

M.E. MARÍA LUISA SÁNCHEZ ROMERO

“ BIOPELÍCULA MICROBIANA EN ACRÍLICO DENTAL
DE PACIENTE GERIÁTRICO COMO RESERVORIO DE
GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS ”

2022



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

**BIOPELÍCULA MICROBIANA EN ACRÍLICO DENTAL
DE PACIENTE GERIÁTRICO COMO RESERVORIO DE
GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS.**

Tesis

Que como parte de los requisitos
para obtener el Diploma de la

ESPECIALIDAD EN PROSTODONCIA

Presenta:

M.E. María Luisa Sánchez Romero

Dirigido por:

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Querétaro, Qro. a Marzo 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Biopelícula microbiana en acrílico dental de paciente
geriátrico como reservorio de genes de resistencia a
antibióticos.

por

María Luisa Sánchez Romero

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: MEESN-293336-0323-323



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Especialidad de Prostodoncia

**BIOPELÍCULA MICROBIANA EN ACRÍLICO DENTAL DE
PACIENTE GERIÁTRICO COMO RESERVORIO DE GENES DE
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la

Especialidad en Prostodoncia

Presenta:

M.E. María Luisa Sánchez Romero

Dirigido por:

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Rubén Abraham Domínguez Pérez
Presidente

Claudia Adriana Rivera Albarrán
Secretario

José Antonio Guerrero Guzmán
Vocal

Rosa María Sánchez Ayala
Suplente

Santiago Andaracua García
Suplente

Centro Universitario,
Querétaro, Qro. Marzo 2023
México

Resumen

Introducción: La presencia y diseminación de genes de resistencia a antibióticos (GRA) representa un problema de salud pública a nivel global ya que su presencia puede implicar la resistencia microbiana a los antibióticos, trayendo como consecuencia morbilidad e inclusive mortalidad de los individuos. Diversos estudios han demostrado la existencia de reservorios de GRA en distintas entidades odontológicas como infecciones periodontales, endodónticas y en la biopelícula microbiana de individuos dentados, sin embargo, hasta el día de hoy, no se sabe si la biopelícula microbiana en prótesis dentales de acrílico en adultos geriátricos son un reservorio de GRA. **Objetivo:** Determinar si la biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos es un reservorio de GRA. **Material y métodos:** El estudio fue prospectivo, transversal, observacional y descriptivo, donde se tomaron muestras de pacientes geriátricos. Se obtuvo una muestra de 18 pacientes que cumplieron los criterios de selección. Se realizó el aislamiento del ácido desoxirribonucleico (ADN), Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y electroforesis para observar la presencia o ausencia de los GRA. El análisis estadístico fue llevado a cabo por medio de Prueba de Fisher y las consideraciones éticas fueron basadas por la Declaración de Helsinki. **Resultados:** No existieron diferencias significativas al comparar el número de GRA presentes en los grupos de pacientes usuarios de prótesis dentales de acrílico y los no usuarios. **Conclusión:** Bajo las condiciones y limitaciones de este estudio, parece ser que la biopelícula microbiana que se forma en prótesis dentales de acrílico no es un reservorio el cual genere aumento de los GRA en pacientes geriátricos.

Palabras clave: genes de resistencia a antibióticos, prótesis dental de acrílico, edentulismo

Abstract

Introduction: The presence and dissemination of antibiotic resistance genes (ARG) represents a global public health problem since their presence may imply microbial resistance to antibiotics, resulting in morbidity and even mortality of individuals. Various studies have shown the existence of ARG reservoirs in different dental entities such as periodontal and endodontic infections and in the microbial biofilm of dentate individuals, however, to date, it is not known whether the microbial biofilm in acrylic prostheses in geriatric adults are a reservoir of ARG. **Objective:** To determine if the microbial biofilm that forms on acrylic dental prostheses in geriatric patients is a reservoir of ARG. **Material and methods:** The study was prospective, cross-sectional, observational and descriptive, samples of geriatric patients were taken. A sample of 18 patients who met the selection criteria was obtained. As a molecular method, DNA isolation, PCR analysis and electrophoresis were carried out to observe the presence or absence of ARG. Statistical analysis was carried out using the Fisher test and ethical considerations were based on the Declaration of Helsinki. **Results:** There were no significant differences when comparing the number of ARG in the groups of patients who use acrylic dental prostheses and those who do not. **Conclusions:** Under the conditions and limitations of this study, it appears that the microbial biofilm that forms on acrylic dental prostheses is not an increased reservoir of ARG in geriatric patients.

Key words: antibiotic resistance genes, dental acrylic, edentulism

Dedicatorias

A mí misma

Sólo yo conozco a profundidad la sensación emocional e intelectual que se tiene al realizar una investigación de esta índole, me doy gracias por brindarme el tiempo de leer y estudiar para llegar hasta este momento de mi vida.

A mi mamá

Le doy infinitas gracias por el apoyo emocional que tuvo durante toda mi estancia en la especialidad, fuera por escuchar mis estragos, alegrías, caídas y aprendizajes.

A mi papá

Es el ejemplo perfecto a seguir, desde licenciatura hasta doctorado, será un largo camino el que me queda por recorrer. Le doy gracias por brindarme esa espiritualidad académica y las ganas de seguir adelante, que con estudios la vida es mejor.

A mi hermano, Santiago

Espero poder ser un ejemplo de vida para tu crecimiento tanto académico como personal, el camino del éxito se forja con esfuerzo, pasión a lo que haces y constante dedicación, siempre te apoyaré, te amo hermano.

Agradecimientos

Al Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Le doy gracias al doctor Rubén por compartirme siempre lo dedicado que se debe ser al realizar un proyecto de investigación, gracias por el tema de investigación, las conversaciones, el intercambio de ideas, la ida a la sierra de Querétaro, y más que nada, por siempre estar ahí para apoyarme en este trayecto académico.

Índice

Contenido	Página
Resumen	3
Summary	4
Dedicatorias	5
Agradecimientos	6
Índice	7
Índice de cuadros	8
Abreviaturas y siglas	9
I. Fundamentación teórica	10 – 20
II. Hipótesis	21
III. Objetivos	22
III.1 General	22
III.2 Específicos	22
IV. Material y métodos	23 – 34
IV.1 Diseño del estudio	23
IV.2 Unidad de análisis	23
IV.3 Tamaño de la muestra	23 – 25
IV.4 Técnicas e instrumentos	25
IV.5 Procedimientos	25-34
V. Resultados	35 – 37
VI. Discusión	38 – 40
VII. Conclusiones	41 – 45
VIII. Anexos	46 – 54

Índice de cuadros

Cuadro		Página
IV.1	Oligonucleótidos utilizados para la detección de GRA.	31
V.2	Características clínicas de los pacientes en su diagnóstico.	35
V.3	Distribución de los grupos acorde a la presencia del número de GRA.	35
V.4	Distribución y comparación de GRA en los cuatro grupos.	36
V.5	Distribución y comparación entre grupos dependiendo del número de GRA.	36
V.6	Distribución y comparación de GRA en cada grupo.	37

Abreviaturas y siglas

GRA: Gen de resistencia a antibióticos

RAM: Resistencia antimicrobiana

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

I. Fundamentación Teórica

I.I. La biopelícula microbiana en cavidad oral

Al nacer, la cavidad oral se encuentra estéril, sin embargo, es colonizada horas después por bacterias principalmente facultativas y aeróbicas. A medida que comienza la erupción dental, se establece una microbiota oral más compleja, donde después del primer año de vida colonizan los estreptococos orales, incluidos *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii*; anaerobios como *Fusobacterium nucleatum* y *Prevotella intermedia* (Cortelli et al. 2008). Por ende, a medida que más dientes erupcionan, se proporcionan más áreas para la adherencia y retención bacteriana. Se estima que más de 700 especies diferentes son capaces de colonizar la cavidad oral del adulto (Sachdeo et al. 2008; Kim et al. 2011), y que cualquier individuo típicamente alberga 150 o más especies diferentes (Carranza 2012). En general, la biopelícula microbiana consiste en una amplia gama de bacterias grampositivas y gramnegativas, que incluyen especies anaeróbicas facultativas y anaeróbicas estrictas (Marsh et al. 1995).

Es importante recalcar que en la biopelícula, las bacterias orales no existen en entidades independientes sino que funcionan como una comunidad bacteriana coordinada, espacialmente organizada y totalmente integrada metabólicamente (Costerton et al. 1995; Teughels et al. 2006). Por otro lado, la formación de biopelícula en cavidad oral está influenciada por tres factores principales (Socransky et al. 2005):

1. La naturaleza de la superficie a la que se adhiere la biopelícula como en diente natural, diente de acrílico, en una restauración, en la mucosa oral o en la lengua.
2. La composición de las posibles especies colonizadoras que formarán la biopelícula.

3. El fluido en el que se sustentan en la comunidad de la biopelícula como el líquido crevicular o la saliva.

De hecho, la capacidad que tiene la biopelícula para adherirse y ser retenida en una superficie es una estrategia fundamental de colonización, crecimiento, maduración y supervivencia para la mayoría de los organismos procariotas (Costerton et al. 1995; Marsh et al. 1995; Humphrey et al. 2001; Allison 2003; Branda et al. 2005).

Todo comienza con la etapa primaria del desarrollo de la biopelícula, la cual es la unión inicial del microorganismo a la superficie. En este caso, los microorganismos tienen proteínas en su superficie celular como pili, antígenos de flagelos y lipopolisacáridos como adhesinas, los cuales promueven su unión a la superficie (Scott et al. 2006). Una vez adheridos a la superficie, el microorganismo usa nutrientes ya sea de la superficie o del entorno para iniciar su crecimiento, en donde se ha documentado que los colonizadores primarios en la biopelícula microbiana dental son típicamente *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii* y especies de *Actinomyces* (Marsh 2006).

Después del proceso inicial de unión y adherencia, los microorganismos comienzan a convertirse en microcolonias (Marsh et al. 1995; Marsh 2006). La capacidad de los microorganismos para adherirse entre sí (co-agregación) es beneficiosa para el posterior desarrollo y maduración de la biopelícula. Una vez que la biopelícula tiene una estructura establecida, que consiste en los primeros colonizadores ya mencionados y microorganismos adicionales reclutados como parte de la fase de maduración, los colonizadores secundarios se unen a la biopelícula integrándose rápidamente dentro de la matriz. Como tal, la biopelícula madura es la fase en la que la biopelícula se encuentra en su estado más desarrollado, estable a pesar de los cambios ambientales locales, incluidos los componentes de la dieta, las defensas del huésped, el flujo salival y el pH dentro de la cavidad bucal. Por último, la etapa final del ciclo de desarrollo de la biopelícula

es la dispersión celular para que los microorganismos colonicen y restablezcan un ciclo de desarrollo de biopelículas en una ubicación diferente, considerándose un factor patógeno importante (Fig. 1), (Marsh 2006).

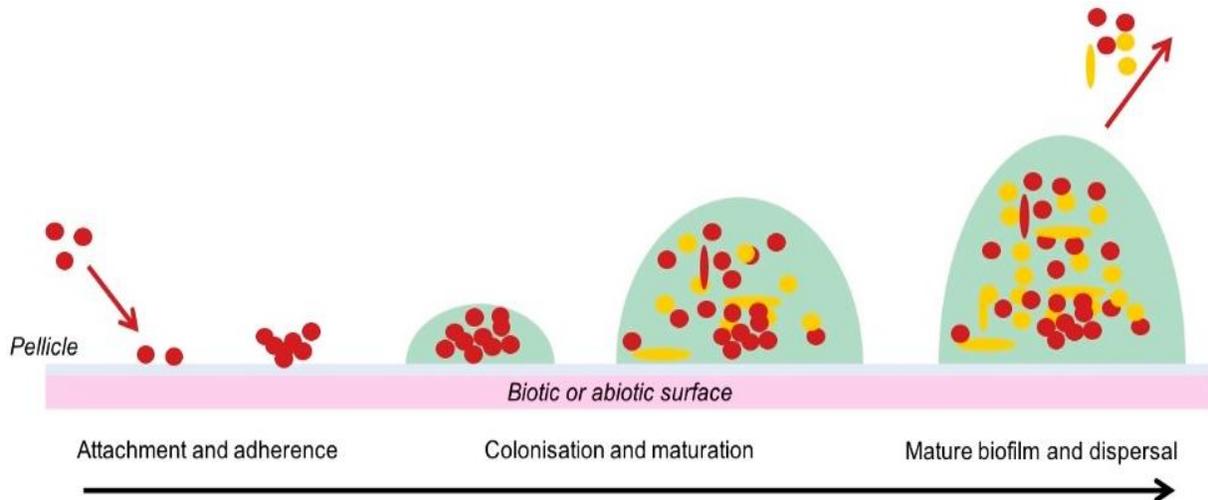


Fig. 1 Representación esquemática de Marsh & Bradshaw (1995) de distintas etapas del desarrollo de biopelículas; fijación y adherencia, colonización y maduración, biopelícula madura y dispersión para colonización secundaria.

I.II La biopelícula microbiana en individuo dentado y desdentado

De acuerdo con la literatura, la biopelícula oral sufre cambios drásticos, tanto cuantitativa como cualitativamente con la edad, especialmente en individuos desdentados (Teughels et al. 2006). En la cavidad oral edéntula, las bacterias tienden a colonizar principalmente la lengua, la mucosa oral y las superficies de las prótesis acrílicas completas aunque, la saliva puede transferirlas a otros sitios (Hori et al. 1999).

Se ha visto que el dorso de la lengua exhibe una biopelícula similar a la saliva y puede ser un reservorio significativo de microorganismos orales en pacientes edéntulos, en donde se han detectado varias especies bacterianas periodontales como *Campylobacter rectus*, *Prevotella micra*, *Eikenella corrodens* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Fernandes et al. 2010) así como varias especies del complejo rojo y naranja de Socransky (Sachdeo et al. 2008).

Un hallazgo importante de la investigación de Sachdeo et al. (2008), fue que los patógenos periodontales como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Porphyromonas gingivalis*, se encontraron en rebordes edéntulos, la lengua y en los tejidos blandos de los sujetos edéntulos portadores de prótesis dentales completas de acrílico o dentadura de acrílico, sin embargo, se pensaba que esas especies desaparecían después de la extracción de todos los dientes naturales, sin embargo, se especula que estas entidades bacterianas se mantienen en cavidad oral al adherirse a la superficie de la dentadura de acrílico.

I.III La biopelícula microbiana en dentadura de acrílico.

Por otro lado, la diferente tasa de formación de biopelícula microbiana en los individuos dentados y desdentados puede explicarse por la naturaleza de la superficie a la que se adhirieron las especies bacterianas, la cual es mucho más rápida en dientes naturales que en dentadura de acrílico. Una posible explicación es que la superficie de hidroxiapatita en dientes naturales y la superficie acrílica en dientes para dentadura difieren notablemente en sus propiedades químicas y físicas, como en la rugosidad de la superficie y la composición acrílica (Teles et al. 2012).

Como el estudio de Teles et al. (2012), donde se vio una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) al comparar la presencia de especies bacterianas cariogénicas y periodontopatógenas como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* y *Gemella morbillorum* en dientes de las dentaduras acrílicas completas y en dientes naturales.

Así pues, la distribución topográfica de la biopelícula microbiana sobre las dentaduras de acrílico es un aspecto importante a considerar en las características anatómicas de la misma, las cuales influyen en la retención bacteriana (Ken et al. 1996). Se demostró en un estudio que en la superficie externa de la dentadura de

acrílico, las áreas asociadas con los dientes artificiales, presentan mayores cantidades de biopelícula que la superficie interna (Paranhos et al. 2007).

Por otra parte, las irregularidades y porosidades de las dentaduras deacrílico también favorecen la penetración de microorganismos, lo que dificulta limpiarlos exclusivamente con el cepillado, considerando que las dentaduras acrílicas pueden convertirse en una fuente de infección de los tejidos de soporte o bien reservorio de biopelícula microbiana (Neppelenbroek 2015).

I.IV Interrelación biopelícula microbiana y GRA.

Se ha descrito que la biopelícula microbiana oral funciona como reservorio de varios GRA comúnmente utilizados como betalactámicos, tetraciclinas y macrólidos (Seville et al. 2009; Sommer et al. 2009; Kouidhi et al. 2011). Esto es motivo de preocupación, ya que estos antibióticos se implementan para tratar afecciones infecciosas de la cavidad oral y sistémicas (Torabinejad et al. 2003; Rôça et al. 2013). Por lo tanto, el uso prolongado y prescripción inadecuada a lo largo del tiempo resulta en desarrollar Resistencia Antimicrobiana (RAM) dentro de la bacteria, la cual es la capacidad de resistencia que adquiere para sobrevivir y ser viable bajo la influencia de los agentes antimicrobianos, como lo son desinfectantes, antibióticos y conservadores de alimentos (Tenover 2006; Zhou et al. 2015).

Esta evolución genética natural para resistir los agentes antimicrobianos ha alcanzado sus niveles paradójicos e incluso la Organización Mundial de la Salud ha calificado la resistencia a los antibióticos como una de las tres amenazas de salud pública más importantes del siglo XXI (World Health Organization 2014), planteando a la RAM como un serio desafío para la salud con posibles impactos de mortalidad a nivel mundial, lo que requiere la necesidad de una intervención temprana (Read et al. 2014). Por otro lado, cabe mencionar, que el Sistema Global de Vigilancia Antimicrobiana reporta la aparición de RAM entre 500,000 personas en 22 países (Super Bugs 2016).

I.V Mecanismos de resistencia antimicrobiana

Para comprender los mecanismos de RAM, es importante conocer cómo funciona un agente antimicrobiano, el cual, se centra específicamente en las funciones microbianas vitales; cada clase de agentes antimicrobianos actúa de manera similar para inhibir a las bacterias. Los siguientes mecanismos de acción de los agentes antimicrobianos pueden clasificarse como (Abushaheen et al. 2020):

1. Interferencia con la síntesis de la pared celular
2. Inhibición de la síntesis de proteínas
3. Inhibición de la síntesis de ácido nucleico
4. Inhibición de vías metabólicas / enzimas bacterianas
5. Interrupción con la estructura de la membrana bacteriana

Por otro lado, los mecanismos de RAM pueden clasificarse ampliamente como (Schwarz et al. 2006):

1. Resistencia intrínseca

Algunos géneros o especies bacterianas específicas tienen características estructurales / funcionales únicas que proporcionan resistencia a los antibióticos dominantes. Estos grupos de bacterias normalmente no tienen un sitio objetivo para el antibiótico específico, lo que los hace ineficaces.

2. Resistencia adquirida

Las bacterias naturalmente susceptibles pueden desarrollar resistencia contra ciertos antibióticos dominantes al recibir GRA de otras bacterias.

I.VI Base genética de la RAM

La alta densidad de bacterias orales en la biopelícula facilita el intercambio de información genética entre células de la misma especie, entre especies e incluso géneros, el cual se conoce como RAM por diseminación de GRA (Carranza 2012).

En general, las bacterias usan dos estrategias genéticas principales para adaptarse al ataque antibiótico (Munita et al. 2016):

1. Mutaciones en el gen, a menudo asociado con el mecanismo de acción del compuesto.
2. Adquisición de codificación de ADN de resistencia a través de la transferencia horizontal de genes.

A continuación, se muestran los pasos por los cuales las bacterias generan GRA:

1. Transformación

La transformación natural del ADN requiere un proceso que incluye sistemas de secreción de tipo II y tipo IV (T2SS y T4SS), y pili de tipo IV en el que las bacterias toman el ADN de la superficie al citoplasma a través de un canal altamente preservado en la membrana del citoplasma (Krüger et al. 2011). En otras palabras, es el intercambio de genes a través de una conexión interbacteriana directa formada por un pili (Carranza 2012).

2. Transducción

En este proceso, se requiere un bacteriófago (un virus) para transferir el ADN entre bacterias, como *Staphylococcus aureus*, en donde los bacteriófagos usan las células bacterianas para replicarse. Durante este procedimiento, los fragmentos de ADN bacteriano (la secuencia de resistencia) entran en uno de los bacteriófagos. Además, el bacteriófago portador inyectará su contenido de ADN en otra bacteria para replicarse más. Por lo tanto, la secuencia de resistencia puede ser recombinante con el ADN de la bacteria y convertirse en resistencia (Coleman 2006; Novick et al. 2010). En otras palabras, es el movimiento de pequeños

fragmentos de ADN del medio ambiente al cromosoma bacteriano (Carranza 2012).

3. Conjugación

En este proceso, los genes se transfieren horizontalmente a las células receptoras utilizando T4SS (el transferosoma) (Juhás et al. 2008). Además, el comienzo de la conjugación requiere un complejo de unión al ADN en el sitio de transferencia de ADN (el relaxosoma) y una conexión (proteína de acoplamiento) para unir estos dos complejos (Dostál et al. 2011; Wong et al. 2012).

Por otro lado, se ha documentado que los GRA pueden propagarse rápidamente a través de la transferencia horizontal de genes por medio de plásmidos y otros elementos genéticos, provocando la contaminación ambiental con cepas de resistencia a los antibióticos (Berendonk et al. 2015). La cavidad oral actúa como un portal que conecta el medio ambiente con el tracto digestivo, la cual con frecuencia entra en contacto con otras bacterias del medio ambiente, en donde las bacterias orales pueden llegar fácilmente a otros sitios del cuerpo y propagarse a otras personas. Por lo tanto, las bacterias orales tienen la oportunidad de adquirir y transferir GRA (Zhang et al. 2019).

Hoy en día, existe una gran variedad de GRA que codifican la inactivación / modificación del antibiótico. A continuación se desglosan ejemplos de aquellos que se detectan con frecuencia en la biopelícula microbiana de la cavidad oral, ya sea para bacterias gram positivas o negativas (Silva 1996; Diaz-Torres et al. 2006):

- β -lactámicos \rightarrow *cfxA*, *blaSHV* y *blaTEM*.
- Tetraciclina \rightarrow *tet (M)*, *tet (Q)*, *tet (W)*, *tet (A)* y *tet (O)*.
- Macrólido \rightarrow *erm (B)*, *erm (C)* y *erm (F)*
- Aminoglucósidos \rightarrow *aac (A)* y *aph (D)*

Es importante mencionar que, hasta el día de hoy, no existen estudios que hayan evaluado los GRA en la biopelícula microbiana de individuos parcial o

totalmente desdentados que sean usuarios de prótesis acrílicas, aunque, sí los hay en individuos dentados que presentan infecciones endodónticas y/o periodontales.

Después de haber analizado los resultados del estudio realizado por Koukos et al. (2016), concluyeron que la cavidad oral de los individuos dentados, ya sea con periodonto sano o con periodontitis, a menudo alberga GRA *blaTEM*, por lo tanto la actividad antimicrobiana de los β -lactámicos podría verse comprometida.

De acuerdo con una revisión sistemática de Moraes et al. (2015), menciona que los GRA *blaTEM*, *cfxA*, *tetW* y *tetM* se detectaron con frecuencia en muestras orales. Por lo tanto, la revisión sistemática destaca la presencia de GRA a los agentes antimicrobianos en la cavidad oral, especialmente para los agentes de tetraciclina y β -lactamasas en la saliva, la biopelícula supragingival y las infecciones agudas por endodoncia.

Otro estudio por Rôças et al. (2013), evaluó muestras de abscesos apicales agudos y de conductos radiculares en dientes con periodontitis apical asintomática y detectó la presencia de GRA que codifican resistencia a beta-lactámicos como *blaTEM* y *cfxA*, a tetraciclina como *tetM*, *tetQ* y *tetW* y eritromicina *ermC*. Estas infecciones odontológicas se caracterizan por biopelículas bacterianas de múltiples especies, ocasionando que las células dentro de las biopelículas sean muy propicias para la transferencia de genes (Molin et al. 2003; Sedgley et al. 2008), lo que puede favorecer la propagación de GRA a otras especies.

Por ende, la presencia y diseminación de GRA representa un problema de salud pública a nivel global ya que su presencia en la microbiota humana puede implicar resistencia a los antibióticos, trayendo como consecuencia morbilidad e inclusive mortalidad de los individuos.

I.VII Implicaciones clínicas de la resistencia microbiana

Por último y más importante, algunas de las implicaciones clínicas de la RAM son (Johnson et al. 2013; Osgood-Zimmerman et al. 2018) :

- Dificulta el tratamiento efectivo de una variedad de condiciones de salud causadas por bacterias, hongos y virus.
- El éxito de la quimioterapia para el cáncer, los trasplantes de órganos y las cirugías dentales se ven comprometidas.
- La aparición de nuevos mecanismos resistentes dentro de la bacteria amenaza la capacidad de inhibición en el tratamiento de enfermedades comunes, provocando enfermedades y tratamientos prolongados, discapacidad permanente o incluso la muerte.
- El tratamiento prolongado obligatorio y la necesidad de medicamentos costosos en pacientes resistentes a los antibióticos resultan en costos elevados de atención médica.

Tal cómo se revisó en un estudio retrospectivo de 10 años (Garza-González et al. 2020) menciona que es realmente un llamado de emergencia sanitaria el uso indiscriminado o no justificado de antibióticos en México, puesto que se encontraron muchas cepas resistentes en diferentes entidades patológicas. Gracias a la regulación de venta de antibióticos sólo con receta médica en el 2010 en el país, el problema de automedicación con antibióticos se ha resuelto en gran medida (Santa-Ana, et al. 2013). El reto es mejorar la calidad de la prescripción por parte de los profesionales médicos, en ambientes hospitalarios y comunitarios, y en ambos sectores tanto público como privado.

Finalmente, se implementó un proyecto de investigación dirigido a pacientes geriátricos total o parcialmente desdentados usuarios de prótesis acrílicas completas o parciales para determinar si la biopelícula microbiana de sus prótesis son un reservorio de GRA ya que promoverá la importancia del mantenimiento de la higiene a corto y largo plazo, la necesidad de diseñar materiales que en primera instancia eviten la sobre formación de biopelícula microbiana sobre ellas, el uso de productos limpiadores como coadyuvantes a la higiene y establecer citas de control cada 3 a 6 meses con el odontólogo o especialista en prostodoncia para que se

evite el riesgo de desarrollar una biopelícula microbiana madura que funcione como reservorio de GRA, disminuyendo la morbilidad y mortalidad de los pacientes.

II. Hipótesis

Hipótesis de trabajo

La biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos es un reservorio de GRA.

Hipótesis Nula

La biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos no es un reservorio de GRA.

III. Objetivos

III.I Objetivo General

Determinar si la biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos es un reservorio de GRA.

III.II Objetivos Específicos

1. Identificar la frecuencia con la que se presentan seis GRA en muestras de cavidad oral de pacientes geriátricos dentados que no utilizan prótesis acrílicas.
2. Identificar la frecuencia con la que se presentan seis GRA en muestras de cavidad oral de pacientes geriátricos totalmente desdentados y no usuarios de prótesis de ningún tipo.
3. Identificar la frecuencia con la que se presentan seis GRA en muestras de cavidad oral, incluida la biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico, de pacientes geriátricos parcialmente desdentados.
4. Identificar la frecuencia con la que se presentan seis GRA en muestras de cavidad, incluida la biopelícula microbiana que se forma en las prótesis dentales de acrílico, de pacientes geriátricos totalmente desdentados.
5. Comparar las frecuencias con que se presentan los seis GRA en cada uno de los grupos.

IV. Material y métodos

IV.1 Diseño del estudio

Prospectivo, transversal, observacional y descriptivo.

IV.2 Unidad de análisis

Muestras de pacientes geriátricos de la mucosa oral de revestimiento, dorso de la lengua y en su caso de la superficie de prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos.

IV.3 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue por conveniencia de 18 pacientes divididos en los cuatro grupos con cinco pacientes cada uno y sólo un grupo de tres. El número reducido se debe a los criterios de inclusión, los cuales se cumplieron estrictamente, por lo tanto, no fue posible obtener más pacientes durante el curso de la especialidad.

IV.3.1 Criterios de selección

IV.3.1.1 Inclusión

General:

- Adultos de la tercera edad.
- Sin distinción de género.
- Aceptación del consentimiento informado antes de participar en el estudio.

Grupo D-SP: Dentado sin uso de prótesis dental de acrílico.

- Con periodonto sano o periodonto sano reducido.
- Con mínimo 24 dientes presentes.
- Dentado no usuario de prótesis dental de acrílico de cualquier tipo.

Grupo PDs-CP: Parcialmente desdentado usuario de prótesis dental de acrílico.

- Con periodonto sano o periodonto sano reducido.
- Parcialmente desdentado usuario de prótesis dental de acrílico.

Grupo TDs-CP: Totalmente desdentado usuario de prótesis dental de acrílico en ambos maxilares.

- Totalmente desdentado usuario de dentaduras acrílicas completas superior o inferior de uso diario.
- Uso de dentaduras acrílicas completas mínimo de ocho meses.

Grupo TDs-SP: Totalmente desdentado no usuario de prótesis dental de acrílico.

- Totalmente desdentados no usuarios de dentaduras acrílicas completas superior ni inferior.
- Tiempo de edentulismo superior e inferior mínimo de ocho meses.

IV.3.1.2 Exclusión

General:

- Adulto geriátrico bajo un proceso infeccioso bucal o sistémico (con o sin tratamiento farmacológico).
- Adulto geriátrico con enfermedades sistémicas sin control farmacológico.
- Adulto geriátrico inmunosuprimido y / o inmunocomprometido.
- Adulto geriátrico que haya recibido quimioterapia o radiación en los últimos seis meses.
- Adulto geriátrico fumador.
- Adulto geriátrico que haga uso de drogas ilícitas.

Grupo PDs-CP y TDs-CP:

Las condiciones de la prótesis dental de acrílico ya sea parcial o completa esté:

- Fracturada.
- Presencia de cálculo dental en su superficie.

- Presencia de material provisional como acondicionador de tejidos o adhesivo de dentaduras al momento de la toma de la muestra.

IV.3.1.2 Eliminación

Se eliminaron todas aquellas, muestras y pacientes que sufrieron algún imprevisto durante el desarrollo de las pruebas que imposibilitó evaluar las variables de interés.

IV.4 Técnicas e instrumentos

La información relevante de cada paciente se recolectó en su expediente **(ANEXO 1)** y los resultados obtenidos por medio de la prueba de PCR se recolectaron en una base de datos utilizando Excel.

IV.5 Procedimientos

1. Se realizó la historia clínica con el formato aprobado y utilizado en la clínica de la Especialidad en Prosthodontia de la Universidad Autónoma de Querétaro **(Anexo 1)**.
2. Se hizo entrega a los pacientes el consentimiento informado del procedimiento **(Anexo 2)**.
3. Una vez diagnosticado el paciente y habiendo verificado que cumpliera con los criterios de inclusión, se le invitó a que participara en el proyecto de investigación, se explicó detalladamente la justificación y objetivo del estudio, los beneficios y procedimientos así como posibles riesgos y todas las aclaraciones pertinentes, asimismo se resolvieron detalladamente todas sus dudas y si decidió participar se le entregó el consentimiento informado con todos los detalles por escrito, se le pidió que lo firme y se le entregó una copia del mismo **(Anexo 3)**.
4. En caso de abandonar su participación en el estudio, se le dio a firmar a cada paciente la carta de revocación **(Anexo 4)**.

A. Recolección de las muestras

1. Se tomó una muestra en cada paciente (**Fig. 2**) de la superficie dorsal de la lengua en un área de aproximadamente 1cm², de la superficie de la mucosa oral de revestimiento del carrillo (izquierdo o derecho) en un área de aproximadamente 1cm² con una punta de plástico estéril, del dorso de la lengua y en su caso, de la biopelícula microbiana formada sobre la prótesis dental de acrílico (**Fig. 3**) de cualquier tipo de su superficie externa.
2. Todas las muestras se colocaron inmediatamente a un microtubo suspendido en solución de PBS de manera individual (**Fig. 4**) y se almacenarán a -20 ° C hasta su análisis.



Fig. 2. Toma de muestras con punta estéril de plástico en paciente geriátrico de la sierra de Querétaro, Qro.



Fig. 3. Dentadura deacrílico completa para toma de muestra.

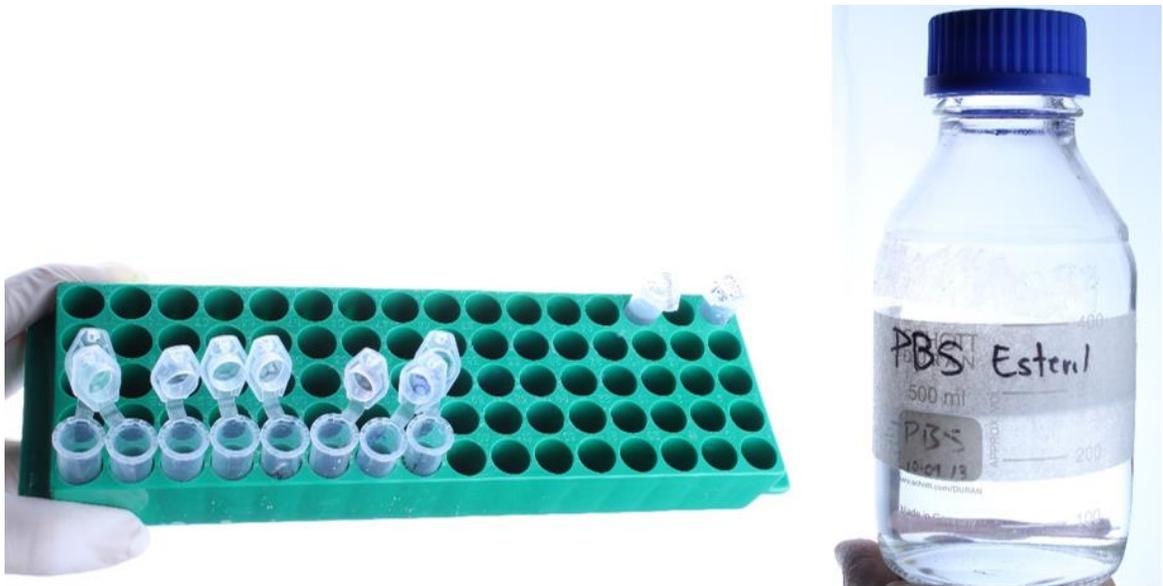


Fig. 4. Tubos eppendorf con las muestras embebidos en solución PBS estéril.

B. Aislamiento ADN

1. Se realizó el aislamiento de ADN colocando cada muestra en la centrifuga (**Fig. 5**) a 13.000 rpm por 10 minutos, los pellets se lavarán tres veces con PBS.



Fig.5. Tubos eppendorf con muestras colocadas en centrifuga.

2. Se descartó el PBS para posteriormente agregar 200 μ L de solución de OHO, se incubará durante 10 minutos a 85° C (**Fig. 6**), una vez realizado esto se agregaron 100 μ L de mutanolisina y se incubó durante una hora a 50°C.

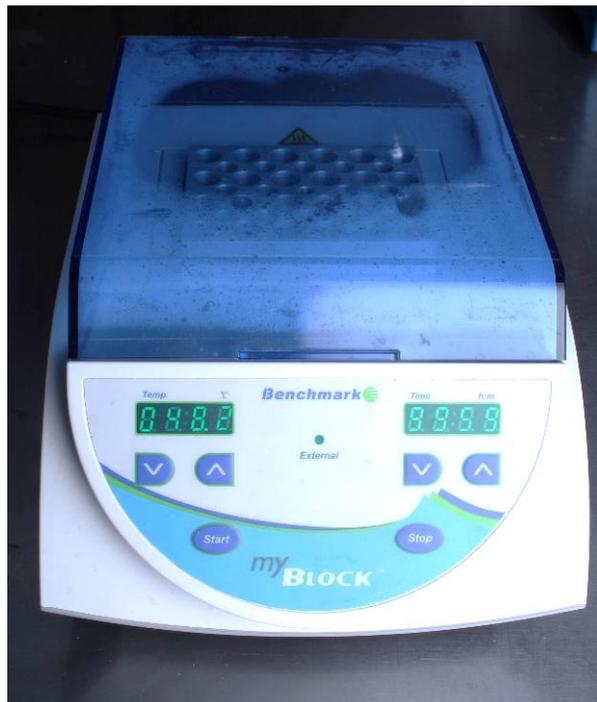


Fig. 6. Equipo de laboratorio para elevar la temperatura de las muestras.

3. Se agregó 30 μL de lisosima para posteriormente incubarlo a 37° C durante 1 hora. Se agregaron 30 μL de Cell lisis buffer y 30 μL de proteinasa K, se incubó durante 10 minutos a 80 ° C. Una vez realizado esto se agregó 60 μL de acetato de amonio para ser llevadas a la máquina vórtex 20 segundos (**Fig. 7**).



Fig. 7. Tubo eppendorf con muestra para ser mezclado por medio del Vortex.

4. Se llevaron los pellets a centrifugar durante 10 minutos, una vez realizado esto se pasó el sobrenadante a un tubo nuevo. Se agregaron 500 μL de fenol-cloroformo alcohol isoamílico y se mezclaron invirtiendo el tubo. Se centrifugó durante 10 minutos y posteriormente se llevó la capa acuosa a un nuevo tubo. Se agregaron 400 μL de isopropanol al 100% (**Fig.8**) y se mezclaron invirtiendo. Se incubó en hielo durante 10 minutos, se centrifugó y se descartó el isopropanol.



Fig. 8. Micropipeta con punta colocando isopropanol al 100% en muestra-.

5. Se lavó el pellet con 500 μ l de etanol al 70% (**Fig. 9**) y se centrifugó 10 minutos para posteriormente descartar el etanol. Se secó el pellet y se agregaron 50 μ L de solución de hidratación para incubarlo a 65° por 30 minutos. Se colocó a 70°C para almacenarlo.

