembrado de muestras recolectadas en medio Agar Sangre	13

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE AGOSTO 2023

ACTIVIDADES	CANTIDAD
Aislado de colonias de muestras sembradas	20
Identificación microscópica de muestras aisladas	20
Extracción de DNA de muestras aisladas	10

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE SEPTIEMBRE 2023	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Revisión de avances de trabajo de investigación	32
Recolección de datos de nuevos pacientes para toma de muestra	15
Extracción de DNA de muestras analizadas	10
Realización de PCR de las muestras	20

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE OCTUBRE 2023	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Purificación de PCR de las cepas	30
Aislado de colonias obtenidas	30
Actualización de base de datos de pacientes	1

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE NOVIEMBRE 2023	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Preparación de las colonias obtenidas para mandar a secuenciarlas	41
Obtención de las escalas de semaforo	2
Revisión de trabajo de investigación	11

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE DICIEMBRE 2023	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Identificación de las cepas secuenciadas	41

Revisión de avances	1
---------------------	---

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE ENERO 2024	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Correcciones de trabajo de investigación	1

ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL MES DE FEBRERO 2024	
ACTIVIDADES	CANTIDAD
Correcciones finales de trabajo de investigación	1

CAPÍTULO V: ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

En este apartado se presenta el análisis de las actividades realizadas de las plazas seleccionadas, si responden a las necesidades de salud de su población, si cumplen con protocolos de atención y medidas de bioseguridad, tanto para la población que acude como para el personal que labora allí, pertinencia ante la situación socioeconómica actual.

El departamento de atención a la salud en la Universidad Autónoma Metropolitana, en específico, el Laboratorio de Microbiología y Biología molecular, brinda investigación en diferentes tópicos, el proyecto en el cual se trabajó pretende buscar alternativas en el tratamiento de pacientes que presentan enfermedad periodontal, el conocimiento específico de las bacterias que forman parte de su microbiota oral permite realizar pruebas de antisépticos alternativos que en un futuro pueden servir en la elaboración de enjuagues, pastas, geles, etc. Diferentes a los que conocemos hoy en día, lo cual, brindará un tratamiento mas específico a los pacientes.

La toma de muestras para la investigación se realizó bajo el uso estricto de equipo personal de protección, el manejo, almacenamiento y procesamiento de estas se realizo bajo medidas de esterilidad. La toma de muestra no tuvo ningún costo para el paciente y fue un procedimiento rápido y sin dolor.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

La realización del servicio social en un proyecto universitario me permitió adquirir experiencia en el área de investigación, el tema seleccionado fue de interés clínico y practico, la enfermedad periodontal es un problema mundial que afecta al 70% los

mexicanos actualmente, es un reto al cual nos enfrentaremos en la consulta diaria en nuestra área laboral, el conocimiento específico de las bacterias presentes en los distintos estadios de pacientes con enfermedad periodontal nos permite evaluar y brindar un diagnóstico más individual, enfocándonos en antisépticos que actúen específicamente contra esas bacterias.

El manejo de la información en un trabajo donde se manejaron muestras y resultados me permitió desarrollar habilidades de búsqueda de información, procesamiento de muestras, manejo de base de datos, interpretación de resultados y manejo de instrumentos y aparatos de laboratorio para obtener identificación de bacterias.

ANEXOS

A) Toma de muestra en Laboratorio de Diseño y Comprobación Nezahualcóyotl



B) Procesamiento de muestras en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular