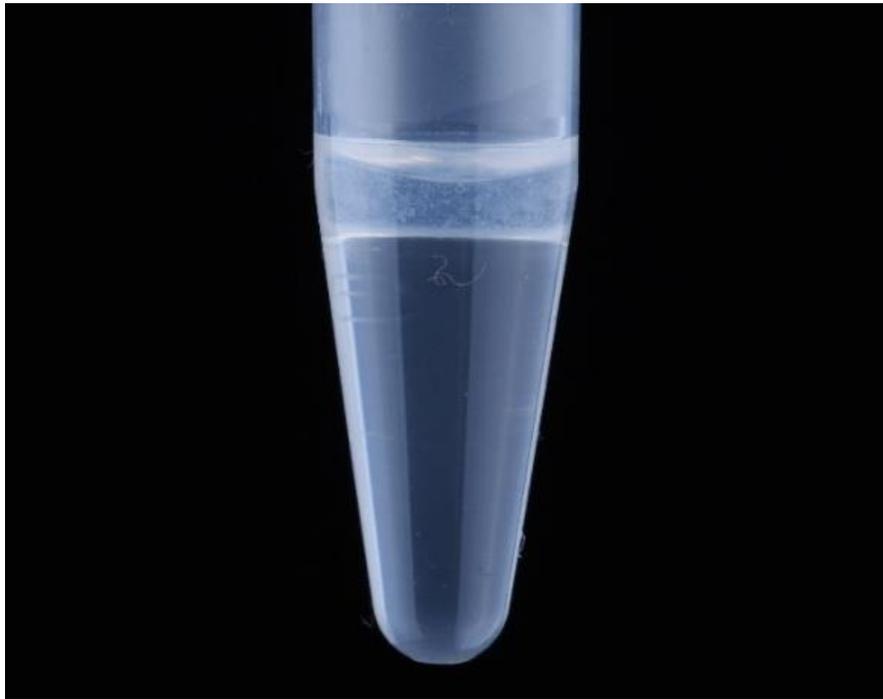


Fig. 9. Separación de pellet y etanol por medio de centrifuga.

C. Análisis de Reacción en Cadena de la Polimerasa

A cada uno de los aislamientos de ADN de las muestras de cada uno de los 18 pacientes, se les realizaron seis PCR, cada uno con oligonucleótidos específicos (**Cuadro 1**) para identificar la presencia o ausencia de los GRA utilizando oligonucleotidos específicos. En reacciones de 25 μ l, la reacción se realizó colocando 13.3ul de agua bidestilada estéril, 2.5 μ l de solución Buffer, 1.2ul de Mg, 0.5ul de Dntp's, 0.75ul de cada uno de los oligonucleótidos, 1ul de Taq (**Fig. 10**) y 5ul del ADN previamente aislado.

Cuadro 1. Oligonucleótidos utilizados para la detección de GRA.

GRA	Secuencia (5'→3')	Temperatura de alineación (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
<i>bla_{TEM-1}</i>	CCAATGCTTAATCAGTGAGG ATGAGTATTCAACATTTCCG	55	858
<i>ermC</i>	AATCGGCTCAGGAAAAGG ATCGTCAATTCCTGCATG	55	562
<i>ermB</i>	GAAAAGGTA CTCAACCAAATA AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	55	639
<i>tetQ</i>	GTGGACAAAGGTACAACGAG CGGTAAAGTTCGTACACAC	55	406
<i>tetW</i>	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC GGGCGTATCCACAATGTTAAC	64	168
<i>CfxA</i>	GCGCAAATCCTCCTTTAACAA ACCGCCACACCAATTTTCG	55	406

Todas las secuencias fueron diseñadas por otros autores y usadas en varias investigaciones.



Fig. 10. Pipeta con Taq Polimerasa.

Posterior, se llevaron las muestras al termociclador (**Fig. 11**) colocando el parámetro establecido conforme a cada GRA.



Fig. 11. Muestras colocadas en el termociclador.

D. Proceso de Electroforesis.

El producto de este PCR se cargó en geles de agarosa al 2% (**Fig. 12**) y fue sometido a electroforesis.



Fig. 12. Pocillos cargados con el resultado del PCR en gel de agarosa al 2%.

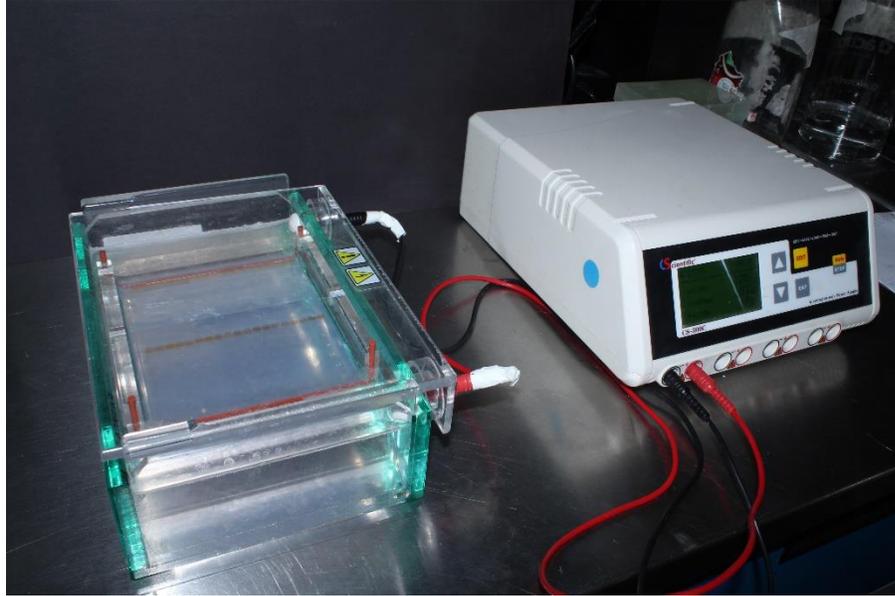


Fig. 13. Electroforesis con polo negativo y positivo.

Se tiñó el gel con bromuro de etidio y se observó en un fotodocumentador UV. Se identificaron y se documentaron la presencia o ausencia de barras en el gel (**Fig. 14**).

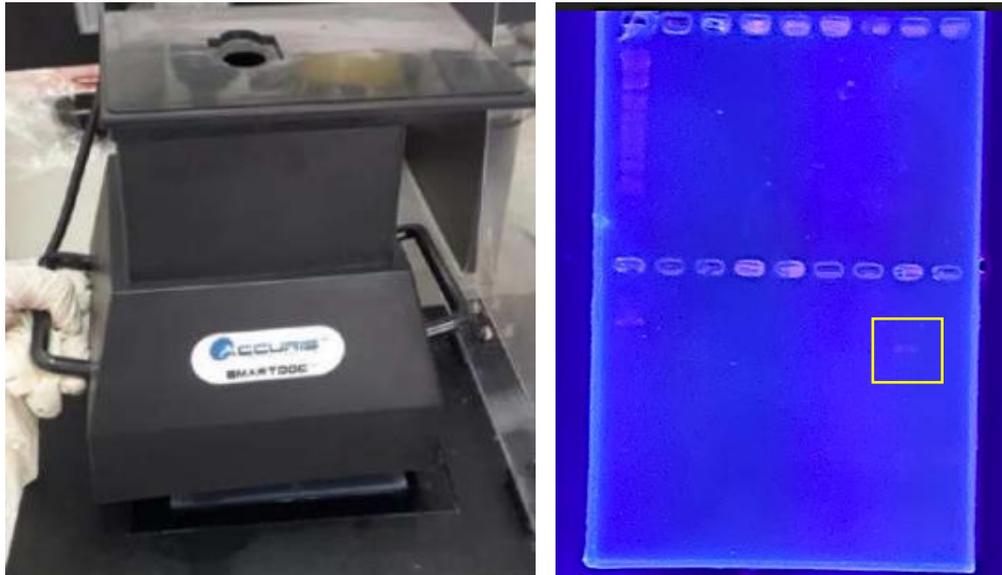


Fig. 14. Fotodocumentador con gel de agarosa al 2% observado bajo luz UV.

IV.5.1 Análisis estadístico

A. Recolección de los datos

Los resultados obtenidos de cada gel de electroforesis se recolectaron en una base de datos de Excel (**Anexo 5**).

B. Análisis estadístico de datos

Se realizaron cuadros que comparan la frecuencia con la que se presentan los GRA en cada uno de los grupos de interés y se aplicó la prueba exacta de Fisher para identificar si existe diferencias estadísticas entre la distribución de los genes en los grupos utilizando el Software GraphPad Prism. La significancia estadística fue establecida en $p < 0.05$.

IV.5.2 Consideraciones éticas

Cabe aclarar que todos los datos personales fueron confidenciales y que en todo momento se cumplieron los principios éticos propuestos en la declaración de Helsinki (World Medical Association, 2001).

V. Resultados

En este estudio se incluyó población de adultos de la tercera edad con un rango de edad de 61 a 91 años (**Cuadro 2**). El género femenino fue el más frecuente. Por otro lado, sólo seis de los 18 pacientes presentaron enfermedades sistémicas controladas por medio de medicamentos de ingesta sistémica.

Cuadro 2. Características clínicas de los pacientes en su diagnóstico.

	X ± D.E. (Rango)
Edad	68.72 ± 6.81 (60-91)
	Frecuencia (%)
Género	
Hombre	7 (38.90)
Mujer	11 (61.11)
Enfermedad sistémica	6 (33.33)

X: Promedio; **DE:** Desviación estándar.

A partir del ADN obtenido de una alícuota de cada una de las muestras y por medio de la técnica de PCR y oligonucleótidos específicos, se identificó la presencia de GRA en sujetos con distintas condiciones orales, ya fueran portadores de prótesis dental de acrílico o no. Se encontró que solo cinco de los 18 pacientes no presentaron ninguno de los GRA de interés, y que los otros 13 presentaron al menos uno de ellos (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Cantidad de GRA en los 18 participantes incluidos

GRA	(n=18)
Frecuencia (%)	
<i>Ningún gen</i>	5(27.78)
<i>1 gen</i>	6(33.33)
<i>2 genes</i>	3(16.66)
<i>3 genes</i>	2(11.11)
<i>4 genes</i>	2(11.11)

En el **cuadro 4**, se puede observar la frecuencia con la que se presentaron los seis GRA en los 18 pacientes. El GRA *cfxA* fue el más frecuente mientras que el *tetQ* el menos frecuente, sólo se presentó en un paciente.

Cuadro 4. Distribución de los seis GRA de interés en los 18 participantes incluidos.

GRA	(n=18)
Frecuencia (%)	
<i>bla_{TEM-1}</i>	4(22.22)
<i>ermC</i>	2(11.11)
<i>ermB</i>	5(27.77)
<i>tetW</i>	5(27.77)
<i>cfxA</i>	9(50.00)
<i>tetQ</i>	1(5.55)

En el **cuadro 5**, se puede observar la frecuencia con la que se presentaron los seis GRA en cada uno de los grupos. En los grupos D-SP y TDs-CP el GRA más frecuente fue *cfxA*, mientras que en los grupos PDs-CP y TDs-SP no se puede observar una tendencia clara.

Cuadro 5. Distribución de los seis GRA de interés en cada uno de los grupos.

GRA	D-SP (n=5)	PDs-CP (n=5)	TDs-CP (n=5)	TDs-SP (n=3)	Valor de P
Frecuencia (%)					
<i>bla_{TEM-1}</i>	0(0)	0(0)	2(40)	2(66.66)	0.03 ^a
<i>ermC</i>	1(20)	0(0)	1(20)	0(0)	
<i>ermB</i>	0(0)	1(20)	2(40)	2(66.66)	
<i>tetW</i>	1(20)	1(20)	3(50)	0(0)	
<i>cfxA</i>	2(40)	1(20)	4(80)	2(66.66)	
<i>tetQ</i>	1(20)	0(0)	0(0)	0(0)	

DS-P: Dentados sin prótesis dental deacrílico, **PDs-CP:** Parcialmente desdentados con prótesis dental deacrílico, **TDs-CP:** Totalmente desdentados con prótesis dental acrílica. **TDs-SP:** Totalmente desdentados sin prótesis dental deacrílico. Prueba de Fisher^a

Al comparar los cuatro grupos (**cuadro 6**) de acuerdo al número de GRA que presentaron se encontró que si existe diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en la distribución por grupos. El grupo D-SP presentó mayormente la presencia de un solo GRA, el grupo PDs-CP fue el que menos GRA presentó (60% ningún gen), el grupo TDs-CP fue el que presentó más participantes con más GRA (40% presentó cuatro GRA), y en el grupo TDs-SP no se puede identificar una tendencia por el número reducido de participantes.

Cuadro 6. Comparación en el número de GRA presentes en cada grupo.

GRA	D-SP (n=5)	PDs-CP (n=5)	TDs-CP (n=5)	TDs-SP (n=3)	Valor de P
Frecuencia (%)					
<i>Ningún gen</i>	1(20)	3(60)	1(20)	0(0)	
<i>1 gen</i>	3(60)	1(20)	1(20)	1(33.33)	
<i>2 genes</i>	1(20)	1(20)	0(0)	1(33.33)	<0.002 ^a
<i>3 genes</i>	0(0)	0(0)	1(20)	1(33.33)	
<i>4 genes</i>	0(0)	0(0)	2(40)	0(0)	
	5 de 30 16.6%	3 de 30 10%	12 de 30 40%	6 de 18 33%	

DS-P: Dentados sin prótesis dental de acrílico, **PDs-CP:** Parcialmente desdentados con prótesis dental de acrílico, **TDs-CP:** Totalmente desdentados con prótesis dental acrílica. **TDs-SP:** Totalmente desdentados sin prótesis dental de acrílico. Prueba de Fisher^a

Al comparar los dos grupos de pacientes que presentan órganos dentales que utilizan prótesis y que no utilizan (D-SP Vs PDs-CP) no se observan diferencias importantes (16.6% Vs 10%). Lo mismo sucede al comparar los dos grupos de pacientes edéntulos que utilizan o no prótesis (TDs-CP-40% Vs TDs-SP33%). Por otro lado, al comparar los dos grupos de pacientes que presentan órganos dentales (D-SP y PDs-CP) presentaron en promedio el 13.3% (16.6%-10%) de los GRA de interés, mientras que los dos grupos de pacientes edéntulos (TDs-CP y TDs-SP) presentaron en promedio 36.5% (40%-33%) de los GRA de interés, esto es casi tres veces más.

VI. Discusión

De los 18 pacientes geriátricos incluidos, el género femenino fue el más frecuente, esto seguramente asociado a que la mayor parte de los pacientes que acuden en busca de atención Odontológica a la Especialidad de Prosthodontia de la Facultad de Medicina, de la UAQ, son mujeres. Se ha reportado que las mujeres tienen mayor conciencia de prevención y se preocupan más por su salud oral que los hombres, además que poseen menor temor a la consulta dental (Mazarro et al. 2012).

Resulta claro que los pacientes de la tercera edad como los que fueron incluidos en este proyecto han estado expuestos a lo largo de su vida a diferentes antibióticos. Sánchez-Huesca et al. (2020), reportó que el grupo de antibióticos más recetado en México son las quinolonas (28%), seguido por las penicilinas (23%), cefalosporinas (17%), macrólidos (10%), lincosamidas (9%) y por último las sulfonamidas (4%). Específicamente en el área odontológica los antibióticos más utilizados son la amoxicilina, seguido por amoxicilina con ácido clavulánico, clindamicina, azitromicina y metronidazol o el uso de terapias combinadas como metronidazol con amoxicilina (Arredondo et al.,2019).

Debido a esto no fue sorprendente el hecho de encontrar que el 72.2% de los pacientes (13 de 18) presentarán al menos uno de los GRA que se buscaron en este estudio. Lo que sí resultó preocupante fue encontrar dos pacientes que presentaban simultáneamente tres y dos pacientes que presentaban simultáneamente cuatro de los GRA. Lo que indica que esos pacientes seguramente serían difíciles de tratar en caso de presentar una infección, pues muy probablemente estaría causada por bacterias multirresistentes y el tratamiento antibiótico resultaría complejo.

Con respecto a la frecuencia con la que se presentaron los seis GRA en los 18 pacientes, se podría decir que estos pacientes han estado más recientemente expuestos a betalactámicos que a tetraciclinas, pues el GRA *cfxA* fue el más

frecuente mientras que el *tetQ*, un gen relacionado con tetraciclinas fue el menos frecuente, sólo se presentó en un paciente.

Cuando se observa la frecuencia con la que se presentaron los seis GRA en cada uno de los grupos, el número reducido de pacientes en cada grupo no permite ver alguna tendencia clara como para poder establecer que algún GRA se presente específicamente en cierto grupo. Sin embargo, este no es el objetivo del estudio y se trata de información extra.

Lo que si se tenía que determinar es si las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos son un reservorio de GRA. Esto se puede observar en el **cuadro 6**. Primeramente, se observó que, si existe diferencia estadísticamente significativa al comparar la distribución de los GRA en los grupos, por lo que se puede considerar que si existieron grupos con significativamente mayor cantidad de GRA que otros.

Dos situaciones son las que hay que resaltar. Cuando se comparan los grupos de pacientes que presentaron órganos dentales ya sea que utilicen prótesis o no (D-SP Vs PDs-CP) no se observan diferencias importantes (16.6% Vs 10%) entre ellos, lo que lleva a pensar que la presencia de la prótesis dental de acrílico no influye como un reservorio para aumentar o disminuir la presencia de GRA en la microbiota de los pacientes. Esto mismo sucede al comparar los dos grupos de pacientes edéntulos que utilizan o no prótesis (TDs-CP-40% Vs TDs-SP33%), tampoco se observa un cambio significativo que lleve a pensar que la prótesis tiene una influencia.

Y de forma interesante, si se juntan los dos grupos de pacientes que presentan órganos dentales, ya sea que usen o no prótesis (D-SP y PDs-CP), el promedio de ambos grupos es de 13.3% ($16.6\%+10\%/2$) y si esto se compara con el promedio de juntar los dos grupos de pacientes edéntulos que usan o no prótesis dental (TDs-CP y TDs-SP), 36.5% ($40\%+33\%/2$) de los GRA de interés, esto es casi tres veces más.

Ambas observaciones estarían indicando que la presencia de prótesis dental de acrílico no influye de forma significativa en el número de GRA presentes en la boca de los pacientes y que, por lo tanto, las prótesis dentales de acrílico en pacientes geriátricos no son un reservorio de GRA. Parece ser que influye más el hecho de ser completamente edéntulo para presentar más GRA, pues al compararse con el número que presentan los pacientes dentados, este número si es muy superior.

No existen antecedentes que permitan contrastar estos resultados, por ende, no se podría dar una explicación contundente. Se puede constatar que los pacientes que aún poseen órganos dentales en su boca se preocupan por cepillar sus dientes y esto ayude a controlar al número y la diversidad microbiana en sus bocas presentando menos GRA mientras que los pacientes edéntulos ya no realizan ninguna práctica de higiene en su boca.

Otra posible explicación podría ser que los microorganismos que habitan en la boca de los pacientes dentados o parcialmente desdentados no alojen tantos GRA y que los microorganismos de los pacientes desdentados si lo hagan. Es bien sabido que la microbiota de uno u otro paciente es muy diferente, pues los microorganismos presentes en cada caso dependen en mucho de las superficies que tengan para adherirse, las cuales son muy distintas en ambos grupos de pacientes.

Se pueden especular distintas explicaciones a estos resultados, sin embargo la realidad es que este trabajo tiene importantes limitaciones donde la principal fue, el muy reducido número de pacientes incluidos en cada uno de los grupos, esto debido a los criterios de selección, pues no es fácil encontrar pacientes que los cumplan estrictamente, además de que esto se complicó aún más por las restricciones que se tuvieron debido a la pandemia por SARsCOV-2 que se vivió en los últimos dos años, justo durante el desarrollo de este protocolo.

En conclusión, bajo las condiciones y limitaciones de este estudio, parece ser que la biopelícula microbiana que se forma en prótesis dentales de acrílico no es un reservorio el cual genere el aumento de GRA en pacientes geriátricos.

VII. Bibliografía

Abushaheen, Manar Ali, Muzahed, Amal Jamil Fatani, Mohammed Alosaimi, Wael Mansy, Merin George, Sadananda Acharya, et al. 2020. "Antimicrobial Resistance, Mechanisms and Its Clinical Significance." *Disease-a-Month*, March, 100971.

Arredondo, A., Blanc, V., Mor, C., Nart, J., & León, R. 2019. Azithromycin and erythromycin susceptibility and macrolide resistance genes in *Prevotella* from patients with periodontal disease. *Oral diseases*, 253, 860-867.

Berendonk, Thomas U., Célia M. Manaia, Christophe Merlin, Despo Fatta-Kassinos, Eddie Cytryn, Fiona Walsh, Helmut Bürgmann, et al. 2015. "Tackling Antibiotic Resistance: The Environmental Framework." *Nature Reviews Microbiology* 13 (5): 310–17.

Brooks, L, Narvekar, U., Mc Donald, A. & Mullany, P.(2022).Prevalence of antibiotic resistance genes in the oral cavity and mobile genetic elements that disseminate antimicrobial resistance : A systematic review. *Molecular Oral Microbiology*, 37,133–153.

Carranza, Fermin. 2012. "Carranza's Clinical Periodontology." In , 11th ed., 233–70. Missouri: Elsevier Saunders.

Coleman, M. L. 2006. "Genomic Islands and the Ecology and Evolution of *Prochlorococcus*." *Science* 311 (5768): 1768–70.

Cortelli, José Roberto, Davi Romeiro Aquino, Sheila Cavalca Cortelli, Gilson César Nobre Franco, Camila Borges Fernandes, Caio Vinícius Gonçalves Roman-Torres, and Fernando Oliveira Costa. 2008. "Detection of Periodontal Pathogens in Oral Mucous Membranes of Edentulous Individuals." *Journal of Periodontology* 79 (10): 1962–65.

Costerton, J W, Z Lewandowski, D E Caldwell, D R Korber, and H M Lappin-Scott. 1995. "Microbial Biofilms." *Annual Review of Microbiology* 49 (1): 711–45.

Dostál, Lubomír, Sichen Shao, and Joel F. Schildbach. 2011. "Tracking F Plasmid Tral Relaxase Processing Reactions Provides Insight into F Plasmid Transfer." *Nucleic Acids Research* 39 (7): 2658–70.

Dreser, A. Reyes, H. Serván, E. Wirtz, VJ. (2015). Quality of Antibiotic Prescription in Pharmacy Retail Medical Clinics of Mexico City. Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) and International Congress of Chemotherapy and Infection (ICC), San Diego, CA.

Fernandes, Camila Borges, Davi Romeiro Aquino, Gilson Cesar Nobre Franco, Sheila Cavalca Cortelli, Fernando Oliveira Costa, and José Roberto Cortelli. 2010. "Do Elderly Edentulous Patients with a History of Periodontitis Harbor Periodontal Pathogens?" *Clinical Oral Implants Research* 21 (6): 618–23.

Garza-González, Elvira, Rafael Franco-Cendejas, Rayo Morfín-Otero, Gabriela Echaniz-Aviles, Fabian Rojas-Larios, Paola Bocanegra-Ibarias, Samantha Flores-Treviño, et al. 2020. "The Evolution of Antimicrobial Resistance in Mexico during the Last Decade: Results from the INVIFAR Group." *Microbial Drug Resistance* 26 (11): 1372–82. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0354>.

Johnson, Jarrod W., Jed F. Fisher, and Shahriar Mobashery. 2013. "Bacterial Cell-Wall Recycling." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1277 (1): 54–75.

Juhas, Mario, Derrick W. Crook, and Derek W. Hood. 2008. "Type IV Secretion Systems: Tools of Bacterial Horizontal Gene Transfer and Virulence." *Cellular Microbiology* 10 (12): 2377–86.

Ken, SB, and M. Lim. 1996. "Denture Plaque Distribution and the Effectiveness of a Perborate-Containing Denture Cleanser." *Quintessence Int* 27: 341–345.

Koukos, Georgios, Antonios Konstantinidis, Lazaros Tsalikis, Minas Arsenakis, Theodora Slini, and Dimitra Sakellari. 2016. "Prevalence of β -Lactam (BlaTEM) and Metronidazole (Nim) Resistance Genes in the Oral Cavity of Greek Subjects." *The Open Dentistry Journal* 10 (1): 89–98.

Krüger, Nora-Johanna, and Kerstin Stingl. 2011. "Two Steps Away from Novelty - Principles of Bacterial DNA Uptake." *Molecular Microbiology* 80 (4): 860–67.

Marsh, P. D., and D. J. Bradshaw. 1995. "Dental Plaque as a Biofilm." *Journal of Industrial Microbiology* 15 (3): 169–75.

Marsh, Philip D. 2006. "Dental Plaque as a Biofilm and a Microbial Community – Implications for Health and Disease." *BMC Oral Health* 6 (S1): S14.

Molin, Søren, and Tim Tolker-Nielsen. 2003. "Gene Transfer Occurs with Enhanced Efficiency in Biofilms and Induces Enhanced Stabilisation of the Biofilm Structure." *Current Opinion in Biotechnology* 14 (3): 255–61.

Moraes, Ludmila Coutinho, Marcus Vinícius Reis Só, Tatiane Da Silva Dal Pizzol, Maria Beatriz Cardoso Ferreira, and Francisco Montagner. 2015. "Distribution of Genes Related to Antimicrobial Resistance in Different Oral Environments: A Systematic Review." *Journal of Endodontics* 41 (4): 434–41.

Munita, Jose M., and Cesar A. Arias. 2016. "Mechanisms of Antibiotic Resistance." *Microbiology Spectrum* 4 (2).

Neppelenbroek, Karin Hermana. 2015. "The Importance of Daily Removal of the Denture Biofilm for Oral and Systemic Diseases Prevention." *Journal of Applied Oral Science* 23 (6): 547–48.

Organization, World Health. 2014. "Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014." 2014.

Osgood-Zimmerman, Aaron, Anoushka I. Millear, Rebecca W. Stubbs, Chloe Shields, Brandon V. Pickering, Lucas Earl, Nicholas Graetz, et al. 2018. "Mapping Child Growth Failure in Africa between 2000 and 2015." *Nature* 555 (7694): 41–47.

Paranhos, Helena de Freitas Oliveira, Claudia Helena Lovato da Silva, Giovana Cherubini Venezian, Leandro Dorigan Macedo, and Raphael Freitas de Souza.

2007. "Distribution of Biofilm on Internal and External Surfaces of Upper Complete Dentures: The Effect of Hygiene Instruction." *Gerodontology* 24 (3): 162–68.

Read, A. F., and R. J. Woods. 2014. "Antibiotic Resistance Management." *Evolution, Medicine, and Public Health* 2014 (1): 147–147.

Ritsuko Hori, Michiko Sato, Shoji K. 1999. "Tongue Microflora in Edentulous Geriatric Denture-Wearers." *Microbial Ecology in Health and Disease* 11 (2): 89–95.

Rôças, Isabela N., and José F. Siqueira. 2013. "Detection of Antibiotic Resistance Genes in Samples from Acute and Chronic Endodontic Infections and after Treatment." *Archives of Oral Biology* 58 (9): 1123–28.

Sachdeo, Amit, Anne D. Haffajee, and Sigmund S. Socransky. 2008. "Biofilms in the Edentulous Oral Cavity." *Journal of Prosthodontics* 17 (5): 348–56.

Santa-Ana-Tellez, Y., Mantel-Teeuwisse, A.K., Dreser, A., Leufkens, H.G.M. and Wirtz, V.J. (2013). Impact of Over-the-Counter Restrictions on Antibiotic Consumption in Brazil and Mexico. *PLoS ONE*, 8(10), e75550.

Sánchez-Huesca, Ramiro, Abel Lerma, Rebeca M.E. Guzmán-Saldaña, and Claudia Lerma. 2020. "Prevalence of Antibiotics Prescription and Assessment of Prescribed Daily Dose in Outpatients from Mexico City." *Antibiotics* 9 (1): 1–11. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9010038>.

Schwarz, Stefan, Axel Cloeckaert, and Marilyn C. Roberts. 2006. "Mechanisms and Spread of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents." In *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*, 73–98. American Society of Microbiology.

Scott, June R., and Dorothea Zähler. 2006. "Pili with Strong Attachments: Gram-Positive Bacteria Do It Differently." *Molecular Microbiology* 62 (2): 320–30.

Silva, Jesus. 1996. "Mechanisms of Antibiotic Resistance." *Current Therapeutic Research* 57 (13): 30–35.

Socransky, Sigmund S., and Anne D. Haffajee. 2005. "Periodontal Microbial Ecology." *Periodontology 2000* 38 (1): 135–87.

Sommer, M. O. A., G. Dantas, and G. M. Church. 2009. "Functional Characterization of the Antibiotic Resistance Reservoir in the Human Microflora." *Science* 325 (5944): 1128–31.

Super Bugs. Why We Need Action Now. 2016. World Health Organization. 2016. <https://www.who.int/mediacentre/commentaries/superbugs-action-now/en/>.

Teles, F.R., R.P. Teles, A. Sachdeo, N.G. Uzel, X.Q. Song, G. Torresyap, M. Singh, A. Papas, A.D. Haffajee, and S.S. Socransky. 2012. "Comparison of Microbial Changes in Early Redeveloping Biofilms on Natural Teeth and Dentures." *Journal of Periodontology* 83 (9): 1139–48.

Tenover, Fred C. 2006. "Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria." *American Journal of Infection Control* 34 (5): S3–10.

Teughels, Wim, Nele Van Assche, Isabelle Sliepen, and Marc Quirynen. 2006. "Effect of Material Characteristics and/or Surface Topography on Biofilm Development." *Clinical Oral Implants Research* 17 (S2): 68–81.

Torabinejad, M, S. Shabahang, R. Apereo, and J. Kettering. 2003. "The Antimicrobial Effect of MTAD: An In Vitro Investigation." *Journal of Endodontics* 29 (6): 400–403.

Zhang, Yifei, and Qian Zhang. 2019. "Relationship between Tetracycline Antibiotic Susceptibility and Genotype in Oral Cavity Lactobacilli Clinical Isolates." *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 8 (1): 27.

VIII. Anexos

IX.I Hoja de recolección de datos

Anexo 1.



CLÍNICA ODONTOLÓGICA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO



FECHA _____

NOMBRE DEL PACIENTE _____

EDAD _____ GÉNERO: M F TEL: _____

OCUPACIÓN _____

DOMICILIO _____

PADECIMIENTO ACTUAL _____

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS

ESCOLARIDAD	GDO. ESCOLARIDAD MÁXIMO _____
RELIGIÓN	_____
HÁBITAT	SERVICIOS: LUZ _____ AGUA _____ DRENAJE _____
	OTRO: _____ HABITACIONES _____ HABITANTES _____ MASCOTAS _____
HIGIENE CORPORAL	DIARIO _____ CADA TERCER DÍA _____ OTRO _____
	HIGIENE ORAL UNA VEZ _____ DOS VECES _____ TRES VECES AL DÍA _____
TABAQUISMO	EDAD _____ FRECUENCIA _____
ALCOHOLISMO	EDAD _____ FRECUENCIA _____ TIPO _____
TOXICOMANÍAS	TIPO _____ DESDE _____ FRECUENCIA _____
EJERCICIO	NO _____ OCASIONAL _____ SEMANAL _____
	DIARIO _____ OTRO _____
ALIMENTACIÓN	CANTIDAD: BUENA _____ MALA _____ REGULAR _____
	CALIDAD: BUENA _____ MALA _____ REGULAR _____
CUADRO DE VACUNACIÓN	COMPLETO _____ INCOMPLETO _____

ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES

	SI	NO
DIABETES		
ASMA		
TUBERCULOSIS		
CÁNCER		
ENFERMEDAD RENAL		
HIPERTENSIÓN		
CONVULSIONES		
CARDIOPATÍAS		

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

ENFERMEDAD			ENFERMEDAD		
HIPERTENSIÓN			ENFERMEDAD HEPÁTICA		
ANGINA DE PECHO			ICTERCIA		
ARRITMIA CARDIACA			DIARREA		
INSUFICIENCIA CARDIACA			ASMA		
INFARTO AL MIOCARDIO			TUBERCULOSIS		



MARCAPASOS		ENFISEMA PULMONAR		
SOPLO CARDIACO		ALERGIAS		
ENF. CARDIACA CONGÉNITA		TOS CRÓNICA		
ANEMIA		ARTRITIS		
LEUCEMIA		DIABETES		
HEMOFILIA		HIPOTIROIDISMO		
SANGRADOS ANORMALES		HIPERTIROIDISMO		
TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS		INSUFICIENCIA SUPRORRENAL		
CONVULSIONES, EPILEPSIA		ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL		
DESMAYOS		SIDA		
ALTERACIONES EN LA VISIÓN		INSUFICIENCIA RENAL		
TRATAMIENTO PSIQUIÁTRICO		CÁNCER		
ÚLCERA GÁSTRICA Y/O INTESTINAL		RADIOTERAPIA O QUIMIOTERAPIA		
QUIRÚRGICOS		HEPATITIS		
TRAUMATISMOS		OTRAS		
HOSPITALIZACIONES		GOZA DE BUENA SALUD		

EN CASO POSITIVO DE ALGUNA RESPUESTA FAVOR DE AMLIAR

TOMA ALGÚN MEDICAMENTO SI _____ NO _____

CUÁL _____

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

GESTAS _____ PARTOS _____ ABORTOS _____ CESÁREAS _____

FUR _____ RITMO _____ MENARCA _____ MENOPAUSIA _____



EXPLORACIÓN FÍSICA

FECHA _____

TA _____ **FC** _____ **FR** _____ **TEMP.** _____

CABEZA: _____

CUELLO: _____

CAVIDAD ORAL: _____

NEUROLÓGICO: _____

TORACOABDOMINAL: _____

MÚSCULO ESQUELÉTICO: _____

GENITOURINARIO: _____

OBSERVACIONES: _____

IX.II Carta de consentimiento informado

Anexo 2.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento

Firma del participante

Firma del tutor

Fecha: _____

Testigo 1. _____

Testigo 2. _____

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y repuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Nombre y firma del investigador.

María Luisa Sánchez Romero de cuarto semestre de la especialidad de Proctodoncia en la Facultad de Medicina de la UAQ

Correo electrónico: maluisasr1995@outlook.com

Fecha: _____

Anexo 3.

Consentimiento informado para participar en un proyecto de investigación Biomédica

TITULO DEL PROYECTO: “Biopelícula microbiana en acrílico dental de paciente geriátrico como reservorio de genes de resistencia a antibióticos”,

Investigador principal: María Luisa Sánchez Romero de 4to semestre de la especialidad de prostodoncia en la Facultad de Medicina de la UAQ.

Sede donde se realizará el estudio: Clínica de Prostodoncia de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro / Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria.

Nombre del paciente:

Nombre del tutor:

Se le está invitando a participar en este estudio de investigación biomédica. Antes de decidir si participan o no usted debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Siéntase en absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La presencia y diseminación de genes de resistencia a antibióticos representa un problema de salud pública a nivel global ya que su presencia puede implicar la resistencia microbiana a los antibióticos, trayendo como consecuencia morbilidad e inclusive mortalidad de los individuos.

Diversos estudios han demostrado la existencia de reservorios de genes de resistencia antibiótica en distintas entidades odontológicas, sin embargo, hasta el día de hoy, no se sabe si la biopelícula de dentaduras acrílicas completas es un reservorio de genes de resistencia a antibióticos.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Determinar si la biopelícula microbiana presente en prótesis dentales de acrílico de pacientes geriátricos es un reservorio de genes de resistencia a antibióticos. Se tomarán muestras de saliva para investigar y determinar si existe o no la presencia de los genes de resistencia, con el objetivo de disminuir el consumo de antibióticos innecesarios y mal recetados, guiando también a mantener una buena higiene tanto de las dentaduras como de la mucosa oral.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Implementar un proyecto de investigación dirigido a pacientes geriátricos total o parcialmente desdentados usuarios de prótesis acrílica completa o parcial para determinar si la biopelícula

microbiana de sus prótesis son un reservorio de genes de resistencia a antibióticos promoverá la importancia del mantenimiento de la higiene a corto y largo plazo, la necesidad de diseñar materiales que en primera instancia eviten la sobre formación de biopelícula microbiana sobre ellas, implementar el uso de productos limpiadores como coadyuvantes a la higiene y establecer citas de control cada 3 a 6 meses con el odontólogo o especialista en prostodoncia para evitar el riesgo de desarrollar una biopelícula madura que funcione como reservorio de genes de resistencia a antibióticos, disminuyendo así, la morbilidad y mortalidad del paciente.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Si reúne las condiciones para participar en este protocolo y de aceptar participar se le realizarán las siguientes pruebas y procedimientos:

1. Se determinará la ausencia o presencia de restos radiculares, lesiones patológicas intraorales, entre otros.
2. Se realizará una inspección minuciosa de las dentaduras o prótesis parcial de acrílico en caso de ser portador.
3. Se tomará una muestra con hisopo de la mucosa de revestimiento, del dorso de la lengua y de la prótesis de acrílico.

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Durante el procedimiento para obtener la muestra de saliva de la mucosa de revestimiento se pudiera llegar a sentir un poco de molestia de la zona, la cual desaparecerá en algunos segundos a minutos, sin complicaciones.

ACLARACIONES

- 1.- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- 2.- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación
- 3.- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no las razones de su decisión la cual será respetada en su integridad
- 4.- No tendrá que hacer gasto alguno derivado de este estudio, el financiamiento de este es por cuenta del investigador principal.
- 5.- No recibirá pago por su participación
- 6.- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo al investigador responsable.
- 7.- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con escrita confidencialidad por el grupo de investigadores.
- 8.- Usted también tiene acceso a las comisiones de investigación y de bioética de la Facultad de Medicina de la UAQ en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante del estudio a través de:

Dr. Rubén A. Domínguez Pérez

Integrante del área Odontológica del comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UAQ.

Correo: dominguez.ra@uaq.mx

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la carta de consentimiento informado que forma parte de este documento.

NUMERO DE FOLIO: _____

Anexo 4.

Carta de revocación del consentimiento

Título del protocolo: “Biopelícula microbiana en acrílico dental de paciente geriátrico como reservorio de genes de resistencia a antibióticos”

Investigador principal: María Luisa Sánchez Romero

Sede donde se realizará el estudio: Clínica de Prostodoncia de la Facultad de medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Nombre del participante:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este proyecto de investigación por las siguientes razones (opcional):

Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.

Nombre y firma del paciente: _____

Nombre y firma del tutor: _____

Nombre y firma de un testigo: _____

Fecha: _____